



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

INSTITUTO DE CIENCIAS

POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES



"La Tierra no es de nosotros, nosotros somos de la Tierra"

**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL AGUA Y TOXICIDAD DE LOS JAGÜEYES DE LA
RESERVA ESTATAL FLOR DEL BOSQUE, PUEBLA.**

TESIS

Que para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS AMBIENTALES

Presenta

Cecilia Téllez López

Directora de tesis:
Dra. Anabella Handal Silva



Noviembre 2024



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

INSTITUTO DE CIENCIAS

POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES



“La Tierra no es de nosotros, nosotros somos de la Tierra”

**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL AGUA Y TOXICIDAD DE LOS JAGÜEYES DE LA
RESERVA ESTATAL FLOR DEL BOSQUE, PUEBLA.**

TESIS

Que para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS AMBIENTALES

Presenta

Cecilia Téllez López

Comité tutorial:

Directora	Dra. Anabella Handal Silva
Co-Director	Dra. Wendy Argelia García Suastegui
Tutora	Dra. Edith Chávez Bravo
Integrante Comité Tutorial	Dra. Rosalía Del Carmen Castelán Vega
Integrante Comité Tutorial	D.C Gabriela Pérez Osorio

Noviembre 2024

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología [CONAHCYT] por la beca otorgada con número 1194162, la cual fue fundamental para la realización de mis estudios de maestría.

Al Director de Gestión de Recursos Naturales y Biodiversidad de la Secretaría del Medio Ambiente, Desarrollo Sustentable y Ordenamiento Territorial, Biol. Daniel Espinoza Vizcarra

Al Jefe de Departamento de Vida Silvestre de la Secretaría del Medio Ambiente, Desarrollo Sustentable y Ordenamiento Territorial, M.V.Z. Mario Alberto Romero Guzmán, por las facilidades otorgadas para llevar a cabo este proyecto. Espero que el conocimiento nuevo y actual de esta investigación contribuya significativamente a la conservación de la biodiversidad en la Reserva.

Al Decano del Parque Estatal Flor del Bosque, M.C. Luis Enrique Martínez Romero, quien a lo largo de la tesis fue un apoyo constante en la realización de la parte experimental de esta investigación. Asimismo, por su gran disposición y acompañamiento y por compartir generosamente sus acertados conocimientos sobre la flora y fauna existente en la Reserva Estatal Flor del Bosque.

AGRADECIMIENTOS

A la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y a la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado, por el apoyo brindado para realizar esta investigación.

Al Posgrado en Ciencias Ambientales del Instituto de Ciencias, por brindarme la oportunidad llevar a cabo una investigación que contribuya a la generación de nuevo conocimiento, así como por ofrecer espacios adecuados para su difusión.

Al Departamento de Biología y Toxicología de la Reproducción que me abrió las puertas de sus instalaciones, lo que permitió realizar los experimentos necesarios para esta investigación.

A la Dra. Anabella Handal Silva y a la Dra. Wendy Argelia García Suastegui, por sus valiosos consejos, por su apoyo, comprensión y por el interés mostrado en el desarrollo de este proyecto.

A la Dra. Edith Chávez Bravo, la Dra. Gabriela Pérez Osorio, la Dra. Rosalía Castelán Vega, por sus valiosas e importantes aportaciones y observaciones, que contribuyeron en gran medida a fortalecer y enriquecer este trabajo.

Dedicatoria

Este trabajo es el resultado del esfuerzo y colaboración de muchas personas, quienes, de manera voluntaria o involuntaria, contribuyeron a la realización de esta investigación. Por esta razón, aprovecho estas breves líneas para expresar mi más sincero agradecimiento:

A Dios. Que nunca me ha abandonado y ha hecho posible que cumpla un sueño más. Él sabe del inmenso amor que siento por Flor del Bosque y lo que significa para mí haber trabajado allí. Además, le agradezco por permitirme contribuir con esta pequeña pero significativa investigación, que espero ayude a preservar este majestuoso lugar.

A mi adorada mamá, quien enfrentó conmigo el reto de la incertidumbre que estudiar un posgrado trae consigo. A pesar de las dificultades, siempre me apoyó y me alentó a seguir adelante. Mami, te agradezco por todo tu amor, tu paciencia y por escuchar una y otra vez los ensayos de este trabajo. Tus consejos y apoyo incondicional son mi mayor motivación para esforzarme cada día. Por ti le echo ganas a la vida.

A Ara e Iván, quienes creyeron en mí desde el principio y fueron los primeros en pensar que podía lograrlo. Me guiaron, me ayudaron y me brindaron valiosos consejos que me han permitido llegar hasta aquí.

A mi familia, que ha sido mi soporte y refugio, un lugar seguro en los días difíciles y una celebración en los momentos de éxito. A todos y cada uno de ustedes, mil gracias.

A mis amigos. A aquellos que conocí en mi querido Flor del Bosque y a los que me acompañaron en esta nueva etapa de la maestría. Gracias por compartir su conocimiento, por sus consejos y por los momentos gratos y divertidos.

A Carol y Ricardo, quienes fueron un pilar fundamental para poder terminar este proyecto. No hubiera sido posible sin ustedes. Gracias por su apoyo y por levantarme el ánimo siempre que lo necesité.

A Lore, Marilyn, Leonardo, Yamilet y Bere, porque su apoyo y valiosos consejos fueron clave en mi aprendizaje, siempre dispuestos a resolver mis dudas. Infinitas gracias.

Al Dr. Alejandro Torres Jaramillo, al Mtro. Gabriel Balderas Romero y al Arq. Juan Pablo Báez Vásquez, por su valiosa contribución a esta investigación, así como por su tiempo, amabilidad y disposición.

A Sofía: Por su valioso apoyo, por sus consejos y aportaciones y por convertirse en mi fiel correctora. He aprendido mucho de ti. Muchísimas gracias.

A Siddhartha, Enjambre, Camilo Séptimo, Daniel Me Estás Matando, Muse, Arctic Monkeys, Keane, Los Daniels y DLD, por el increíble soundtrack que me ha acompañado durante esta etapa. Gracias por hacer la vida más hermosa con su música.

“Cuando se ha penetrado en esos hermosos bosques, donde el suelo se llena de innumerables plantitas, donde cada paso ofrece algo nuevo y donde aún las ramas están cubiertas con las más lujuriosas parásitas, donde animales de toda clase, sin conocer enemigos, se pasean alegremente y los insectos zumbantes revolotean en torno de las flores, entonces puede decirse con toda justicia que se halla uno en aquel lugar donde no tiene validez otras leyes que las de la naturaleza, otros derechos que los de la razón y otra fe que la del propio corazón. Allí se encuentra uno transportado de pronto a un mundo tan encantador, por una parte, y por otra, tan repelente por su soledad y abandono, que por lo común se prefiere leer descripciones aún cuando se tenga oportunidad de visitarlo y aprender a valorarlo”

- Karl Bartholomeus Heller, quien describe “El mirador” (De la Maza, 1999).

No hay mejor descripción para un entorno como Flor del Bosque, un lugar que, en medio de tanta destrucción, lucha por persistir. Es un ejemplo de resiliencia: ante la adversidad, siempre se puede seguir floreciendo.

ÍNDICE

1. Introducción.....	1
2. Marco teórico.....	3
2.1. Áreas Naturales Protegidas.....	3
2.2. Áreas Naturales Protegidas en México.....	12
2.3. Las Ciencias Ambientales y las Áreas Naturales Protegidas.....	13
2.4. Clasificación de las Áreas Naturales Protegidas en México.....	15
2.4.1. Tipos de ecosistemas en las Áreas Naturales Protegidas de México.....	17
2.4.2. Áreas Naturales Protegidas en el Estado de Puebla.....	21
2.5. Impacto ambiental en las Áreas Naturales Protegidas.....	28
2.6. Ecotoxicología.....	34
2.6.1. Biomodelo.....	35
2.6.2. Análisis histopatológico de órganos blanco como indicadores de contaminación del agua.....	36
2.7. Biomarcadores.....	37
2.7.1. Metalotioneínas.....	40
2.7.2. Superóxido dismutasa.....	41
3. Planteamiento del problema.....	44
4. Justificación.....	44
5. Pregunta de investigación.....	46
6. Hipótesis.....	46
7. Objetivos.....	46
7.1. Objetivo general.....	46
7.2. Objetivos específicos.....	46
8. Metodología.....	47
8.1. Diseño experimental de la investigación.....	47
8.2. Área de estudio.....	47
8.2.1. Declaratoria de Área Natural Protegida de la Reserva Estatal Flor del Bosque.....	47
8.2.2. Características generales de la Reserva Estatal Flor del Bosque.....	49
8.2.3. Ecosistemas.....	49
8.2.4. Clima.....	50
8.2.5. Fisiografía y geología.....	50
8.2.6. Hidrología.....	51
8.2.7. Zonas de estudio.....	53

8.3	Trabajo de campo.....	54
8.4	Trabajo de laboratorio.....	55
8.4.1	Determinación de metales pesados.....	56
8.4.2	Determinación de compuestos orgánicos volátiles (COVs).....	56
8.5	Acondicionamiento del pez cebra (<i>Danio rerio</i>).	57
8.5.1	Bioensayo de toxicidad en pez cebra.	58
8.6	Análisis histológico.	60
8.6.1	Procedimiento de autopsia.	60
8.6.2	Preparación de los tejidos para análisis histológico.	60
8.7	Análisis molecular	61
8.8	Análisis estadístico.....	64
9.	Resultados.....	65
9.1	Descripción de la zona de estudio.....	65
9.2	Características fisicoquímicas del agua de los jagüeyes.	68
9.3	Concentraciones de Arsénico (As) y Cianuro (CN).	69
9.4	Concentraciones de metales pesados.....	71
9.5	Concentraciones de compuestos orgánicos volátiles (COVs).....	74
9.6	Evaluación de la toxicidad en el modelo biológico del pez cebra (<i>Danio rerio</i>)	77
9.6.1	Análisis histológico de branquia e hígado.....	78
9.6.2	Análisis molecular para la detección de MT1 y SOD mediante la técnica Western Blot.	81
10.	Discusión.....	83
11.	Conclusiones.....	90
12.	Referencias.....	92

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Servicios ambientales de las Áreas Naturales Protegidas	12
Figura 2. Áreas Naturales Protegidas de jurisdicción Federal en el Estado de Puebla.....	24
Figura 3. Áreas Naturales Protegidas de jurisdicción Estatal en Puebla	27
Figura 4. Niveles de respuesta de los peces expuestos a tóxicos y el uso de peces como bioindicador de contaminación ambiental.....	38
Figura 5. Diagrama experimental de la investigación.....	47
Figura 6. Zona de estudio, Área Natural Protegida (ANP) Reserva Estatal, Flor del Bosque	53
Figura 7. Elementos empleados para el montaje de los acuarios.....	57
Figura 8. Peceras acondicionadas para los bioensayos.....	58
Figura 9. Esquema del bioensayo agudo utilizando el pez cebra (<i>Danio rerio</i>).	59
Figura 10. Fotografías comparativas de los jagüeyes	66
Figura 11. Rastros de fauna en el jagüey J3	66
Figura 12. Secreciones de moco sobre la piel y parte anterior de la cabeza.....	78
Figura 13. Vista macroscópica de una hemibranchia del grupo control (C) y del grupo experimental J3.....	79
Figura 14. Vista microscópica del filamento branquial (FB) del pez cebra (<i>Danio rerio</i>), ejemplar del grupo experimental J3.....	79
Figura 15. Estructura histológica normal del hígado del pez cebra (<i>Danio rerio</i>) de un individuo experimental J1	80
Figura 16. Expresión de Metalotioneína 1 [MT1] en hígado y branquia.....	81
Figura 17. Expresión de superóxido dismutasa [SOD] en hígado y branquia.....	82

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Áreas Naturales Protegidas Federales según su categoría de manejo.	16
Tabla 2. Distribución de superficies de las Áreas Naturales Protegidas federales por Entidad Federativa.	20
Tabla 3. Características de las zonas de estudio del ANP Reserva Estatal Flor del Bosque.	54
Tabla 4. Hoja clínica para el registro etológico del pez cebrá durante el tratamiento agudo.	60
Tabla 5. Base de datos de las industrias cercanas a Flor del Bosque que generan contaminantes.	67
Tabla 6. Análisis estadístico de los valores promedio de los parámetros fisicoquímicos del agua en los tres muestreos realizados en la zona de estudio.	68
Tabla 7. Concentraciones de arsénico (As) y cianuro (CN ⁻) en el agua de los jagüeyes durante el muestreo de septiembre de 2023.	69
Tabla 8. Concentraciones de arsénico (As) y cianuro (CN ⁻) en el agua de los jagüeyes durante el muestreo de febrero de 2024.	70
Tabla 9. Concentraciones de arsénico (As) y cianuro (CN ⁻) en el agua de los jagüeyes durante el muestreo de abril de 2024.	70
Tabla 10. Análisis estadístico de los valores promedio de las concentraciones de arsénico y cianuro entre zonas de estudio.	71
Tabla 11. Concentración de metales pesados en el agua de los jagüeyes durante el muestreo de septiembre de 2023.	71
Tabla 12. Concentración de metales pesados en el agua de los jagüeyes durante el muestreo de febrero de 2024.	72
Tabla 13. Concentración de metales pesados en el agua de los jagüeyes durante el muestreo de abril de 2024.	73
Tabla 14. Análisis estadístico de los valores promedio de la concentración de metales pesados entre zonas de estudio.	73
Tabla 15. Concentración de compuestos orgánicos volátiles (COVs) en el agua de los jagüeyes durante septiembre de 2023.	74
Tabla 16. Concentración de compuestos orgánicos volátiles (COVs) en el agua de los jagüeyes durante febrero de 2024.	75
Tabla 17. Concentración de compuestos orgánicos volátiles (COVs) en el agua de los jagüeyes durante abril de 2024.	76
Tabla 18. Análisis estadístico de la concentración de compuestos orgánicos volátiles (COVs) entre zonas de estudio.	77

1. Introducción.

Las Áreas Naturales Protegidas (ANP) son regiones del territorio nacional donde los ambientes originales no han sido modificados significativamente y, por lo tanto, requieren ser preservados. Estas áreas resguardan ecosistemas representativos, albergan especies asegurando la continuidad y la diversidad genética, brindan refugio para especies endémicas y son fundamentales para aquellas que tienen ciclos de vida migratorios. Además, proporcionan importantes servicios ambientales como la captación de lluvia, la infiltración y recarga de los mantos acuíferos. Funcionan como un filtro natural que purifican el aire al retener una gran cantidad de partículas en el follaje y absorben CO₂, uno de los principales gases de efecto invernadero.

El Parque Flor del Bosque ha sido recientemente nombrado área natural protegida en la categoría de Reserva Estatal, reconociendo así su valor ecológico y protegiendo el ecosistema que aún conserva, pues en una extensión territorial de poco más de 1,500 hectáreas, alberga una gran diversidad representativa del estado de Puebla. Sin embargo, a pesar de ser una ANP, no está exenta de los impactos ambientales. La deforestación, el cambio de uso de suelo, la gran presión demográfica, los incendios forestales y las plagas han mermado la salud y el equilibrio de la zona.

De entre todos los problemas que amenazan la reserva, el que cobra mayor preocupación es la contaminación. Estudios precedentes han demostrado la presencia de metales pesados en hojas de diferentes especies vegetales y en el suelo (Hernández et al., 2016), en la miel (Rugarcía, 2018), además de agentes patógenos en el agua (Pérez-Osorio et al., 2016). Esto representa un grave riesgo ya que los jagüeyes son la única fuente de abastecimiento de agua para la flora y fauna que habita en el lugar.

En esta investigación se analizó la calidad del agua de tres jagüeyes de la Reserva Estatal Flor del Bosque. Los resultados revelaron la presencia de 23 sustancias químicas, entre ellas: arsénico, cianuro, 7 metales pesados (Cd, Cu, Cr, Pb, Ni, Hg y Zn) y 14 compuestos orgánicos volátiles (benceno, clorobenceno, cloroformo, cloruro de vinilo, 1,4-diclorobenceno, 1,2-dicloroetano, 1,1-dicloroetileno, hexaclorobenceno, hexaclorobutadieno, metil etil cetona, piridina, tetracloroetileno, tetracloruro de carbono y tricloroetileno).

La parte experimental se llevó a cabo en el biomodelo del pez cebra (*Danio rerio*), el cual fue expuesto durante 5 días (tratamiento agudo) al agua de cada uno de los jagüeyes (J1, J2, J3). El objetivo fue estudiar el posible efecto toxicológico de los contaminantes presentes en el agua en los tejidos de las branquias e hígado.

Los resultados mostraron que no hubo alteraciones morfológicas ni fisiológicas tanto en las branquias como en el hígado. Sin embargo, el análisis molecular de hígado y branquia reveló la expresión de metalotioneína (MT1) y superóxido dismutasa (SOD) en respuesta a la presencia de las sustancias tóxicas presentes en el agua de los jagüeyes.

Estos hallazgos demuestran que la única fuente de agua disponible para la flora y fauna existente en la Reserva Estatal Flor del Bosque no es apta para su consumo y supone un

riesgo para la salud tanto de la flora y la fauna como del ecosistema y la población. Esto es particularmente relevante, ya que las Áreas Naturales Protegidas no sólo son vitales para la conservación de la biodiversidad, sino que también ofrecen espacios para la recreación que benefician la salud física y mental de la población, además de ser sitios de interés para investigaciones científicas, contribuyendo al avance del conocimiento.

Los resultados obtenidos en la presente investigación ponen en evidencia el alto impacto antropogénico en el agua de los jagüeyes de la Reserva Estatal Flor del Bosque. Por consiguiente, es urgente que las autoridades estatales, en conjunto con la academia y la población en general, implementen medidas para mitigar los efectos causados por la contaminación hídrica en la Reserva Estatal Flor del Bosque, asegurando la protección y conservación del ecosistema y de los recursos naturales.

2. Marco teórico.

2.1. Áreas Naturales Protegidas.

A lo largo de la historia, el ser humano ha intervenido en los entornos naturales, impulsado principalmente para satisfacer sus necesidades, a través de prácticas como la domesticación de animales y la agricultura para producir alimentos. Este proceso se denomina “desarrollo” (Holdgate & UICN, 1999) y es fundamental para el progreso de la sociedad tal como la conocemos en la actualidad. Este desarrollo ha provocado un deterioro significativo sobre los ecosistemas, amenazando la biodiversidad y los servicios ambientales que son indispensables para la supervivencia de todos los seres vivos.

En respuesta a esta crisis ambiental, la forma de pensar con respecto a la conservación de la naturaleza comenzó a manifestarse, y la sociedad adoptó un pensamiento ecológico, lo que llevó a elaborar estrategias de conservación de las áreas naturales, principalmente por su valor estético y paisajístico.

Aunque pudiera considerarse que el establecimiento de las áreas protegidas tiene un inicio contemporáneo, se tienen registros muy antiguos de que las sociedades humanas protegieron espacios naturales que tenían algún significado para ellos, sobre todo porque le atribuían algún valor religioso. Tal es el caso de los bosques sagrados ubicados al sur de Asia, los cotos de caza reales en Europa, y hasta montañas como el Monte Kailas en el Tíbet (Worboys et al., 2019; Heinen, 2010).

El criterio para la creación de un área protegida no siempre se ha basado en su valor ecológico. En el pasado, muchas áreas protegidas fueron establecidas principalmente por su valor paisajístico y estético como sitios importantes para el turismo. Sin embargo, en la actualidad, se reconoce que el valor de estas áreas va más allá de su apariencia o belleza, ya que son esenciales para la conservación de la biodiversidad.

La creación del Parque Nacional de Yellowstone en 1872 fue un hecho que influyó de manera considerable en la creación de áreas protegidas en todo el mundo, pues su creación se debió en gran medida a la presión que ejercieron los exploradores que buscaban preservar la belleza natural de la zona. Esto marca la pauta para que muchos más países decretaran áreas de conservación en sus territorios (César Bahia De Aguiar et al., 2013).

El establecimiento de las áreas protegidas se formalizó a finales del siglo XIX como respuesta a las notables transformaciones de los ambientes naturales, consecuencia de las actividades antropogénicas. Surgen como una medida para contrarrestar la pérdida de zonas no perturbadas y la desaparición de especies (Worboys et al., 2019).

La necesidad de conservar estos sitios y con el afán de que las naciones se involucraran en el cuidado y protección de sus bienes naturales, se creó la **Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza** [UICN] en 1948 en la ciudad de Fontainebleau, Francia, donde se estableció la primera área protegida en el mundo. Desde entonces, la UICN se ha convertido en la organización mundial más grande y antigua dedicada a influir, promover y asistir a comunidades de todo el mundo en la preservación de la integridad y la diversidad

de la naturaleza. Su objetivo es asegurar que la utilización de los recursos naturales se realice de forma equitativa y ecológica. Actúa como una red entre sus países miembros, fomentando la cooperación y estableciendo alianzas globales para la protección de los recursos naturales a nivel local, regional y global. Además, desde 1964, la UICN ha elaborado la Lista Roja de Especies Amenazadas, un documento que busca ser una fuente importante de información sobre el estado de conservación de especies de animales, hongos y plantas (Dudley & UICN, 2008; IUCN (s.f.)).

Como resultado de la influencia de la UICN, se han establecido diversas organizaciones y convenios que comparten propósitos similares, pero cuyo objetivo principal es conservar los ambientes naturales y promover el desarrollo sustentable. Asimismo, destacan algunas organizaciones relacionadas con la conservación del medio ambiente y el bienestar de la sociedad, como las siguientes:

- **Organización de las Naciones Unidas [ONU]:**

Fundada con el propósito de mantener la paz y la seguridad internacional, proporcionar asistencia humanitaria a quienes la necesiten, proteger los derechos humanos y promover el derecho internacional. Sin embargo, en respuesta a los cambios globales, ha surgido la necesidad de tomar acciones que reduzcan el impacto antropogénico en el mundo. Como resultado, se han establecido los Objetivos del Desarrollo Sostenible para 2030, con la finalidad de asegurar un mejor futuro y más sostenible para todos, enfatizando la necesidad de realizar acciones globales que mitiguen el calentamiento global contemplado en el Acuerdo de París en 2015 (ONU, (s.f.-b)).

- **Comisión Mundial de Áreas Protegidas [CMA]:**

La Comisión Mundial de Áreas Protegidas de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza [CMA-UICN] constituye la principal red global de expertos en áreas protegidas, con 2500 miembros voluntarios distribuidos en 140 países. Desde su fundación en 1948, su misión ha sido promover la creación y el manejo efectivo de un conjunto representativo de áreas protegidas, tanto marinas como terrestres, que reflejen la diversidad biológica de todo el mundo. La CMA contribuye al cumplimiento de la misión de la UICN al brindar apoyo a los distintos gobiernos y otros actores sociales en la planificación y gestión de las áreas protegidas, así como integrar a otros sectores de la sociedad y su economía a través de la orientación técnica y estratégica. Durante más de seis décadas, tanto la CMA como la UICN han desempeñado un papel destacado como líderes mundiales en este campo (Álvarez Malvido et al., 2021; CMA, (s.f)).

- **Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente [PNUMA]:**

El PNUMA encabeza los esfuerzos globales para proteger, restaurar y gestionar de manera sustentable los recursos naturales. Desde su fundación en 1972, su misión ha sido vigilar el estado de conservación del medio ambiente, así como proporcionar bases científicas y coordinar respuestas a los desafíos ambientales que cada vez son más urgentes, pues se presentan a escala mundial. A lo largo de los años, ha colaborado estrechamente con sus 193 estados miembros y otras naciones interesadas, promoviendo

compromisos y acciones coordinadas que permitan enfrentar los retos que los problemas ambientales plantean. Asimismo, ha desempeñado un papel central como sede de 15 acuerdos multilaterales en materia ambiental, consolidando así su posición como la principal autoridad ambiental a nivel mundial. En la actualidad, el PNUMA está intensificando sus esfuerzos para lograr un compromiso mundial y reducir las emisiones de gases de efecto invernadero, en consonancia con los Objetivos del Desarrollo Sostenible para 2030 (PNUMA, 2021, 2024).

- **Centro de Monitoreo de la Conservación del Ambiente del Programa de Las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (UNEP-WCMC):**

El UNEP-WCMC (por su acrónimo en inglés), es un centro especializado en la evaluación de la biodiversidad a nivel mundial. Con más de treinta años de experiencia, este centro combina la investigación científica con asesoramiento práctico sobre políticas. Su objetivo es que la ciencia, el conocimiento y la comprensión influyan en las políticas internacionales y nacionales, desarrollando estrategias y soluciones que plantean los retos ambientales. En colaboración con el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente y el Centro Mundial para el Seguimiento de la Conservación, el UNEP-WCMC contribuye a combatir la crisis global que enfrenta la naturaleza. Además, su sólida influencia y la calidad de la información que proporcionan les otorgan un gran poder en la toma de decisiones, generando un impacto positivo en las personas, beneficiando al mismo tiempo a la naturaleza. (Worboys et al., 2019; Álvarez Malvido et al., 2021)

- **Convenio sobre Diversidad Biológica [CDB]:**

El Convenio sobre Diversidad Biológica [CDB] es un tratado internacional diseñado para la conservación de la biodiversidad, el uso sostenible de los recursos naturales y la distribución equitativa de los beneficios derivados del aprovechamiento de los recursos genéticos. Entró en vigor en 1993 y cuenta con la participación de 196 naciones. Su objetivo principal es abordar todas las amenazas contra la biodiversidad y los servicios ecosistémicos mediante evaluaciones científicas, desarrollo de herramientas, buenas prácticas y tecnología. Además, promueve la participación de diversas partes interesadas, incluyendo comunidades indígenas, jóvenes, organizaciones no gubernamentales, mujeres y el sector empresarial. El CDB desempeña un papel importante en cuanto a la regulación del uso de la biotecnología a través del Protocolo de Cartagena sobre Seguridad de la Biotecnología. (Worboys et al., 2019; ONU, (s.f.-a)).

- **Fondo Mundial para la Naturaleza [WWF]:**

Es una de las organizaciones más grandes y respetadas del mundo dedicadas a la conservación, con una red global activa en más de 100 países. El WWF tiene como misión frenar la degradación del entorno natural de la tierra con el fin de garantizar un futuro en el que los seres humanos coexistan en armonía con la naturaleza. Para lograrlo, el WWF se enfoca en la conservación de la diversidad biológica mundial, el uso sostenible de los recursos naturales renovables y la promoción del consumo responsable y la reducción de la contaminación (Álvarez Malvido et al., 2021).

Es importante destacar el esfuerzo que realizan las organizaciones internacionales con el objetivo fundamental de garantizar la conservación de la biodiversidad, así como la protección de lugares emblemáticos y representativos para las naciones, y promover el uso equitativo y sustentable de los recursos naturales, asegurando su preservación para las generaciones futuras. El desarrollo de estrategias y políticas, así como el intercambio de conocimientos científicos y tecnológicos, son elementos clave para asegurar el éxito de estos objetivos a largo plazo. Sin embargo, lograr estas metas requiere un gran compromiso y trabajo en conjunto por parte de cada una de las naciones que han ratificado los Objetivos de Desarrollo Sostenible para 2030, así como en las metas específicas establecidas de manera local y nacional.

Definición de áreas protegidas.

De acuerdo con la UICN, las áreas protegidas se definen como espacios de tierra y/o de mar claramente delimitados, enfocados específicamente a la protección y conservación de la diversidad biológica, así como de los recursos naturales y culturales asociados, asegurando la conservación de la naturaleza a largo plazo, y es gestionada a través de medios legales u otros métodos efectivos (Worboys et al., 2019; Dudley & UICN, 2008).

Objetivo

El objetivo de las áreas protegidas es precisamente garantizar la protección de los ecosistemas que permitan mantener sus interacciones, sirvan de refugio de especies y se mantengan los procesos ecológicos, salvaguardar la naturaleza y la diversidad genética, de especies y de ecosistemas, así como la geodiversidad que incluye la diversidad de formas geológicas y paisajes, protegiendo también el patrimonio cultural que permitan mantener las interacciones (Worboys, 2019).

Clasificación de las áreas protegidas según la UICN

Con el propósito de crear un sistema universal que pueda ser aplicable en cualquier nación, la UICN ha desarrollado un conjunto de categorías para la clasificación de áreas protegidas. Este sistema permite que la labor de manejo y gestión sea eficaz, y al mismo tiempo promueve la generación de información comparativa entre distintos países.

Esta clasificación ha sido ampliamente aceptada a nivel internacional, identificando seis categorías que facilitan la planificación, implementación y evaluación de estrategias de conservación adaptadas a las necesidades particulares de cada una (Worboys, 2019; Dudley & UICN, 2008). Las categorías Ia y Ib son categorías cuya aplicación son limitadas a un número reducido, donde el impacto humano no es significativo y están contempladas dentro de la categoría I, como a continuación se describen:

Ia: Reserva natural estricta.

Las reservas naturales estrictas son aquellas que protegen de manera rigurosa los ecosistemas, las especies y la geodiversidad que posean características extraordinarias, y son importantes para realizar actividades de investigación científica, monitoreo y educación ambiental. Además, permiten preservar los valores culturales y espirituales relacionados con la naturaleza. Estas reservas son importantes debido a que salvaguardan aquellas zonas en

donde la actividad humana es prácticamente nula, y que, sin esta designación, probablemente se perderían.

Ib: Área natural silvestre.

Son aquellas áreas que protegen ecosistemas que permanecen relativamente intactos o poco modificados, permitiendo mantener su carácter natural. Esto asegura la supervivencia de las especies que habitan en ellas. Esta característica permite que la población tenga la oportunidad de conocer ecosistemas bien conservados y observar la vida silvestre, contribuyendo a su conservación a largo plazo.

II: Parque nacional

Son áreas extensas donde se garantiza la continuidad de los procesos ecológicos naturales, así como el patrimonio cultural. Aseguran la conservación de paisajes naturales, con características geomorfológicas específicas reconocidas internacionalmente por su grandeza escénica, fenómenos naturales asombrosos y especies silvestres extraordinarias. En esta categoría se permiten los servicios turísticos y actividades espirituales, científicas y educativas a quien las visita, con el fin de proteger la biodiversidad, su geografía y los procesos ambientales que ocurren en ellas.

III: Monumento o característica natural.

Estas áreas protegidas se designan con el fin de resguardar un monumento natural en específico. Por lo general la superficie que abarca es pequeña y se caracterizan por su aspecto natural, su biodiversidad y el ecosistema al que está asociada. Pueden ser formaciones terrestres, montañas y/o cavernas submarinas, áreas como acantilados, cascadas, cuevas, bosques, especies vegetales antiguas, así como sitios culturales y lugares naturales de valor sagrado.

IV: Áreas de manejo de hábitats/especies

Estas áreas están destinadas principalmente a la conservación de especies de flora y fauna cuya importancia es reconocida tanto a nivel local como internacional. Su extensión puede variar, puesto que pueden estar conformadas por una fracción de un ecosistema o por áreas más amplias. Por lo tanto, requieren una gestión más rigurosa en comparación con las categorías anteriores. La prioridad de esta categoría es mantener las características del área para mantener, conservar y restaurar las especies y sus hábitats.

V: Paisaje terrestre/marino protegido.

Estas áreas son especialmente reconocidas por su valor escénico, además de albergar ecosistemas con especies de flora y fauna únicas e importantes. Esta categoría protege y preserva paisajes terrestres y marinos, asegurando la conservación del ecosistema al que se encuentran asociados. Así mismo asegura la conservación de prácticas de manejo tradicional llevadas a cabo por la población local, es decir, resguardan la interacción histórica de la sociedad con el medio, atribuyendo un valor ecológico, biológico, cultural y estético a estas áreas.

VI: Área protegida con uso sostenible de los recursos naturales.

Estas áreas protegen y conservan no sólo a los ecosistemas, sino que también los valores culturales y las prácticas tradicionales de manejo de los recursos naturales, promoviendo un aprovechamiento sustentable. La UICN recomienda que este aprovechamiento debe ser en menor escala, de tal manera que se garantice la permanencia e integridad natural de por lo menos el 66% del área protegida. Generalmente son áreas extensas que pueden formar parte de un grupo más amplio, contribuyendo a la formación de corredores biológicos entre ellas.

Las áreas protegidas se distribuyen por todo el mundo y son fundamentales en el fomento del desarrollo sustentable a través de una gran variedad de actividades económicas, como el ecoturismo, y en la promoción del conocimiento de los ecosistemas mediante la investigación científica. Pero, sobre todo, estas áreas son espacios vitales para la conservación, albergando una gran diversidad de especies, muchas de ellas endémicas, que dependen por completo de los elementos que sus hábitats específicos poseen para sobrevivir. Según datos de la UICN y el PNUMA-WCMC aproximadamente el 16.64% de los ecosistemas terrestres y aguas continentales, así como el 7.74% de aguas costeras y oceánicas, se encuentran dentro de alguna categoría de protección (UNEP-WCMC & IUCN, 2021). Aunque este porcentaje representa un avance significativo, sigue siendo menor al 8% de la superficie terrestre protegida. No obstante, aún queda mucho trabajo por realizar para garantizar la protección efectiva de estas áreas, ya que muchas carecen de programas de manejo eficientes que aseguren el cumplimiento de los objetivos establecidos para las áreas protegidas.

Servicios ecosistémicos de las ANP

Las Áreas Naturales Protegidas [ANP] son zonas de protección que desempeñan un papel esencial al brindar refugio a diversas especies, permitiéndoles desplazarse a través de corredores naturales donde tienen la oportunidad de adaptarse y continuar con sus patrones naturales de migración. Además, pueden albergar especies endémicas, las cuales le aportan un valor inigualable al lugar, ya que no se encuentran en ningún otro sitio. Esta característica fomenta la diversidad genética y garantiza la continuidad de las especies. Sin embargo, parte fundamental de la protección de las áreas naturales radica en que proporcionan servicios ambientales de gran relevancia.

Estos servicios abarcan desde la captura de carbono y la reducción de gases de efecto invernadero [GEI] hasta la regulación de la temperatura, mitigando así los impactos del cambio climático. Desempeñan un papel fundamental en el ciclo del agua al facilitar la infiltración en el subsuelo, lo que contribuye significativamente a la recarga de los mantos freáticos. Asimismo, proporcionan interacciones simbióticas entre organismos, regulando la disponibilidad de nutrientes y, de esta manera, asegurando la continuidad de los ciclos biogeoquímicos. Los servicios ambientales que proporcionan tanto las áreas protegidas como los ecosistemas en general se pueden clasificar en distintas categorías (Worboys et al., 2019) (Figura 1):

1) Servicios de soporte

Los servicios de soporte hacen referencia a aquellos que son fundamentales para el funcionamiento de un ecosistema, donde destacan la formación del suelo y el ciclo de nutrientes, así como el mantenimiento del ciclo de vida de las especies al proporcionar hábitats que funcionan como criaderos de peces, medios de dispersión de semillas e interacciones constantes entre especies. Además de conservar una gran diversidad de especies, las áreas naturales protegen los ecosistemas no perturbados y ofrecen servicios a los ecosistemas circundantes no sólo proveyendo de nutrientes y energía solar, sino también al servir como referentes para la restauración del resto del paisaje.

2) Servicios de aprovisionamiento.

Estos servicios son esenciales para las personas, ya que representan recursos tangibles que las áreas protegidas proporcionan de manera directa.

- **Alimento.**

Las áreas protegidas son indispensables para garantizar la seguridad alimentaria, especialmente en comunidades vulnerables que dependen directamente de los ecosistemas para su subsistencia. Durante épocas de sequía, estas áreas pueden ser aprovechadas como zonas de pastoreo de emergencia y proveer forraje de manera sustentable, además de permitir la extracción responsable de especies.

- **Agua**

Los ecosistemas desempeñan un papel determinante en la regulación del agua, especialmente en las cuencas forestales, donde los bosques son capaces de retener una cantidad considerable de agua en comparación con las cuencas en tierras despejadas. Además, contribuye a la recarga de los mantos acuíferos.

- **Materias primas**

Las áreas protegidas no sólo ofrecen recursos maderables, sino que también permiten el aprovechamiento por recolección sustentable de recursos no maderables a través de reservas extractivas, lo que garantiza la conservación de estos recursos y sus ecosistemas a largo plazo.

- **Recursos medicinales.**

Destaca el papel de las áreas protegidas en la preservación de la diversidad de hierbas con propiedades medicinales, principalmente por su uso y aprovechamiento por las comunidades con acceso limitado a los servicios de salud. así como proveer de materia prima para las compañías farmacéuticas. Además, el estudio de estas plantas contribuye al conocimiento etnobotánico y mejorar las prácticas de consumo.

- **Recursos genéticos.**

El aprovechamiento de especies con características específicas, como la resistencia a condiciones climáticas extremas o plagas, demuestra el valor de las áreas protegidas como reservorios de biodiversidad genética.

3) Servicios de regulación.

Estos servicios se refieren a la vital importancia que desempeñan los ecosistemas en el control de aspectos climáticos, hidrológicos, y biogeoquímicos, así como en la mitigación de fenómenos meteorológicos y sistemas naturales clave que repercuten en la producción de alimentos y el bienestar de la población.

- **Almacenamiento y secuestro de carbono.**

Los ecosistemas resguardan cantidades significativas de carbono. Se estima que por lo menos el 15% del carbono almacenado en el mundo se encuentra en las áreas naturales protegidas. Su destrucción y la liberación resultante de carbono contribuyen al cambio climático.

- **Mitigación de los peligros naturales**

La vegetación contribuye significativamente en la prevención de desastres naturales como el deslizamiento de tierra, avalanchas y erosión del suelo, Además, ecosistemas como los manglares, arrecifes de coral y dunas de arena actúan como barreras naturales contra tormentas, tifones, el aumento del nivel del mar agravado por el cambio climático y el oleaje marino frente a la ocurrencia de un tsunami.

- **Purificación y desintoxicación.**

Los ecosistemas ayudan a reducir la contaminación al absorber sustancias tóxicas del aire, del suelo o del agua. Sin embargo, una alta emisión de contaminantes puede sobrepasar la capacidad de los ecosistemas para purificar el ambiente, lo que pone en riesgo su adecuado funcionamiento.

- **Polinización.**

La polinización es esencial para mantener la diversidad de especies y patrones de vegetación, así como para contribuir a la agricultura, la fruticultura y la producción de miel. Las áreas protegidas realizan una función importante en la protección de especies polinizadoras contra amenazas de origen antropogénico, como los pesticidas.

- **Regulación de plagas y enfermedades.**

Las áreas protegidas mantienen seguros a los ecosistemas contra las enfermedades, ya que funcionan como barrera natural contra especies exóticas invasoras y plagas, bloqueando e impidiendo físicamente su propagación.

4) Servicios culturales.

Estos servicios son fundamentales debido a los vínculos culturales, psicológicos y espirituales que los seres humanos establecen con el mundo natural.

- **Recreación y turismo**

Las áreas naturales ofrecen una gran variedad de actividades recreativas y turísticas, como paseos, convivencias familiares y observación de la naturaleza. La sensación de aislamiento y libertad en la vida silvestre mejora la salud física y mental de las personas.

- **Bienestar físico y mental basado en la naturaleza.**

La convivencia en entornos naturales ha demostrado que tiene efectos favorables e impactan en la salud física y mental de las personas, especialmente en aquellas con problemas físicos y mentales. Los parques naturales han sido utilizados con éxito como terapia psicológica y física.

- **Valor estético.**

Las áreas naturales han favorecido el desarrollo de diversas actividades culturales, científicas, espirituales y religiosas. Han servido como fuente de inspiración para artistas y escritores, y ofrecen entornos ideales para la investigación de los ecosistemas. Además, proporcionan un ambiente propicio para la meditación y son lugares de culto para un gran número de personas quienes consideran a la madre tierra como un ente sagrado.

- **Patrimonio e identidad cultural.**

Las áreas protegidas albergan vestigios de antiguas culturas y asentamientos humanos, lo que ayuda a crear un sentido de pertenencia entre los habitantes y a preservar la riqueza cultural y natural de estos lugares emblemáticos para la historia humana.

La importancia de la conservación de los ecosistemas radica en todos los servicios ecosistémicos de los cuales el ser humano se ve beneficiado. Como bien se menciona en el Proyecto Resiliencia, es necesario modificar la forma en la que las ANP son concebidas, desde el punto de vista ecológico son refugios de conservación, pero es necesario que la sociedad reconozca que se obtienen una gran cantidad de servicios ambientales que son indispensables para el mantenimiento de la vida (PNUD & CONANP, 2019). Asimismo, Carriquiriborde menciona que "... los servicios que brindan los sistemas naturales no deberían ser hoy visto como un lujo para la humanidad, sino 'esenciales' para su subsistencia" (Carriquiriborde, 2021).



Figura 1. Servicios ambientales de las Áreas Naturales Protegidas. Adaptado de PNUD & CONANP (2019) Proyecto Resiliencia. Áreas Naturales Protegidas. Soluciones naturales a retos globales.

2.2 Áreas Naturales Protegidas en México.

A partir de este cambio de paradigma sobre la concepción de la naturaleza, surge la preocupación de conservar la biodiversidad en todo el mundo, extendiéndose esta corriente de pensamiento desde Europa hasta nuestro continente, y desde luego, a México. Aunque esta filosofía no era nueva para nuestro país, pues existen antecedentes de que, desde la época prehispánica, los antiguos pobladores rendían culto a sus deidades en zonas naturales representativas, otorgando así un valor mítico y religioso a los paisajes. Estas civilizaciones protegían las zonas que consideraban dignas de sus dioses, ya que de ellas obtenían recursos naturales mediante la recolección de plantas y frutos, además de crear lo que podrían haber sido los primeros huertos y jardines botánicos (De la Maza, 1999).

En 1876, bajo la administración del presidente Lerdo de Tejada, se estableció la primera área natural protegida en nuestro país: la zona boscosa del Desierto de los Leones, con el fin de proteger los manantiales que allí existían. Más tarde, gracias a los esfuerzos de Miguel Ángel de Quevedo, quien abogó fervientemente por la protección de los bosques y su fauna, se crearon los primeros parques nacionales y reservas territoriales. A pesar de estos esfuerzos, la falta de planificación adecuada y el escaso ordenamiento territorial, ocasionaron conflictos entre los pobladores y las autoridades (Goyenechea-Mayer et al., 2019; De la Maza, 1999).

La promoción de la protección de áreas boscosas y paisajes representativos en América Latina motivó al presidente Lázaro Cárdenas a incluir estas declaratorias en su agenda.

Durante su mandato, se produjo un gran impulso en la protección de los entornos naturales en diferentes entidades del territorio nacional, marcando un punto de inflexión en la conciencia ambiental de nuestro país. Sin embargo, a partir de los años sesenta, este progreso se vio revertido con la reducción de las zonas de protección y la aparición de problemas ambientales más evidentes, como la concesión de autorizaciones para la explotación de los recursos naturales, lo que tuvo un impacto negativo en los ecosistemas (De la Maza, 1999).

Fue durante el mandato de Miguel de la Madrid cuando se retomó el cuidado del medio ambiente, con una mayor participación de investigadores en la elaboración y planeación de políticas para el manejo de las áreas naturales protegidas, en respuesta a la evidente crisis ambiental que ya estaba presente en el país. Esto impulsó la creación de un marco legal que abordara todos esos problemas ambientales y la mejor manera de controlarlos, lo que condujo a la promulgación de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente en 1988 (De la Maza, 1999).

Durante la Cumbre de la Tierra celebrada en Río de Janeiro en 1992, se creó el Convenio sobre Diversidad Biológica, el cual destaca por ser el primer acuerdo internacional que reconoce la biodiversidad como un tema importante a nivel global. Integrado por 196 países, incluido México, este tratado es el resultado del interés por mitigar la degradación de los ecosistemas y resaltar su importancia para el desarrollo de la vida, garantizando la sustentabilidad y asegurando el bienestar de la sociedad y el de las generaciones futuras. Paralelamente, el gobierno federal estableció la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad [CONABIO] cuyo objetivo fundamental es crear una alianza entre los gobiernos, la academia y la sociedad. Compila información sobre la biodiversidad y la pone a disposición de toda la sociedad para su consulta (CONABIO, 2024; (s.f.)).

En el año 2000, se estableció la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas [CONANP] como órgano descentralizado de la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT]. Su objetivo fundamental es conservar el patrimonio natural de México con el fin de garantizar el aprovechamiento sustentable de los recursos naturales y asegurar la continuidad de los servicios ecosistémicos que brindan, tomando en cuenta a todos los sectores de la sociedad. Para lograrlo, la CONANP se sustenta en la investigación y el conocimiento, que guían la toma de decisiones en materia de gestión de los recursos naturales, asegurando el cumplimiento de los tres pilares fundamentales: protección, manejo y restauración (CONANP, 2011).

2.3 Las Ciencias Ambientales y las Áreas Naturales Protegidas.

El estudio del medio ambiente es una tarea ardua, dada la complejidad y la interconexión de los elementos que lo integran. La naturaleza no puede concebirse como una entidad homogénea, con límites claramente definidos. Por el contrario, esta complejidad representa un desafío para los enfoques tradicionales de la ciencia, ya que las interrogantes que surgen a raíz de la actual crisis ambiental no pueden ser abordadas únicamente desde las ciencias exactas (Sáenz & Red Colombiana de Formación Ambiental [R.C.F.A.], 2007).

En este contexto, surgen las Ciencias Ambientales como una disciplina crucial, encargada de estudiar el medio ambiente y sus interrelaciones. Según la definición de Eladio Rey Gutiérrez, las Ciencias Ambientales “estudian los impactos de la sociedad sobre la estructura y el funcionamiento de los sistemas ecológicos y sociales, así como el manejo de estos sistemas para su beneficio y supervivencia asegurando el desarrollo sostenible” (Gutiérrez, 2006). Esta disciplina no sólo adopta un enfoque holístico que considera la totalidad del ambiente y sus componentes, sino que también integra una perspectiva ambiental, reflexionando sobre la influencia de fenómenos externos, su generación, transformación y la repercusión de las actividades humanas. Concibe al ambiente como un sistema complejo en el que múltiples factores y elementos interactúan entre sí. Además, reconoce que el medio ambiente no es un sistema aislado, sino que está constantemente influenciado por el comportamiento humano.

Esta nueva concepción y generación del conocimiento propuesta por las Ciencias Ambientales representa un cambio significativo al dejar de lado el antropocentrismo, que privilegia al ser humano como la especie dominante, para centrarse en la naturaleza como elemento principal y en todos los seres vivos como componentes esenciales. Esta perspectiva, más amplia y equilibrada, permite la integración de diversas disciplinas científicas que contribuyen al estudio de la naturaleza, desde las disciplinas más rigurosas como la biología, la química, y la geología, hasta la incursión de las Ciencias Sociales que permite el intercambio de saberes que abordan los problemas ambientales complejos de manera integral (Gutiérrez, 2006).

Un ejemplo de interdisciplina es la ecología, que de acuerdo con Enrique Leff (2007) “es la ciencia por excelencia de las interrelaciones” y que denomina como “ecología generalizada” que permita unificar las diferentes disciplinas para lograr una ciencia ambiental integradora. Las investigaciones que surgen de este análisis profundo como resultado de la interdisciplina de las Ciencias Ambientales son fundamentales para comprender los fenómenos de destrucción de los ecosistemas. Esto nos lleva al punto crítico de resguardar áreas naturales a fin de evitar su deterioro, pues no sólo son reservas de biodiversidad y proveedoras de servicios ecosistémicos, sino que también son centros de generación de conocimiento al permitir realizar actividades de investigación y de educación ambiental que enriquecen a la sociedad en el saber de su entorno y promuevan un sentido de pertenencia que motive a involucrarse en su protección. Además, las áreas naturales protegidas proporcionan un valor cultural y espiritual significativo, dando representatividad e identidad a la población local.

Este enfoque interdisciplinario de las Ciencias Ambientales en el estudio de los problemas que impactan a las áreas naturales protegidas puede proporcionar soluciones más precisas en comparación con las investigaciones realizadas únicamente desde las ciencias exactas. Estas disciplinas se basan en métodos científicos sólidos que proporcionan conocimiento de la naturaleza y sus interacciones, que permiten identificar y contrarrestar los factores externos que pueden perturbar estos ecosistemas tan valiosos.

Asimismo, es fundamental reconocer la necesidad de la transdisciplina, que implica la colaboración entre diversas entidades, incluidas autoridades, tomadores de decisiones, actores sociales y políticos, instituciones académicas, científicos, organizaciones y la

sociedad en general, ya que desempeñan un papel importante en la protección y gestión efectiva de los recursos naturales, como el caso de las áreas naturales protegidas.

Las Ciencias Ambientales tienen una participación fundamental en la protección de las áreas naturales protegidas, al realizar investigaciones que permitan asegurar la continuidad de los procesos biológicos, garantizando un futuro sostenible.

2.4 Clasificación de las Áreas Naturales Protegidas en México.

A nivel federal, existe una clasificación para el establecimiento de ANP, que responde a los principios y regulaciones dictadas en la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente [LGEEPA]. Esta clasificación es fundamental para llevar a cabo una gestión eficaz de los espacios naturales que requieren ser preservados y vigilados en todo el territorio nacional (CONABIO, 2023).

Según la LGEEPA, las ANP se organizan en relación con su importancia y los niveles de conservación necesarios para salvaguardar la biodiversidad y los recursos naturales de nuestro país. Esta organización comprende ciertas categorías, y cada una desempeña una función específica en la protección y manejo de los ecosistemas y sus elementos. Las categorías que establece la Ley son (LGEEPA, 2023) (Tabla 1)

- **Reservas de la Biosfera.**

Se constituyen en áreas biogeográficas relevantes, representativas de uno o más ecosistemas que no estén significativamente alterados por el ser humano o que requieran ser preservados y restaurados, además de que resguardan especies representativas de la biodiversidad del país, incluyendo a las endémicas, amenazadas o que se encuentren en peligro de extinción. En las Reservas de la Biosfera pueden llevarse a cabo actividades de preservación de los ecosistemas y de educación ambiental. Por el contrario, cualquier tipo de aprovechamiento que pueda alterarlos queda estrictamente prohibido (LGEEPA, 2023, Artículo 48).

- **Parques Nacionales.**

Se constituyen por uno o más ecosistemas que sobresalen por su belleza escénica, su valor científico, educativo, recreo e histórico, así como, por la existencia de flora y fauna y su potencial para el desarrollo turístico y por otras razones de interés general. Se permiten realizar actividades de protección de los recursos naturales, el aumento de flora y fauna, preservar los ecosistemas y sus elementos, la investigación, recreación, turismo y educación ambiental (LGEEPA, 2023, Artículo 50).

- **Monumentos Naturales.**

Estas zonas se caracterizan por tener uno o varios elementos naturales que, debido a su carácter único o extraordinario valor estético, histórico o científico, requieren de un régimen de protección absoluta, y que no tengan o cumplan con los criterios para ser incluidos en otra categoría. En esta clasificación se permiten actividades relacionadas con la preservación, la investigación científica, la recreación y la educación (LGEEPA, 2023, Artículo 52).

- **Áreas de Protección de Recursos Naturales**

Son áreas destinadas a la preservación y protección de los recursos naturales tales como: suelo, cuencas hidrográficas, el aguas, zonas forestales así como ríos, lagos, lagunas, manantiales, entre otros cuerpos de agua pertenecientes a la nación. Esta categoría permite realizar actividades destinadas a la preservación, protección y aprovechamiento sustentable de los recursos naturales, la investigación, recreación, turismo y educación ambiental (LGEEPA, 2023, Artículo 53).

- **Áreas de Protección de Flora y Fauna.**

Esta categoría se constituye por hábitats cuyo equilibrio y preservación dependen de la existencia, transformación y desarrollo de las especies de flora y fauna silvestres. Está permitido realizar actividades relacionadas con la preservación, repoblación, propagación, aclimatación, refugio, investigación y aprovechamiento sustentable de las especies, así como de educación y difusión (LGEEPA, 2023, Artículo 54).

Tabla 1. Áreas Naturales Protegidas Federales según su categoría de manejo.

Categoría de manejo	Número	Tipo	Número	Superficie (ha)
Reserva de la biosfera (RB)	48	Terrestre	32	64,033,710.6
		Terrestre-marino	14	
		Marino	2	
Parque nacional (PN)	78	Terrestre	62	17,569,682.71
		Terrestre-marino	12	
		Marino	4	
Santuario (S)	28	Terrestre	27	155,487.66
		Marino	1	
Monumento natural (MN)	5	Terrestre	5	16,269.11
Área de Protección de Recursos Naturales (APRN)	13	Terrestre	13	4,563,473.89
Área de Protección de Flora y Fauna (APFF)	54	Terrestre	48	7,469,180.38
		Terrestre-marino	5	
		Marino	1	
Total	226		226	93,807,804.35

Nota. Adaptado de: Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas y Sistema de Información, Monitoreo y Evaluación [SIMEC] (2024). Recuperado de http://sig.conanp.gob.mx/website/pagsig/datos_anp.htm

- **Santuarios.**

Se establecen en áreas caracterizadas por una considerable riqueza de flora o fauna, o por la presencia de especies de distribución restringida, que de acuerdo con sus características topográficas o geográficas requieran ser preservadas o protegidas. Se permite llevar a cabo actividades de investigación, recreación y educación ambiental (LGEEPA, 2023, Artículo 55).

- **Áreas Destinadas Voluntariamente a la Conservación.**

Las Áreas Destinadas Voluntariamente a la conservación [ADVVC] pueden presentar cualquiera de las características y elementos biológicos señalados en los artículos 48 al 55 de la LGEEPA, en donde se consideran como áreas productivas dedicadas a una función de interés público (LGEEPA, 2023, Artículo 55 BIS).

2.4.1 Tipos de ecosistemas en las Áreas Naturales Protegidas de México.

México es uno de los países megadiversos en el mundo. Esto se debe principalmente a su ubicación geográfica en la zona tropical y a su historia geológica, que ha dado origen a extraordinarios sistemas montañosos, sierras y llanuras, que favorecen el desarrollo de una gran variedad de ecosistemas terrestres, como los bosques, selvas, desiertos, así como ecosistemas marinos. Estas características únicas propician la existencia de especies endémicas (SEMARNAT, 2016).

El aprovechamiento desmedido de los recursos naturales que proporcionan los ecosistemas ha provocado su deterioro, causando un impacto negativo que en muchas ocasiones es irreversible, como la disminución de cobertura arbórea, la extinción de especies, entre otros. Por ello, las áreas naturales protegidas son una herramienta fundamental para conservar la riqueza natural de nuestro país, mitigar los efectos del cambio climático y asegurar el patrimonio natural para las futuras generaciones.

En el siguiente listado se describen los ecosistemas que se encuentran dentro de las categorías de manejo de las ANP:

- **Bosques tropicales.**

Los bosques tropicales, también conocidos como selvas húmedas, albergan una gran diversidad, debido a la zona en la que se encuentran. Las asociaciones vegetales complejas los convierten en uno de los ecosistemas más ricos en biodiversidad. Los árboles pueden alcanzar alturas muy variadas, dando origen a diversas subcategorías, como la selva perennifolia y subperennifolia, y la selva subhúmeda caducifolia y subcaducifolia (SEMARNAT, 2016). Estos bosques ocupan aproximadamente el 7% del territorio nacional, a pesar de la gran cantidad de especies que alberga (Dirzo et al., 2009). Sin embargo, este porcentaje se ha reducido a casi el 4% (CONABIO, 2022e).

El principal riesgo por el cual estos bosques han sido modificados o destruidos es el cambio de uso de suelo para la producción agrícola, pues los factores climáticos y la abundancia de nutrientes en el suelo, lo vuelve una zona de alta efectividad para la agricultura (Rzedowski, 2006). Sin embargo, la tala ilegal, el tráfico de especies y los efectos del cambio climático repercuten negativamente en estos ecosistemas.

- **Bosques templados**

Estos bosques se caracterizan principalmente por los árboles como pinos y encinos, y comparten hábitat con otras especies representativas de climas templados a fríos. Estos

bosques se encuentran distribuidos en gran parte del territorio nacional, aproximadamente el 16%, esto lo vuelve un ecosistema importante, puesto que también resguarda una vasta diversidad de especies. Se estima que México resguarda en estos bosques 50 especies de pinos y 200 especies de encinos. La vulnerabilidad de estos ecosistemas reside en la tala ilegal para la obtención de madera, la deforestación para cambio de uso de suelo y conversión de tierras para agricultura y pastoreo. Además, se han visto afectados por los efectos del cambio climático (CONABIO, 2021a).

- **Matorrales**

Son representativos de las regiones áridas y semiáridas de México, ocupando casi el 30% del territorio nacional (CONABIO, 2021b). Aunque el clima es muy cálido, no es factor que impida el desarrollo de especies endémicas y una gran abundancia de fauna.

Debido a la ausencia de lluvia en la mayor parte del año, el uso del suelo para actividades agrícolas no es muy productivo (SEMARNAT, 2016). Sin embargo, la prevalencia de vegetación apta para el ganado, como las herbáceas, lo vuelve una zona importante para el pastoreo. Esto provoca que la extensión de estas zonas se amplifique, aumentando la tasa de deforestación, desplazando especies nativas y contribuyendo a la desertificación. El tráfico de especies y la cacería ha puesto en riesgo a la fauna que habita estas zonas (CONABIO, 2021b).

- **Manglares**

Los manglares son el ejemplo claro de un ecotono, pues puede verse una fusión entre el ecosistema marino y el terrestre. Esta zona recibe tanto la influencia de agua proveniente del mar con una elevada salinidad, como las desembocaduras de cuerpos de agua dulce. Están tan bien adaptados, que las especies que resguardan son capaces de subsistir a pesar de las condiciones sumamente específicas, lo que los vuelve tan vulnerables (Calderón et al., 2009). La importancia ecológica de los manglares se debe principalmente al refugio que brindan a la fauna costera, regulan la salinidad del agua entrante, además de que son una barrera natural contra fenómenos naturales como inundaciones y huracanes (CONABIO, 2021c).

La principal causa de la disminución de los manglares se debe a la construcción de espacios turísticos y recreativos, así como el establecimiento de criaderos acuícolas. El cambio climático también afecta de manera importante a los manglares. Aunque están adaptados para soportar ciertos cambios hostiles en el ambiente, la alteración de los patrones de lluvia, las variaciones en la temperatura y los cambios en la salinidad ponen en riesgo el equilibrio del ecosistema (Yáñez-Arancibia et al., 1998).

- **Pastizales**

Este ecosistema se encuentra en regiones áridas de nuestro país, en sistemas montañosos y, en ocasiones, en zonas frías. La vegetación arbórea es escasa, pero es característica la presencia de plantas herbáceas, principalmente gramíneas (SEMARNAT, 2016). El suelo no es muy rico en nutrientes para el desarrollo de la agricultura, pero la abundancia de pastos favorece el aprovechamiento por parte de la actividad ganadera.

El sobrepastoreo origina el mayor problema en estos ecosistemas al impedir la recuperación de la vegetación, además de causar la erosión del suelo (CONABIO, 2022d). Los incendios que se originan en los pastizales son un serio problema, ya que en la mayoría de las ocasiones se presentan de manera descontrolada, extendiéndose varias hectáreas, causando graves afectaciones al ecosistema, entre ellas, la pérdida de vegetación y las grandes emisiones de gases a la atmósfera que contribuyen al calentamiento global.

- **Bosque mesófilo de montaña**

Reciben también el nombre de bosque nublado debido a que la humedad de su ambiente propicia la formación de niebla la mayor parte del año (CONABIO, 2022c). La particularidad de este tipo de ecosistema es su asociación con especies correspondientes a los bosques templados y tropicales, entre los que destacan comunidades de pinos y encinos (SEMARNAT, 2016).

Estos ecosistemas ocupan apenas el 1% del territorio del país. Esto se debe a que el clima en el que predominan presenta características específicas de humedad y temperatura, lo que fragmenta su distribución (CONABIO, 2022c). El principal riesgo que enfrentan estos ecosistemas es la tala ilegal, que se realiza tanto para la conversión de terrenos destinados a la agricultura y ganadería, como para el aprovechamiento de la madera.

- **Arrecifes.**

Estos ecosistemas se encuentran cercanos a las costas, con muy poca profundidad. Son ricos en biodiversidad debido a la compleja estructura que los constituyen, brindan un hábitat ideal para el desarrollo de flora y fauna de gran importancia ecológica, proporcionan una gran cantidad de servicios ambientales, como la captura de carbono, y son el principal escudo protector frente a las tormentas tropicales y huracanes (CONABIO, 2022b; Ardisson et al., 2011).

De acuerdo con datos de la CONABIO (2022b), los arrecifes se encuentran en un grave deterioro, a pesar de ser importantes para la economía. El daño proviene de las actividades antropogénicas, la contaminación del agua por las embarcaciones y descargas de aguas residuales, además de que el cambio climático impacta de forma negativa al causar el blanqueamiento de los corales.

- **Sistemas pelágicos**

Estos ecosistemas se encuentran mar adentro, es decir, en el océano. Las propiedades de la zona, como la temperatura y la salinidad, permiten la gran abundancia y diversidad de flora y fauna. Además, los océanos son los mayores productores de oxígeno, necesario para la supervivencia de especies aerobias. Su principal aprovechamiento es la pesca, así como el turismo y actividades recreativas. Sin embargo, este ecosistema también se ve afectado por el cambio climático, además de que las actividades antropogénicas contribuyen en gran medida al deterioro, como la contaminación por plásticos, las descargas de aguas residuales y la sobreexplotación (CONABIO, 2022a).

Tabla 2. Distribución de superficies de las Áreas Naturales Protegidas federales por Entidad Federativa.

Entidad federativa	Categoría de manejo						Total
	APRN	APFF	PN	MN	RB	S	
Aguascalientes	2						2
Baja California		2	3		7		12
Baja California Sur		3	4		4		11
Campeche		3	1		5	1	10
Chiapas	1	5	3	2	7	1	19
Chihuahua	8		2	1	2	1	14
Ciudad de México	1	1	9				11
Coahuila	2	3	2	1	1		9
Colima	1	2	2		1		6
Durango	2				2		4
Guanajuato					2		2
Guerrero		1	4		2	2	9
Hidalgo	1		3		2		6
Jalisco	1	2	1		3	5	12
México	3	3	8		1		15
Michoacán		1	6		2	3	12
Morelos		1	3		1		5
Nayarit	1	1	1		3	1	7
Nuevo León	1		2	1			4
Oaxaca		2	6	1	1	5	15
* Puebla	1		5		2		8
Querétaro	1		2		2		5
Quintana Roo		12	6		5	1	24
San Luis Potosí		3	2		2		7
Sinaloa		4				3	7
Sonora		5			2		7
Tabasco		2			2		4
Tamaulipas		1			2	1	4
Tlaxcala			2				2
Veracruz	1			4	1	2	8
Yucatán		1	3		2	1	7
Zacatecas	2	2	1				5

Nota.

APRN: Área de Protección de Recursos Naturales; APFF: Área de Protección de Flora y Fauna; PN: Parque Nacional; MN: Monumento Natural; RB: Reserva de la Biósfera; S: Santuario.

* El estado de Puebla ocupa el lugar 14 a nivel nacional, con 8 áreas naturales protegidas de carácter federal.

Adaptado de: Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas y Sistema de Información, Monitoreo y Evaluación para la Conservación [SIMEC] (2024). Recuperado de <https://simec.conanp.gob.mx/numeralia.php>

En nuestro país se resguarda una gran biodiversidad en 226 áreas naturales protegidas a nivel federal distribuidas en diferentes entidades, como se muestra en la Tabla 2. De estas, 187 son terrestres, 31 son terrestre-marina y 8 son exclusivamente marina, abarcando 93,807,804 hectáreas del territorio nacional. Además, la CONANP supervisa 579 áreas destinadas voluntariamente a la conservación, las cuales ocupan 701,760 hectáreas (CONANP, 2024).

2.4.2 Áreas Naturales Protegidas en el Estado de Puebla.

El Estado de Puebla se distingue por sus extraordinarios paisajes y escenarios naturales, donde convergen sistemas montañosos y valles, los cuales favorecen la presencia de climas diversos. Esta variedad climática, a su vez, da lugar a una excepcional riqueza biológica resguardada en sus ecosistemas (CONABIO, 2011).

De la misma forma que la LGEEPA establece áreas naturales protegidas a nivel Federal, La Ley para la Protección del Ambiente Natural y el Desarrollo Sustentable del Estado de Puebla [LPANDSEP] define a las áreas naturales protegidas como “zonas naturales dentro del Estado en donde los ambientes requieren ser conservados, preservados, restaurados o aprovechados de manera sustentable debido a su importancia biótica o abiótica” (LPANDSEP, 2022, Artículo 4). Su gestión está regulada por el gobierno del Estado en colaboración con las autoridades municipales.

El objetivo de establecer áreas naturales protegidas en el estado de Puebla y en sus municipios es la preservación de los ambientes naturales representativos de la entidad, donde se pueda salvaguardar la diversidad genética de las especies silvestres y proteger aquellas que se encuentren en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 en sus diferentes categorías de riesgo, el aprovechamiento sustentable de la biodiversidad, ofrecer un espacio para el desarrollo de investigaciones científicas y la educación ambiental, que contribuya al conocimiento y conservación de estas áreas, preservar los conocimientos tradicionales, garantizar la continuidad del ciclo hidrológico, proteger los entornos naturales y la belleza escénica, con el fin de crear una consciencia ecológica que destaque el valor y la importancia de los recursos naturales del Estado (LPANDSEP, 2022, Artículo 62).

2.4.2.1 Áreas Naturales Protegidas Federales en el Estado de Puebla.

La preservación de la biodiversidad de Puebla y sus paisajes naturales es fundamental para asegurar la continuidad de las especies y los servicios ambientales que ofrecen, pero en ocasiones estas zonas se extienden en territorios más allá de las fronteras estatales. En este sentido se han designado ANP a nivel federal en donde diferentes entidades federativas comparten sitios de importante valor natural con nuestro estado (Figura 2), las cuales se enlistan a continuación:

- **Parque Nacional Iztaccíhuatl-Popocatepetl.**

Ubicado en la región Centro y el Eje Neovolcánico Transmexicano, alberga dos de las montañas más emblemáticas y elevadas de México: el volcán Iztaccíhuatl y el Popocatepetl, este último con una notable actividad volcánica. Se extiende por los estados de México, Puebla y Morelos con una superficie total de 39,819.086 hectáreas, de las cuales 11,072.91086 ha. pertenecen al estado de Puebla, presentando una gran variedad de climas, desde templado húmedo hasta frío a muy frío. Esta diversidad climática da lugar a una amplia gama de ecosistemas característicos, como los bosques templados, pastizales alpinos y páramos de altura. La riqueza de los ecosistemas de este Parque crea el hábitat ideal para una gran cantidad de especies, muchas de las cuales se encuentran en la NOM-059-

SEMARNAT-2010 en alguna categoría de riesgo. Tal es el caso del teporingo (*Romerolagus diazi*) que se encuentra en peligro de extinción. A pesar del gran valor ecológico de esta zona, se enfrenta a problemas serios, principalmente a la tala clandestina para el aprovechamiento del recurso maderable, los incendios forestales y la extracción de leña y carbón en menor escala. Estas actividades provocan la fragmentación de los bosques y una disminución alarmante la cobertura vegetal, poniendo en riesgo la supervivencia de las especies y el equilibrio del ecosistema. Fue declarado Parque Nacional el 8 de noviembre de 1935 (CONANP, (s.f.-a); CONABIO, 2011; Sistema de Información Territorial del Estado de Puebla [SITEP], (s.f.)).

- **Parque Nacional La Malinche.**

Este parque se encuentra en la región Centro y el Eje Neovolcánico Transmexicano, comprendiendo los estados de Puebla y Tlaxcala. Su extensión total es de 46,112.24142 ha., de las cuales 12,488.77336 ha. se ubican en Puebla. “La Malinche” forma parte importante de los sistemas montañosos de México, estableciendo un corredor biológico entre montañas, siendo la quinta más alta del país. Los bosques de pino-encino, oyamel y pastizal son los ecosistemas más representativos de este parque, albergando una gran variedad de especies de anfibios, reptiles, aves y mamíferos, muchos de ellos bajo alguna categoría de protección de la NOM-059-SEMARNAT-2010. Sin embargo, el crecimiento poblacional ha ejercido una fuerte presión sobre esta zona. La deforestación para cambio de uso de suelo con fines agrícolas y ganaderos es un serio problema. La tala ilegal y los incendios forestales representan amenazas constantes que ponen en riesgo la continuidad de los servicios ambientales que provee el Parque, como el ciclo hidrológico que contribuye a la recarga de mantos acuíferos que abastecen a la ciudad de Puebla. Fue designado como Parque Nacional el 6 de octubre de 1938 (CONANP, (s.f.-b); CONABIO, 2011; SITEP, (s.f.)).

- **Parque Nacional Pico de Orizaba.**

Se localiza en la región Planicie Costera y el Golfo de México, abarcando territorio de los Estados de Puebla y Veracruz, donde se establece una conexión entre la Sierra Madre Oriental y la Sierra Madre del Sur. Su superficie total es de 19,750.005 ha., de las cuales 13,310.85505 ha. se ubican en Puebla. Con una elevación de 5,610 m.s.n.m., es la montaña más alta del país, lo que le permite albergar especies de flora y fauna, adaptadas a las condiciones climatológicas extremas representativas de los ecosistemas de alta montaña. Una gran variedad de estas especies es endémica, sin embargo, la fragilidad de su hábitat ha causado que algunas de ellas se encuentren en la NOM-059-SEMARNAT-2010 bajo alguna categoría de protección. A pesar de la degradación que ha prevalecido en la zona, este Parque Nacional es un ejemplo de la efectividad de las ANP, ya que se han registrado poblaciones en aumento de las especies protegidas. Se declaró Parque Nacional el 4 de enero de 1937 (CONANP, (s.f.-c); CONABIO, 2011; SITEP, (s.f.)).

- **Reserva de la Biósfera Tehuacán-Cuicatlán**

Se encuentra en la región Centro y Eje Neovolcánico Transmexicano, entre los estados de Puebla y Oaxaca. Tiene una superficie total de 490,186.8755 ha., de las cuales 183,924.5734 ha. se encuentran en Puebla. La Reserva es un vestigio extraordinario de la evolución geológica y biológica de México. Alberga una gran variedad de especies vegetales muy antiguas, como la biznaga (*Echinocactus platyacanthus*), adaptadas para vivir bajo condiciones de calor extremo. Esto favorece el endemismo en la región. La fauna de esta zona es representativa de ecosistemas áridos, aunque cabe señalar que muchas de las especies que resguarda se encuentran también enlistadas en la NOM-059-SEMARNAT-2010 en alguna categoría de riesgo. Su importancia histórica tiene lugar en los restos fósiles encontrados en la Reserva, además de ser uno de los primeros sitios en donde se dio la domesticación del maíz, chile, frijol, calabaza, amaranto y aguacate. Fue declarada Reserva de la Biósfera el 18 de septiembre de 1998 (CONANP, (s.f.-d); CONABIO, 2011; SITEP, (s.f.)).

- **Área de Protección de Recursos Naturales Zona de Protección Forestal Vedada Cuenca Hidrográfica del Río Necaxa.**

Se ubica en la región de la Planicie Costera y el golfo de México, en los estados de Hidalgo y Puebla. La extensión total es de 42,129.3532 ha. de las cuales 32.492.6165 ha se localizan en Puebla. Fue designada el 20 de octubre de 1938 como Zona Protectora Forestal Vedada, y en 2002 se le renombró como Área de Protección de Recursos Naturales. Además, ostenta la denominación de sitio Ramsar bajo el nombre “Sistema de represas y corredores biológicos de la cuenca hidrográfica del río Necaxa”.

Los ecosistemas representativos del área son seis, aunque predominan los bosques de pino-encino, selva alta perennifolia y el bosque mesófilo de montaña. Su importancia biológica radica en ser un sitio ideal para las aves migratorias provenientes de Estados Unidos y Canadá. Además, el área desempeña un papel fundamental en la economía del país, ya que en ella se genera energía hidroeléctrica que abastece a la Ciudad de México y a las industrias aledañas. La gran biodiversidad que prevalece en la zona permite a los habitantes aprovechar los recursos forestales de manera sustentable. Sin embargo, la expansión demográfica ha provocado la deforestación de una considerable superficie boscosa para la construcción de carreteras, lo que constituye la principal causa de pérdida de cobertura vegetal, alterando los ciclos naturales de recuperación de los ecosistemas (CONANP, (s.f.-e); CONABIO, 2011; SITEP, (s.f.)).

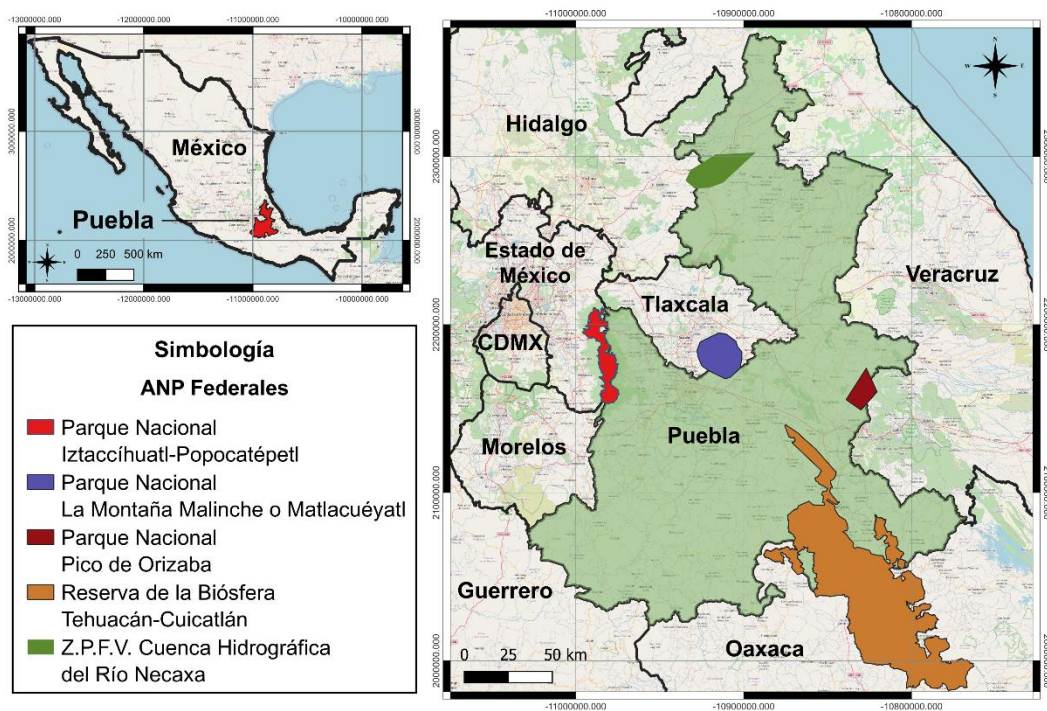


Figura 2. Áreas Naturales Protegidas de jurisdicción Federal en el Estado de Puebla. Adaptado del Sistema de Información Territorial del Estado de Puebla [SITEP] e Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI] (2022). Elaboración propia.

2.4.2.2 Áreas Naturales Protegidas Estatales en Puebla.

Además de esta clasificación a nivel federal, se encuentran sitios que, debido a sus características únicas, son representativos del estado, por lo que su cuidado y preservación se considera de gran importancia. Por ello, se establecen dos clasificaciones señaladas en el Artículo 63 de la LPANDSEP, como se describen a continuación (Figura 3).

- **Parques Estatales.**

La LPANDSEP menciona que los parques se constituirán de acuerdo con las regiones ecológicas y representaciones biogeográficas que contienen uno o más ecosistemas. Esto se lleva a cabo con respecto a su belleza escénica, su valor científico e histórico, su potencial educativo y recreativo, la presencia de flora y fauna, así como su capacidad para el desarrollo del ecoturismo, entre otras razones de interés social. En esta clasificación se realizan acciones de protección y aprovechamiento sustentable de los recursos naturales, así como la preservación de los ecosistemas y sus elementos. Además, son lugares propicios para fomentar actividades de divulgación, investigación científica, recreación, turismo de naturaleza y educación ambiental (LPANDSEP, 2022, Artículo 67).

En el marco de esta clasificación, el estado de Puebla cuenta con las siguientes áreas naturales protegidas en la categoría de Parque Estatal:

- **Parque Estatal Lagos de Tepeyahualco y Guadalupe Victoria:**

Se localiza en los municipios de Tepeyahualco y Guadalupe Victoria, en la región de la sierra Nororiental. Su extensión total es de 38,183.69 ha., de las cuales 37,766.01 ha. son terrestres y 417.68 ha. son acuáticas. Su posición geográfica le permite albergar cinco ecosistemas, como el bosque de pino, pino-encino, bosque de táscate, matorral desértico rosetófilo y pastizal halófilo. Esta gran variedad de ecosistemas permite la existencia de un gran número de especies de flora y fauna. Muchas de ellas se encuentran bajo algún criterio de protección de acuerdo con la NOM-059-SEMARNAT-2010.

La importancia biológica de esta zona se debe a que brinda refugio a diferentes aves migratorias, y contribuye a la recarga de los mantos acuíferos. Se enfrenta a grandes desafíos como la deforestación, la sobreexplotación del recurso hídrico para la agricultura, contaminación del agua, eutrofización y el cambio climático. Fue declarado Parque Estatal el 15 de noviembre de 2018 (SITEP, (s.f.); Romero Gómez, 2020).

- **Parque Estatal Humedal Valsequillo:**

Comprende los municipios de Cuautinchan, Ocoyucan, Puebla y Tzicatlacoyan. Se ubica en la región del Valle de Puebla. Tiene una superficie total de 13,784.34 ha. de las cuales 10,952.34 ha. son terrestres y 2,832 ha. son acuáticas. Se pueden distinguir siete ecosistemas característicos, como el bosque tropical caducifolio, bosque de encino, pastizal, bosque de coníferas, matorral xerófilo, palmar y bosque de galería, además de poseer cuatro tipos de humedales. Se caracteriza principalmente por albergar una gran cantidad de aves endémicas, así como una gran diversidad de flora y fauna, muchas de ellas se encuentran en la NOM-059-SEMARNAT-2010 bajo distintas categorías de protección. Es uno de los sitios más contaminados de Puebla, ya que recibe aguas de los ríos Atoyac y Alseseca, los cuales transportan en su efluente una gran cantidad de desechos provenientes de la industria textil, química, de la construcción, automotriz y petroquímica, lo que representa un riesgo a la salud de las especies que habitan la zona y la población circundante. Fue declarado Parque Estatal el 11 de abril de 2012 (SITEP, (s.f.); Berumen Solórzano et al., 2017).

- **Reservas Estatales.**

La LPANDSEP establece que las Reservas Estatales se constituyen por zonas que representan uno o más ecosistemas que han sufrido alteraciones ocasionadas por desastres naturales o por las actividades humanas, y, por lo tanto, requieren ser restaurados y preservados. Estas áreas albergan especies representativas de la biodiversidad del estado, incluyendo aquellas catalogadas como endémicas, amenazadas o en peligro de extinción.

En esta clasificación se definen dos zonas; la zona núcleo, que se caracteriza por tener ecosistemas que no han sido significativamente alterados o que estén mejor conservados, la cual permite realizar actividades de preservación de los ecosistemas, investigación científica y de educación ambiental. La segunda zona es la de amortiguamiento, donde se pueden llevar a cabo actividades productivas que sean compatibles con los programas de

aprovechamiento sustentable que protejan a la zona núcleo de influencias externas (LPANDSEP, 2022, Artículo 68).

Dentro de esta categoría, se encuentran las siguientes áreas naturales protegidas:

- **Reserva Estatal Cerro Zapotecas.**

Se encuentra en el municipio de San Pedro Cholula, en la región del Valle de Puebla. Tiene una superficie de 536.45 ha. y fue declarada Reserva Estatal el 26 de noviembre de 2008. La importancia de esta Reserva radica en que, a pesar de la perturbación que el crecimiento demográfico y el cambio de uso de suelo han causado, aún conserva zonas de bosque templado relativamente conservadas. Forma parte del corredor biológico entre el Parque Nacional Iztaccíhuatl-Popocatepetl y el Parque Nacional La Malinche. La población aledaña reconoce los servicios ambientales que el Cerro Zapotecas les proporciona, como la purificación del aire, la regulación del ciclo hidrológico (evitando inundaciones), el mantenimiento de la fertilidad de los suelos, así como el resguardo de especies endémicas de flora y fauna. Las principales amenazas que enfrenta la Reserva son la deforestación y la fragmentación del ecosistema (SITEP, (s.f.); Neri Suárez et al, 2016).

- **Sierra del Tentzo**

Comprende los municipios de Atlixco, Atoyatempan, Huaquechula, Huatlatlauca, Huehuetlán El Grande, Molcaxac, Ocoyucan, Puebla, San Diego La Mesa Tochimiltzingo, San Juan Atzompa, Teopantlán, Tepeojuma y Tzicatlacoyan. Se encuentra en las regiones de la Mixteca y el Valle de Atlixco, abarcando una superficie de 57,815.28 ha. Se caracteriza por poseer una gran variedad de ecosistemas, como el bosque tropical y templado, selva baja caducifolia y matorral xerófilo. Esta diversidad permite el desarrollo de especies representativas y endémicas de dichos ecosistemas, algunas de las cuales se encuentran bajo algún tipo de protección de acuerdo con la NOM-059-SEMARNAT-2010.

La Sierra del Tentzo desempeña un papel fundamental en la conservación del ciclo hidrológico al ser parte de la cuenca del río Atoyac. El impacto ambiental que ha sufrido esta zona se debe en gran medida al crecimiento demográfico descontrolado, el cambio de uso de suelo para la agricultura y ganadería, la deforestación y la tala ilegal. La contaminación del suelo por el uso de pesticidas ocasiona a su vez la contaminación del agua y el aire. Fue declarada Reserva Estatal el 29 de abril de 2011 (SITEP, (s.f.); Periódico Oficial del Estado de Puebla [POE], 2011; Secretaría de Sustentabilidad Ambiental y Ordenamiento Territorial [SSAOT], 2011).

- **Reserva Estatal Flor del Bosque.**

Se encuentra en los municipios de Amozoc y Puebla en la región del Valle de Puebla. Abarca una superficie de 1,501.67 ha. y fue designada como Reserva Estatal el 14 de julio de 2022. Presenta un clima templado subhúmedo con lluvias en verano, lo que favorece la presencia de diversos ecosistemas, como el bosque de encino, matorral espinoso, pastizal y bosque de eucalipto. La Reserva alberga una gran diversidad de flora y fauna, algunas de ellas endémicas, además de brindar refugio a aves migratorias. Forma parte importante del

corredor biológico entre la Sierra del Tentzo, el Parque Nacional La Malinche y el Parque Nacional Iztaccíhuatl-Popocatepetl.

Entre los servicios ambientales que provee se encuentran la purificación del aire, la conservación del suelo, la reducción del ruido, la disminución de la temperatura, y el mantenimiento del ciclo hidrológico. A pesar de su importancia ecológica, las estrategias para su conservación no han sido implementadas. Por lo tanto, la Reserva se enfrenta a diversas amenazas, como la deforestación para cambio de uso de suelo, la expansión demográfica y crecimiento de la mancha urbana, lo que causa la fragmentación del ecosistema. Además, muchas de las especies que alberga se encuentran en alguna categoría de riesgo en la NOM-059-SEMARNAT-2010 (SITEP, (s.f.); CONABIO, 2011; Secretaría del Medio Ambiente, Desarrollo Sustentable y Ordenamiento Territorial [SMADSOT], 2020).

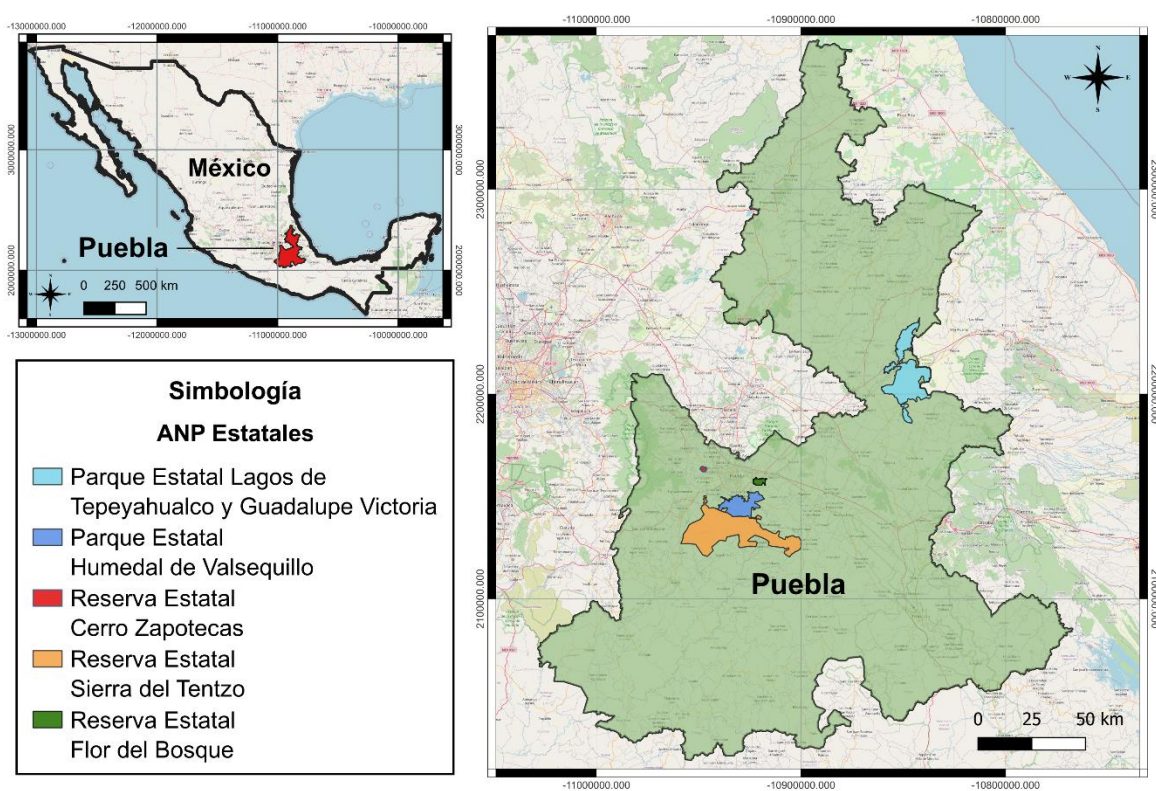


Figura 3. Áreas Naturales Protegidas de jurisdicción Estatal en Puebla. Adaptado del Sistema de Información Territorial del Estado de Puebla [SITEP] e Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI] (2022). Elaboración propia.

Las áreas naturales protegidas son fundamentales para la conservación de la biodiversidad, el patrimonio cultural y el desarrollo científico. Desempeñan un papel importante en la conservación de las especies, incluido el ser humano, ya que proveen de incontables beneficios a través de los servicios ambientales que ofrecen. La responsabilidad de cuidar y gestionar adecuadamente las ANP recae principalmente en tres actores: las autoridades, quienes deben garantizar la eficiente administración y vigilancia, asegurando que se cumplan las normas y disposiciones que establece el marco legal; los científicos quienes

realizan importantes trabajos de investigación sobre los ecosistemas y sus interacciones y que proporcionan información importante que contribuye a su conocimiento y cuidado; y de los ciudadanos cuya participación es fundamental para el aprovechamiento sustentable de los recursos naturales. Si bien existen bases jurídicas sólidas y regulaciones destinadas a garantizar la preservación de las ANP, en ocasiones resultan ser insuficientes.

Las actividades humanas, tanto directas como indirectas, impactan negativamente a los ecosistemas. La explotación de recursos naturales, la expansión urbana descontrolada, la contaminación ambiental y el cambio climático son las principales amenazas que enfrentan las áreas naturales protegidas. Ante este panorama, es fundamental concientizar a la población sobre la fragilidad y vulnerabilidad de estas áreas. Además, se requiere implementar acciones en conjunto por parte de todos los actores involucrados para asegurar la protección efectiva de estos espacios, con el fin de mejorar las condiciones que permitan gozar de una mejor calidad de vida (CONABIO, 2011).

2.5 Impacto ambiental en las Áreas Naturales Protegidas.

El uso indiscriminado de los recursos naturales ha provocado el deterioro de los ecosistemas, impidiendo su capacidad de renovación y recuperación. El crecimiento descontrolado de la población ha intensificado este problema, ya que las áreas verdes se ven modificadas por la construcción de nuevas viviendas, industrias y vías de comunicación. Hace unas décadas se pensaba que esta explotación no traería consecuencias negativas, sin embargo, la población demanda mayor producción de alimentos, lo que propicia el cambio de uso de suelo para actividades agrícolas y ganaderas. Esto genera una alteración en la dinámica climática y el equilibrio ecosistémico, no sólo a nivel local, sino también regional y global.

Los impactos ambientales en los sistemas naturales son numerosos y complejos, y comprometen la calidad de vida de la población y de toda la biodiversidad. Por ello es pertinente abordarlos desde su complejidad, con la finalidad de conocer la forma en la que nuestras actividades repercuten en los ecosistemas, y de esta manera hacerles frente para minimizar estos daños. Estas amenazas pueden tener diferentes vertientes, aunque las que presentan mayor urgencia se mencionan a continuación.

• Cambio climático.

El cambio climático es un proceso natural, fundamental para el desarrollo de la vida en el planeta. Sin embargo, en los últimos años se ha intensificado principalmente por la intervención humana. Las actividades antropogénicas, como la quema de combustibles fósiles, las emisiones a la atmósfera por la industria, los incendios forestales, incineración de residuos, entre otros, generan grandes cantidades de gases de efecto invernadero que atrapan el calor en la atmósfera, agravando el efecto invernadero natural. Este aumento de las temperaturas está provocando una serie de cambios en el clima del planeta, como la alteración del ciclo hidrológico, la frecuencia e intensidad de las lluvias y sequías, el aumento en el nivel del mar, alteración de la salinidad del agua y la incidencia de fenómenos climatológicos extremos, como olas de calor, tormentas y huracanes.

El cambio climático afecta la distribución de las especies en perjuicio de algunas que son más sensibles a estos cambios, y beneficiando a otras, mejorando su tolerancia. Las especies que no pueden adaptarse a las nuevas condiciones climáticas disminuyen su población, mientras que las que logran adaptarse, como algunos organismos patógenos, se benefician de las temperaturas más cálidas, aumentando su población y resistencia. La vegetación también se ve afectada, pues sus patrones de floración y germinación se modifican, causando una alteración en el ciclo migratorio de insectos y aves (SEMARNAT, 2019).

En consecuencia, el cambio climático también tiene un impacto negativo en la economía y el desarrollo de la población. Las temporadas de cosecha y siembra se ven afectadas al cambiar la temporada de lluvias, disminuye la cantidad y calidad del agua para el riego y aumenta el riesgo de aparición de plagas y enfermedades resistentes. Esto ocasiona un riesgo directo en la seguridad alimentaria, el acceso a agua potable y compromete la salud de la población. Por ello, el cambio climático es una amenaza real, no solo para la biodiversidad, sino para toda la población, y es importante identificar los fenómenos que se agravan por las actividades antropogénicas, y con ello tomar medidas urgentes para mitigar estos daños.

- **Erosión.**

La erosión es un proceso en el que el suelo sufre un desgaste. Al igual que otros fenómenos que impactan a los ecosistemas, la erosión puede originarse de manera natural. Existen dos tipos principales, la erosión hídrica y la erosión eólica. Ambos tipos de erosión se ven influenciados por la susceptibilidad del suelo y la cobertura vegetal, aunque en la erosión eólica también intervienen otros factores como la rugosidad del suelo y el clima, y en la hídrica interviene la intensidad de la lluvia. Se presenta con mayor frecuencia en ecosistemas áridos, semiáridos y secos, pero también puede presentarse en bosques, sobre todo con algún grado de perturbación (SEMARNAT, 2019).

Por otro lado, la erosión puede ser causada por la actividad antropogénica, debido a la deforestación, la agricultura y ganadería intensivas y la construcción de infraestructura. La erosión es uno de los problemas más serios a los que se enfrentan los ecosistemas debido a la rapidez con la que se ha extendido. Se asocia a la pérdida de biodiversidad, la pérdida de la capacidad del suelo para la producción de alimentos, la pérdida de procesos biológicos importantes que se llevan a cabo por los microorganismos, la disminución de la capacidad del suelo para infiltrar el agua y recargar los mantos acuíferos, aumentando la escorrentía (Brunel & Seguel, 2011).

- **Incendios forestales.**

Los incendios forestales pueden presentarse de manera natural, aunque también pueden ser generados por el hombre, accidental o intencionalmente. De forma natural, los incendios pueden abrir claros en el bosque que mejoran la captación de luz para los árboles, modificar la composición del suelo al quemar la materia orgánica y hacerla biodisponible, e incluso el calor del fuego puede ayudar a la germinación de las semillas de algunas especies. De forma intencional, los incendios son producidos con el fin de eliminar los recursos maderables para

dar paso a terrenos cultivables o de pastoreo. Estos incendios tienen efectos negativos considerables, no sólo la muerte de los árboles, sino también de la fauna que tiene movilidad limitada o que no puede escapar de las llamas. Además, se emiten grandes cantidades de gases de efecto invernadero a la atmósfera, lo que agrava el fenómeno del cambio climático. Un ecosistema que ha sido afectado por un incendio forestal queda sumamente debilitado, por lo que es más fácil que las plagas y enfermedades puedan dañarlo (SEMARNAT, 2019).

- **Cambios de uso de suelo.**

El cambio de uso de suelo se debe principalmente a la conversión de áreas verdes en campos de cultivo o zonas de pastoreo, así como el crecimiento de asentamientos humanos y la construcción de infraestructura, como viviendas, industrias y vías de comunicación. A la acción de retirar por completo los árboles de una zona forestal se denomina deforestación, cuando se presenta una modificación en la cobertura vegetal sin necesidad de retirarla en su totalidad se habla de degradación. Si la modificación del ecosistema se da en pequeñas fracciones, formando regiones aisladas de vegetación, se denomina fragmentación.

Este cambio de uso de suelo no solo afecta a las zonas boscosas, sino también a los matorrales, cuyo deterioro puede generar la desertificación. Los ecosistemas marinos, como humedales, manglares y costeros, también se ven afectados por este proceso, al transformarse en sitios para producción acuícola o construcción de centros recreativos. Este fenómeno está estrechamente relacionado con la pérdida de biodiversidad y los servicios ambientales que proveen los ecosistemas, además, agrava los efectos del cambio climático, pues se producen pérdidas de carbono orgánico del suelo y con ello la emisión de gases de efecto invernadero a la atmósfera (CONABIO, 2011; SEMARNAT, 2019).

- **Deforestación:** Como se ha mencionado anteriormente, la deforestación se debe a la transformación de terrenos a zonas agropecuarias. Los ecosistemas más afectados por este proceso son las selvas subhúmedas y húmedas, matorral xerófilo, bosques templados, pastizales y bosque mesófilo de montaña (SEMARNAT, 2019)
- **Degradación:** Proceso también conocido como desertificación, es el deterioro que sufren los ecosistemas de clima árido, semiárido y seco subhúmedo, el cual se presenta por la pérdida de uno más de factores como la capacidad productiva, de suelo, de cobertura vegetal, de biomasa, de biodiversidad, de los servicios ecosistémicos y de resiliencia ambiental (SEMARNAT, 2019).
- **Fragmentación:** Es la eliminación de la vegetación original de una zona, ocasionando la pérdida de continuidad del ecosistema, y con ello, cambios en las poblaciones de flora y fauna. La fragmentación puede ser causada por fenómenos naturales como el viento, tormentas, derrumbes, incendios forestales, entre otros. Sin embargo, este problema se ha agravado considerablemente debido a las actividades humanas, principalmente por el cambio de uso de suelo para la agricultura y la ganadería.

Una vez que este proceso comienza, las modificaciones se dan de forma gradual, hasta el punto de modificar el ecosistema en su totalidad al convertir el ecosistema en un área inerte. La fragmentación del bosque reduce la cobertura vegetal y aísla a las poblaciones de animales y plantas, ocasionando la disminución de la biodiversidad. Las especies que requieren de un área determinada para su desarrollo condenan su supervivencia, y el

desplazamiento libre de las especies se ve interrumpido afectando el funcionamiento de los corredores biológicos. Además, la fragmentación limita la diversidad genética, lo que puede conducir a la extinción de las especies (SEMARNAT, 2019; Navarro Rodríguez et al, 2015).

- **Organismos patógenos.**

Existen algunos insectos que pueden causar daños considerables en las áreas naturales protegidas, como los barrenadores (*Conophthorus sp.*), defoliadores y chupadores. Sin embargo, uno de los insectos más peligrosos para los bosques es el descortezador (*Dendroctonus sp, Ips sp*), un escarabajo que se alimenta del tejido interno de los árboles los cuales conducen nutrientes. Si bien estos insectos cumplen una función importante en el control biológico de árboles enfermos o débiles, los incendios y la deforestación aumentan la vulnerabilidad los recursos forestales y los hacen más susceptibles a la infestación. Además, el cambio climático genera temperaturas más cálidas, lo que mejora las condiciones para la proliferación de este insecto y aumente su población (Comisión Nacional Forestal [CONAFOR], 2021; SEMARNAT, 2016).

Existe otro tipo de plaga que amenaza a la cobertura vegetal. Se trata de plantas parásitas, como el muérdago. Esta planta es dispersada por las aves, cuando ingieren sus semillas y defecan sobre las ramas de los árboles. Los nutrientes que requiere el muérdago no los puede tomar directamente del suelo, por lo que, una vez que se desarrolla en las ramas de los árboles, absorbe sales y minerales de ellas, ocasionando la muerte de su hospedero (CONABIO, 2011; Marchal Valencia, 2009).

- **Introducción de especies invasoras.**

Las especies invasoras pueden llegar a un ecosistema de manera intencionada o accidental, a través del aire, del suelo o del agua. Cuando se introduce una especie por sus cualidades, ya sea para su aprovechamiento económico, ornamental u otro fin, estas pueden adaptarse rápidamente al nuevo ambiente, desplazando a las especies nativas e incluso, desarrollan capacidad de depredación. Además, compiten con las especies locales por alimento o espacio, modifican el hábitat y se reproducen con individuos nativos, causando hibridación. Se considera un serio problema para los ecosistemas, pues representa la segunda causa de pérdida de biodiversidad (SEMARNAT, 2016; Ríos & Vargas, 2003).

- **Defaunación.**

La defaunación es un proceso de pérdida de biodiversidad que se caracteriza por la disminución de poblaciones de animales silvestres, tanto en número de especies como en abundancia de individuos. Este fenómeno, que podría asemejarse a la deforestación en cuanto a su impacto ambiental, debe ser abordado con la misma seriedad que los temas de contaminación y cambio climático.

Las actividades antropogénicas, como la caza, la extracción y tráfico ilegal de especies y la conversión de hábitats para la agricultura y ganadería son las principales causas de la defaunación. Este problema tiene graves consecuencias para los ecosistemas, pues se ha

determinado la importante relación de la vida silvestre con respecto al funcionamiento de los sistemas naturales. Pueden surgir efectos negativos en la polinización al disminuir la población de los insectos, modificando el control biológico de plagas, afecta el ciclo de los nutrientes al disminuir la población de especies descomponedoras, altera la calidad del agua al disminuir la fauna que regula el crecimiento de algas en ríos o lagos, contribuyendo a su eutrofización. La pérdida de fauna no sólo afecta la salud de los ecosistemas, sino también de la población, pues los servicios ecosistémicos que proveen las áreas naturales se ven afectados. Puede desencadenar la proliferación de vectores transmisores de enfermedades, daño en cultivos, pérdida de alimentos y la inminente extinción de especies (Dirzo et al, 2014; SEMARNAT, 2016).

- **Sobreexplotación.**

La crisis ambiental actual que enfrenta nuestro planeta se debe en gran medida a la sobreexplotación de los recursos naturales. La creciente demanda por parte de la población conduce a una extracción desmedida que no permite su regeneración natural. Este fenómeno afecta a todos los recursos, como el suelo, que, al ser aprovechado para la agricultura, su capacidad de recuperación disminuye, pierde nutrientes y fertilidad, volviéndose susceptible a la erosión. Un suelo erosionado no puede filtrar el agua a los mantos freáticos, impidiendo su recarga. La deforestación provocada por la tala ilegal de bosques genera la pérdida de cobertura vegetal y hábitat, afectando a las especies silvestres, poniendo en riesgo su supervivencia. La extracción indiscriminada de especies sin respetar sus ciclos de reproducción conduce a la disminución de sus poblaciones, y en algunos casos, a su extinción. Además, la extracción excesiva de agua para la agricultura, la industria y el consumo doméstico ha causado la disminución de los niveles de agua subterránea a un ritmo alarmante (SEMARNAT, 2016; CONABIO, 2011).

- **Degradación de hábitats.**

La degradación de los hábitats es un problema que no se limita únicamente a los ecosistemas terrestres, sino que también afecta de manera significativa a los ecosistemas marinos y costeros (Cortés et al, 2020). Esta amenaza constante conlleva una serie de efectos devastadores, como el desplazamiento de especies, escasez de alimentos y la reducción de las poblaciones de flora y fauna, lo que pone en riesgo la supervivencia de diversas especies. Esto desencadena un efecto en cascada que pone en riesgo el delicado equilibrio de los ecosistemas.

- **Contaminación.**

La contaminación representa una de las amenazas más serias tanto para los sistemas naturales como para la humanidad. Si bien la contaminación impacta de manera directa a los habitantes urbanos, quienes están expuestos a las emisiones originadas por las actividades antropogénicas, no se debe subestimar su alcance en comunidades rurales y áreas naturales protegidas, pues a pesar de su lejanía, no están exentos de experimentar los efectos nocivos del deterioro ambiental.

Dado que el medio ambiente constituye un sistema complejo que involucra diversos fenómenos que están interrelacionados, abordarlo desde esta perspectiva permite reconocer la gran cantidad de elementos que influyen en él. En este sentido, los contaminantes pueden surgir de distintas fuentes, ser de naturaleza distinta y actuar de diferentes formas, incluso potenciar sus efectos al interactuar con otros (CONABIO, 2011). Es importante destacar que el aire, el agua y el suelo, son los compartimientos ambientales más afectados, y que tanto la vegetación como la fauna silvestre también pueden sufrir graves consecuencias por la exposición a estos contaminantes.

La contaminación antropogénica del aire se origina a partir de la emisión de gases provenientes de la industria, de la quema de combustibles fósiles, la liberación de aerosoles, entre otros procesos humanos. Impacta directamente en la biodiversidad, ya que los contaminantes presentes en el aire pueden precipitar, generando lluvia ácida que puede dañar los bosques y los cuerpos de agua (SEMARNAT, 2019).

El suelo también se ve gravemente afectado por la contaminación que surge del uso indiscriminado de fertilizantes y pesticidas, derrame de sustancias químicas y la inadecuada disposición de residuos sólidos. Recientemente se ha destacado la contaminación por microplásticos, cuya degradación es extremadamente lenta, representando un riesgo para los organismos que no son capaces de asimilarlos (Castañeta et al, 2020).

La contaminación del agua puede ocurrir por la descarga de aguas residuales sin tratamiento adecuado, derrames de hidrocarburos y la filtración de lixiviados procedentes de sitios de disposición final de residuos. Además, la contaminación atmosférica puede precipitar sobre el suelo y cuerpos de agua, lo que agrava aún más el problema (SEMARNAT, 2019). Este fenómeno de dispersión de contaminantes a través del viento es especialmente preocupante, ya que los contaminantes pueden viajar grandes distancias desde su origen, impactando a las áreas naturales protegidas.

Los impactos de la contaminación en el ecosistema son diversos. Por ejemplo, el dióxido de azufre (SO₂) y el ozono (O₃) pueden causar daños en la vegetación (Tellechea et al, 2014), mientras que los metales pesados suelen permanecer por mucho tiempo en el lugar donde se depositan, produciendo bioacumulación y biomagnificación en los organismos (Sojka et al, 2022). Esto repercute en los distintos niveles de la cadena trófica, poniendo en riesgo el equilibrio del ecosistema. La presencia de sustancias tóxicas en el agua afecta la salud de los organismos, interfiriendo en su desarrollo (CONABIO, 2011).

Por lo tanto, es fundamental llevar a cabo investigaciones en el campo de la ecotoxicología para evaluar los efectos de la contaminación en los organismos y desarrollar estrategias de conservación y mitigación. Aunque el establecimiento de las áreas naturales protegidas es una medida importante para salvaguardar la biodiversidad, no es suficiente para resguardarla de los complejos problemas de contaminación.

2.6 Ecotoxicología.

La ecotoxicología, como rama de la toxicología, se enfoca en comprender los fenómenos relacionados con la distribución, el transporte y destino de las sustancias tóxicas contaminantes, así como en analizar sus efectos tanto directos como indirectos. Además, busca determinar su origen, que puede ser tanto natural como sintético, y puede manifestarse en forma de agentes químicos, físicos o biológicos. Estas sustancias, que, al estar presentes en mayor concentración debido a las actividades antropogénicas, tienen un impacto significativo en los ecosistemas y sus funciones (Carriquiriborde, 2021). Debido a esta complejidad de causas y efectos, la ecotoxicología requiere de la colaboración con otros campos de estudio, lo que la convierte en una ciencia interdisciplinaria.

De acuerdo con Newman (2014), la ecotoxicología plantea principalmente tres objetivos: científicos, tecnológicos y prácticos. El objetivo científico se enfoca en generar conocimiento sobre cómo los contaminantes afectan la red y los niveles tróficos, así como en analizar la forma en que actúan sobre los organismos y la respuesta ante estos tóxicos. Además, busca comprender los fenómenos de bioacumulación y biomagnificación. El objetivo tecnológico se centra en implementar herramientas basadas en este conocimiento y desarrollar metodologías que contribuyan a evaluar la compleja dinámica de los contaminantes y sus efectos, como el desarrollo de biomodelos, la detección a través de biomarcadores, programas de monitoreo, pruebas “*in vitro*” y evaluaciones de riesgo toxicológico. Por su parte, el objetivo práctico se concentra en aplicar los conocimientos y técnicas desarrolladas para resolver problemas específicos, principalmente a nivel local y en un corto plazo (Newman, 2014).

El cumplimiento de estos tres objetivos sugiere el establecimiento de regulaciones más estrictas en cuanto a los niveles permitidos de descargas y emisión de contaminantes, así como mejorar las condiciones laborales de las personas en sus centros de trabajo. Además, garantizan la confiabilidad de las investigaciones y proporcionan certeza sobre los resultados obtenidos durante los estudios, adaptándose a los nuevos problemas ambientales y las nuevas metodologías que se establezcan.

Es fundamental destacar que la ecotoxicología ha evidenciado la capacidad destructiva de los contaminantes en el medio ambiente, así como la salud de las especies animales y vegetales y, por su puesto, su repercusión en los seres humanos. Por tanto, los avances en el campo de esta disciplina son cruciales para visibilizar el daño que estos contaminantes pueden causar, así como crear conciencia sobre el uso indiscriminado de sustancias tóxicas sin considerar el impacto en el medio ambiente.

A pesar de las numerosas investigaciones y avances realizados, la ecotoxicología todavía enfrenta numerosos desafíos, como los efectos a largo plazo de los contaminantes en bajas concentraciones, o los efectos de los contaminantes emergentes, como es el caso de los productos de belleza. Además de profundizar en el análisis del potencial efecto de los contaminantes en interacción con otros. No obstante, desde la década de 1970, estas

investigaciones han cobrado mayor relevancia, empleando modelos biológicos que pueden proporcionar resultados precisos sobre la manifestación de estos daños.

2.6.1 Biomodelo.

El avance de la tecnología y la elaboración de nuevas metodologías han permitido realizar estudios más detallados de los efectos toxicológicos mediante pruebas en organismos vivos. Estos organismos son expuestos a diferentes sustancias, como medicamentos, químicos y ciertos contaminantes, con el fin de evaluar la respuesta ante esta exposición. Por ejemplo, se han utilizado modelos biológicos vegetales como el ajo (*Allium sativum*) y la cebolla (*Allium cepa*) en investigaciones toxicológicas como la realizada por Velázquez-Vázquez et al (2022), donde se demostró el efecto citotóxico de *Sambucus canadensis* en el ajo. Este estudio revela la importancia de considerar los posibles efectos tóxicos de las plantas medicinales utilizadas de manera indiscriminada. Por su parte, Covarrubias-López et al (2023) evidenció el daño celular causado en la cebolla por la exposición a agua contaminada de la Presa Echeverría y el Río Rabanillo, en el estado de Puebla.

Los peces son organismos idóneos para la investigación debido a la forma en la que realizan sus procesos de homeostasis, como la osmorregulación, así como el funcionamiento de su sistema endócrino, nervioso e inmunológico, que, en comparación con otros organismos invertebrados, están más desarrollados (Laborde, 2021).

El pez cebrá en particular (*Danio rerio*) ha destacado por ser un modelo biológico muy versátil, principalmente en ciencias biomédicas y en biología de la reproducción (Lieschke & Currie, 2007). Es un pez teleosteo de la familia *Cyprinidae*, proveniente de la región tropical donde suele encontrarse en vida silvestre en la India, Bangladesh, Nepal, hasta Myanmar. La vida media de este pez es de 3 años en vida libre para un máximo de 5 años en condiciones de laboratorio (Kishi et al., 2009; Çelebi et al., 2023; Borges et al., 2020).

Este pez ha sido objeto de estudio a lo largo de todas las etapas de su desarrollo, desde embrión hasta su fase adulta. Su relevancia radica en que su genoma es hasta un 70% similar al del humano y posee más del 84% de los genes relacionados con enfermedades que afectan al hombre (Copper et al., 2018). Gracias a estas características, el pez cebrá se convierte en uno de los modelos de experimentación más apropiados para la investigación, ya que los resultados que se obtienen pueden extrapolarse a otros vertebrados, incluso al hombre (Laborde, 2021). Como resultado de estas investigaciones es pertinente mencionar el estudio realizado por Estrada-Rivera (2018) donde mostró el terrible efecto que causa el agua residual proveniente de la industria textil, así como Prieto-García et al (2007) donde mostró el daño teratogénico causado por arsénico presente en el agua del pozo Zimapán, en el estado de Hidalgo.

2.6.2 Análisis histopatológico de órganos blanco como indicadores de contaminación del agua.

El uso de peces como modelo biológico es un método eficaz para evaluar la calidad del agua y el grado de contaminación de los ecosistemas. Cuando estos biomodelos acuáticos, como el pez cebra (*Danio rerio*) son expuestos a determinados contaminantes, pueden manifestar efectos a nivel molecular, lo que eventualmente resulta en lesiones a nivel tisular (Carrquiriborde, 2021).

El análisis histológico implica la observación de tejidos sanos con el fin de comprender su estructura y composición normal en condiciones saludables, lo que sirve como referencia al compararlo con tejidos que han sido expuestos a sustancias tóxicas. Para evaluar los efectos toxicológicos de los contaminantes sobre los tejidos de órganos blanco o diana se recurre a la histopatología.

La histopatología consiste en la obtención de muestras de tejido de órganos blanco con el fin de detectar cambios morfológicos o alteraciones en las células. Estos cambios, directa o indirectamente, son causados por la exposición a contaminantes (Borges et al., 2020; Yancheva et al., 2016). Este análisis permite establecer biomarcadores de los efectos tóxicos de la contaminación proveniente de las actividades antropogénicas (Santos et al., 2014) y son evidencia de la salud general tanto del ecosistema como de los organismos que lo habitan.

Las sustancias tóxicas pueden tener diferentes efectos en el organismo, siendo algunos órganos más susceptibles que otros. Además, su toxicidad puede variar, manifestándose de manera más intensa en uno o dos órganos específicos. Incluso después de la exposición inicial, estas sustancias pueden acumularse en otros órganos y ser liberadas con el tiempo (Gupta, 2020). De acuerdo con Newman (2014) los órganos blanco o diana son aquellos en donde el tóxico produce una lesión, ya sea durante el transporte del tóxico hasta llegar al órgano, su acumulación y activación en él. En el caso del pez cebra, los órganos blanco comúnmente empleados para análisis histopatológico suelen ser las branquias y el hígado.

Las branquias son vitales para los peces, ya que son responsables del intercambio gaseoso, la regulación iónica y ácido-base, la homeostasis osmótica, la excreción de desechos nitrogenados y constituyen la primera barrera de defensa que impide el ingreso de sustancias nocivas al organismo (Torres et al., 2010; Yancheva et al., 2016). Debido a su alta sensibilidad a los cambios en el agua, y a su exposición directa en ella, las sustancias tóxicas pueden alterar la morfología de las células branquiales, incluidas las células pavimentosas, mucosas, clorídeas y pilares. Esta alteración afecta tanto su función como su estructura, lo que pone en riesgo la salud general del pez (David-Ruales & Torres, 2010).

La exposición a ciertos contaminantes, como metales pesados y pesticidas, puede causar diversas lesiones en las branquias, incluyendo hiperplasia, fusión lamelar, degeneración del epitelio, hipersecreción de mucosa y necrosis. Sin embargo, la presencia de cambios morfológicos, como edemas y proliferación y fusión del epitelio, pueden ser mecanismos de defensa ante estos agentes tóxicos (Yancheva et al., 2016; Chovanec et al., 2003).

Por otro lado, el hígado desempeña un papel fundamental en el organismo del pez, contribuyendo tanto a funciones hematopoyéticas en las etapas tempranas (Rojas et al., 2013), como a funciones hepáticas y pancreáticas (Amaral et al., 2002). Además, realiza el procesamiento de lípidos, vitaminas, proteínas y carbohidratos, así como la síntesis de proteínas séricas (Vliegenthart et al., 2014). El hígado también se encarga del metabolismo de las sustancias que circulan por el torrente sanguíneo (Amaral et al. 2002; Torres et al., 2010), el cual se lleva a cabo por las enzimas del citocromo P450 (CYP) mediante reacciones de oxidación, reducción e hidrólisis. Participa en la biotransformación de compuestos tóxicos con el objetivo de inactivarlos y eliminarlos del organismo (Vliegenthart et al., 2014) Sin embargo, esta biotransformación puede generar metabolitos más tóxicos que la sustancia original, en un proceso conocido como bioactivación (Chovanec et al., 2003). Además, el hígado actúa como principal órgano de almacenamiento, lo que puede dar lugar a la bioacumulación de contaminantes (Yancheva et al., 2016).

La exposición a metales pesados y otros contaminantes orgánicos puede causar una serie de cambios histológicos en el hígado del pez cebra, incluyendo anomalías en la estructura de los hepatocitos, lesiones inflamatorias y fibrosis, así como dilatación de capilares sinusoidales, hiperemia, rotura de vasos sanguíneos, vacuolización del citoplasma por la acumulación de lípidos, picnosis, hipertrofia de los núcleos y colestasis, contribuyendo eventualmente a la muerte celular (Torres et al., 2010; Yancheva et al., 2016; Borges et al., 2020).

Es importante señalar que el análisis histológico de los tejidos expuestos a contaminantes no se considera un biomarcador específico, sin embargo, la histopatología sigue siendo un método válido, preciso y eficaz para determinar la toxicidad de los contaminantes en los peces. Por lo tanto, los cambios histopatológicos en las branquias e hígado resultan ser biomarcadores útiles de contaminación ambiental (Yancheva et al., 2016). También cabe destacar que los efectos de los contaminantes, como los ocasionados por la exposición a metales pesados, pueden variar según la magnitud del daño y la intensidad de la exposición, incluyendo la concentración y el tiempo de exposición. Incluso, algunos organismos tienen la capacidad de contrarrestar estos efectos, adaptándose a ciertas condiciones (Carriquiriborde, 2021).

2.7 Biomarcadores.

En el ámbito de la toxicología, la Organización Mundial de la Salud (OMS) define los biomarcadores como sustancias químicas, metabolitos, enzimas y otras moléculas presentes en tejidos o fluidos corporales que pueden ser medidas y que proporcionen información sobre la exposición a sustancias tóxicas, su concentración en el cuerpo y los posibles efectos en la salud, con el fin de prevenir el riesgo de enfermedades. Estos biomarcadores pueden ser funcionales, bioquímicos o moleculares, y son útiles para evaluar el riesgo de exposición a diferentes peligros, ya sean químicos, físicos o biológicos (WHO, 1993).

En el campo de la ecotoxicología, Newman (2014) define a los biomarcadores (también conocidos como bioindicadores) como cambios a nivel celular o tisular, en fluidos corporales,

fisiológicos o bioquímicos, que pueden ser cuantificados y que indican la presencia de un contaminante significativo. Otras definiciones los describen como cambios en una respuesta biológica que pueden estar relacionados con la exposición o efectos tóxicos de químicos ambientales (Cazenave et al., 2021). Es importante destacar que, según Newman (2014), los efectos tóxicos pueden generarse en cascada, es decir, que se manifiestan de la siguiente manera: bioquímico → subcelular → celular → tisular → orgánico → individual → poblacional → comunitario → ecosistémico → paisajístico → biosférico. Esto quiere decir que el conocimiento sobre los efectos en los niveles iniciales puede ser factor importante para determinar las causas y los posibles efectos en niveles posteriores.

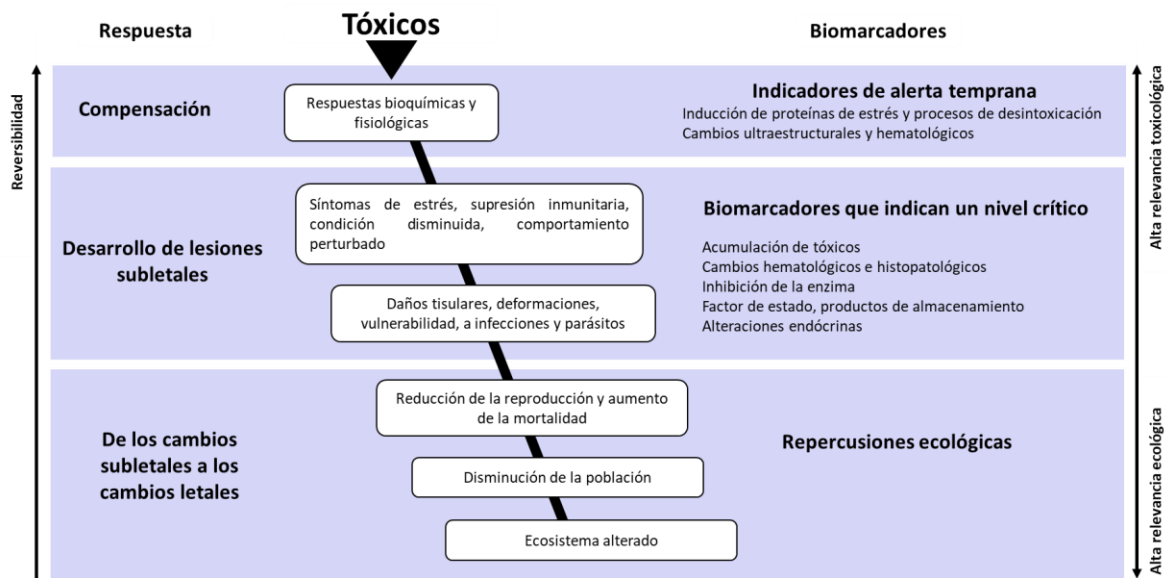


Figura 4. Niveles de respuesta de los peces expuestos a tóxicos y el uso de peces como bioindicador de contaminación ambiental. Adaptado de: Chovanec, A., Hofer, R., & Schiemer, F. (2003) "Fish as bioindicators". En B.A. Markert, A.M. Breure & H.G Zechmeister (Eds.), Bioindicators & Biomonitoring: Principles, Concepts and Applications. Trace Metals and other Contaminants in the Environment, vol. 6. Elsevier Science Ltd

La principal función de los biomarcadores es que funcionan como un sistema de alerta temprana a nivel de organismo, con el fin de prevenir efectos adversos o la ocurrencia de cambios en los niveles de organización superiores, como población, comunidad o ecosistema (Cazenave et al., 2021). Los peces, por ejemplo, son uno de los organismos más eficientes en cuanto a su uso como biomarcadores, ya que permiten determinar la gravedad de los efectos tóxicos en relación con la respuesta molecular y estructural, proporcionando una alerta temprana ante la exposición a contaminantes, así como respuestas de exposición subletales y cambios histopatológicos que sirven como señales de alarma que pueden ser extrapolables a niveles de población y, en consecuencia, a todo el ecosistema (Chovanec et al., 2003). Esta relación se puede apreciar en la Figura 4. Existen diversas clasificaciones de estos biomarcadores, sin embargo, la mayoría de los autores reconocen principalmente tres tipos: biomarcadores de exposición, de efecto y de susceptibilidad.

Los marcadores de exposición indican la presencia de una sustancia exógena, un metabolito o el producto de la interacción entre el tóxico y una molécula diana, lo que confirma que el individuo ha estado expuesto a una sustancia tóxica (Arango, 2012). Para esto se deben tomar muestras biológicas con el fin de identificar la presencia del tóxico. Por ejemplo, para determinar la exposición a metales pesados, se analiza la concentración de estos metales en la sangre (Organización Internacional del Trabajo [OIT], 2022).

Por otro lado, los biomarcadores de efecto señalan la respuesta del organismo ante la exposición a una sustancia tóxica o un contaminante. Estos cambios pueden ser bioquímicos, fisiológicos, histopatológicos o de comportamiento (Arango, 2012). En algunos casos, la exposición a sustancias tóxicas puede inducir la síntesis de proteínas en el cuerpo que ayuden a disminuirlas, como es el caso de las metalotioneínas que se unen a ciertos metales pesados con el fin de eliminarlos (OIT, 2022).

Finalmente, los biomarcadores de susceptibilidad se manifiestan en aquellos organismos particularmente vulnerables a la exposición o efectos tóxicos de los contaminantes, en comparación con otros. La genética y las características fisiológicas individuales son determinantes en la susceptibilidad (Cazenave et al., 2021; OIT, 2022).

Otra clasificación suele ser en cuanto a su especificidad, aunque esta clasificación es más ambigua debido a que no está bien definido los límites para agruparlos. Los biomarcadores específicos son aquellos que están directamente relacionados con un contaminante en particular, proporcionando evidencia clara de la exposición a la sustancia tóxica, lo que ayuda a prevenir sus efectos nocivos. Por ejemplo, la presencia de citocromo P450 puede indicar la exposición a hidrocarburos halogenados, o los cambios en el tejido de un órgano blanco por metales pesados (Markert et al., 2003). Por otro lado, los biomarcadores biológicos inespecíficos no indican una causa individual precisa del efecto observado, sino más bien un efecto global o generalizado de una exposición a múltiples contaminantes, o puede ser que el efecto presente no sea exclusivamente atribuible al contaminante en cuestión, sino que otros factores también pueden estar involucrados.

La detección de biomarcadores que confirmen la presencia de una sustancia tóxica en el organismo no representa un riesgo por sí misma, ya que intervienen múltiples factores, como el tiempo y la dosis de exposición, la susceptibilidad de la especie, la edad, el sexo y alimentación de los individuos, entre otros (Cazenave et al., 2021). Por lo tanto, la histopatología de órganos blanco como el hígado y las branquias en el modelo del pez cebra, así como la expresión de enzimas de detoxificación, son biomarcadores fundamentales para evaluar los efectos de los contaminantes en los organismos. En general, el uso de biomarcadores es una herramienta valiosa que permite detectar sustancias tóxicas antes de que causen un daño, prevenir la progresión de ese daño y proteger niveles superiores de organización. Esto contribuye al monitoreo ambiental para evitar problemas más complejos de contaminación (Torres et al., 2010).

2.7.1 Metalotioneínas.

La presencia de metales pesados en el medio ambiente puede inducir la síntesis de proteínas que ayuden a mitigar los efectos causados por estos elementos (Carrquiriborde, 2021). Estas proteínas se denominan metalotioneínas (MTs) y suelen ser empleadas como biomarcadores específicos de contaminación por la exposición a metales pesados (Cazenave et al., 2021; Sakulsak, 2012).

Las MTs fueron aisladas por primera vez en 1957 por Margoshes y Vallee del riñón de caballo, donde observaron que estas proteínas tenían la capacidad de unirse al cadmio, teniendo una posible participación en la desintoxicación de este metal. Posteriormente, fueron definidas por Kojima en 1999 como polipéptidos similares a la metalotioneína equina (Newman, 2014).

Las MTs pertenecen a una superfamilia de proteínas intracelulares compuesta por 15 familias. Son pequeñas y de bajo peso molecular, generalmente entre 6 y 7 kDa. Se unen a los metales a través de grupos tiol (-SH) de las cisteínas que las componen (Teoh et al., 2015; Sakulsak, 2012). Tienen una afinidad particular por ciertos metales siguiendo un patrón de afinidad que generalmente sigue el orden: $Zn < Pb < Cd < Cu < Ag < Hg < Bi$ (López, 2007) y participan en diversas funciones biológicas, como la captación, compartimentación interna, secuestro y excreción de metales esenciales como el zinc (Zn) y el cobre (Cu), los cuales son necesarios para llevar a cabo procesos metabólicos celulares, así como de metales no esenciales como el cadmio (Cd) y el mercurio (Hg) (Brown & Depledge 1998; Isani & Carpenè, 2014; Newman, 2014).

La inducción de las MTs ocurre en respuesta a altas concentraciones de metales pesados, lo que sugiere su participación en la homeostasis de estos elementos (Sakulsak, 2012; Yan & Chan, 2004). El secuestro de los metales pesados por estas proteínas reduce su efecto tóxico en el organismo. Sin embargo, aquellos metales que no se encuentren ligados a las MTs son más tóxicos y pueden acumularse en los tejidos (Nordberg & Nordberg, 2022),

Existen 4 isoformas de las metalotioneínas denominadas MT1, MT2, MT3 y MT4. En humanos se han detectado todas estas isoformas, mientras que en el pez cebra se han identificado las isoformas MT1 Y MT2 (Teoh et al., 2015). Las MTs secuestran los metales a través de la unión de cuatro cisteínas formando una estructura tetraédrica (Isani & Carpenè, 2014). En los mamíferos, las MTs están compuestas por cadenas de polipéptidos que contienen entre 61 y 68 aminoácidos, de los cuales 16-20 son cisteína. Estas proteínas están codificadas en el cromosoma 16, región q13 en humanos, mientras que en el pez cebra, las MTs se conforman por tres exones que codifican 60 aminoácidos con 20 residuos de cisteína conservados (Chen et al., 2004). La isoforma MT2 se localiza en el cromosoma 18 y una isoforma similar (denominada smtb) se localiza en el cromosoma 7 (Teoh et al., 2015).

Las MTs son comunes en la mayoría de las células (Brown & Depledge, 1998) y son ubicuas en una gran variedad de organismos, desde bacterias hasta el ser humano (Newman, 2014). Se pueden encontrar tanto en el citoplasma como en el aparato de Golgi de las células (López, 2007; Krężel & Maret, 2021). Asimismo, suelen encontrarse en todos los órganos, pero principalmente se sintetizan en mayor cantidad en el hígado, los riñones, los pulmones

y los intestinos (Newman, 2014). En los organismos acuáticos, las MTs se sintetizan en el hepatopáncreas y en las branquias (Amiard et al., 2006). Posterior a la expresión de las metalotioneínas se ha demostrado una mejora en la salud del individuo, disminuyendo los efectos de los metales tóxicos (Newman, 2014).

Dado que la síntesis de las metalotioneínas se presenta no solo ante la exposición a metales pesados, sino también a otras condiciones de estrés (Sakulsak, 2012), es importante profundizar más en su estudio con el fin de delimitar su función y su importancia como bioindicador de contaminación.

La gran variedad de escenarios en los que se pueden expresar las metalotioneínas resalta la importancia que representa en los organismos. Esto significa que las metalotioneínas tienen una participación fundamental en los mecanismos de adaptación y supervivencia de los organismos frente a la contaminación, pues las MTs no sólo se expresan ante la presencia de metales pesados, sino también a otras condiciones de estrés (Sakulsak, 2012). Por lo tanto, es importante profundizar en el estudio de estas proteínas para comprender su función y participación en el proceso de desintoxicación del organismo.

La identificación de condiciones específicas en donde se lleva a cabo la expresión de las MTs puede dar paso a nuevas oportunidades en el desarrollo de metodologías para el monitoreo ambiental que resulten más precisas y efectivas, con el fin de prevenir un impacto significativo en los ecosistemas por las actividades antropogénicas.

2.7.2 Superóxido dismutasa.

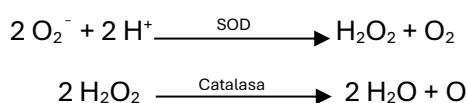
Los procesos metabólicos dentro de las células, como la cadena de transporte de electrones en las mitocondrias, pueden producir especies reactivas de oxígeno (ERO). Estas ERO constituyen un grupo de radicales libres basados en el oxígeno que contienen o producen un electrón no apareado, como el oxígeno molecular (O_2), el anión superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el radical hidroxilo ($-OH$), el peroxinitrito ($ONOO^-$) y el ácido hipocloroso ($HOCl$). Durante la respiración celular, el oxígeno molecular puede ser reducido a superóxido (O_2^-) o a peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (Sah & Kim, 2016; Jiménez & Merchant, 2003).

Generalmente, las ERO desempeñan un papel importante en los procesos celulares normales, ya que regulan la proliferación, diferenciación, crecimiento y apoptosis celular. Además, mantienen las señales celulares asociadas con respuestas inmunitarias, como la inflamación, y ante diversas enfermedades, como las patologías cardiovasculares, neurológicas y pulmonares. Cuando las ERO se generan en exceso, ya sea como resultado de la actividad normal de la célula o debido a la exposición de metales pesados, radiación ultravioleta o sustancias tóxicas, se produce estrés oxidativo. Este proceso conlleva a la desregulación de las señales enzimáticas y al daño de diversas biomoléculas, como lípidos, ácidos nucleicos y proteínas, dando como resultado una disfunción celular (Sah & Kim, 2016).

El superóxido y el peróxido de hidrógeno son moléculas medianamente reactivas con las biomoléculas. Sin embargo, el peróxido es aún más reactivo en presencia de metales como el hierro y el cobre, generando una reacción conocida como *reacción de Fenton*. Esto a su

vez, genera el radical hidroxilo (-OH), al que se le atribuye la mayor parte del daño oxidativo en los organismos, debido a que es sumamente reactivo (Jiménez & Merchant, 2003).

Con el objetivo de prevenir y contrarrestar los efectos del estrés oxidativo causado por los radicales libres de oxígeno, los organismos han desarrollado un sistema de defensa antioxidante. Este mecanismo se encarga de mantener niveles estables de ERO mediante la producción de antioxidantes tanto no enzimáticos, como el glutatión, el ácido úrico, vitamina C, como enzimáticos, entre los que destacan la superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa. La SOD es una enzima clave en este proceso, ya que cataliza la conversión del anión superóxido en peróxido de hidrógeno, que luego es transformado en agua y oxígeno molecular por la acción de la catalasa, como se muestra a continuación (Szymonik-Lesiuk et al., 2003; Ken et al., 2003; Jiménez & Merchant, 2003):



La SOD es la principal enzima antioxidante y detoxificadora de la célula. Su función consiste en la eliminación de los radicales superóxido y mantener niveles bajos de estos metabolitos en los tejidos. Esta enzima se encuentra presente en todas las células vivas y desempeña un papel fundamental en la neutralización de la toxicidad generada por las ERO, pues contribuyen significativamente al control y la prevención de enfermedades mencionadas anteriormente (Dang et al., 2016; Ken et al., 2003).

La SOD fue descubierta en 1939 por Mann y Keilin, quienes aislaron una proteína de eritrocitos bovinos que llamaron “hemocupreína”, con un peso molecular aproximado de 34 kDa. Posteriormente, se caracterizó una proteína de cobre proveniente de eritrocitos humanos, denominada “eritrocupreína” que presentaba una gran similitud en contenido de cobre y tamaño con la hemocupreína. Con el tiempo, se asoció su función con la dismutación de los radicales libres superóxido hasta que, en 1969, McCords y Fridovich describieron a la SOD como una metaloproteína encargada de la dismutación del radical superóxido, utilizando metales activos redox como el cobre, y con un peso molecular de 32 kDa (McCords & Fridovich, 1969; Ganesan, 2020).

Para llevar a cabo sus funciones biológicas y mantener una adecuada estructura, la SOD requiere cofactores metálicos, como Cu, Zn o Mn. Se han descrito tres isoformas localizadas en diferentes regiones subcelulares; SOD1 (Cu/Zn-SOD) se encuentra en el citosol y el núcleo; SOD2 (Mn-SOD) se encuentra en la mitocondria; y SOD3 (Cu/Zn-SOD) en la matriz extracelular. El papel del Cu^{+2} en la enzima es la de catalizar, mientras que el Zn^{+2} tiene una función meramente estructural. La SOD1, en su forma nativa, está constituida por 2 subunidades idénticas de peso molecular aproximado de 16 kDa, con un total de 32.2 kDa para el peso molecular del dímero. La SOD1 es la isoforma mayormente estudiada, la mejor caracterizada y es ubicua en todas las células eucariotas. (Dang et al., 2016; García et al., 1995; Ganesan, 2020)

A pesar de contar con este mecanismo de defensa, el estrés ambiental, como la contaminación y la exposición a sustancias tóxicas, puede aumentar significativamente las ERO, tanto en vertebrados como también en los peces, causando daños a nivel celular. Este daño puede evaluarse mediante cambios en la expresión de enzimas antioxidantes, como la expresión de SOD. Numerosas investigaciones han demostrado que los niveles elevados de la SOD en branquias de peces están estrechamente relacionados a la exposición a toxinas ambientales (Wu et al., 2015; Ganesan 2020)

En este sentido, el monitoreo y la detección de cambios en la expresión de SOD como biomarcador de exposición pueden proporcionar una alerta temprana de estrés en los organismos, lo que permite identificar problemas de contaminación y prevenir daños en niveles de organización superiores (Gagneten & Regaldo, 2021).

3. Planteamiento del problema.

La expansión demográfica está ejerciendo una fuerte presión sobre los sistemas naturales. El crecimiento descontrolado de la mancha urbana sin una planificación adecuada, afecta de forma significativa a las áreas naturales protegidas, como es el caso de la Reserva Estatal Flor del Bosque [REFB], la cual ha sido impactada por diversos problemas ambientales, incluida la deforestación, el cambio de uso de suelo destinado a la expansión de zonas habitacionales, los incendios forestales y plagas, ocasionando la pérdida de cobertura arbórea y el desplazamiento de especies hacia otras áreas, incluso a las zonas urbanas aledañas.

Sin embargo, uno de los problemas más apremiantes en la REFB podría ser la contaminación del agua, supuestamente por su proximidad con dos parques industriales, como el Parque Industrial Chachapa y el Parque Industrial Puebla 2000, así como su ubicación cercana a importantes vías de comunicación como el Periférico Ecológico y la carretera federal Puebla-Tehuacán donde diariamente circulan una gran cantidad de vehículos, tanto particulares como de carga pesada, aumenta la vulnerabilidad del ecosistema frente a la contaminación ambiental. Las emisiones liberadas por la industria y los vehículos pueden ser transportadas por el viento y depositarse en la zona, lo que puede ocasionar daños toxicológicos significativos en los organismos y afectar otros niveles de organización.

Es importante mencionar que en la REFB no existen fuentes naturales de agua. La única que abastece a la flora y la fauna es la que se logra captar durante la época de lluvias en nueve de los doce jagüeyes existentes, ya que tres de ellos se han secado por completo. Estos jagüeyes son depresiones construidas artificialmente en el terreno, que permiten almacenar agua durante la temporada de lluvias, la cual disminuye sensiblemente en volumen durante la época de estiaje. En los últimos años, los niveles de agua en los jagüeyes han disminuido drásticamente, al grado de que los responsables del manejo de la REFB se han visto en la necesidad de colocar recipientes con agua en lugares estratégicos por donde comúnmente transita la fauna de la zona, con el fin de proveerles de este recurso.

Por consiguiente, la escasez de agua en la REFB es evidente, así como la posible presencia de sustancias nocivas en ella. Esto plantea serias amenazas a la salud de la flora y fauna existente en esta importante área natural protegida. Por lo tanto, en la presente investigación se evaluó la calidad del agua en los jagüeyes de la REFB mediante el uso de biomodelos, los cuales, debido a su alto grado de sensibilidad, actúan como indicadores eficaces de contaminación. Esto permite tomar medidas para asegurar la protección de este espacio natural, a fin de mejorar las condiciones ambientales que contribuyan a una mejor calidad de vida.

4. Justificación.

Parte fundamental de las áreas naturales protegidas es brindar oportunidades para la investigación. En la REFB se han realizado diversos trabajos relacionados principalmente con la distribución de las poblaciones de fauna. Sin embargo, los estudios sobre la

contaminación del área son escasos, de los cuales destacan tres. En 2016, Hernández et al. analizaron las hojas de ocho especies vegetales y muestras de suelo de cuatro zonas diferentes, reportando la presencia de metales pesados como cromo (Cr), cadmio (Cd), cobre (Cu), mercurio (Hg) y níquel (Ni). De igual manera, Rugarcía (2018) confirma la presencia de metales pesados en la miel producida en el parque. Asimismo, Pérez-Osorio et al. (2016) reportaron la presencia de agentes patógenos en el agua de los jagüeyes, incluyendo coliformes fecales, *Fasciola hepática* y huevos de helminto.

Esto implica un grave riesgo para la salud del ecosistema, ya que los metales pesados son sumamente contaminantes debido a su poca degradabilidad, alta toxicidad y larga permanencia en el ambiente. Además, la presencia de organismos patógenos en el agua puede causar enfermedades en la fauna que la consume.

La presencia de contaminantes en un área natural protegida es alarmante y no debería ocurrir en ninguna circunstancia. La REFB, a pesar de su reciente nombramiento como área natural protegida a nivel estatal, no ha sido reconocida y valorada adecuadamente desde hace tiempo. Esto pone en evidencia la falta de atención a la zona y de medidas correspondientes para su conservación. Por consiguiente, es importante conocer los efectos toxicológicos que los contaminantes pueden generar en los organismos vivos. Por esta razón, la presente investigación contribuye con la generación de conocimiento nuevo y actualizado sobre el estado de la reserva y los riesgos que la contaminación representa para el ecosistema y la sociedad.

La importancia de la REFB radica en la gran diversidad de flora y fauna que alberga, así como una cobertura de bosque de encino relativamente conservada a pesar de estar rodeada de asentamientos densamente poblados. Forma parte de un corredor biológico de aves migratorias y, es hogar de numerosas especies, algunas de ellas enlistadas en la NOM-059-SEMARNAT-2010 incluyendo una especie en peligro de extinción, 10 amenazadas y 15 sujetas a protección especial. Además, es una fuente importante de oxígeno, participa en la regulación del ciclo hidrológico al captar, filtrar, almacenar agua, así como en la captura de carbono (SMADSOT, 2020).

El agua es uno de los recursos naturales más importantes, es pilar fundamental para la sostenibilidad de los ecosistemas y esencial para llevar a cabo los procesos biológicos de los organismos. Por lo tanto, es clave para determinar las condiciones en la que se encuentra la REFB mediante el estudio de los niveles de contaminación del agua de los jagüeyes.

El cuidado del agua y los ecosistemas forma parte importante de los objetivos de la Agenda 2030, especialmente en el Objetivo 6 (Agua limpia y saneamiento) y el Objetivo 15 (Vida de ecosistemas terrestres). Es necesario llevar a cabo acciones que contribuyan a la conservación de los ecosistemas y el cuidado del agua, dado que, la contaminación y la escasez son problemas globales cada vez más agobiantes. Por lo tanto, su cuidado y conservación deben ser considerados como temas prioritarios en la agenda de desarrollo sostenible.

Las Áreas Naturales Protegidas desempeñan un papel fundamental en la conservación de la biodiversidad, la naturaleza y el bienestar de toda la población. Son esenciales para preservar los servicios ecosistémicos y hacer frente a los efectos del cambio climático.

5. Pregunta de investigación.

¿Cuál es la calidad del agua de los jagüeyes en la Reserva Estatal Flor del Bosque [REFB] y qué efecto induce en el biomodelo del pez cebra (*Danio rerio*)?

6. Hipótesis.

Las actividades humanas cercanas a la Reserva Estatal Flor del Bosque pueden afectar la calidad del agua en los jagüeyes, lo que, a su vez, podría causar efectos toxicológicos en el modelo biológico pez cebra (*Danio rerio*).

7. Objetivos.

7.1 Objetivo general.

Evaluar la calidad del agua de los jagüeyes ubicados en la Reserva Estatal Flor del Bosque y sus efectos toxicológicos en el pez cebra (*Danio rerio*).

7.2 Objetivos específicos.

1. Describir las características físicas de la zona de estudio: Reserva Estatal Flor del Bosque.
2. Determinar los parámetros fisicoquímicos del agua de los jagüeyes de estudio (J1, J2, y J3).
3. Determinar la concentración de metales pesados y compuestos orgánicos volátiles (COVs) en el agua de los jagüeyes J1, J2 y J3.
4. Determinar si existen cambios histopatológicos en branquia e hígado del pez cebra (*Danio rerio*) expuestos al agua de los jagüeyes.
5. Evaluar el efecto citotóxico inducido por los contaminantes presentes en el agua de los jagüeyes en el pez cebra (*Danio rerio*) mediante cambios en la expresión de MT1 y SOD.
6. Asociar la problemática ambiental en los jagüeyes del ANP Flor del Bosque con las actividades antropogénicas aledañas a la zona.

8. Metodología.

8.1 Diseño experimental de la investigación.

La presente investigación se llevó a cabo en tres fases (Figura 5). En la primera, se realizó una búsqueda exhaustiva de información relacionada con el área de estudio, así como de información relevante sobre legislación aplicable y metodología. En la segunda fase se realizaron tres visitas a campo donde se tomaron muestras representativas de agua y se identificaron las características físicas de la zona de estudio. En la última etapa se llevaron a cabo pruebas de laboratorio para determinar la calidad del agua, además de un ensayo biológico por triplicado para evaluar la toxicidad del agua en el modelo del pez cebra (*Danio rerio*).

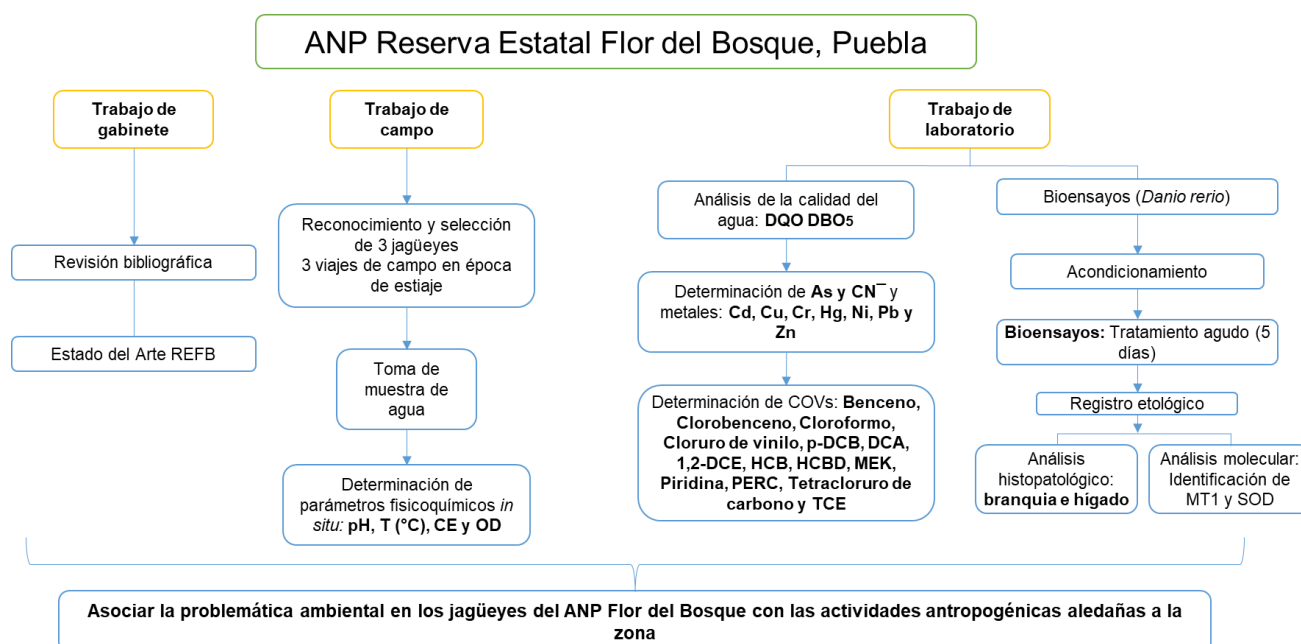


Figura 5. Diagrama experimental de la investigación.

8.2 Área de estudio.

8.2.1 Declaratoria de Área Natural Protegida de la Reserva Estatal Flor del Bosque.

Un factor importante que contribuye a la abundante riqueza natural de Flor del Bosque es su ubicación geográfica. De acuerdo con la CONABIO (2011), la Reserva está ubicada en la Ecorregión terrestre de México “Sierras Templadas”, en la regionalización “Lomeríos y Sierras con bosques de coníferas, encinos y mixtos” y “Planicies Interiores y Piedemontes con pastizal, matorral xerófilo, y selvas bajas en la sección occidental del Sistema Neovolcánico

Transversal” y se encuentra en un sitio catalogado como prioridad “alta” en los “Sitios Prioritarios para la Restauración”.

Estas condiciones favorecen la presencia de una gran variedad de especies con características biológicas especiales, lo que genera un reservorio local de flora y fauna en el Estado de Puebla (Badano et al., 2012). Por ello, como parte de las estrategias de conservación de los ecosistemas, se ha categorizado como Reserva Estatal. En perspectiva, para comprender por qué es tan importante este nombramiento, es necesario mencionar las diversas transformaciones que ha tenido en cuanto a los decretos oficiales.

Durante el mandato del presidente Lázaro Cárdenas, después de una serie de donaciones por parte de los propietarios de la zona (Feldman Petersen) se reconocen como Zona de Protección Forestal de la ciudad de Puebla los predios Flor del Bosque, “El Charro” y “el Coyote”, el 4 de mayo de 1937. Posteriormente, en octubre de 1984, el gobierno del estado adquiere estos predios y se crea el Parque Estatal Ecológico, iniciando el procedimiento legal para su constitución (SMADSOT, 2020).

El 24 de diciembre de 1985 se publica en el Periódico Oficial del Estado la “Declaratoria de utilidad pública y beneficio social para la creación del Parque Ecológico Recreativo General Lázaro Cárdenas en el predio denominado Flor del Bosque”, el cual estaba conformado por una superficie de 469 hectáreas. Para el siguiente año, el 26 de diciembre de 1986 se publica en el Periódico Oficial del Estado el decreto que establece que por causa de utilidad pública, los terrenos de propiedad privada que comprende los predios “Cerro Grande” “Ixteyo” y San Bartolo Flor del Bosque”, se destinan a la ampliación del Parque Ecológico Recreativo “General Lázaro Cárdenas” Flor del Bosque, con un total de 614 hectáreas.

A partir de esta fecha, el gobierno de México impulsa cada vez más el cuidado de la biodiversidad, por ello en 1997 la SEMARNAT crea el “Programa de Conservación de Vida Silvestre y Diversificación Productiva en el sector rural mediante la implementación de Unidades para la Conservación, Manejo y Aprovechamiento Sustentable de la Vida Silvestre [UMA] cuyo propósito es impulsar el aprovechamiento sustentable de las especies silvestres” (SEMARNAT, 2019) y con ello disminuir las probabilidades de su extinción. Derivado de este proyecto se crea la “UMA de manejo intensivo modalidad “zoológico” en mayo de 1998 con el nombre de “General Lázaro Cárdenas del Río Flor del Bosque” contando con 15 especies en una superficie de 7 hectáreas, ampliando la zona de protección a 644 hectáreas” (SMADSOT, 2020).

En febrero del 2021, la Secretaría del Medio Ambiente, Desarrollo Sustentable y Ordenamiento Territorial [SMADSOT] publicó el “Estudio Técnico Justificativo que tiene como objeto declarar como Área Natural Protegida de Jurisdicción Estatal, en modalidad de Reserva Estatal, la zona denominada Flor del Bosque” (Gobierno del Estado de Puebla, 2021) promoviendo un periodo de consulta pública del 10 de febrero al 11 de marzo, tiempo en el cual los ciudadanos podían emitir comentarios con respecto a su contenido. Finalmente, **el 14 de julio de 2022 se publicó en el Periódico Oficial del Estado “el Decreto del Ejecutivo del Estado por el cual se declara Área Natural Protegida de Jurisdicción Estatal, en la modalidad de Reserva Estatal la zona denominada Flor del Bosque, la**

cual establece un área de protección de 1,501.67 hectáreas, integrada por un polígono general que incluye la zona núcleo y zona de amortiguamiento” (POE, 2022).

8.2.2 Características generales de la Reserva Estatal Flor del Bosque.

El polígono de la Reserva Estatal Flor del Bosque se localiza entre los municipios de Puebla y Amozoc, en las coordenadas 19°00'12" y 19°02'14" latitud norte; 98°07'47" y 98°04'00" longitud oeste, con una distribución de un 3.81% y 96.19% respectivamente. Tiene una superficie total de 1,501.67 hectáreas y un perímetro de 24,263.68 km. Se erige desde los 2,235 hasta los 2,546 m.s.n.m. (SMADSOT, 2020).

8.2.3 Ecosistemas.

La extraordinaria biodiversidad de Flor del Bosque se distingue por la convergencia de cuatro tipos de ecosistemas: el bosque templado donde predomina el bosque de encino, el matorral xerófilo, el matorral espinoso y el pastizal. Su ubicación lo define como un ecotono, por ser una zona de transición entre un ecosistema boscoso y un entorno más cálido.

El bosque de encino es uno de los principales ecosistemas que se encuentran en Flor del Bosque. De acuerdo con Rzedoswki (2006), los bosques de encino son de gran importancia debido a que en ellos viven alrededor de 7,000 especies, de las cuales 70% son endémicas. Estos árboles característicos de las montañas de clima templado alcanzan alturas entre 25 y 30 m, aunque en la Reserva se observan árboles de entre 2 a 18 m. Suelen desarrollarse en altitudes que oscilan entre 1,500 y 2,800 m.s.n.m., en climas con lluvias más o menos abundantes con temporada de estiaje. Crecen sobre suelos profundos y someros, donde la precipitación anual varía de entre 700 a 1,200 mm (SMADSOT, 2020).

Generalmente se encuentran asociados a otros árboles como sabino (*Juniperus fláccida*, *Juniperus deppeana*) pinos y cedros, así como asociaciones simbióticas con algunas bromelias (epífitas) y briofitas. Sin embargo, se ha observado parasitismo, principalmente por muérdago. El bosque de encino presenta una asociación importante con especies vegetales correspondientes al matorral xerófilo, lo que convierte a esta zona en una singular y significativa región biológica (SMADSOT, 2020).

El matorral xerófilo es uno de los ecosistemas más significativos de México, pues ocupa alrededor de 40% del territorio nacional. En este ecosistema se encuentra el mayor número de plantas endémicas y una riqueza florística de aproximadamente 6,000 especies (Rzedowski, 2006). A pesar de ser un ecosistema bastante árido, las especies que habitan en él se han adaptado para subsistir en condiciones extremas.

El matorral espinoso, presente también en la Reserva de Flor del Bosque, se caracteriza por la presencia de arbustos de menor tamaño que alcanzan entre 2 y 5 metros de altura, pudiéndose encontrar en la zona *Prosopis spp.* Durante la temporada de lluvias surgen de manera diversa las herbáceas. Además, se encuentran presentes algunas cactáceas como *Echinocactus spp.*, *Echinocereus spp.* y *Mammillaria* (SMADSOT, 2020).

Los pastizales también forman parte de nuestra área de estudio. En México se desarrollan entre los 1,100 y 2,500 m.s.n.m. y crecen regularmente en planicies. Algunos de estos pastizales se forman como parte del proceso natural de sucesión vegetal, resultado de la conversión de áreas boscosas en zonas de pastoreo, como los que se encuentran en Flor del Bosque, los cuales son de tipo secundario. Inicialmente designados para la alimentación del ganado criado en la antigua hacienda, la designación como área natural protegida ha permitido que esta vegetación sirva de hábitat y alimento para la fauna silvestre.

8.2.4 Clima.

El clima que se presenta en el área de estudio corresponde a dos tipos, de acuerdo con el Sistema de Climas de Köppen, modificado por Enriqueta García (2004):

C (W1) (w) y C (W2) (w): Corresponde a un “clima sínico”, es decir, clima templado subhúmedo con lluvias en verano de humedad media, con temperatura media del mes más frío que oscilan entre los -3°C y 18°C, así como una temperatura mayor de 10°C para el mes más caliente. En el mes más seco, la precipitación es menor de 40 mm, y la precipitación anual se encuentra entre los límites de los climas secos (B) y el de climas templados C(m) Es muy característico de las zonas montañosas del centro y sur del país, incluso en llanuras con altitudes mayores a 800 o 1000 m (García, 2004)

En el municipio de Amozoc, que es en donde se encuentra distribuido la mayor parte de la superficie de la Reserva, se presenta en promedio una precipitación anual de 800 a 1000 mm., donde el periodo de mayor precipitación comprende los meses de mayo a octubre, mientras que el periodo de estiaje comprende los meses de noviembre a abril. Asimismo, la temperatura media anual oscila entre los 18°C y 16°C (SMADSOT, 2020)

En cuanto a la dirección de los vientos, se pueden identificar dos corrientes principales en la zona. Por un lado, existe una corriente que se desplaza entre el Valle de Puebla y la Serranía de Amozoc. Durante la noche, los vientos se dirigen al suroeste-noroeste, mientras que, durante el día, cambian hacia el noreste-suroeste. Por otro lado, hay una corriente que se mueve entre los llanos al este de Puebla y la Sierra Nevada. Por la mañana, los vientos se mueven en dirección noroeste-suroeste, mientras que por la tarde-noche cambian hacia el suroeste-noreste. La velocidad del viento oscila entre 10 a 20 km/h, con un aumento notable entre los meses de enero a marzo. Generalmente, la dirección predominante es hacia el norte, aunque varía durante la época de verano (Martínez-Romero, 2003).

8.2.5 Fisiografía y geología.

La Reserva Estatal Flor del Bosque se sitúa en la provincia fisiográfica “Eje Neovolcánico” caracterizada por un sistema topográfico de llanuras aluviales con lomeríos. Se encuentra dentro de una cadena de grandes estratovolcanes, entre los que destacan el Citlaltépetl, Popocatepetl, Iztaccíhuatl, Cerro La Negra y La Malinche (SMADSOT, 2020).

Las formaciones geológicas en el estado de Puebla provienen desde la era precámbrica hasta la cuaternaria. Aunque Flor del Bosque está dentro del Subsistema Fisiográfico Serrijón

de Amozoc, el cual data de la era Mesozoica, con estratos plegados donde se integran sedimentaciones del Jurásico y Cretácico.

Está delimitado por cuatro geoformas de acuerdo con su origen: lomas (compuestas principalmente por bloques calizos), laderas interfluviales (ubicadas entre los valles erosivos, que una vez intemperizados, constituyen la base de los suelos), valles erosivos (estables ante la erosión debido a la cubierta vegetal que los protege) y pie de monte (donde ocurren intensos procesos de erosión y se aprecia la roca madre. El suelo está constituido principalmente por rocas ígneas y sedimentarias, metamórficas y suelos tobáceos aluviales y lacustres. Predominan los cambisoles y litosoles, principalmente, aunque en las partes más bajas están recubiertos por toba volcánica (Martínez-Romero, 2003).

8.2.6 Hidrología.

Con respecto a la hidrología, Flor del Bosque se encuentra situado en la parte noroeste de la cuenca hidrológica del Río Atoyac, dentro de la cuenca hidrográfica del Río Balsas, en la región hidrológica y administrativa RH18. Esta cuenca está delimitada al oeste por los volcanes Iztaccíhuatl y Popocatepetl; al este por La Malinche, al norte por la Sierra de Tlaxco y al sur por la presa Valsequillo. Se localiza entre las subcuencas “Chapulco” y “Tlaltempan Santa Catarina”. (INEGI, 2007; Martínez-Romero, 2003).

En la zona se distinguen tres subcuencas: la primera se localiza al norte y este del Cerro Grande, donde se desarrollan cabeceras fluviales que desembocan en escurrimientos hacia el Valle de Puebla. La segunda subcuenca se origina en el parteaguas del Cerro Grande y la Meseta La Lobera, dirigiéndose al sur y suroeste hasta desembocar en Valsequillo. La tercera subcuenca se forma entre las cimas de los cerros Ahuacatepec y Tecuancale, con dirección al sur y suroeste del parque. (Martínez-Romero, 2003).

Debido a que Flor del Bosque forma parte del Programa de Ordenamiento Territorial de la zona de Regulación 2 en el municipio de Amozoc, se describe de forma general la hidrología superficial, la cual está formada por cuatro microcuencas principales, tributarias del Río Atoyac, denominadas El Aguaje, El Durazno, San Diego los Álamos y la Soledad, distribuidas de la siguiente manera (Gobierno del Estado de Puebla, 2004):

- Microcuenca El Aguaje: Formado a partir de los cerros El Encinal, Cuaneco, Grande y Mesa La Lobera, con dirección hacia el occidente para unirse al cauce del Río Alseseca.
- Microcuenca El Durazno: Se origina a partir del cauce formado por los cerros Grande, Ahuacatepec, Tecuancale y Mesa Nopalera. Sus escurrimientos tienden a dirigirse hacia el sur, pasando por la zona Residencial Haras y las localidades de Santa Cruz Apluyeca y José María Morelos, para finalmente desembocar en el cauce principal del Río Atoyac, al sur de la Presa Manuel Ávila Camacho (Valsequillo).
- Microcuenca San Diego Los Álamos: Inicia a partir de la estructura volcánica de La Malinche principalmente en el flanco sur, bajando por barrancas donde fluyen corrientes hasta llegar a la zona del valle, donde escurre en dirección al poniente

alimentando al Río Alseseca. Finalmente llega al cauce principal del Río Atoyac a la altura de la presa de Valsequillo.

- Microcuenca La Soledad: Se encuentra en la zona noroeste y se origina a partir del eje central de la Sierra Tlaxcayo y en inmediaciones con los cerros Tlaxcayito, Tlaxcayo y Potonque. Este sistema colecta el agua de las barrancas Atlamachal y Honda, las cuales, aguas abajo reciben el nombre de La Soledad. Esta microcuenca desemboca hacia el sur, se une al sistema de la microcuenca El Durazno y posteriormente al Río Atoyac.

Es importante mencionar que, debido a que existen algunas zonas desprovistas de vegetación en la Reserva, algunas de estas corrientes han favorecido a la erosión hídrica, causando pérdida de suelo (Gobierno del Estado de Puebla, 2004).

En cuanto a la hidrología subterránea, se identifican tres niveles de extracción: nivel superior que se encuentra hasta 50 metros de profundidad, el nivel intermedio localizado entre 70 y 200 metros, y el tercer nivel que se presenta a una profundidad de más de 250 metros (SMADSOT, 2020).

8.2.6.1 Los jagüeyes de Flor del Bosque y su importancia ecológica.

La Real Academia Española denomina a un jagüey como “balsa, pozo o zanja llena de agua, ya sea artificialmente o por filtraciones naturales del terreno” (Real Academia Española, 2023, definición 2). Estos cuerpos de agua, también llamados “ojo de agua” o “poza”, son depresiones sobre el terreno, los cuales almacenan agua proveniente de escurrimientos superficiales, asemejándose a un pequeño lago. Regularmente se utilizan como reservorios en donde abrega el ganado (SAGARPA, 2017). Su dimensión no está completamente definida, sin embargo, se han registrado desde menos de una hectárea hasta 10 hectáreas (De La Ossa-Lacayo et al., 2017).

Este sistema de captación pluvial fue muy utilizado en nuestro país, sobre todo en la región del centro y sur y zonas áridas y semiáridas, donde las condiciones del suelo eran tales que cavar un pozo resultaba sumamente complicado. En ocasiones, los jagüeyes eran alimentados con pequeñas corrientes o escurrimientos de cerros aledaños, modificando un poco la topografía de la zona para conducir el cauce natural hacia ellos (SAGARPA, 2017; CONAGUA, 2009).

Los jagüeyes constituyen una parte fundamental de la REFB, ya que, en sus inicios, era una zona dedicada a la producción agrícola y ganadera. Durante esa etapa, los propietarios aprovecharon las depresiones naturales del terreno para construirlos, con el propósito de almacenar agua de lluvia para que el ganado pudiera beberla, principalmente en temporada de estiaje. Estos depósitos, junto con los que se han formado con el paso del tiempo debido a la topografía de la zona, captan el agua y almacenan el agua de lluvia, ahora en beneficio de la fauna que habita en el área. Algunos de estos jagüeyes llegan a secarse por completo durante la época de estiaje, mientras que, en otros, el nivel de agua sólo disminuye.

Estos cuerpos de agua son de gran importancia ecológica y desempeñan múltiples funciones en el ecosistema de la REFB. De acuerdo con Declerk (2006) los jagüeyes generan beneficios asociados directamente con la biodiversidad, ya que pueden ser sitios de reproducción, alimentación y refugio para distintas especies, lo que propicia la presencia de una gran variedad de organismos con características biológicas especiales. Dentro de esta diversidad, se han identificado en la REFB 127 especies vegetales, 5 de anfibios, 19 de reptiles, 123 de aves, 23 de mamíferos, 24 de invertebrados y 8 especies de hongos (SMADSOT, 2020).

8.2.7 Zonas de estudio.

En la Reserva Estatal Flor del Bosque se encuentran un total de 12 jagüeyes, de los cuales se eligieron tres por ser los más representativos del área de estudio. El primer jagüey (J1) fue nombrado “Desafíos” por ubicarse cerca de la zona recreativa turística dentro del parque.

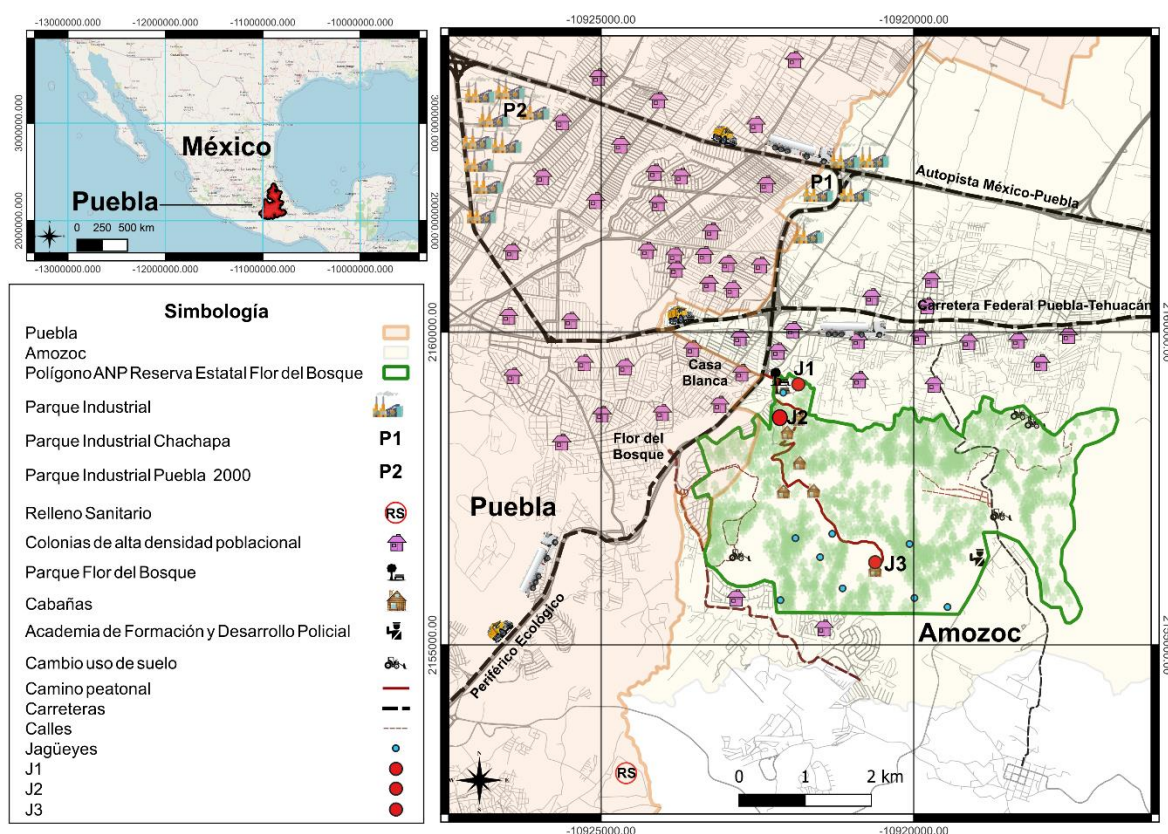


Figura 6. Zona de estudio, Área Natural Protegida (ANP) Reserva Estatal, Flor del Bosque. Adaptado de INEGI (2022). Elaboración propia.

El segundo jagüey (J2) denominado “vivero” se ubica entre la zona turística y la zona de protección de la REFB, el acceso a éste está limitado únicamente al personal de la Secretaría del Medio Ambiente, Desarrollo Sustentable y Ordenamiento Territorial [SMADSOT] que laboran en el vivero. El acceso al tercer jagüey (J3) conocido como “Cabaña 6” está

restringido, pero se permite la entrada al personal de la SMADSOT y la Policía Montada (Figura 6, Tabla 3).

Tabla 3. Características de las zonas de estudio del ANP Reserva Estatal Flor del Bosque.

Zona	Nombre	Ubicación	Características de los jagüeyes
J1	Desafíos	19°02'10" N 98°06'46" W 2,228 m.s.n.m.	El agua es de color café, presenta olor ligeramente desagradable, a su alrededor se observan encinos (<i>Quercus sp</i>) y eucaliptos (<i>Eucalyptus sp</i>), arbustos y hojarasca seca. La fauna que se observó son tortuga casquito (<i>Kinosternon sp</i>), carpa común (<i>Cyprinus carpio</i>) y pato de collar (<i>Anas platyrhynchos</i>). Se secó por completo entre los meses de enero y febrero de 2024 y para el tercer muestreo realizado en abril del mismo año, fue reabastecido con agua de pipa.
J2	Vivero	19°02'03" N 98°06'49" W 2,235 m.s.n.m.	El agua posee color verde. Se observa la presencia de vegetación acuática y de árboles como encinos (<i>Quercus sp</i>), eucaliptos (<i>Eucalyptus sp</i>), cedros (<i>Cupressus lusitánica</i>). Se observó pato de collar (<i>Anas platyrhynchos</i>) y garzas (<i>Ardea sp</i>). Disminuyó su nivel durante la época de estiaje; sin embargo, mantuvo agua almacenada de forma permanente.
J3	Cabaña 6	19°00'42" N 98°06'05" W 2,307 m.s.n.m.	El agua se observa de color café, a su alrededor se observan encinos (<i>Quercus sp</i>) eucaliptos (<i>Eucalyptus sp</i>), sabino (<i>Juniperus deppeana</i>) ocotes (<i>Pinus leiophylla</i>), uña de gato (<i>Mimosa monancistra</i>), además de vegetación acuática. Entre la fauna observada se encuentran carpa común (<i>Cyprinus carpio</i>), insectos en estado larvario, así como la presencia de venado cola blanca (<i>Odocoileus virginianus</i>) garzas (<i>Ardea sp</i>), y rastros de tlacuache (<i>Didelphis virginiana</i>) coatí (<i>Nasua narica</i>) y cacomixtle (<i>Bassariscus astutus</i>). En el segundo muestreo, realizado en febrero de 2024, se notó un descenso considerable en el nivel del agua. Para el tercer muestreo, en abril del mismo año, éste había disminuido drásticamente, dejando sólo una pequeña acumulación de agua. En este jagüey se observa el escurrimiento de agua que contribuye a su recarga.

8.3 Trabajo de campo.

Durante la investigación, se realizaron tres viajes de campo a la Reserva Estatal Flor del Bosque durante la época de estiaje para la toma de muestras de agua de cada uno de los jagüeyes seleccionados. El primer viaje se llevó a cabo en septiembre de 2023, el segundo en febrero de 2024 y el tercero en abril de 2024. En cada viaje, se recolectaron por jagüey 1,500 mL de agua para los análisis fisicoquímicos, de metales pesados y compuestos orgánicos volátiles, y 20L para el bioensayo. Las muestras se almacenaron en frascos de polietileno de cuello ancho y se mantuvieron en frío hasta su análisis.

La temperatura, el pH y la conductividad eléctrica se midieron *in situ* por triplicado, empleando un medidor portátil de temperatura y conductividad (Conductronic PC18) conforme a las normas mexicanas NMX-AA-007-SCFI-2013, NMX-AA-008-SCFI-2016 y NMX-AA-093-SCFI-2018. El oxígeno disuelto se determinó de acuerdo con la norma mexicana NMX-AA-

012-SCFI-2001, utilizando el método del azida de sodio mediante el kit (HI 3810 Dissolved Oxygen), el cual se basa en la titulación del yodo liberado en la muestra.

8.4 Trabajo de laboratorio.

En el laboratorio, se llevó a cabo el análisis de los siguientes parámetros: demanda química de oxígeno (DQO), demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅), metales pesados (Cd, Cu, Cr, Hg, Ni, Pb y Zn), cianuro, arsénico y compuestos orgánicos volátiles (COVs).

La DQO se determinó de acuerdo con la norma mexicana NMX-AA-030/1-SCFI-2010 la cual establece el método para determinar la cantidad de oxígeno necesario para oxidar tanto la materia orgánica como algunos compuestos inorgánicos presentes en la muestra, utilizando un agente oxidante fuerte en un medio ácido. Para este análisis, se tomaron 500 mL de muestra de cada uno de los jagüeyes de estudio. Estas muestras fueron sometidas a digestión con dicromato de potasio en presencia de ácido sulfúrico como medio ácido. Se calentaron durante 2 horas para permitir la oxidación de la materia orgánica. Posteriormente, se realizó una titulación para determinar la cantidad de dicromato de potasio no consumido. La diferencia entre la cantidad inicial y la final del dicromato de potasio permitió calcular la cantidad de DQO presente en cada muestra.

Para medir la DBO₅, se siguió la norma mexicana NMX-AA-028-SCFI-2001, que establece el procedimiento para determinar la cantidad de oxígeno requerido por una población microbiana para oxidar la materia orgánica presente en una muestra de agua durante un periodo de 5 días.

El procedimiento comenzó con la preparación de una solución denominada agua de dilución, que contenía sulfato de magnesio, cloruro de calcio, cloruro férrico y una solución amortiguadora de fosfatos. Esta solución fue saturada de oxígeno utilizando una bomba de aire. Una vez preparada el agua de dilución, se procedió a preparar la muestra de agua de cada uno de los jagüeyes muestreados, utilizando botellas Winkler de 300 mL. Cada muestra se preparó por duplicado para medir tanto la cantidad de oxígeno inicial de oxígeno como la cantidad final después de 5 días de incubación. Se realizaron tres diluciones diferentes para garantizar la confiabilidad de los resultados, seleccionando diluciones de 25% al 100% para aguas superficiales contaminadas, de acuerdo con lo estipulado en la norma.

Después de preparar las botellas, se sellaron cuidadosamente, asegurando que no hubiera burbujas de aire, y se colocó un sello hidráulico para evitar la entrada de sustancias externas que pudieran afectar las muestras. Las botellas se colocaron en una gaveta oscura para su incubación durante 5 días a 20°C. Para la titulación, se utilizó tiosulfato de sodio tanto en las muestras correspondientes al día cero de incubación como en las del día 5. A cada botella Winkler se le añadieron 2 mL de sulfato manganoso y 2 mL de solución de álcali-yoduro-azida. Después de agitar y dejar reposar durante 5 minutos, se añadieron 2 mL de ácido sulfúrico. Se agitó nuevamente hasta obtener una solución clara.

Para el análisis final, se tomaron 100 mL de muestra de cada botella Winkler y se transfirieron a un matraz Erlenmeyer. Luego, se tituló la muestra con tiosulfato de sodio hasta que viró a un color amarillo tenue. En este punto, se añadió almidón como indicador, lo que produjo un

color azul marino. La titulación continuó con tiosulfato de sodio hasta que la solución se volvió transparente. La cantidad de tiosulfato de sodio utilizada se registró como equivalente a la cantidad de oxígeno consumido por los microorganismos para degradar la materia orgánica en la muestra.

8.4.1 Determinación de metales pesados.

La determinación de metales pesados (cadmio [Cd], cobre [Cu], cromo [Cr], mercurio [Hg], níquel [Ni], plomo [Pb] y zinc [Zn]) y arsénico (As) se realizó de acuerdo con la norma mexicana NMX-AA-051-SCFI-2016, que establece el procedimiento para la determinación de metales en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas mediante espectrofotometría de absorción atómica. Esta técnica implica la atomización de los metales presentes en la muestra utilizando una flama o un horno de grafito. La concentración de los metales se determinó al medir la absorbancia a una longitud de onda específica, utilizando lámparas de cátodo hueco correspondientes a cada metal analizado.

Para este análisis se utilizaron 500 mL de muestra de agua de cada uno de los jagüeyes de estudio, las cuales fueron previamente preparadas mediante la digestión con ácido nítrico. El análisis se realizó utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica por flama. Se realizaron curvas de calibración para cada uno de los metales a identificar, utilizando estándares de concentración conocida. Los resultados obtenidos en el equipo se reportaron en concentraciones de mg/L.

La determinación de cianuro se realizó con base en la norma mexicana NMX-AA-058-SCFI-2001 para determinar cianuros totales en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas. Este procedimiento consistió en la determinación de la concentración de cianuro en las muestras de agua de los jagüeyes mediante el método espectrofotométrico. Cada una de las muestras se sometió a reflujos con un ácido fuerte, en este caso ácido sulfúrico, para liberar el cianuro presente en forma de ácido cianhídrico. Posteriormente, el cianuro se absorbió en una solución de hidróxido de sodio y se formó un complejo coloreado, cuya absorbancia se midió en celdas de 1 cm de paso óptico, utilizando un espectrofotómetro. La absorbancia medida se correlacionó con la concentración de cianuro en la muestra, utilizando una curva de calibración previamente preparada.

8.4.2 Determinación de compuestos orgánicos volátiles (COVs).

La determinación de compuestos orgánicos volátiles (COVs) se realizó con base en la norma mexicana NMX-AA-103-SCFI-2006, mediante cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas en Productos de Extracción de Constituyentes Tóxicos (PECT). El método emplea la técnica de purga y trampa, que consiste en hacer pasar un gas inerte, en este caso helio, a través de la muestra de agua para arrastrar los COVs, aprovechando su volatilidad. Los COVs son transportados hasta una trampa adsorbente, donde quedan retenidos. Posteriormente, la trampa es calentada rápidamente para liberar los COVs, los cuales son conducidos hacia el cromatógrafo de gases, donde son separados. Finalmente,

el espectrómetro de masas permite la identificación y cuantificación de los COVs. Este método es extremadamente sensible, lo que permitió detectar concentraciones muy bajas.

8.5 Acondicionamiento del pez cebra (*Danio rerio*).

El propósito de la fase de acondicionamiento de los peces fue mantenerlos en condiciones ideales de laboratorio, asegurando que los parámetros de la calidad del agua fueran óptimos para garantizar su bienestar. Se acondicionaron un total de 60 peces por ensayo, seleccionando aquellos que mostraron un aspecto saludable, con edades y longitudes corporales similares, sin distinción de sexo. Se sometieron a un periodo de acondicionamiento de dos meses antes de iniciar los bioensayos. Se distribuyeron aleatoriamente 15 peces en 4 acuarios, cada uno equipado con los siguientes elementos (Figura 7 y 8):



Figura 7. Elementos empleados para el montaje de los acuarios.

- Un termostato (SUNNY 100W) que mantuvo la temperatura del agua constante de $26^{\circ}\text{C} \pm 1$.
- Un filtro tipo cascada (SUNNY SHF 400) equipado con esponjas de diferente porosidad (Azoo AZ16022) y canutillos de cerámica (Azul) para asegurar la filtración física y biológica, respectivamente. También se incluyó una rejilla con carbón activado para la filtración química.
- Un termómetro de mercurio (Boyu) el cual permitió monitorear la temperatura del agua.
- Una lámpara LED (Ocean-Aqua Ocl-30W) programada con un temporizador (Stereon TEMP-24H) para proporcionar un fotoperiodo de 14/10 (luz-oscuridad).
- Un dispensador automático (Chiye CY-059D) programado para proveer alimento tres veces al día. Los peces se alimentaron con comida para peces tropicales en hojuelas (TetraMin Tropical flakes).

Cada acuario tiene una capacidad de 30 litros. Los cambios de agua se realizaron una vez por semana, retirando todos los sólidos que se acumulaban en el fondo, como restos de comida y heces fecales de los peces, empleando un sifón de plástico. El agua eliminada se reemplazaba inmediatamente con agua purificada apta para consumo humano (Agua

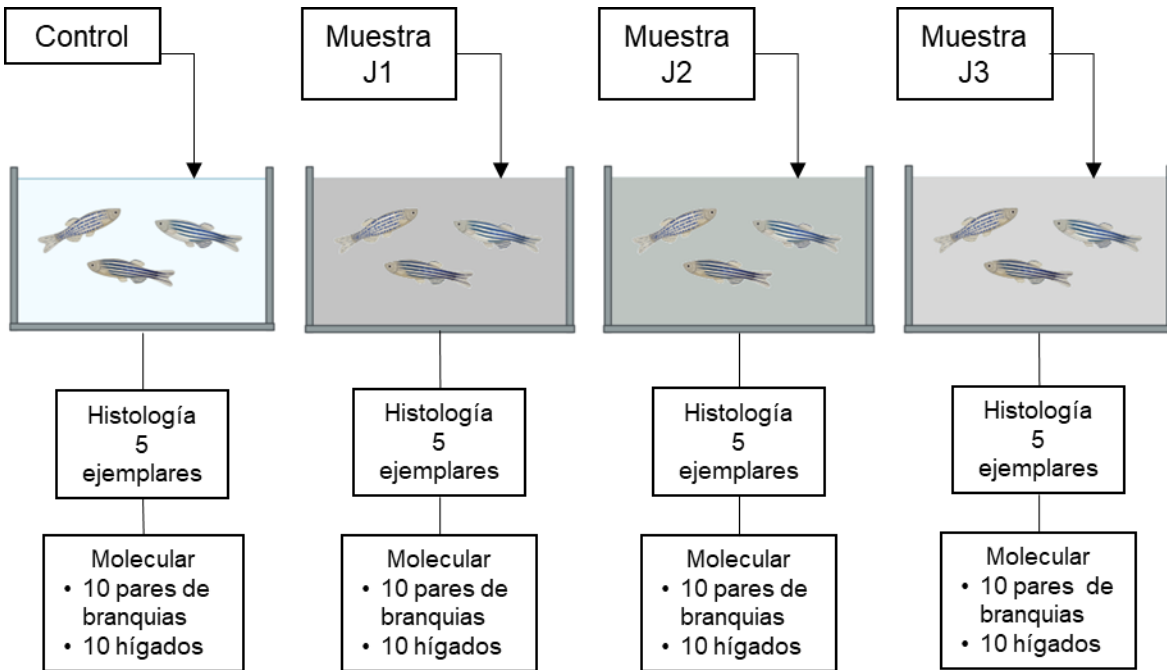
purificada ESU) hasta alcanzar nuevamente el volumen de 30 litros. Este proceso garantizó que las condiciones del agua se mantuvieran óptimas para los peces durante todo el experimento.



Figura 8. Peceras acondicionadas para los bioensayos.

8.5.1 Bioensayo de toxicidad en pez cebra.

Los bioensayos se llevaron a cabo siguiendo los protocolos establecidos por la guía 203 de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos [OCDE] para pruebas de toxicidad con peces de agua dulce. Se formaron 3 grupos experimentales y un grupo control negativo. Cada grupo experimental consistió en un acuario que contenía 15 peces, y cada conjunto de 5 peces representaba una réplica del experimento, lo que significa que se llevaron a cabo tres réplicas simultáneas por acuario. Los peces de los acuarios experimentales se colocaron en 20L de agua proveniente de cada uno de los tres jagüeyes, mientras que los del grupo control negativo se mantuvieron con agua purificada (Figura 9). Los bioensayos tuvieron una duración de 5 días (tratamiento agudo), donde, tanto los grupos experimentales como el grupo control, se mantuvieron en las mismas condiciones de temperatura y alimentación.



**Figura 9. Esquema del bioensayo agudo utilizando el pez cebra (*Danio rerio*).
Elaborado con BioRender.com**

El comportamiento de los peces de cada acuario se registró en una hoja clínica (Tabla 4). Normalmente, los peces son sociales y se mueven formando bancos. Las agresiones entre ellos se manifiestan en forma de persecuciones y a veces por “mordiscos”. Este comportamiento puede ocurrir entre las hembras y los machos. Los peces también pueden mostrar apatía, permaneciendo quietos sobre el sustrato y presentando debilidad, lo que puede favorecer a la aparición de infecciones oportunistas como los hongos.

Entre las alteraciones de los hábitos, la más común es que los peces prefieren quedarse en el fondo del acuario, muy quietos, lo que interfiere con su correcta alimentación. Generalmente, los peces buscan la zona con mayor cantidad de oxígeno disuelto, esto se observa en el ascenso acompañado de un aumento en la respiración, manifestado por boqueos en la superficie. Pueden presentar natación errática, nadando espasmódica o rápidamente a consecuencia de la presencia de calidad de agua inadecuada. En ocasiones, los peces frotan o rascan ciertas zonas del cuerpo contra el fondo. Este comportamiento es a menudo observado en cuadros de infecciones parásitas externas.

Tabla 4. Hoja clínica para el registro etológico del pez cebra durante el tratamiento agudo.

Formato de registro C/ 4 h = Hoja clínica												
FECHA:			JUVENIL									
			NORMAL		ANORMAL							
Hora	No.	Acuario	Vivo	Muerto	Híper Ventil.	Natación s/ coord.	Quiescencia	Conducta Alimentaria Atípica	L _{TOT}	L _{STD}	P _{HUM}	P _{SEC}
		Experimento 1										
		Experimento 2										
		Experimento 3										
		Experimento n										
Observaciones:												
Experimento 1												
Experimento 2												
Experimento 3												
Experimento n												

8.6 Análisis histológico.

8.6.1 Procedimiento de autopsia.

Al cabo de los cinco días que duró el tratamiento agudo, se procedió a la autopsia de los ejemplares, tanto de los grupos experimentales como del grupo control. Los peces fueron eutanizados por shock hipotérmico. Esta técnica implica colocarlos en agua fría (entre 0°C y 4°C), lo que provoca un cambio en la temperatura y los paraliza gradualmente. Este procedimiento se utiliza para evitar el sufrimiento del animal y garantiza una muerte rápida, con un mínimo de dolor y angustia (Wallace et al., 2018).

8.6.2 Preparación de los tejidos para análisis histológico.

La técnica histológica comprende la preparación de los tejidos (branquia e hígado) para su estudio microscópico, con el fin de evaluar el daño a nivel tisular causado por la exposición a los contaminantes del agua. Este procedimiento se realizó con base en la técnica histológica planteada por Megías et al. (2023) y Montalvo-Arenas (2010), adaptada para esta investigación, la cual se desarrolló en las siguientes fases:

- a) **Fijación:** Después del sacrificio del pez, se realizaron las biopsias y se colocaron de manera individual 5 pares de branquias y 5 hígados dentro de tubos de microcentrífuga inmersos en paraformaldehído al 4%, donde permanecieron durante 3 semanas.

- b) Deshidratación:** En este paso se realizó la sustitución del paraformaldehído por alcohol. Para esto, los tejidos fueron sometidos a una serie de alcoholes de diferente concentración en orden creciente (70%, 96% y 100%) durante 30 minutos en cada uno.
- c) Aclaramiento:** Debido a que la parafina no es miscible en agua, se requiere el uso de un solvente intermediario. Para ello, los tejidos fueron retirados del alcohol y se sumergieron en xilol durante 1 hora.
- d) Inclusión:** Este procedimiento implica que la parafina se infiltre en todas las cavidades naturales y espacios de los tejidos. Para ello, cada tejido se colocó en un casete de inclusión y se sumergió en parafina líquida a 50°C durante dos horas dentro de un horno de inclusión a una temperatura de aproximadamente 60°C.
- e) Preparación del bloque del tejido:** El objetivo de este paso es proporcionar una consistencia firme necesaria para realizar cortes lo suficientemente delgados sin provocar distorsión en el tejido. Para esto, una vez transcurrido el tiempo del tejido en el horno de inclusión, se procede a la formación de un bloque sólido de parafina. El casete se retira de la parafina líquida, se retira el tejido del casete y se coloca en un molde de aluminio, cuidando su orientación. Para evitar que el tejido se mueva, se coloca sobre este molde el casete y se vierte parafina líquida sobre él. Se dejó solidificar a temperatura ambiente por lo menos 24 horas.
- f) Cortes histológicos:** Una vez que el bloque con el tejido se solidificó, se retiró del molde y se colocó en un micrótomo de rotación marca Leica RM2125 RT. Se montó una cuchilla cuidando su posición y orientación hacia el bloque y se ajustó el grosor del corte a 5 µm. Esto con el fin de obtener secciones delgadas para observarlos al microscopio.
- g) Montaje:** Se empleó un baño de flotación para montar los cortes histológicos, el cual se llenó con agua destilada a una temperatura de 40°C. Los cortes extendidos se colocaron sobre portaobjetos que previamente fueron tratados con gelatina de inclusión al 3%. Después de montar los cortes de tejido, se dejaron secar a la intemperie.
- h) Tinción Hematoxilina-Eosina (H&E):** La tinción de los cortes facilita el estudio y reconocimiento de las características de los tejidos. Se emplearon dos colorantes de contraste: la hematoxilina, que tiñe las estructuras finas del núcleo, y la eosina, que permite distinguir los detalles del citoplasma en las células.

Posteriormente se llevó a cabo la observación y análisis los cortes, comparándolos entre sí y con el grupo control. Los cortes histológicos fueron observados a 40X y 100X empleando el microscopio marca Velab VE-M5LCD.

8.7 Análisis molecular

Como parte de la evaluación del efecto toxicológico en los peces causado por la exposición a los contaminantes en el agua, se llevó a cabo un análisis molecular mediante la técnica de Western Blot. Consiste en la cuantificación de proteínas específicas mediante electroforesis, que separa las proteínas de acuerdo con su peso molecular.

Para realizar este análisis, se seleccionaron al azar 10 individuos de cada uno de los grupos experimentales (un grupo control y tres tratamientos). Se realizó la disección y se obtuvieron 10 pares de branquias y 10 hígados de cada grupo. Los órganos se colocaron por separado en dos tubos de microcentrífuga: un tubo para las 10 branquias y otro tubo para los 10 hígados. Estos tubos se mantuvieron en ultracongelación (-70°) hasta su procesamiento, evitando la desnaturalización de las proteínas. Este procedimiento de Western Blot se realizó con base en el protocolo general planteado por Abcam (2022), adaptado para este análisis, con el fin de identificar la sobreexpresión de metalotioneína [MT1] y superóxido dismutasa [SOD]. La técnica se llevó a cabo en las siguientes fases:

a) Preparación de la muestra:

La preparación de la muestra para el análisis Western Blot es uno de los pasos más importantes para asegurar que las proteínas de interés puedan identificarse. Primero, se realiza una lisis celular. Este proceso se llevó a cabo añadiendo un buffer de lisis a cada uno de los tubos con las muestras. Además, se agregó un inhibidor de proteasas en tableta (Complete Protease Inhibitor Cocktail, Roche). Para la extracción de las proteínas (MT y SOD) se realizó una lisis mecánica en cada uno de los tubos, se centrifugó y se recuperó el sobrenadante, el cual se colocó en otro tubo de microcentrífuga previamente esterilizado. Se realizó un ensayo de Bradford para cuantificar las proteínas totales. Posteriormente, se prepararon los tubos para asegurar la misma concentración de proteínas en todas las cargas. Se agregó solución de buffer de carga (Tris 1M pH 6.8, Glicerol 50%, SDS 10%, azul de bromofenol 1%, β -mercaptoetanol 0.288 M). Para promover la desnaturalización de las proteínas, las muestras se colocaron en un baño maría en ebullición durante 5 minutos. Después de este tiempo se colocaron nuevamente en frío hasta el momento de añadir la muestra al gel de poliacrilamida.

b) Electroforesis.

En el procedimiento de electroforesis se emplea un gel de poliacrilamida. Este gel se preparó de acuerdo con el rango del peso molecular de las proteínas de interés, con una concentración de acrilamida al 12.5%. Una vez que el gel solidificó en los vidrios de la cámara de electroforesis, se cargaron con una micropipeta, en el primer carril, el marcador de peso molecular, seguido de la muestra del grupo control y en los siguientes carriles las muestras correspondientes a los tratamientos. Una vez cargadas las muestras, se agregó la solución de electroforesis hasta la marca que indica la cámara. Se cerró, rectificando que el ánodo y el cátodo estuvieran correctamente colocados, y se realizó la corrida a 100 volts durante 30 minutos. Se observó un ligero burbujeo en la parte inferior de la cámara, lo que indicó el paso de corriente. Al terminar la electroforesis, se recuperó el gel de acrilamida y se colocó en un buffer de transferencia.

c) Transferencia.

Posterior a la separación de las proteínas por peso molecular en la electroforesis, se procedió a la transferencia. Este proceso se realizó empleando una membrana de nitrocelulosa mediante una transferencia húmeda. El gel de poliacrilamida se colocó en un casete de transferencia, utilizando papel filtro, esponjas y una solución de transferencia. El orden en el

que se colocaron los aditamentos en el casete de transferencia fue, en orden ascendente: esponja, papel filtro, membrana de nitrocelulosa, gel de poliacrilamida (de tal manera que la membrana de nitrocelulosa tocara el lado donde se transfirieron las proteínas), papel filtro, esponja. Con la ayuda de un rodillo se eliminaron las burbujas que pudieran haberse formado, para evitar cualquier error en la transferencia. Una vez cerrado el casete, se colocó en la cámara de transferencia, asegurándose de que los electrodos coincidieran, similar al procedimiento de electroforesis. Se agregó el buffer de transferencia (Tampón de transferencia Towbin buffer). Debido a que el proceso de transferencia genera calor, es importante mantener la temperatura fría para evitar la degradación de las proteínas. La transferencia se realizó a 100 volts durante una hora. Después de este tiempo, se realizó una tinción de la membrana con rojo de Ponceau durante 5 minutos, lo que permitió verificar que las proteínas se habían transferido completamente.

d) Inmunodetección.

Posterior a la tinción con rojo de Ponceau y haber confirmado la presencia de las proteínas en la membrana, se realizó un lavado con PBS durante 5 minutos para eliminar el colorante, seguido de un lavado rápido con solución TBS. Debido a que en la membrana se encuentran todas las proteínas, es necesario realizar un bloqueo para evitar una unión inespecífica durante la incubación con el anticuerpo. Para ello se colocó la membrana en un recipiente con una solución de bloqueo (Leche 5% en TBS) durante una hora a temperatura ambiente y con agitación. Se realizaron lavados rápidos con solución TBS-T 0.1% y posteriormente se incubó con el anticuerpo primario (Metallothionein antibody [UC1MT] No. Cat. GTX12228 y Anti-Superoxide Dismutase 1 antibody ab183881) durante toda una noche con agitación constante. Luego de este tiempo, se eliminó la solución del anticuerpo primario realizando enjuagues con solución de TBS y se incubó la membrana con el anticuerpo secundario (anti-mouse para el caso de MT y anti-rabbit para el caso de SOD; Leche 5% en TBS 0.1%) durante 1 hora en agitación constante. Posteriormente se realizaron lavados con solución TBS-T 0.1% y se dejó en solución de TBS hasta el momento de la revelación.

e) Revelado y densitometría.

La imagen revelada de las bandas se analizó mediante el software de análisis de densitometría ImageJ. Primero, las imágenes obtenidas de la membrana de Western Blot se digitalizaron con la ayuda de una cámara de alta resolución. Estas imágenes se importaron a ImageJ donde se ajustaron los niveles de brillo y contraste para optimizar la visibilidad de las bandas. Luego, con la ayuda de la herramienta de selección de rectángulos, se delineó cada banda de interés y se generó un perfil de densidad para cada banda, el cual muestra la intensidad de la señal.

Para cuantificar la intensidad de esta señal, se calculó el área bajo la curva de cada uno de los perfiles de densidad. Este valor corresponde a la cantidad total de señal presente en cada banda, que es proporcional a la cantidad de proteína detectada. Este análisis permitió determinar la intensidad relativa de las bandas, comparando las muestras de los tratamientos con respecto al control.

8.8 Análisis estadístico.

Se determinó la media y su desviación estándar para cada uno de los parámetros evaluados en el análisis de calidad del agua. Posteriormente se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, seguido de una Prueba de Tukey. Este análisis se llevó a cabo para determinar si existían diferencias significativas entre las medias de las zonas de estudio. Los resultados de ANOVA indicaron la presencia de diferencias significativas entre los grupos, y la prueba de Tukey permitió identificar cuáles grupos específicos presentaban esas diferencias.

9. Resultados.

9.1 Descripción de la zona de estudio.

Durante las visitas de campo en la zona de estudio, se detectó una disminución considerable en los niveles de agua de los jagüeyes, principalmente en el J3 en el último muestreo en abril de 2024 en comparación con el primer muestreo realizado en septiembre de 2023 (Figura 10). Esta reducción sugiere que la zona está experimentando estrés hídrico, ya que se observaron rastros de fauna que buscaban consumir el agua restante en el jagüey (Figura 11). Asimismo, se observó un paisaje seco en la zona J3 que correspondiente al ecosistema de pastizal. En la zona de bosque de encino se observó una gran cantidad de hojarasca en el suelo, resultado del proceso por el cual la vegetación reduce la pérdida de agua al desprenderse de sus hojas. Ante las condiciones extremas del jagüey J1 ubicado en la zona turística donde parte de la atracción implica cruzarlo por puentes colgantes, la administración del parque ha optado por compensar esta falta de agua adquiriéndola a través de pipas (este evento ocurrió después de la toma de muestras de agua del jagüey).

J1



J2



J3



Figura 10. Fotografías comparativas de los jagüeyes. La columna de la izquierda representa las condiciones del primer muestreo (20 de septiembre de 2023) con respecto a las observadas en el tercer muestreo (10 de abril de 2024).



Figura 11. Rastros de fauna en el jagüey J3: (CA) Cacomixtle (*Bassariscus astutus*); (CO) Coati (*Nasua narica*); (V) Venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*)

Se elaboró un listado de las principales industrias que forman parte del Parque Industrial Chachapa y el Parque Industrial Puebla 2000 con información del Directorio Estadístico Nacional de Unidades Económicas [DENUE] del Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI] (INEGI,2023). Se identificaron un total de 18 industrias en el Parque Industrial Chachapa y 21 en el Parque Industrial Puebla 2000, cuyas actividades pueden contribuir a la emisión de contaminantes atmosféricos. Además de la actividad industrial, se analizaron las actividades económicas en Amozoc, ya que en este municipio se encuentra la mayor parte del ANP. De acuerdo con el DENUE, destacan actividades alfareras, de construcción y

minería. El total de industrias entre los parques industriales y las actividades económicas del municipio suman 278 (Tabla 5).

Tabla 5. Base de datos de las industrias cercanas a Flor del Bosque que generan contaminantes.

Municipio	Tipo industria	Desechos industriales	Número industrias	Total industrias
Amozoc Parque Industrial Chachapa	Plástico	Partículas de polietileno y polipropileno, COVs, NOx, SOx, HAPs	4	18
	Metalmecánica	Metales pesados	10	
	Textil	Detergentes, peróxidos de hidrógeno, cloro, sosa, colorantes y ácidos	1	
	Alimentaria	Sólidos suspendidos	1	
	Química	Metales pesados, solventes, cloro	1	
	Petroquímica	COVs y sustancias perfluoroalquiladas	1	
Puebla Parque Industrial Puebla 2000	Plástico	Partículas de polietileno y polipropileno, COVs, NOx, SOx, HAPs	4	21
	Metalmecánica	Metales pesados	10	
	Textiles	Detergentes, peróxidos de hidrógeno, cloro, sosa, colorantes y ácidos	2	
	Petroquímica	COVs y sustancias perfluoroalquiladas	1	
	Papel	Compuestos organoclorados y azufrados, cloro	1	
	*PTAR	Óxido nitroso (N ₂ O) y aerosoles	1	
	Química	Metales pesados, solventes, cloro	2	
Amozoc Actividades económicas generadoras de desechos industriales	Construcción y asfalto	Material particulado, SO ₂ , N ₂ O, CO ₂ , COVs, humos, gases y vapores	22	239
	Curtido y acabado de cuero y piel	Disolventes orgánicos, agentes blanqueadores, anilinas, polvos y vapores tóxicos	6	
	Alimentaria	Sólidos suspendidos	3	
	Papel y Cartón	Compuestos organoclorados y azufrados, cloro	4	
	Espuma y poliuretano	COVs	1	
	Agroquímicos	Compuestos nitrogenados	1	
	Metalmecánica	Metales pesados	43	
	Plásticos	Partículas de polietileno y polipropileno, COVs, NOx, SOx, HAPs	11	
	Petroquímica	COVs y sustancias perfluoroalquiladas	1	
	Minería	Partículas finas, polvos, gases y aerosoles	8	
	Alfarería, porcelana, loza y orfebrería	Fluoruros, COVs, metales pesados, PM _{2.5} y cloruros	138	
	Disposición final de residuos	Partículas suspendidas y polvos, COVs	1	
			Total de industrias	278

Nota: Adaptado de Directorio Estadístico Nacional de Unidades Económicas [DENUE] (2023)

* Planta de Tratamiento de Aguas Residuales

9.2 Características fisicoquímicas del agua de los jagüeyes.

Los valores obtenidos del análisis fisicoquímico del agua de los jagüeyes (J1, J2 y J3) de la Reserva Estatal Flor del Bosque se detallan en la Tabla 6. Esta tabla presenta el promedio de los resultados de los tres muestreos, comparados con los límites permisibles [LP] establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021.

Los valores de temperatura registrados en las tres zonas de estudio se mantuvieron dentro de los LP indicados en la norma, con 17.85°C para J1, 18.92°C para J2 y 14.03°C para J3. De manera similar, los valores de pH también se encuentran dentro de los límites establecidos, con 7.41 para J1 y 7.17 para J3, aunque J2 presentó un ligero incremento con un valor de 8.95. Respecto al parámetro de conductividad eléctrica, no se establecen valores máximos permisibles en la norma. Sin embargo, las aguas superficiales, como los lagos, suelen tener un rango de entre 0 y 200 $\mu\text{S}/\text{cm}$, aunque en grandes cuerpos de agua, como los ríos, este valor puede alcanzar hasta 1000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (DataStream Initiative, 2021). Los valores encontrados en el agua de los jagüeyes estudiados coinciden con estos rangos: 537.78 $\mu\text{S}/\text{cm}$ para J1, 225.56 para J2 y 110 $\mu\text{S}/\text{cm}$ para J3. Por lo tanto, las tres zonas de estudio se mantienen dentro del rango esperado.

En cuanto al oxígeno disuelto en el agua [OD], las tres zonas de estudio muestran una concentración deficiente en comparación con lo recomendado en los Criterios Ecológicos de Calidad del Agua (CE-CCA-001-1989), siendo el J1 el que presenta la menor concentración, lo que compromete la vida acuática en los jagüeyes.

Tabla 6. Análisis estadístico de los valores promedio de los parámetros fisicoquímicos del agua en los tres muestreos realizados en la zona de estudio.

Parámetro	J1	J2	J3	* NOM 001-SEMARNAT-1996	** NOM-001-SEMARNAT-2021	***CE-CCA-001-1989	ANOVA
	Desafíos M \pm DS	Vivero M \pm DS	Cabaña 6 M \pm DS	Protección de vida acuática	Embalses, lagos y lagunas (PD)	Vida acuática	p-valor
T(°C)	17.85 \pm 4.73 a	18.92 \pm 5.15 a	14.03 \pm 4.42 a	-	35	-	0.464
pH	7.41 \pm 0.46 b	8.95 \pm 0.12 a	7.17 \pm 0.38 b	-	6 a 9	-	0.00159
CE ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	537.78 \pm 450.51 a	225.56 \pm 36.72 a	110 \pm 90.25 a	-	-	-	0.213
OD (mg/L)	1.467 \pm 1.079 a	3.933 \pm 2.178 a	2.5 \pm 1.0 a	-	-	5	0.216
DBO5 (mg/L)	31 \pm 2 b	34 \pm 3 ab	37.667 \pm 2.309 a	60	-	-	0.0444
DQO (mg/L)	127 \pm 12.503 a	136 \pm 5.292 a	140.33 \pm 13.051 a	-	120	-	0.406

* Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996 – Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.

** Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021 – Que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación.

*** CE – Criterios Ecológicos de Calidad del Agua (CE-CCA-001-1989)

Análisis de varianza de un factor. Las letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre jagüeyes de estudio, de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0.05$)

Los valores obtenidos en el análisis de DBO₅ se encuentran por debajo de los LP establecidos en la norma, a diferencia de los valores de DQO, que excedieron estos límites en los tres jagüeyes, siendo el J3 el que mostró el valor más alto.

Se realizó un análisis estadístico ANOVA de una vía, seguido de la prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0.05, para identificar diferencias entre las zonas de muestreo. Los parámetros de temperatura, conductividad eléctrica, oxígeno disuelto, y DQO no presentaron diferencias estadísticamente significativas. Por otro lado, el valor de pH mostró disparidades entre las zonas de estudio, donde el J2 difiere con respecto a J1 y J3. En cuanto a la DBO₅, se observó una diferencia significativa entre J1 y J3, mientras que J2 mostró similitudes tanto con J1 como con J3.

9.3 Concentraciones de Arsénico (As) y Cianuro (CN⁻).

Los resultados de los valores de arsénico (As) y cianuro (CN⁻) se detallan en las siguientes tablas, las cuales representan los valores obtenidos en el muestreo de septiembre de 2023 (Tabla 7), febrero (Tabla 8) y abril (Tabla 9) de 2024, cuyos valores fueron comparados con los límites permisibles [LP] establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021. Los valores de la Tabla 7 muestra una elevada concentración de arsénico en los tres jagüeyes que superan los LP, mientras que las concentraciones de cianuro superan los LP en el jagüey J1 y J3.

Tabla 7. Concentraciones de arsénico (As) y cianuro (CN⁻) en el agua de los jagüeyes durante el muestreo de septiembre de 2023.

Parámetro (mg/L)	J1	J2	J3	NOM-001-SEMARNAT-2021	CE-CCA-001-1989
	Desafíos	Vivero	Cabaña 6	Embalses, lagos y lagunas (PD)	Vida acuática
As	0.17	0.15	0.24	0.15	0.2
CN ⁻	2.3	1.3	4.6	1.5	0.005

* Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021 – Que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación.

** CE – Criterios Ecológicos de Calidad del Agua (CE-CCA-001-1989)

Los valores de la Tabla 8 muestran que las concentraciones de arsénico siguen elevadas en los tres jagüeyes de estudio, superando los LP de la norma. Aunque el valor de J1 disminuyó con respecto al muestreo de septiembre, sigue por encima del rango aceptable. Asimismo, se puede observar un incremento en la concentración en el J2, que aumentó de 0.15 a 0.18 mg/L, mientras que el jagüey J3 mantuvo el mismo valor. Los valores de cianuro disminuyeron en J1 y J3 en comparación con el muestreo de septiembre. Sin embargo, en J2 aumentó. Por lo tanto, en este muestreo, los tres jagüeyes superaron los LP de la norma.

Tabla 8. Concentraciones de arsénico (As) y cianuro (CN⁻) en el agua de los jagüeyes durante el muestreo de febrero de 2024.

	J1	J2	J3	NOM-001-SEMARNAT-2021	CE-CCA-001-1989
Parámetro (mg/L)	Desafíos	Vivero	Cabaña 6	Embalses, lagos y lagunas (PD)	Vida acuática
As	0.16	0.18	0.24	0.15	0.2
CN ⁻	1.8	3.2	3.9	1.5	0.005

* Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021 – Que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación.

** CE – Criterios Ecológicos de Calidad del Agua (CE-CCA-001-1989).

En relación con el muestreo realizado en abril (Tabla 9), el jagüey J1 mostró valores por debajo de los LP de la norma, tanto para arsénico como para cianuro. Sin embargo, los jagüeyes J2 y J3 superaron los LP en ambos parámetros. Se observó una elevada concentración de arsénico en J2 en comparación con los muestreos de septiembre y febrero. Por otro lado, aunque el J3 presenta una menor concentración de arsénico y cianuro en comparación con los muestreos de septiembre y febrero, aún se encuentra por encima de los LP de la norma.

Tabla 9. Concentraciones de arsénico (As) y cianuro (CN⁻) en el agua de los jagüeyes durante el muestreo de abril de 2024.

	J1	J2	J3	NOM-001-SEMARNAT-2021	CE-CCA-001-1989
Parámetro (mg/L)	Desafíos	Vivero	Cabaña 6	Embalses, lagos y lagunas (PD)	Vida acuática
As	0.14	0.21	0.21	0.15	0.2
CN ⁻	1.4	4.2	2.7	1.5	0.005

* Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021 – Que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación.

** CE – Criterios Ecológicos de Calidad del Agua (CE-CCA-001-1989).

Se realizó un análisis estadístico ANOVA para identificar diferencias significativas en las concentraciones de arsénico y cianuro entre las tres zonas de muestreo, cuyos resultados se muestran en la Tabla 10. El análisis reveló una diferencia estadísticamente significativa en la concentración de arsénico [As]. Según la prueba de Tukey, J1 y J3 mostraron diferencias entre sí, mientras que J2 resultó ser similar a ambos. En cuanto al análisis de cianuro [CN⁻] no se encontraron diferencias significativas entre las zonas de estudio.

Tabla 10. Análisis estadístico de los valores promedio de las concentraciones de arsénico y cianuro entre zonas de estudio.

Parámetro (mg/L)	J1	J2	J3	NOM-001-SEMARNAT-2021	CE-CCA-001-1989	ANOVA
	Desafíos M± DS	Vivero M± DS	Cabaña 6 M± DS	Embalses, lagos y lagunas (PD)	Vida acuática	p-valor
As	0.157 ± 0.15 b	0.18 ± 0.03 ab	0.230 ± 0.017 a	0.15	0.2	0.0164
CN ⁻	1.833 ± 0.451 a	2.9 ± 1.473 a	3.733 ± 0.961 a	1.5	0.005	0.164

* Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021 – Que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación.

** CE – Criterios Ecológicos de Calidad del Agua (CE-CCA-001-1989).

Análisis de varianza de un factor. Las letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre jagüeyes de estudio, de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0.05$),

9.4 Concentraciones de metales pesados.

Los resultados del análisis de metales pesados en el agua se presentan en las Tablas 11, 12 y 13, correspondientes a los muestreos realizados en septiembre de 2023, febrero y abril de 2024, respectivamente, los cuales fueron comparados con los límites permisibles [LP] establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021. En la Tabla 11 se observa que en J1, las concentraciones de Cr, Ni, Pb y Zn superan los LP establecidos por la norma. En el J2 los valores de Cd, Cu, Cr, Pb y Zn también exceden los LP, mientras que en J3, las concentraciones de los siete metales analizados superan los rangos permisibles establecidos por la norma.

Tabla 11. Concentración de metales pesados en el agua de los jagüeyes durante el muestreo de septiembre de 2023.

Parámetro (mg/L)	J1	J2	J3	* NOM-001-SEMARNAT-2021	** CE-CCA-001-1989
	Desafíos	Vivero	Cabaña 6	Embalses, lagos y lagunas (PD)	Vida acuática
Cd	0.11	1.16	0.21	0.15	-
Cu	4	4.9	9	5	-
Cr	0.95	0.78	1.5	0.75	0.01
Hg	0.006	0.006	1.01	0.008	-
Ni	4	2	8	3	-
Pb	0.5	0.6	0.9	0.3	-
Zn	17	17	28	15	-

* Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021 – Que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación.

** CE – Criterios Ecológicos de Calidad del Agua (CE-CCA-001-1989).

Los resultados del segundo muestreo, realizado en febrero, se presentan en la Tabla 12. Se observó que en J1, las concentraciones de Cr y Pb superan los LP establecidos por la norma, mientras que las concentraciones de Ni y Zn disminuyeron en comparación con el primer muestreo. Sin embargo, tanto en J2 como en J3, las concentraciones de los siete metales analizados excedieron los LP.

Tabla 12. Concentración de metales pesados en el agua de los jagüeyes durante el muestreo de febrero de 2024.

Parámetro (mg/L)	J1	J2	J3	* NOM-001-SEMARNAT-2021	** CE-CCA-001-1989
	Desafíos	Vivero	Cabaña 6	Embalses, lagos y lagunas (PD)	Vida acuática
Cd	0.12	0.19	0.22	0.15	-
Cu	3	6	10.2	5	-
Cr	0.89	0.91	1.12	0.75	0.01
Hg	0.005	0.01	0.012	0.008	-
Ni	2	6	8	3	-
Pb	0.4	0.7	0.91	0.3	-
Zn	11	16	17	15	-

* Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021 – Que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación.

** CE – Criterios Ecológicos de Calidad del Agua (CE-CCA-001-1989).

Las concentraciones de metales pesados obtenidas en el tercer muestreo se presentan en la Tabla 13. Se observó que las concentraciones en el agua del jagüey J1 para Cr y Pb disminuyeron, por lo que los siete metales analizados en esta zona estuvieron por debajo de los LP de la norma. En contraste, tanto en J2 como en J3, las concentraciones de los siete metales analizados superaron los LP.

Tabla 13. Concentración de metales pesados en el agua de los jagüeyes durante el muestreo de abril de 2024.

Parámetro (mg/L)	J1	J2	J3	* NOM-001-SEMARNAT-2021	** CE-CCA-001-1989
	Desafíos	Vivero	Cabaña 6	Embalses, lagos y lagunas (PD)	Vida acuática
Cd	0.12	0.19	0.19	0.15	-
Cu	2	9	6.2	5	-
Cr	0.74	0.81	0.82	0.75	0.01
Hg	0.005	0.02	0.009	0.008	-
Ni	2	8	6	3	-
Pb	0.2	0.8	0.4	0.3	-
Zn	11	19	17	15	-

* Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021 – Que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación.

** CE – Criterios Ecológicos de Calidad del Agua (CE-CCA-001-1989).

Se realizó el análisis estadístico ANOVA de una vía, el cual reveló que no existen diferencias significativas entre las zonas de estudio en seis de los metales analizados: Cd, Cr, Hg, Ni, Pb y Zn. Sin embargo, los resultados de la prueba de Tukey indicaron que las concentraciones de Cu en los jagüeyes J1 y J3 son estadísticamente diferentes, mientras que J2 mostró valores similares tanto a J1 como a J3.

Tabla 14. Análisis estadístico de los valores promedio de la concentración de metales pesados entre zonas de estudio.

Parámetro (mg/L)	J1	J2	J3	* NOM-001-SEMARNAT-2021	** CE-CCA-001-1989	ANOVA
	Desafíos M± DS	Vivero M± DS	Cabaña 6 M± DS	Embalses, lagos y lagunas (PD)	Vida acuática	p-valor
Cd	0.117 ± 0.006 a	0.513 ± 0.560 a	0.207 ± 0.015 a	0.15	-	0.354
Cu	3 ± 1 b	6.633 ± 2.122 ab	8.467 ± 2.053 a	5	-	0.0257
Cr	0.860 ± 0.108 a	0.833 ± 0.068 a	1.147 ± 0.341 a	0.75	0.01	0.21
Hg	0.005 ± 0.001 a	0.012 ± 0.007 a	0.344 ± 0.577 a	0.008	-	0.418
Ni	2.667 ± 1.155 a	5.333 ± 3.055 a	7.333 ± 1.155 a	3	-	0.0751
Pb	0.367 ± 0.153 a	0.70 ± 0.10 a	0.737 ± 0.292 a	0.3	-	0.116
Zn	13 ± 3.464 a	17.333 ± 1.528 a	20.667 ± 6.351 a	15	-	0.168

* Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021 – Que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación.

** CE – Criterios Ecológicos de Calidad del Agua (CE-CCA-001-1989)

Análisis de varianza de un factor. Las letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre jagüeyes de estudio, de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0.05$)

9.5 Concentraciones de compuestos orgánicos volátiles (COVs).

Los resultados de las concentraciones de compuestos orgánicos volátiles (COVs) de los muestreos realizados en septiembre de 2023, febrero y abril de 2024 se presentan en las Tablas 15, 16 y 17, respectivamente. Debido a la falta de límites permisibles establecidos en las normas oficiales mexicanas, se consideraron como LP los valores indicados por los Criterios Ecológicos de la Calidad del Agua [CECA] CE-CCA-001-1989. Es importante destacar que la presencia de COVs en el agua de los jagüeyes es alarmante, ya que la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer [IARC] considera 12 de ellas como potencialmente carcinogénicas, debido a que existe evidencia suficiente que las vincula al desarrollo de este padecimiento (IARC, 2024).

Los resultados del muestreo realizado en septiembre de 2023 (Tabla 15) muestran que las concentraciones de COVs en los tres jagüeyes no superaron los LP establecidos por los CECA.

Tabla 15. Concentración de compuestos orgánicos volátiles (COVs) en el agua de los jagüeyes durante septiembre de 2023.

Parámetro (µg/L)	J1	J2	J3	** IARC	* CE-CCA-001-1989
	Desafíos	Vivero	Cabaña 6		Vida acuática (mg/L)
Benceno	0.08	0.04	0.12	2B	0.05
Clorobenceno	0.06	0.04	0.89	2B	0.025
Cloroformo	0.07	0.05	0.09	2B	0.3
Cloruro de vinilo	0.08	0.03	0.12	1	-
1,4-Diclorobenceno	0.05	0.01	0.07	2B	0.01
1,2-Dicloroetano	0.08	0.001	0.08	2B	1.2
1,2-Dicloroetileno	0.06	0.01	0.07	-	0.116
Hexaclorobenceno	0.01	ND	0.02	2B	0.025
Hexaclorobutadieno	0.03	0.008	0.05	3	0.0009
Metil etil cetona	0.005	0.001	0.09	-	-
Piridina	0.02	0.02	0.09	2B	-
Tetracloroetileno	0.08	0.06	0.08	2A	0.05
Tetracloruro de carbono	0.09	0.07	0.07	2B	0.3
Tricloroetileno	0.07	0.06	0.09	1	0.01

* CE – Criterios Ecológicos de Calidad del Agua (CE-CCA-001-1989)

** Clasificación de las sustancias químicas según su potencial carcinógeno de acuerdo con la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC):

1: Carcinógeno para el ser humano.

2A: Probablemente carcinógeno para el ser humano.

2B: Posiblemente carcinógeno para los humanos.

3: No es clasificable según su carcinogenicidad en el ser humano.

ND: No detectado.

En el análisis de COVs realizado en el muestreo de febrero de 2024 (Tabla 16), se observó un incremento en las concentraciones de benceno en J2 y una disminución en la concentración de tetracloroetileno en J1. A pesar de estas variaciones, los tres jagüeyes (J1, J2 y J3) mostraron concentraciones por debajo de los LP establecidos por los CECA en las 14 sustancias analizadas. Además, el hexaclorobenceno no fue detectado en J1 y J2, ni metil etil cetona en J2.

Tabla 16. Concentración de compuestos orgánicos volátiles (COVs) en el agua de los jagüeyes durante febrero de 2024.

Parámetro (µg/L)	J1	J2	J3	** IARC	* CE-CCA-001-1989
	Desafíos	Vivero	Cabaña 6		Vida acuática (mg/L)
Benceno	0.05	0.08	0.07	2B	0.05
Clorobenceno	0.04	0.07	0.08	2B	0.025
Cloroformo	0.03	0.05	0.06	2B	0.3
Cloruro de vinilo	0.06	0.09	0.05	1	-
1,4-Diclorobenceno	0.05	0.06	0.08	2B	0.01
1,2-Dicloroetano	0.04	0.04	0.05	2B	1.2
1,2-Dicloroetileno	0.05	0.05	0.04	-	0.116
Hexaclorobenceno	ND	ND	0.02	2B	0.025
Hexaclorobutadieno	0.03	0.05	0.012	3	0.0009
Metil etil cetona	0.001	ND	0.003	-	-
Piridina	0.001	0.02	0.04	2B	-
Tetracloroetileno	0.04	0.06	0.08	2A	0.05
Tetracloruro de carbono	0.06	0.07	0.09	2B	0.3
Tricloroetileno	0.04	0.05	0.08	1	0.01

* CE – Criterios Ecológicos de Calidad del Agua (CE-CCA-001-1989)

** Clasificación de las sustancias químicas según su potencial carcinógeno de acuerdo con la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC):

1: Carcinógeno para el ser humano.

2A: Probablemente carcinógeno para el ser humano.

2B: Posiblemente carcinógeno para los humanos.

3: No es clasificable según su carcinogenicidad en el ser humano.

ND: No detectado.

En el análisis correspondiente al último muestreo realizado en abril (Tabla 17), se observó una ligera disminución en la concentración de COVs en el agua en comparación con el muestreo de febrero, principalmente en J1 donde los niveles de benceno, clorobenceno y cloroformo son menores en comparación con los observados en febrero. De igual manera, los niveles reportados en este análisis no superan los LP de los CECA.

Tabla 17. Concentración de compuestos orgánicos volátiles (COVs) en el agua de los jagüeyes durante abril de 2024.

Parámetro (µg/L)	J1	J2	J3	** IARC	* CE-CCA-001-1989
	Desafíos	Vivero	Cabaña 6		Vida acuática
Benceno	0.03	0.07	0.04	2B	0.05
Clorobenceno	0.02	0.05	0.06	2B	0.025
Cloroformo	0.01	0.06	0.05	2B	0.3
Cloruro de vinilo	0.03	0.09	0.05	1	-
1,4-Diclorobenceno	0.03	0.06	0.07	2B	0.01
1,2-Dicloroetano	0.01	0.04	0.04	2B	1.2
1,2-Dicloroetileno	0.03	0.05	0.03	-	0.116
Hexaclorobenceno	ND	ND	ND	2B	0.025
Hexaclorobutadieno	0.009	0.07	0.01	3	0.0009
Metil etil cetona	ND	ND	ND	-	-
Piridina	ND	0.01	ND	2B	-
Tetracloroetileno	0.04	0.04	0.06	2A	0.05
Tetracloruro de carbono	0.02	0.05	0.06	2B	0.3
Tricloroetileno	0.01	0.04	0.05	1	0.01

* CE – Criterios Ecológicos de Calidad del Agua (CE-CCA-001-1989)

** Clasificación de las sustancias químicas según su potencial carcinógeno de acuerdo con la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC):

1: Carcinógeno para el ser humano.

2A: Probablemente carcinógeno para el ser humano.

2B: Posiblemente carcinógeno para los humanos.

3: No es clasificable según su carcinogenicidad en el ser humano.

ND: No detectado.

Se llevó a cabo un análisis estadístico ANOVA de una vía para determinar si existían diferencias significativas en las concentraciones de COVs entre las tres zonas de estudio. Sin embargo, los resultados no revelaron diferencias estadísticamente significativas entre dichas zonas (Tabla 18).

Tabla 18. Análisis estadístico de la concentración de compuestos orgánicos volátiles (COVs) entre zonas de estudio.

Parámetro (µg/L)	Z1	Z2	Z3	* CE-CCA-001- 1989	** IARC	ANOVA
	Desafíos	Vivero	Cabaña 6	Vida acuática		p-valor
Benceno	0.0533 ± 0.0252 a	0.0633 ± 0.0208a	0.0767 ± 0.0404 a	0.05	2B	0.654
Clorobenceno	0.04 ± 0.02 a	0.0533 ± 0.0153 a	0.3433 ± 0.4735 a	0.025	2B	0.371
Cloroformo	0.0367 ± 0.0306 a	0.0533 ± 0.0058 a	0.0667 ± 0.0208 a	0.3	2B	0.306
Cloruro de vinilo	0.0567 ± 0.0252 a	0.07 ± 0.0346 a	0.0733 ± 0.0404 a	-	1	0.822
1,4-Diclorobenceno	0.0433 ± 0.0115 a	0.0433 ± 0.0289 a	0.0733 ± 0.0058 a	0.01	2B	0.146
1,2-Dicloroetano	0.0433 ± 0.0351 a	0.0270 ± 0.0225 a	0.0567 ± 0.0208 a	1.2	2B	0.45
1,2-Dicloroetileno	0.0467 ± 0.0153 a	0.0367 ± 0.0231 a	0.0467 ± 0.0208 a	0.116	-	0.787
Hexaclorobenceno	0.001 ± 0.0	N/D	0.02 ± 0.0	0.025	2B	-
Hexaclorobutadieno	0.0230 ± 0.0121 a	0.0427 ± 0.0316 a	0.0240 ± 0.0225 a	0.0009	3	0.548
Metil etil cetona	0.003 ± 0.0028	0.001 ± 0.0	0.0465 ± 0.0615	-	-	-
Piridina	0.0105 ± 0.0134	0.0167 ± 0.0058	0.065 ± 0.0354	-	2B	-
Tetracloroetileno	0.0533 ± 0.0231 a	0.0533 ± 0.0115 a	0.0733 ± 0.0115 a	0.05	2A	0.296
Tetracloruro de carbono	0.0567 ± 0.0351 a	0.0633 ± 0.0115 a	0.0733 ± 0.0153 a	0.3	2B	0.689
Tricloroetileno	0.04 ± 0.03 a	0.05 ± 0.01 a	0.0733 ± 0.0208 a	0.01	1	0.239

* CE – Criterios Ecológicos de Calidad del Agua (CE-CCA-001-1989)

** Clasificación de las sustancias químicas según su potencial carcinógeno de acuerdo con la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC):

1: Carcinógeno para el ser humano.

2A: Probablemente carcinógeno para el ser humano.

2B: Posiblemente carcinógeno para los humanos.

3: No es clasificable según su carcinogenicidad en el ser humano.

Análisis de varianza de un factor. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio, de acuerdo con la prueba Tukey (p<0.05)

9.6 Evaluación de la toxicidad en el modelo biológico del pez cebra (*Danio rerio*)

Durante el ensayo agudo de 5 días, la exposición de los ejemplares del pez cebra (*Danio rerio*) al agua de los jagüeyes de las tres zonas de muestreo no ocasionó la muerte de ningún individuo. Además, no se observaron comportamientos anormales como nado errático o alterado, ni cambios en su alimentación, ya que los peces consumieron inmediatamente todo el alimento proporcionado. El movimiento opercular tampoco mostró variaciones significativas.

A nivel macroscópico (véase Figura 12) se observó una producción normal de moco, que sirve como mecanismo de defensa, sin que esto representara un riesgo para la supervivencia de los individuos. No se observaron diferencias entre los individuos del grupo control con respecto a los de los tratamientos experimentales.

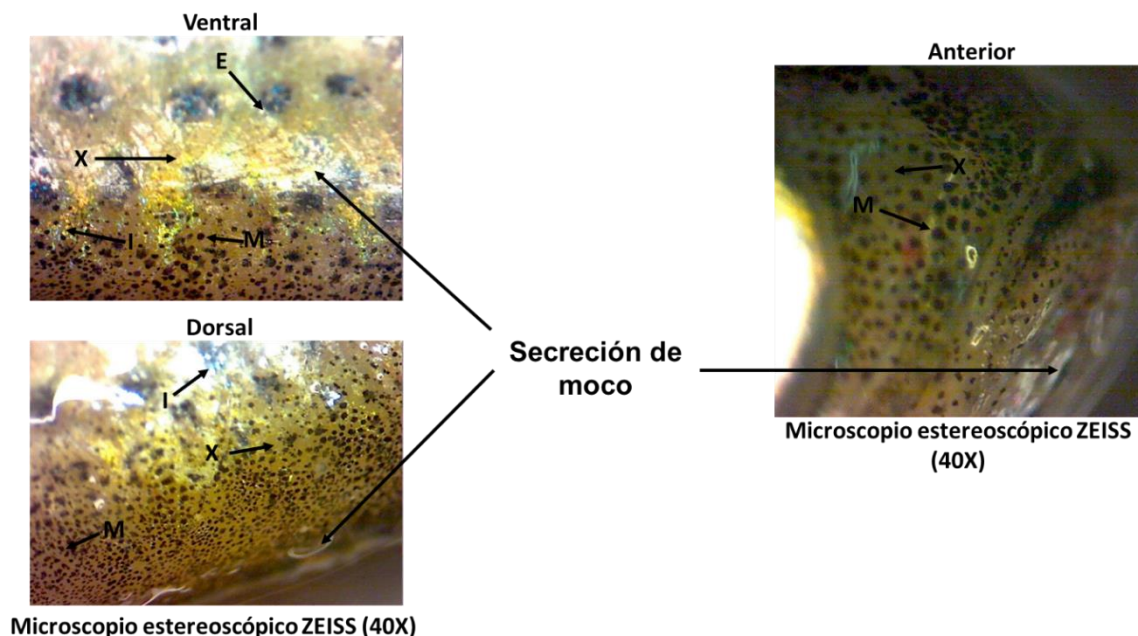


Figura 12. Secreciones de moco sobre la piel y parte anterior de la cabeza.

9.6.1 Análisis histológico de branquia e hígado.

El análisis histopatológico de la branquia del pez cebra reveló, a nivel macroscópico, una estructura bien preservada de este órgano fundamental para el intercambio gaseoso de los peces. Se observaron órganos en buen estado, pudiéndose apreciar los 4 arcos branquiales (holobranquias) de los cuales se desarrollan claramente las dos hileras de filamentos branquiales (hemibranquias). Las lamelas estaban adecuadamente distribuidas y no mostraron alteraciones morfológicas. Detrás del arco branquial se encuentran las branquiespinas que actúan como un filtro, impidiendo el paso de partículas al tracto respiratorio. En la Figura 13 se muestra la branquia del grupo control, donde se observó una ligera acumulación de sólidos. En comparación, la branquia del tratamiento J3 presentó una acumulación más evidente de residuos sólidos, lo que coincide con la elevada concentración de contaminantes registrada en el análisis del agua. A pesar de la presencia de estas sustancias en las branquias, no interfirieron en el intercambio gaseoso, por lo que la supervivencia de los individuos no se vio comprometida.

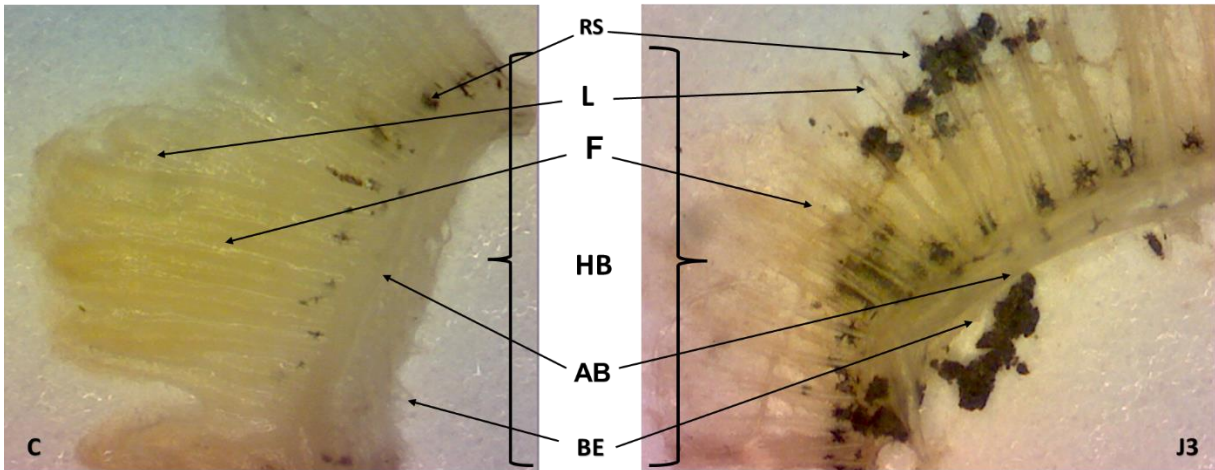


Figura 13. Vista macroscópica de una hemibranchia del grupo control (C) y del grupo experimental J3 (2 hemibranchias = 1 branquia) del pez cebra (*Danio rerio*). Hemibranchia (HB), arco branquial (AB), filamentos (F), lamelas (L) y branquiespinas (BE). (32X, microscopio estereoscópico ZEISS).

El análisis a nivel microscópico de la branquia reveló una estructura bien definida, donde destacan los filamentos branquiales y las lamelas. La distribución celular es adecuada, identificándose claramente las células planas y las células clorídeas. La tinción con H&E muestra núcleos bien definidos al igual que su citoplasma. No se observan alteraciones morfológicas en las células, tanto en el grupo control como en los grupos experimentales, lo que indica que no hay alteración fisiológica del tejido (Figura 14).

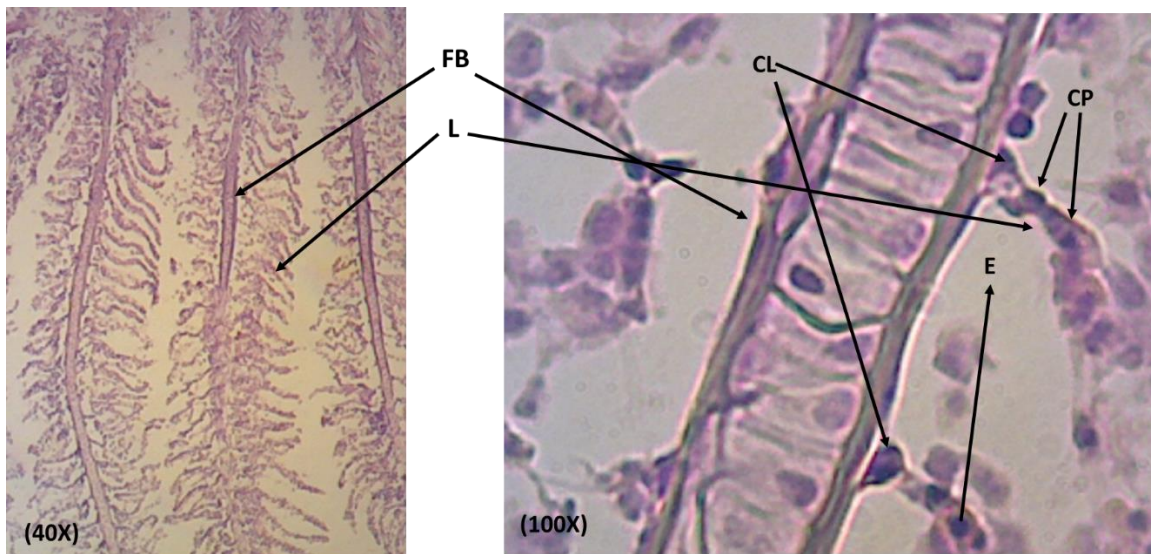


Figura 14. Vista microscópica del filamento branquial (FB) del pez cebra (*Danio rerio*), ejemplar del grupo experimental J3. Tinción Hematoxilina-Eosina (H&E). Se observa la estructura de la lamela (L), célula clorídea (CL) célula plana (CP) y eritrocito (E).

El análisis histológico del hígado del pez cebra, se observó a nivel microscópico una adecuada distribución de los hepatocitos. Se identificaron los núcleos y citoplasma de los hepatocitos, así como su forma poliédrica bien definida. En la Figura 15 se muestra un corte de tejido hepático donde se distingue el vaso sanguíneo y los eritrocitos. No se observaron diferencias significativas entre los individuos controles y los experimentales.

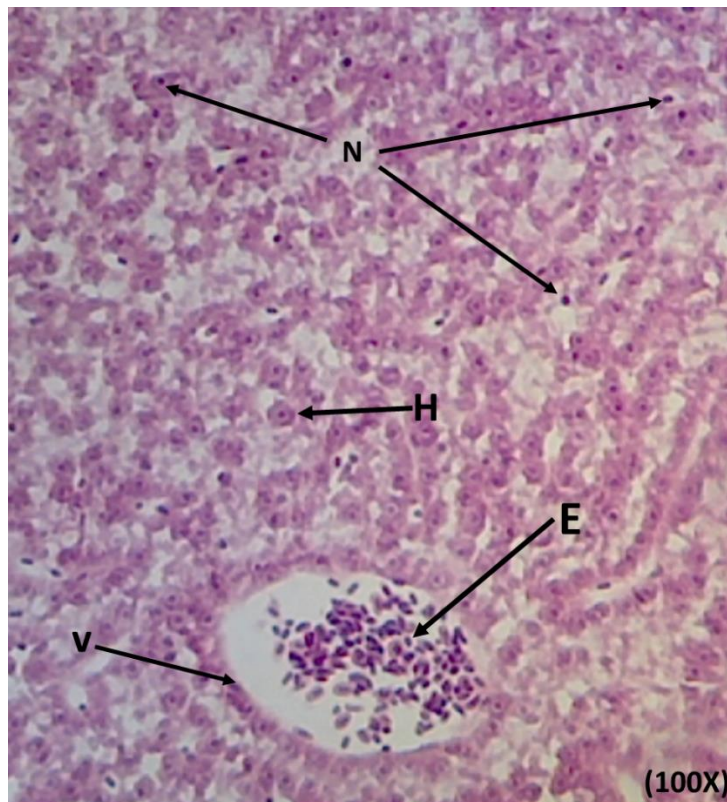


Figura 15. Estructura histológica normal del hígado del pez cebra (*Danio rerio*) de un individuo experimental J1: tinción con hematoxilina y eosina (100X). Eritrocito en vaso sanguíneo (E), hepatocito (H), núcleo de hepatocito (N), y vaso sanguíneo (V).

9.6.2 Análisis molecular para la detección de MT1 y SOD mediante la técnica Western Blot.

Los resultados de la prueba de Western Blot para la identificación de MT1 se presentan en la Figura 16. En el primer histograma, que representa la expresión de MT1 en hígado, se observó una mayor inducción significativa de MT1 en el grupo experimental del jagüey J3 durante el muestreo de septiembre. Aunque la expresión en J1 y J2 fue mayor que en el grupo control, las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Para los muestreos de febrero y abril, se observó una expresión similar e incluso menor en los grupos experimentales en comparación con el control.

En el segundo histograma, correspondiente a la expresión de MT1 en branquia, se observó una mayor inducción en el grupo J1 con respecto al control durante el muestreo de septiembre de 2023, así como en J2, aunque esta diferencia no parece ser estadísticamente significativa. En los muestreos de febrero y abril de 2024, no se observó una expresión significativa de MT1 en los grupos experimentales con respecto al grupo control.

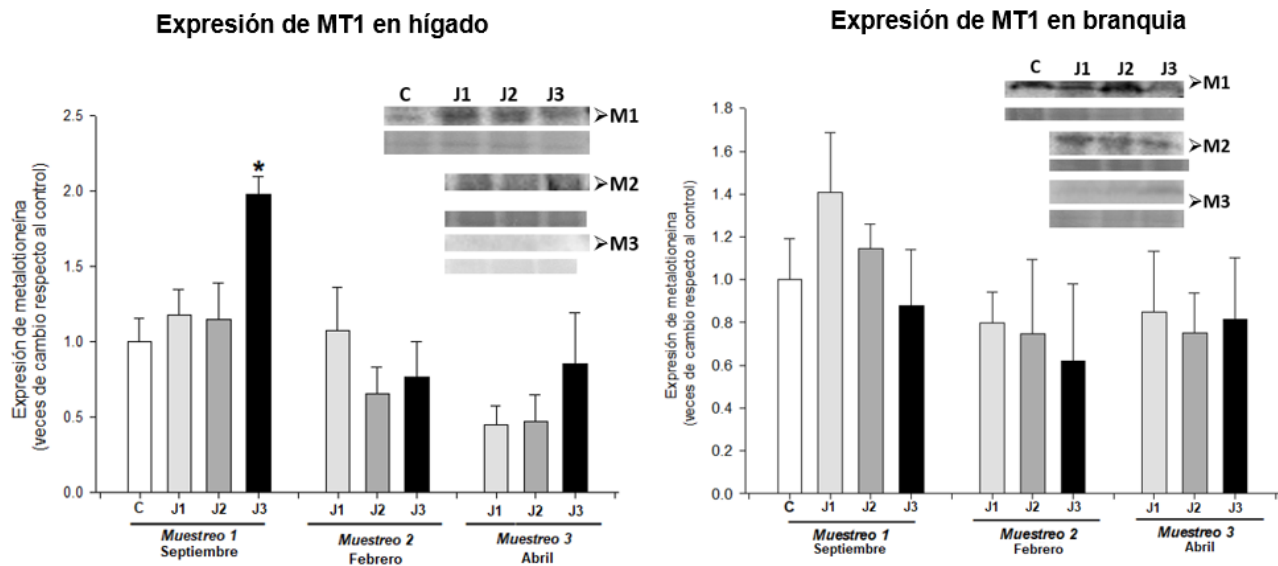


Figura 16. Expresión de Metalotioneína 1 [MT1] en hígado y branquia de diez ejemplares de pez cebra (*Danio rerio*) expuestos a agua de los jagüeyes de la Reserva Estatal Flor del Bosque. (J1 “Desafíos”, J2 “Vivero”, J3 “Cabaña 6”). Muestreo 1 septiembre 2023, Muestreo 2 febrero 2024, muestreo 3 abril 2024.

En relación con la expresión de SOD en el pez cebra (Figura 17), se observó en el primer histograma correspondiente la expresión en hígado, una mayor inducción en el sitio J3, seguido por J1 y J2 en comparación con el grupo control durante el muestreo de septiembre de 2023. En el muestreo de abril de 2024, también se observó una mayor inducción de SOD en J3 con respecto al control. Por otro lado, la expresión de SOD en las branquias se mantuvo relativamente constante durante el muestreo en septiembre de 2023 en los tres sitios. Sin embargo, en el muestreo de febrero de 2024, se observó una disminución en la expresión de SOD con respecto al control en todos los tratamientos. En el muestreo de abril de 2024, la expresión fue ligeramente más elevada en los tres jagüeyes de estudio en comparación con el control, aunque no de manera significativa.

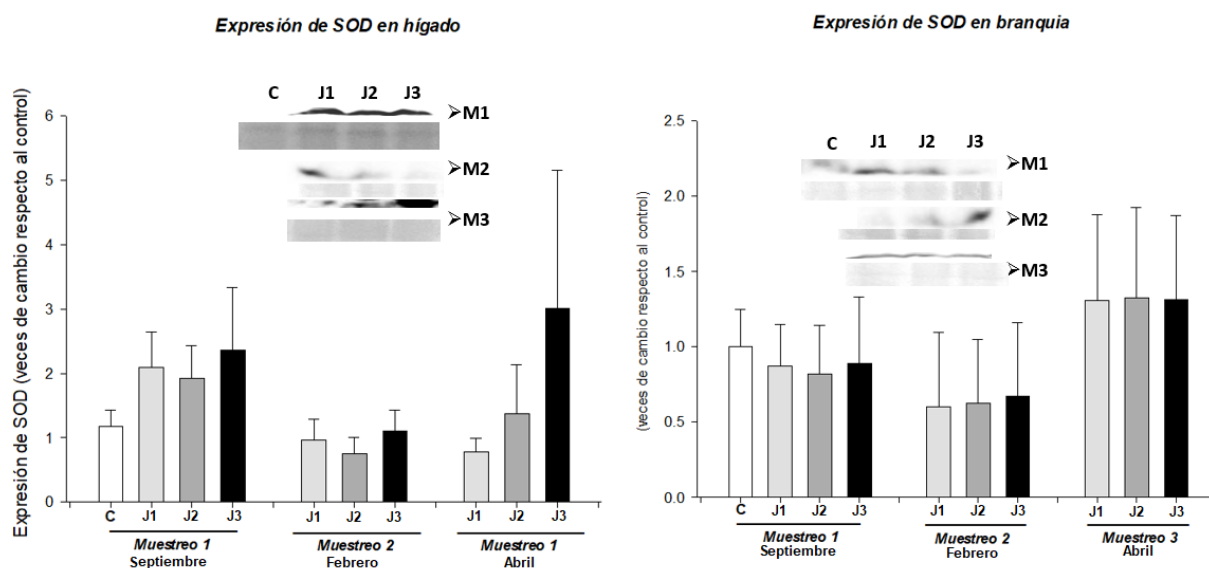


Figura 17. Expresión de superóxido dismutasa [SOD] en hígado y branquia de diez ejemplares de pez cebra (*Danio rerio*) expuestos al agua de los jagüeyes de la Reserva Estatal Flor del Bosque. (J1 “Desafíos”, J2 “Vivero”, J3 “Cabaña 6”). Muestreo 1 septiembre 2023, Muestreo 2 febrero 2024, muestreo 3 abril 2024.

10. Discusión.

Los resultados obtenidos en el análisis de la calidad del agua de los jagüeyes confirmaron la presencia de una mezcla de 23 sustancias, las cuales son: As y CN^- (Tablas 7, 8 y 9), 7 metales pesados: Cd, Cu, Cr, Hg, Ni, Pb y Zn (Tablas 11, 12 y 13) y 14 son compuestos orgánicos volátiles: benceno, clorobenceno, cloroformo, cloruro de vinilo, 1,4-diclorobenceno, 1,2-dicloroetano, 1,2-dicloroetileno, hexaclorobenceno, hexaclorobutadieno, metil etil cetona, piridina, tetracloroetileno, tetracloruro de carbono y tricloroetileno (Tablas 15, 16 y 17).

Estos hallazgos indican un impacto negativo en la calidad del agua, ya que los resultados fueron comparados con una norma de descargas de aguas residuales, a pesar de que los jagüeyes no reciben descargas de ningún tipo. En un área natural protegida, no debería existir contaminación de esta magnitud, lo que subraya la gravedad del problema y la urgente necesidad de tomar medidas para proteger los ecosistemas, pues los contaminantes también podrían estar afectando a la población.

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una sola vía, y aunque la prueba de Tukey no muestra diferencias significativas entre las zonas de estudio, salvo en pH, As y Cu (Tablas 6, 10, 14, y 18), es posible que el J3 presente valores más altos debido a que se encuentra en una zona más despejada. En esta área, la vegetación es menos abundante y el dosel de menor tamaño, lo que incrementa la evapotranspiración en comparación con las otras zonas.

El posible origen de los contaminantes detectados en el agua de los jagüeyes de la Reserva puede deberse a su cercanía con las principales vías de comunicación como el Periférico Ecológico y la Carretera Federal Puebla-Tehuacán. Las emisiones provenientes de las principales vías de comunicación muy transitadas pueden contribuir a la contaminación por metales pesados (Lough et al., 2005).

Como se ha mencionado anteriormente, en la Reserva no existen descargas de aguas residuales en los jagüeyes, por lo que la contaminación puede estar significativamente influenciada por la deposición de contaminantes atmosféricos. La calidad del aire se ve afectada principalmente por la emisión de contaminación producidas por fuentes fijas y móviles, tanto industriales como vehiculares (Handal-Silva et al., 2010). De acuerdo con el censo de INEGI, el parque vehicular en Puebla se ha incrementado significativamente, con 1,263,461 vehículos reportados hasta el año 2022, de los cuales 814,701 son automóviles particulares y 463,964 camiones y camionetas de carga pesada (INEGI, 2022). Las emisiones de cobre, por ejemplo, están relacionadas con el desgaste de los neumáticos (Lawton et al., 2014).

A pesar de que la gasolina está libre de plomo desde 1997, los sedimentos viales aún pueden contribuir a la contaminación del lugar, ya que estos compuestos permanecen en el suelo y se van liberando con el tiempo (Cortez-Lugo et al., 2003; Morton-Bermea et al., 2002). Un estudio sobre la contaminación por metales pesados cerca de las emisiones vehiculares encontró una relación entre la carga vehicular y la presencia de plomo en el suelo, sugiriendo que, a pesar de que las gasolinas dejaron de producirse con plomo, su presencia puede

deberse a años de uso de esta sustancia y su larga permanencia en el ambiente (Morton-Bermea et al, 2002).

La presencia de metales pesados en el agua además pudo incrementarse debido a la intensa actividad del volcán Popocatepetl registrada en 2023, ya que se ha comprobado que la ceniza contiene metales pesados como Al, Fe, Mg, Mn, Cr, Ni, Cu, Zn, Pb y Ti (Santamaría-Juárez et al., 2022; Shruti et al, 2018; Narváez-Porras & Cano Valle, 2004). La dispersión de ceniza se vio influenciada por los vientos predominantes alrededor de la zona del volcán. Un análisis de los vientos sugiere que, durante las erupciones estrombolianas del volcán, entre los meses de octubre y mayo, la dispersión de material volcánico como la tefra, podría dirigirse hacia el oriente, es decir, hacia la ciudad de Puebla. Además, el material fino podría dispersarse hasta 100 km desde la fuente de emisión (Delgado et al., 1994; Martin-del Pozzo, 2008). La Reserva Estatal Flor del Bosque se ubica a unos 50 km del volcán, lo que implica que ciertos elementos de la ceniza podrían precipitar en la zona. Los metales pesados, al no ser biodegradables, tienen la capacidad de bioacumularse y biomagnificarse, aumentando el riesgo para el ecosistema y la salud en general (Newman, 2014).

Es importante destacar que, de los 14 COVs analizados, 12 de ellos están clasificados por la Agencia Internacional de Estudios sobre el Cáncer [IARC, por sus siglas en inglés]. La presencia de estas sustancias, incluso en concentraciones por debajo de los límites establecidos por los Criterios Ecológicos de Calidad del Agua, representan un grave riesgo para la salud tanto ecológica como humana. Estas sustancias son conocidas por su potencial toxicidad, mutagenicidad y carcinogenicidad, por lo que pueden generar efectos adversos a largo plazo (Lancellotti et al, 2023). Además, su origen antrópico las convierte en indicadores de contaminación, por lo que su detección permite establecer medidas para reducir la emisión de estos contaminantes al ambiente.

Por otro lado, es sabido que, las principales fuentes de contaminación atmosférica son el consumo doméstico de energía, los vehículos de combustión, la generación de energía, la incineración de residuos y desechos agrícolas, la industria y los fenómenos naturales como las erupciones volcánicas; las cuales las podemos agrupar en: 1. Fuentes puntuales, que se caracterizan por ser estacionarias o estar en un punto fijo como las plantas de energía, industrias químicas, refinerías de petróleo y fábricas. 2. Fuentes móviles, que comprenden todas las formas de transporte y los vehículos automotores.

Al respecto, es sabido que los procesos y las actividades industriales generan emisiones de contaminantes como el óxido de nitrógeno, el amoníaco, el mercurio y el dióxido de carbono, que contaminan el agua, el aire y el suelo, y dañan la salud humana, el medio ambiente y la naturaleza.

Si se asocia la presencia de metales pesados y compuestos orgánicos volátiles identificados en los jagüeyes de la Reserva, podemos observar en las Tablas 7, 8 y 9 que estos contaminantes están relacionados con las emisiones generadas por las diversas actividades económicas localizadas en los parques industriales y en el municipio de Amozoc, tales como: la industria metalúrgica, química, de construcción y minería, además de actividades de alfarería. Por el tipo de los giros industriales identificados en los parques industriales cercanos a la zona de estudio (Tabla 6), se emiten: óxidos de azufre y otros compuestos de

azufre, óxidos de nitrógeno y otros compuestos de nitrógeno, óxidos de carbono, dióxido de carbono, ozono, compuestos orgánicos volátiles, metano, hidrocarburos aromáticos policíclicos, compuestos orgánicos persistentes, metales pesados, entre otros. Al producirse estos desechos y no ser controlados a tiempo, pueden alterar las propiedades físicas y químicas del suelo, emanar gases contaminantes, contaminar el agua por el arrastre de desechos que finalmente se depositan en los cuerpos de agua, como es el caso de los jagüeyes.

Adicionalmente, como ya se ha descrito, la zona se caracteriza por el denso e intenso tráfico vehicular en las vialidades cercanas a la reserva, que emiten una variedad de contaminantes peligrosos incluyendo dióxido de carbono (CO₂), monóxido de carbono (CO) óxidos de nitrógeno (NO_x), compuestos orgánicos volátiles (COVs) y partículas finas. También se genera ruido, congestión vial, accidentes, generación de chatarra, así como residuos de aceites y lubricantes, entre otros.

El Parque Industrial Puebla 2000 se ubica al noroeste de la ciudad de Puebla, mientras que el Parque Industrial Chachapa y el municipio de Amozoc se encuentran al noreste. La dirección predominante del viento facilita la dispersión de contaminantes hacia la zona de estudio, y la concentración de estos se relaciona directamente con la proximidad a las zonas industriales (Velea et al., 2009).

La dispersión de todos estos contaminantes en la atmósfera depende del viento, de la elevación a la que se encuentra la zona de estudio (entre 2,235 y 2546 m.s.n.m.) y de la turbulencia del aire. Estos contaminantes, luego de ser emitidos a la atmósfera, se diluyen formando una mezcla con el aire limpio. Como es sabido, el viento en regiones llanas puede desplazarse prácticamente de manera horizontal, lo cual indica que la dispersión de los contaminantes en la atmósfera está influenciada significativamente por la variabilidad de la dirección del viento (Velea et al., 2009). En el caso de laREFB, que alcanza una altura que oscila entre 2,235 y 2,546 m.s.n.m., su localización es más alta con respecto a las zonas de emisión de los contaminantes, por lo que actúa como una barrera natural que atrapa todos los contaminantes que lleva el viento. Si la dirección del viento es constante sobre la misma área, entonces estará continuamente expuesta a niveles relativamente altos de contaminación como lo demuestran las tablas con las concentraciones de metales pesados (Tablas 11,12 y 13) y COVs (Tablas 15, 16 y 17).

En resumen, la problemática de la presencia de 23 sustancias químicas en los jagüeyes de la REFB puede ser representado mediante un sistema integrado por tres componentes fundamentales: por un lado, las fuentes de emisión (industriales, tráfico vehicular y las erupciones volcánicas), la atmósfera (vientos) y los receptores (jagüeyes, fauna y flora) (Pabón et al., 2020; Vázquez-Ortega, 2015).

El origen de la contaminación del aire se encuentra en las fuentes de emisión. Los contaminantes son emitidos desde las fuentes a la atmósfera que actúa como medio para el transporte, la dilución y la mezcla, la remoción, la acumulación y las transformaciones físicas y químicas de estos. Por último, los receptores finales son los jagüeyes, los seres vivos que habitan la reserva y los materiales afectados por las sustancias contaminantes.

Un aspecto fundamental de la presente investigación toxicológica es la relación que existe entre la concentración de sustancias químicas, el tiempo de exposición y el grado de respuesta tóxica. Esta respuesta a la dosis generalmente se evalúa mediante ensayos de toxicidad, siendo fundamentales para comprender cómo la exposición química y el tiempo de exposición influyen en los efectos tóxicos. La relación en la presente investigación se caracterizó por la relación entre dos variables: dosis y respuesta. La dosis fue la medida de la cantidad de sustancia química identificada en cada uno de los jagüeyes, la cual fue absorbida o ingerida por el organismo (*Danio rerio*) y pudo ser cuantificada o estimada mediante el análisis molecular.

Los peces son sensibles a cambios en el ambiente y efectos de contaminantes. Los daños que estos producen se pueden manifestar a nivel del material genético, de proteínas, membranas celulares, en tejidos como las aletas, branquias e hígado, así como en el comportamiento, dado que pueden inducir cambios en su conducta alimentaria, reproductiva y evasión ante sus depredadores, entre otros (Hastein et al., 2005).

Al respecto, se ha demostrado como en los cíclidos, ejemplo la tilapia, el cianuro de sodio aumenta el movimiento opercular y le provoca nado irregular, pérdida del equilibrio y agresividad (Prashanth, 2012), las nanopartículas de óxido de zinc acumuladas provocan pérdida del apetito y modifican su comportamiento de defensa (de Campos et al., 2019) y el mercurio reduce el nado y aumenta la agresividad (Abu Zeid et al., 2020).

Sin embargo, por los resultados obtenidos de la exposición del pez cebr a la mezcla de 23 sustancias químicas provenientes de cada uno de los tres jagüeyes presentaron comportamiento normal, lo que significa que no se alteró la ingesta del alimento, tampoco presentaron signos de agresividad entre ellos y el nado fue normal en grupos. Lo cual podría indicar que la mezcla de los 23 contaminantes presentes en el agua no alteró la salud del sistema nervioso central de este pez. Esto podría deberse a que el tratamiento fue a 5 días, y que las concentraciones de las sustancias tóxicas fueron bajas para evocar una respuesta medible u observable donde podría haber la posibilidad de que se presentaran efectos nocivos cuando las concentraciones son más elevadas, constantes y por más tiempo de exposición.

De acuerdo con Kinkelin (1991), es importante considerar tres aspectos ambientales fundamentales durante un tratamiento agudo: la acidosis, la micosis y la calidad del agua. En los jagüeyes de la REFB, se observó que los valores de pH se mantuvieron en un rango entre 7.17 y 8.95, coincidiendo con los rangos de pH de los eritrocitos y la hemolinfa. Por lo tanto, el proceso de intercambio gaseoso no se vio afectado, descartando la presencia de acidosis. En cuanto la micosis, también fue descartada, ya que la principal respuesta fisiológica del pez ante la presencia de hongos es la excesiva secreción de moco. No obstante, el análisis macroscópico de los individuos expuestos al agua mostró que esta secreción se produjo de manera normal en los grupos experimentales en comparación con el grupo control.

De igual manera, no se observaron alteraciones morfológicas en los tejidos branquial y hepático que afectarían las funciones de estos órganos (Figuras 13 C y J3, 14 y 15). Una secreción abundante de moco puede adherir las lamelas e interferir con el intercambio gaseoso; sin embargo, las lamelas de los grupos experimentales se encontraron en

condiciones normales, con una estructura bien definida y sin signos de adherencia, lo que permitió descartar la presencia de micosis.

En cuanto al último factor ambiental, la calidad del agua, se observó que, a pesar de la presencia de 23 sustancias químicas en el agua de los jagüeyes, sus concentraciones no fueron suficientes para provocar la muerte de ninguno de los ejemplares, lo que resultó en un porcentaje de supervivencia del 100%. Esto sugiere que, probablemente, a una mayor concentración de los contaminantes identificados, los peces podrían manifestar cambios de comportamiento, como nadar en la superficie, pérdida del equilibrio e incremento de la frecuencia respiratoria para eliminar las sustancias extrañas de las branquias. Además, se podrían observar lesiones más severas en las branquias, como la obstrucción en las lamelas, lo que alteraría el normal intercambio de gases, así como un aumento en el revestimiento de moco en branquias para protegerlas de los contaminantes. En el hígado, también podrían aparecer lesiones internas en el tejido hepático, como inflamación de los hepatocitos, alteraciones en la morfología de la vena central y los sinusoides, e incluso necrosis (Qamar et al., 2022). Sin embargo, ninguna de estas alteraciones fue observada (Figura 15).

Una de las funciones de las proteínas es el mantenimiento de los niveles de metales a nivel celular. Este hecho sugiere pensar que los organismos son capaces de mantener este estado mediante el uso de complejos inorgánicos de metales y metaloides que almacenan y transportan los iones metálicos de forma controlada.

Las MTs1 tienen la capacidad de unirse a metales pesados que tienen función tanto fisiológica (Zn y Cu), o como los contaminantes que se encuentran en el medio ambiente (Cd, Hg y Ag), a través de los grupos tiol (-SH) de sus residuos de cisteína. El secuestro de metales por las MTs es claramente evidente en las branquias, riñones e hígado, lo cual indica la importancia de estos tejidos en la recepción, almacenamiento y eliminación de metales (Langston & Bebianno 1998; Teoh et al., 2015).

Los resultados obtenidos en branquia e hígado con respecto a la expresión de MT1 son positivos en el tratamiento de J1 durante el muestreo de septiembre de 2023, donde se observó una mayor expresión de MT en hígado en comparación con el grupo control. Esto coincide con los análisis de la calidad del agua donde se pudo observar una elevada concentración de metales pesados en el agua, principalmente de Hg y Pb. Esta sobreexpresión de MT1 se presenta como una respuesta biológica de las células ante la presencia de los metales pesados en el agua. De acuerdo con Bawuro et al. (2018), el Zn, Cu y Pb registran una mayor acumulación en el hígado, mientras que el Cd suele acumularse en las branquias.

Como se mencionó anteriormente, la expresión de biomarcadores de exposición también está relacionada con las características metabólicas individuales. En los ensayos con modelos biológicos, factores como la edad, el sexo y el tiempo de exposición pueden influir en los resultados (Cazenave et al., 2021). Esto podría explicar la disminución de MT1, ya que la metalotioneína suele encontrarse en mayores concentraciones en embriones que en peces adultos. Esto se debe a que la MT está relacionada con la regulación de Zn y Cu durante las primeras etapas de vida (García-Rico et al., 1999). A medida que los peces envejecen, su metabolismo se ralentiza, lo que podría hacer que la respuesta a los agentes contaminantes

sea más lenta. Por lo tanto, el tiempo de exposición podría no haber sido suficiente para inducir una expresión significativa de MT como mecanismo de defensa contra los metales en el agua. Esto podría explicar la disminución de la expresión de MT1 observada en el hígado durante los tratamientos de abril. Además, la expresión de la MT1 pudo haberse visto afectada por cambios en la estructura del gen que regula su expresión, la diferenciación, así como el propio desarrollo celular (Ureña-Robles, 2007). Lo anterior se plantea como una suposición, ya que estos aspectos no fueron analizados en esta investigación.

Con respecto a la expresión de superóxido dismutasa [SOD] se observó una mayor presencia de esta enzima en hígado en comparación con las branquias. Esto puede estar relacionado con la función intrínseca del hígado, que actúa como un órgano detoxificador, puesto que lleva a cabo numerosas funciones metabólicas. Como resultado, es más probable encontrar una mayor expresión de SOD en el hígado dado que actúa como defensa antioxidante ante la presencia de contaminantes (Batista et al., 2014). Por el contrario, a pesar de que en el histograma se observa una expresión elevada en los grupos experimentales de J3 en las branquias, no se observaron diferencias significativas en la expresión de SOD entre los grupos experimentales y el control (Figura 17). Estos resultados coinciden con lo reportado por Elarabany & Bahnasawy (2019) donde la mezcla de Pb y Cd no causó la expresión de SOD en este órgano.

A pesar de que la SOD se produce naturalmente como resultado del proceso de respiración celular, el aumento en su expresión observado en el hígado de los tres jagüeyes durante el primer muestreo, así como en J3 durante el muestreo de abril, sugiere una relación con la elevada concentración de contaminantes en el agua, tanto de metales pesados como de COVs. Asimismo, las metalotioneínas no sólo están relacionadas con la homeostasis de los metales en el organismo, sino que también están relacionadas con la capacidad de reaccionar con los radicales libres, reduciendo así los efectos de las especies reactivas de oxígeno, esto debido a su gran cantidad de grupos tiol (Juárez-Rebollar & Méndez-Armenta, 2014)

Un gran número de publicaciones mencionan los efectos de los metales pesados en las células; sin embargo, estos estudios a menudo se centran en un metal específico y en concentraciones estandarizadas. En el caso de este estudio, los metales y los compuestos orgánicos volátiles se encontraron en una mezcla, lo que ocasiona que la respuesta a nivel subcelular y tisular no pueda diferenciarse para cada contaminante individual en el agua. En otras palabras, la respuesta celular observada en la expresión de MT1 y SOD se debe a la compleja combinación total de contaminantes presentes. Esta mezcla de contaminantes podría haber afectado la respuesta subcelular de los peces debido a la interacción entre los distintos contaminantes, puesto que, en la naturaleza, el agua se encuentra en combinación con otras sustancias, lo que significa que los peces no están expuestos a cada contaminante de manera individual.

Asimismo, Chovanec (2003) menciona que, durante un periodo corto de exposición, los peces responden a nivel subcelular. Por lo general, tienen la capacidad de compensar los efectos tóxicos de los contaminantes mediante la inducción de metalotioneína y superóxido

dismutasa que ayude a contrarrestar los efectos de los contaminantes en el agua, y de esta manera, su salud no se ve seriamente afectada.

Estos resultados aportan evidencia clara de la respuesta del organismo ante agentes nocivos, dejando abierta la posibilidad de realizar análisis más profundos utilizando diferentes condiciones de ensayo. Esto debido a que los peces se encuentran expuestos a una amalgama de sustancias que pueden estar actuando en sinergia. Además, la similitud en el genoma del pez cebra con el de otros vertebrados, incluido el ser humano, sugiere que el estrés observado a nivel molecular podría ocurrir en otras especies que habitan la reserva, como resultado del consumo del agua contaminada (Castillo-Salas et al., 2022).

Como bien confirma Almonte (2020), las áreas naturales protegidas a nivel estatal se encuentran infravaloradas. La protección de estos espacios naturales no debe limitarse a un nombramiento jurídico plasmado en documentos oficiales, más bien, es fundamental realizar acciones conjuntas entre gobiernos municipales y estatales, sociedad y academia para garantizar la protección y manejo adecuado de las ANP locales. De esta manera se puede asegurar la continuidad de los servicios ecosistémicos a nivel regional.

11. Conclusiones.

La intermitencia en el patrón de lluvias y las condiciones climáticas registradas en el año 2023 y lo que va del presente año han generado una notable disminución en el volumen del agua almacenada en los jagüeyes de la Reserva Estatal Flor del Bosque. Esta situación se ve agravada por la falta de un plan de manejo adecuado en la zona, lo que disminuye la capacidad de almacenamiento de estos cuerpos de agua fundamentales para el parque. Es importante que se realicen las gestiones correspondientes para llevar a cabo trabajos de desazolve en los jagüeyes, con el fin de aumentar su capacidad de captación de agua y garantizar que permanezcan llenos durante toda la época de estiaje

La presencia de metales pesados y COVs en el agua, representa un riesgo para la flora y fauna de la zona, debido a que algunas sustancias, como el cadmio, mercurio, 1,2-dicloroetano, tetracloroetileno, tetracloruro de carbono y tricloroetileno son persistentes, bioacumulables y carcinogénicas, por lo que la exposición a estos contaminantes debe reducirse al mínimo.

Aunque las concentraciones de los contaminantes encontrados en el agua no son letales en el modelo de pez cebra en un ensayo agudo (5 días), la expresión de MT y SOD revela cambios a nivel molecular. La presencia de estas proteínas indica exposición a contaminación ambiental, principalmente por metales pesados y especies reactivas de oxígeno. Aunque no se identificaron daños a nivel tejido en branquias e hígado, una mayor concentración de estos contaminantes o un tratamiento de exposición prolongada (tratamiento crónico) podrían causar alteraciones morfológicas y fisiológicas en órganos blanco. La expresión de biomarcadores de exposición desempeña un papel fundamental como indicadores de alerta temprana que se manifiestan como respuesta ante la presencia de sustancias nocivas. La detección de estos biomarcadores contribuye a realizar acciones para contrarrestar sus efectos, evitando que la contaminación afecte a otros niveles superiores de organización

La combinación de emisiones vehiculares e industriales, junto con la dirección del viento y la proximidad a las fuentes de contaminación sugiere que la deposición atmosférica es una contribución significativa a la contaminación de los jagüeyes. Esto subraya la necesidad de implementar medidas más estrictas para controlar las emisiones y proteger las áreas verdes en el estado.

Parte importante de la gestión ambiental es el monitoreo y vigilancia de los generadores de contaminantes, por lo que es fundamental asegurar el cumplimiento de la normatividad vigente a través de regulaciones más estrictas en beneficio del medio ambiente y de la población en general. En este sentido, es importante que se regulen las emisiones de contaminantes atmosféricos, estableciendo parámetros permisibles de emisión más rigurosos, con el fin de evitar enfermedades graves a largo plazo.

Asimismo, se recomienda aprovechar al máximo la infraestructura de la Reserva Estatal Flor del Bosque. Dado que existe una estación de monitoreo meteorológico que bien podría complementarse de un equipo que permita la detección de partículas como PM₁₀ y PM_{2.5}, lo

que facilitaría identificar con mayor detalle los contaminantes presentes en la zona y establecer medidas más precisas, puntuales y eficaces para minimizar la contaminación atmosférica y el efecto perjudicial en el ecosistema.

Es esencial reafirmar el compromiso con los Objetivos de la Agenda 2030 en cuanto a la protección del agua y los ecosistemas, asegurando así la preservación de los servicios ecosistémicos para las generaciones presentes y futuras.

12. Referencias.

- Abcam (2022). General Western blot protocol. <https://docs.abcam.com/pdf/protocols/general-western-blot-protocol.pdf>
- Abu Zeid, E. H., Khalifa, B. A., Said, E. N., Arisha, A. H., & Reda, R. M. (2020). Neurobehavioral and Immune-toxic Impairments Induced by Methyl Mercury Dietary Exposure in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquatic Toxicology*, 105702. doi:10.1016/j.aquatox.2020.105702
- Almonte, M. T., González, Á. B., López, S. V., Valverde, B. R., Gutiérrez, V. C., & Bello, G. C. (2020). Factors of deterioration of the periurban protected natural areas of the Valley of Puebla, Mexico. *Estudios Demográficos y Urbanos*, 35(1), 51–82. <https://doi.org/10.24201/edu.v35i1.1828>
- Álvarez Malvido, M., Lázaro, C., De Lamo, X., Juffe-Bignoli, D., Cao, R., Bueno, P., Sofrony, C., Maretti, C., & Guerra, F. (2021). *Informe Planeta Protegido 2020: Latinoamérica y El Caribe*.
- Amaral, A. F., Alvarado, N., Marigomez, I., Cunha, R., Hylland, K., & Soto, M. (2002). Autometallography and metallothionein immunohistochemistry in hepatocytes of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) after exposure to cadmium and depuration treatment. *Biomarkers*, 7(6), 491-500.
- Amiard, J. C., Amiard-Triquet, C., Barka, S., Pellerin, J., & Rainbow, P. S. (2006). Metallothioneins in aquatic invertebrates: Their role in metal detoxification and their use as biomarkers. In *Aquatic Toxicology* (Vol. 76, Issue 2, pp. 160–202). <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.08.015>
- Arango, S. S. (2012). Biomarcadores de riesgo en la evaluación de la salud humana.pdf. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 75–82.
- Ardisson, P. L., May-Kú, M. A., Herrera-Dorantes, M. T., & Arellano-Guillermo, A. (2011). El sistema arrecifal mesoamericano-México: Consideraciones para su designación como zona marítima especialmente sensible. *Hidrobiológica*, 21(3), 261-280.
- Badano, E. I., García-Guzmán, J., Vergara-Briceño, C. H., Martínez-Romero, L. E., Barranco-León, M. D. L. N., Luna-Castellanos, F., ... & Ramos-Palacios, C. R. (2012). Conservation value of a natural protected area in the state of Puebla, Mexico. *Revista mexicana de biodiversidad*, 83(3), 834-846.
- Batista, M. T. O., Rodrigues Junior, E., Feijó-Oliveira, M., Ribeiro, A. C., Rodrigues, E., Suda, C. N. K., & Vani, G. S.. (2014). Tissue levels of the antioxidant enzymes superoxide dismutase and catalase in fish *Astyanax bimaculatus* from the Una River Basin. *Revista Ambiente & Água*, 9(4), 621–631. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.1473>
- Bawuro, A. A., Voegborlo, R. B., & Adimado, A. A. (2018). Bioaccumulation of Heavy Metals in Some Tissues of Fish in Lake Geriyo, Adamawa State, Nigeria. *Journal of environmental and public health*, 2018, 1854892. <https://doi.org/10.1155/2018/1854892>

- Berumen Solórzano, A., Maimone Celorio, M. R., Villordo Galván, J. A., Olivera Ávila, C. I., & González Oreja, J. A. (2017). Cambios temporales de la avifauna acuática en el sitio Ramsar "Presa de Valsequillo", Puebla, México. *Huitzil*, 18(2), 202-211.
- Borges, R. S., Pereira, A. C. M., de Souza, G. C., & Carvalho, J. C. T. (2019). Histopathology of zebrafish (*Danio rerio*) in nonclinical toxicological studies of new drugs. *In Zebrafish in Biomedical Research*. IntechOpen.
- Brown, M. T., & Depledge, M. H. (1998). Determinants of trace metal concentrations in marine organisms. *In Metal metabolism in aquatic environments* (pp. 185-217). Boston, MA: Springer US.
- Brunel, N., & Seguel, O. (2011). Efectos de la erosión en las propiedades del suelo. *Agro sur*, 39(1), 1-12.
- Calderón, C., Aburto, O., & Ezcurra, E. (2009). El valor de los manglares. *Biodiversitas*, 82(1), 2-6.
- Carriquiriborde, P. (2021). Principios de Ecotoxicología. *Libros de Cátedra Principios de Ecotoxicología*, 343. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/118183>
- Castañeta, G., Gutiérrez, A. F., Nacaratte, F., & Manzano, C. A. (2020). Microplásticos: un contaminante que crece en todas las esferas ambientales, sus características y posibles riesgos para la salud pública por exposición. *Revista boliviana de química*, 37(3), 142-157.
- Castillo-Salas, D. L., Gaytán-Oyarzun, J. C., López-Herrera, M., & Sánchez-Olivares, M. A. (2022). Pez cebra (*Danio rerio*): modelo experimental en la evaluación de compuestos xenobióticos. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI*, 10(19), 61-65.
- Cazenave, J. Amé, M.V & Menone, M.L. (2021) Biomarcadores de contaminación. En Carriquiriborde, P. (2021). *Principios de Ecotoxicología. Libros de Cátedra Principios de Ecotoxicología*, 343. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/118183>
- Çelebi, H., Bahadır, T., Şimşek, İ., & Tulun, Ş. (2023). *Danio rerio: A Sustainable Model for Monitoring Pollutants in Aquatic Environments*. 69. <https://doi.org/10.3390/ecws-7-14310>
- César Bahia De Aguiar, P., Souza, A. M., & Moreau, S. (2013). Áreas Naturales Protegidas: Una breve historia del surgimiento de los Parques Nacionales y Reservas Extractivas. *Revista Geográfica De América Central*, 1(50), 195-213.
- Chen, W. Y., John, J. A. C., Lin, C. H., Lin, H. F., Wu, S. C., Lin, C. H., & Chang, C. Y. (2004). Expression of metallothionein gene during embryonic and early larval development in zebrafish. *Aquatic Toxicology*, 69(3), 215-227. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.05.004>
- Chovanec, A., Hofer, R., & Schiemer, F. (2003). Chapter 18 Fish as bioindicators. *Trace Metals and Other Contaminants in the Environment*, 6(C), 639-676. [https://doi.org/10.1016/S0927-5215\(03\)80148-0](https://doi.org/10.1016/S0927-5215(03)80148-0)

- Comisión Mundial de Áreas Protegidas [CMAP] (s.f). Mandato 2021-2025. Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza. https://www.iucn.org/sites/default/files/2023-07/wcpa_mandate_2021-2025_es.pdf
- Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas [CONANP] (2011). *Historia*. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. https://www.conanp.gob.mx/quienes_somos/historia.php
- Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas [CONANP] (2024). *Numeralia sobre las Áreas Naturales Protegidas de México*. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, <https://simec.conanp.gob.mx/numeralia.php>
- Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas [CONANP] (s.f.-a) *Iztaccíhuatl-Popocatepetl*. <https://descubreanp.conanp.gob.mx/swb/conanp/ANP?suri=81>
- Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas [CONANP] (s.f.-b) *La Montaña Malinche o Matlacuéyatl*. <https://descubreanp.conanp.gob.mx/swb/conanp/ANP?suri=86>
- Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas [CONANP] (s.f.-c) *Pico de Orizaba*. <https://descubreanp.conanp.gob.mx/swb/conanp/ANP?suri=86>
- Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas [CONANP] (s.f.-d) *Tehuacán-Cuicatlán*. <https://descubreanp.conanp.gob.mx/swb/conanp/ANP?suri=166>
- Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas [CONANP] (s.f.-e) *Zona Protectora Forestal Vedada Cuenca hidrográfica del Río Necaxa*. <https://descubreanp.conanp.gob.mx/swb/conanp/ANP?suri=186>
- Comisión Nacional del Agua [CONAGUA]. (2009). Semblanza histórica del agua en México. SEMARNAT, CONAGUA, México, 13.
- Comisión Nacional Forestal [CONAFOR] (2021). *Programa Anual de Trabajo 2021*. https://www.conafor.gob.mx/transparencia/docs/2021/PAT_2021_CONAFOR.pdf
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad [CONABIO] (2011). *La Biodiversidad en Puebla: Estudio de Estado*. México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Gobierno del Estado de Puebla, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. 440 pp
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad [CONABIO] (2021a). *Bosques templados*. <https://www.biodiversidad.gob.mx/ecosistemas/bosqueTemplado>
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad [CONABIO] (2021b). *Matorrales* <https://www.biodiversidad.gob.mx/ecosistemas/Matorral>
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad [CONABIO] (2021c). *Manglares* <https://www.biodiversidad.gob.mx/ecosistemas/manglares>
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad [CONABIO] (2022a). *Ambiente pelágico* <https://www.biodiversidad.gob.mx/ecosistemas/ecosismex/ambiente-pelagico>

- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad [CONABIO] (2022b). *Arrecifes* <https://www.biodiversidad.gob.mx/ecosistemas/arrecifes>
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad [CONABIO] (2022c). *Bosques nublados* <https://www.biodiversidad.gob.mx/ecosistemas/bosqueNublado>
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad [CONABIO] (2022d). *Pastizales* <https://www.biodiversidad.gob.mx/ecosistemas/pastizales>
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad [CONABIO] (2022e). *Selvas húmedas*. <https://www.biodiversidad.gob.mx/ecosistemas/selvaHumeda>
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad [CONABIO] (2024) *Convenio sobre la Diversidad Biológica*. <https://www.biodiversidad.gob.mx/planeta/internacional/cbd>
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad [CONABIO] (s.f.) *¿Qué Hacemos?* <https://www.gob.mx/conabio/que-hacemos>
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. [CONABIO] (2023). *Áreas protegidas | Biodiversidad Mexicana*. <https://www.biodiversidad.gob.mx/region/areasprot>
- Copper, J. E., Budgeon, L. R., Foutz, C. A., van Rossum, D. B., Vanselow, D. J., Hubley, M. J., ... & Cheng, K. C. (2018). Comparative analysis of fixation and embedding techniques for optimized histological preparation of zebrafish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 208, 38-46.
- Cortés, J., A. Villamizar, G.J. Nagy, P.O. Girot, K.S.B. Miglioranza y S. Villasante, (2020): Ecosistemas marino-costeros. En Moreno, J.M., C. Laguna-Defior, V. Barros, E. Calvo Buendía, J.A. Marengo y U. Oswald Spring (eds.) *Adaptación frente a los riesgos del cambio climático en los países iberoamericanos – Informe RIOCCADAPT*. McGraw-Hill, Madrid, España (pp. 131-160, ISBN: 9788448621643).
- Cortez-Lugo, M., Téllez-Rojo, M. M., Gómez-Dantés, H., & Hernández-Avila, M. (2003). Tendencia de los niveles de plomo en la atmósfera de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México: 1988-1998. *salud pública de México*, 45, 196-202.
- Covarrubias-López, A. C., García-Suastegui, W. A., Valencia-Quintana, R., Avelino-Flores, F., Méndez-Bermúdez, A., & Handal-Silva, A. (2023). Human Impact in the Watershed of the Atoyac River in the Metropolitan Area of Puebla, Mexico. *Sustainability*, 15(13), 10565.
- Dang, Y., Ling, S., & Xu, J.-W. (2016). Manganese Superoxide Dismutase in Cardiovascular Disease. En N. H. Phillips (Ed.), *Superoxide Dismutase (SOD): Sources, Therapeutic Uses and Health Benefits* (pp. 1-36). Nova Science Publishers, Inc.
- DataStream Initiative (2021). *A Monitor's Guide to Water Quality*.
- David Ruales, C., Arturo, C., & Torres, V. (2010). Redalyc. Transporte iónico en el epitelio branquial de peces de agua dulce. *Revista Lasallista de Investigación*, 7(1), 85–99. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=69514965010>

- De Campos, R. P., Chagas, T. Q., da Silva Alvarez, T. G., Mesak, C., de Andrade Vieira, J. E., Paixão, C. F. C., ... Malafaia, G. (2019). Analysis of ZnO nanoparticle-induced changes in *Oreochromis niloticus* behavior as toxicity endpoint. *Science of The Total Environment*, 682, 561–571. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.05.183
- De La Maza Elvira, R. (1999). Una historia de las áreas naturales protegidas en México*. *Gaceta Ecológica México*, 51.
- De La Ossa-Lacayo, A., & Herrera-Betín, J. M. (2017). Los jagüeyes comunitarios como un sistema ambiental antrópico y la importancia de su gestión. *Revista colombiana de ciencia animal recia*, 9(1), 98-109.
- Declerck, S., De Bie, T., Ercken, D., Hampel, H., Schrijvers, S., Van Wichelen, J., Gillard, V., Mandiki, R., Losson, B., Bauwens, D., Keijers, S., Vyverman, W., Goddeeris, B., De meester, L., Brendonck, L., & Martens, K. (2006). Ecological characteristics of small farmland ponds: Associations with land use practices at multiple spatial scales. *Biological Conservation*, 131(4), 523–532. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2006.02.024
- Delgado, H., Carrasco, G., Cervantes, P., Cortés, R., & Molinero, R. (1994). Patrones de viento en la región del Volcán Popocatepetl y Ciudad de México. *Volcán Popocatepetl—estudios realizados durante la crisis de, 1995*, 295-326.
- Dirzo, R., Young, H. S., Galetti, M., Ceballos, G., Isaac, N. J., & Collen, B. (2014). Defaunation in the Anthropocene. *science*, 345(6195), 401-406.
- Dudley, N., & Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza [UICN]. (2008). *Directrices para la aplicación de las categorías de gestión de áreas protegidas*.
- Elarabany, N., & Bahnasawy, M. (2019). Comparative and interactive biochemical effects of sub-lethal concentrations of cadmium and lead on some tissues of the African catfish (*Clarias gariepinus*). *Toxicological Research*, 35(3), 249-255.
- Estrada Rivera, A., Díaz Fonseca, A., Treviño Mora, S., García Suastegui, W. A., Castelán Vega, R. D. C., Chávez Bravo, E., Zayas Pérez, M. T., Morán Perales, J. L., & Handal Silva, A. (2022). Anthropogenic Contamination of the Atoyac River, México. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 987(1). https://doi.org/10.1088/1755-1315/987/1/012007
- Gagneten, A.M. & Regaldo L. (2021) Efectos sobre las comunidades biológicas. En Carriquiriborde, P. (2021). *Principios de Ecotoxicología. Libros de Cátedra Principios de Ecotoxicología*, 343. http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/118183
- Ganesan, A. (2020). *Characterization of Cu-only SOD Repeat Protein in Zebrafish (Danio rerio)*. Master of Science Thesis. Johns Hopkins University
- García Triana, B., García Morales, O., Clapes Hernández, S., Rodes Fernández, L., & García Piñeiro, J. C. (1995). Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: I. Superóxido dismutasas. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 14(1),

- García, E. (2004). Modificación al sistema de clasificación climática de Köppen. 4ª. *Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). México, DF, 246.*
<http://www.publicaciones.igg.unam.mx/index.php/ig/catalog/view/83/82/251-1>
- García-Rico, L., Robles--Burgueño, M. del R., & Valenzuela--Soto, E. M. (1999). Las metalotioneínas y su relación con la toxicidad del cadmio en los mamíferos. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 15(2), 113–120.
- Gobierno del Estado de Puebla (2004). Programa Parcial de Ordenamiento Urbano y Protección Ecológica de la Zona de Regulación 2, del sur del Municipio de Amozoc, Haras Flor Del Bosque.
https://ojp.puebla.gob.mx/media/k2/attachments/ordenamiento_urbano_haras_flor_del_bosque_de_amozoc.pdf
- Gobierno del Estado de Puebla (2021). *Aviso de Disposición del Estudio Técnico para declarar Área Natural Protegida, la zona denominada “Flor del Bosque”.*
https://ojp.puebla.gob.mx/media/k2/attachments/Aviso_de_Disposicion_del_Estudio_Tcnico_para_declarar_rea_Natural_Protegida_la_zona_denominada_Flor_del_Bosque_09feb2021.pdf
- Goyenechea-Mayer, I., Chavarría-Olmedo, Y., García, A. L. M., & Ortiz-Caballero, E. (2019). Evolución en la selección de áreas protegidas en el continente americano, el caso de Estados Unidos, México y Costa Rica. *Pädo Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingeniería*, 7(13), 47–53
- Gupta, P. K. (2020). Problem Solving Questions in Toxicology: In *Problem Solving Questions in Toxicology*: Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-50409-0>
- Gutiérrez, E. R. (2006). Ciencias ambientales. Dentro del concepto de proyecto. *Tecnogestión: Una Mirada al Ambiente*, 3(1).
- Handal-Silva, A., Pérez-Vargas, A., Contreras- Cruz, A., Pineda-Galindo, K., Maldonado-Torres, A., & Morán-Raya, Carolina. (2010). Estudio del Impacto Ambiental de los medios de Transporte en la Zona Metropolitana del Valle de Puebla. Estudio Preliminar. En Ruiz-Careaga, J. Castelán-Vega, R., Tamariz-Flores, V., & Hernández, M.A. (2010) *Ciencias Ambientales. Temáticas para el Desarrollo. Volumen IV*. Dirección de Fomento Editorial de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México.
- Hastein, T., Scarfe, A. D., & Lund, V. L. (2005). Science-based assessment of welfare: aquatic animals. *Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties*, 24(2), 529.
- Heinen, J. T. (2010). The importance of a social science research agenda in the management of protected natural areas, with selected examples. *Botanical Review*, 76(2), 140–164.
<https://doi.org/10.1007/s12229-010-9043-y>
- Hernández, J. C. M., Morales, J. A., & Juárez, R. M. (2016). Análisis de metales pesados en Parque Estatal “Flor del Bosque”. *Ra Ximhai: revista científica de sociedad, cultura y desarrollo sostenible*, 12(4), 43-55.

- Holdgate, M. (1999). *The Green Web: A Union for World Conservation* (1st ed.). Routledge.
<https://doi.org/10.4324/9781315071329>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (2022). Marco Geoestadístico, diciembre 2022.
https://www.inegi.org.mx/contenidos/productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/geografia/marcogeo/889463770541_s.zip
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI] (2007). Catálogo de metadatos geográficos. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI] (2022). Vehículos de motor registrados en circulación. Conjunto de datos.
https://www.inegi.org.mx/sistemas/olap/consulta/general_ver4/MDXQueryDatos.asp?#Regreso&c=
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI] (2023). Directorio Estadístico Nacional de Unidades Económicas [DENUE].
<https://www.inegi.org.mx/app/descarga/>
- International Agency for Research on Cancer (2024). *List of classifications*.
<https://monographs.iarc.who.int/list-of-classifications/>
- International Union for Conservation of Nature [IUCN] Red List of Threatened Species. (s.f.). Retrieved May 5, 2024, from <https://www.iucnredlist.org/es>
- Isani, G., & Carpenè, E. (2014). Metallothioneins, unconventional proteins from unconventional animals: a long journey from nematodes to mammals. In *Biomolecules* (Vol. 4, Issue 2, pp. 435–457). <https://doi.org/10.3390/biom4020435>
- Jiménez, L. F., & Merchant, H. (2003). *Biología celular y molecular* (pp. 912). México: Pearson educación.
- Juárez-Rebollar, D., & Méndez-Armenta, M. (2014). Aspectos funcionales de la metalotioneína en el sistema nervioso central. *Archivos de Neurociencias*, 19(1), 34–41.
- Ken, C. F., Lin, C. T., Shaw, J. F., & Wu, J. L. (2003). Characterization of fish Cu/Zn-superoxide dismutase and its protection from oxidative stress. *Marine Biotechnology*, 5(2), 167–173.
<https://doi.org/10.1007/s10126-002-0058-1>
- Kinkelin, P; Michel, C. & Ghittino, P. *Tratado de las enfermedades de los peces*. Acribia, Madrid, 1991. 353pp.
- Kishi, S., Slack, B. E., Uchiyama, J., & Zhdanova, I. V. (2009). Zebrafish as a genetic model in biological and behavioral gerontology: Where development meets aging in vertebrates - A mini-review. In *Gerontology* (Vol. 55, Issue 4, pp. 430–441).
<https://doi.org/10.1159/000228892>
- Krežel, A., & Maret, W. (2021). The Bioinorganic Chemistry of Mammalian Metallothioneins. In *Chemical Reviews* (Vol. 121, Issue 23, pp. 14594–14648). American Chemical Society.
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00371>

- Laborde, J (2021). Peces como animales de experimentación. Ciencia y bienestar de los animales de laboratorio. Capítulo 19 pp 217-228.
- Lancellotti, B. V., Hensley, D. A., & Stryker, R. (2023). Detection of heavy metals and VOCs in streambed sediment indicates anthropogenic impact on intermittent streams of the US Virgin Islands. *Scientific Reports*, 13(1), 17238.
- Langston, W. J., & Bebianno, M. J. (Eds.). (1998). *Metal metabolism in aquatic environments* (No. 7). Springer Science & Business Media.
- Lawton, K., Cherrier, V., Grebot, B., Zglobisz, N., Esparrago, J., Ganzleben, C., ... & Farmer, A. (2014). Contribution of industry to pollutant emissions to air and water. *Final Report*.
- Leff, E. (2007). La Complejidad Ambiental. *POLIS Revista Latinoamericana*, 6(16), 1–9.
- Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente, [LGEEPA]. Diario Oficial de la Federación (DOF), Última Reforma DOF 08/05/2023.
<https://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/LGEEPA.pdf>
- Ley para la Protección del Ambiente Natural y el Desarrollo Sustentable del Estado de Puebla, [LPANDSEP]. Orden Jurídico Poblano (OJP) Última Reforma 21/10/2022.
<https://ojp.puebla.gob.mx/legislacion-del-estado/item/232-ley-para-la-proteccion-del-ambiente-natural-y-el-desarrollo-sustentable-del-estado-de-puebla>
- Lieschke, G. J., & Currie, P. D. (2007). Animal models of human disease: zebrafish swim into view. *Nature Reviews. Genetics*, 8(5), 353–367. <https://doi.org/10.1038/NRG2091>
- López, E. H. S. (2007). Las metalotioneínas y el estrés quirúrgico. *Revista de Educación Bioquímica*, 26(2), 67-72.
- Lough, G. C., Schauer, J. J., Park, J. S., Shafer, M. M., DeMinter, J. T., & Weinstein, J. P. (2005). Emissions of metals associated with motor vehicle roadways. *Environmental science & technology*, 39(3), 826-836.
- Marchal Valencia Diana (2009) El muérdago en la Ciudad de México. *Arbolama*. No. 2: 10-30
- Markert, B. A., Breure, A. M., & Zechmeister, H. G. (Eds.). (2003). *Bioindicators and biomonitors*. Elsevier.
- Martin-Del Pozzo, A. L., González-Morán, T., Espinasa-Pereña, R., Butron, M. A., & Reyes, M. (2008). Characterization of the recent ash emissions at Popocatepetl Volcano, Mexico. *Journal of volcanology and geothermal research*, 170(1-2), 61-75.
- Martínez-Romero, L.E. (2003). Plan de Manejo del Parque Estatal General Lázaro Cárdenas “Flor del Bosque”. Secretaría de Desarrollo Urbano, Ecología y Obras Públicas [SEDURBECOP].
- McCord, J. M., & Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *Journal of Biological chemistry*, 244(22), 6049-6055.

- Megías M, Molist P, Pombal MA. Atlas de histología vegetal y animal. <http://mmegias.webs.uvigo.es/inicio.html>. Consultado: 9 de diciembre de 2023.
- Montalvo Arenas, C. E. (2010). Técnica histológica.
- Morton-Bermea, O., Álvarez, E. H., Gaso, I., & Segovia, N. (2002). Heavy metal concentrations in surface soils from Mexico City. *Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology*, 68(3).
- Narváez Porras, O., & Cano Valle, F. (2004). Cenizas volcánicas: contaminación ambiental. *Revista del instituto nacional de enfermedades respiratorias*, 17(3), 232-238.
- Navarro Rodríguez, M. del C., González Guevara, L. F., Flores Vargas, R., & Amparán Salido, R. T. (2015). Fragmentación y sus implicaciones. Universidad de Guadalajara (pp 61)
- Neri Suárez, M., Muñiz Montero, I., Ramírez Castillo, M. L., & Muñiz Montero, C. (2016). El cerro Zapotecas y su importancia ecológica. *Repositorio Nacional CONACYT*.
- Newman, M.C., & Newman, M.C. (2014). *Fundamentals of Ecotoxicology: The Science of Pollution*, Fourth Edition (4th ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b17658>
- Nordberg, M., & Nordberg, G. F. (2022). Metallothionein and Cadmium Toxicology—Historical Review and Commentary. In *Biomolecules* (Vol. 12, Issue 3). MDPI. <https://doi.org/10.3390/biom12030360>
- Organización de las Naciones Unidas [ONU] (s.f.-a). *Convenio sobre la Diversidad Biológica, instrumento internacional clave para un desarrollo sostenible*. <https://www.un.org/es/observances/biodiversity-day/convention#:~:text=El%20Convenio%20sobre%20la%20Diversidad%20Biol%C3%B3gica%20cubre%20la%20diversidad%20biol%C3%B3gica,sobre%20Seguridad%20de%20la%20Biotecnolog%C3%ADa>
- Organización de las Naciones Unidas [ONU] (s.f.-b) *Historia de las Naciones Unidas | Naciones Unidas*. <https://www.un.org/es/about-us/history-of-the-un>
- Organización Internacional del Trabajo [OIT] (2022). *Biomarcadores*. <https://www.iloencyclopaedia.org/es/part-iv-66769/toxicology-57951/toxicology-test-methods/item/76-biomarkers>
- Organización para la Cooperación y Desarrollo Económicos [OCDE] (2019). *Test Guideline No 203. Fish, Acute Toxicity Testing*. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals
- Pabón, S. E., Benítez, R., Sarria, R. A., & Gallo, J. A. (2020). Contaminación del agua por metales pesados, métodos de análisis y tecnologías de remoción. Una revisión. *Entre Ciencia e Ingeniería*, 14(27), 9-18.
- Pérez-Osorio, G., Arriola-Morales, J., García-Lucero, T., Saldaña-Blanco, M. L., & Mendoza-Hernández, J. C. (2016). Evaluación de la calidad del agua de Cuatro Jagüeyes del Parque Estatal “Flor del bosque”, Puebla, México. *Ra Ximhai*, 12(4), 153-168.

- Periódico Oficial del Estado [POE] (2022). *Decreto del Ejecutivo del Estado, por el que declara área natural protegida de Jurisdicción Estatal, en la modalidad de Reserva Estatal, la zona denominada "Flor del Bosque"*. Gobierno del Estado.
- Periódico Oficial del Estado [POE], (2011). *Decreto del Ejecutivo del Estado, por el que declara Área Natural Protegida de Jurisdicción Estatal, en su modalidad de Reserva Estatal, la zona denominada "Sierra del Tentzo"*. Gobierno del Estado.
- Prashanth, M. S. (2012). Acute toxicity, behavioral and nitrogen metabolism changes of sodium cyanide affected on tissues of *Tilapia mossambica* (Peters). *Drug and chemical toxicology*, 35(2), 178-183.
- Prieto García, F., Báez Ramírez, O., Scout, W., Gaytán Oyarzún, J., & Zúñiga Estrada, A. (2007). Toxicidad y teratogénesis por arsénico en aguas en el pez cebra (*Danio rerio*). *Revista de Toxicología*, 24(1), 18-22.
- Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo [PNUD], Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas [CONANP], (2019) *Proyecto Resiliencia. Áreas Naturales Protegidas. Soluciones naturales a retos globales. (pp. 157)*
- Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente [PNUMA] (2021). *El mundo cumple su meta de áreas terrestres protegidas, ahora hace falta mejorar su calidad*. <https://www.unep.org/es/noticias-y-reportajes/comunicado-de-prensa/el-mundo-cumple-su-meta-de-areas-terrestres-prottegidas>
- Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente [PNUMA] (2024). *PNUMA: 50 años de hitos en favor del medio ambiente*. <https://www.unep.org/es/environmental-moments-unep50-timeline>
- Qamar, A., Waheed, J., Ghulam Mohyuddin, S., Chen, Z. B., Kang, D. J., Li, Z., Anthony, G. H., Gooneratne, R., Nie, F. H., & Chen, J. J. (2022). The Status of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) Extract from Zhanjiang Mangrove Sediments and the Effects on Tissue Structure and Inflammatory Cytokines in Zebrafish Liver. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 108(5), 890–900. <https://doi.org/10.1007/S00128-021-03439-6/FIGURES/6>
- Real Academia Española (2023). Jagüey. En *Diccionario de la lengua española*. Recuperado el 26 de junio de 2024, de <https://dle.rae.es/jag%C3%BCey?m=form>
- Ríos, H. F., & Vargas, O. (2003). Ecología de las especies invasoras. *Pérez-Arbelaezia*, (14), 119–148. Recuperado a partir de <https://perezarbelaezia.jbb.gov.co/index.php/pa/article/view/101>
- Rojas, L. M., Mata, C., Oliveros, A., & Salazar-Lugo, R. (2013). Histología de branquias, hígado y riñón de juveniles del pez neotropical *Colossoma macropomum* (Characiformes, Characidae) expuesto a tres temperaturas. *Revista de Biología Tropical*, 61(2), 797-806.
- Romero Gómez, M., Méndez Sainz, E., & Salamanca Montes, J. F. (2020). Gestión ambiental y turística. Un acercamiento a los actores sociales que intervienen en el lago cráter de

Alchichica, Puebla, México. (2019-2020). *Topofilia*, (21), 195–209. Recuperado a partir de <https://topofilia.buap.mx/index.php/topofilia/article/view/108>.

Rugarcía Cantú, C. E. (2018). Efecto de parámetros ambientales en la composición de miel de *Apis mellifera* en cuatro ecosistemas del Estado de Puebla. [Tesis Doctoral] Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada [CIBA].

Rzedowski, J., 2006. 1ra. Edición digital, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. Recuperado de https://www.biodiversidad.gob.mx/publicaciones/librosDig/pdf/VegetacionMx_Cont.pdf

Sáenz, O., & Red Colombiana de Formación Ambiental. (2007). *Las Ciencias Ambientales: Una nueva área del conocimiento*.

Sah, SK & Kim, TY (2016). Emergin role of Superoxide Dismutase 3 in controlling skin inflammation and immune responses. En N. H. Phillips (Ed.), *Superoxide Dismutase (SOD): Sources, Therapeutic Uses and Health Benefits* (pp. 171-194). Nova Science Publishers, Inc.

Sakulsak, N. (2012). Metallothionein: An Overview on its Metal Homeostatic Regulation in Mammals Metalotioneina: Una Visión General de su Regulación Homeostática de Metales en Mamíferos. In *Int. J. Morphol* (Vol. 30, Issue 3).

Santamaría-Juárez, J. D., Linares Ruíz, V., Castañeda-Antonio, M. D., Ramírez-Guzman, M. E., Juárez, M., Velasco, Á., ... & Báez, A. (2022). Caracterización fisicoquímica de material particulado del Popocatepetl, trayecto Atlixco-Puebla, y su impacto en la salud y el ambiente. *Acta universitaria*, 32.

Santos, D. M. S., Melo, M. R. S., Mendes, D. C. S., Rocha, I. K. B. S., Silva, J. P. L., Cantanhêde, S. M., & Meletti, P. C. (2014). Histological changes in gills of two fish species as indicators of water Quality in Jansen Lagoon (São Luís, Maranhão State, Brazil). *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(12), 12927–12937. <https://doi.org/10.3390/ijerph111212927>

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación [SAGARPA] (2017). *Diseño y Construcción de jagüeyes*. Segunda edición. (pp 16).

Secretaría de Comercio y Fomento Industrial [SCFI] (2000). Norma Mexicana NMX-AA-093-SCFI-2000. Análisis de agua - Determinación de la Conductividad electrolítica - método de prueba (CANCELAA LA NMX-AA-093-1984). Diario Oficial de la Federación (DOF) 26/06/2018. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166800/NMX-AA-093-SCFI-2000.pdf>

Secretaría de Comercio y Fomento Industrial [SCFI] (2001). Norma Mexicana NMX-AA-012-SCFI-2001. Análisis de agua - Determinación de oxígeno disuelto en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba (CANCELAA LA NMX-AA-012-1980). Diario Oficial de la Federación (DOF) 07/08/2019. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166768/NMX-AA-012-SCFI-2001.pdf>

- Secretaría de Comercio y Fomento Industrial [SCFI] (2006). Norma Mexicana NMX-AA-103-SCFI-2006. Residuos – Determinación de Compuestos Orgánicos Volátiles por cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas en Productos de Extracción de Constituyentes Tóxicos (PECT) – Método de prueba. Diario Oficial de la Federación (DOF). 06/12/12. http://legismex.mty.itesm.mx/normas/aa/aa103-2012_12.pdf
- Secretaría de Comercio y Fomento Industrial [SCFI] (2013). Norma Mexicana NMX-AA-007-SCFI-2013. Análisis de agua-Medición de la temperatura en aguas naturales, residuales y residuales tratadas-Método de prueba (CANCELA LA NMX-AA-007-SCFI-2000). Diario Oficial de la Federación (DOF) 23/01/2014. http://legismex.mty.itesm.mx/normas/aa/aa007-2014_01.pdf
- Secretaría de Comercio y Fomento Industrial [SCFI] (2016). Norma Mexicana NMX-AA-008-SCFI-2016. Análisis de agua-Medición del pH en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba- (CANCELA LA NMX-AA-008-SCFI-2011). Diario Oficial de la Federación (DOF) 09/09/2016. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166767/NMX-AA-008-SCFI-2016.pdf>
- Secretaría de Desarrollo Urbano y Ecología (1989) Criterios Ecológicos de Calidad de Aguas CE-CCA-001/89. Diario Oficial de la Federación (DOF) 13/12/1989
- Secretaría de Sustentabilidad Ambiental y Ordenamiento Territorial [SSAOT], (2011). *Acuerdo de la Secretaría de Sustentabilidad Ambiental y Ordenamiento Territorial, por el cual da a conocer el Resumen del Programa de Manejo del Área Natural Protegida de Jurisdicción Estatal, en su modalidad de Reserva Estatal, la Zona denominada “Sierra del Tentzo”*. Gobierno del Estado. Secretaría de Sustentabilidad Ambiental y Ordenamiento Territorial
- Secretaría del Medio Ambiente [SEMARNAT] (2019). *Informe de la Situación del Medio Ambiente en México, edición 2018*.
- Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT] (2016). *Informe de la Situación del Medio Ambiente en México. Compendio de Estadísticas Ambientales. Indicadores Clave, de Desempeño Ambiental y de Crecimiento Verde*. Edición 2015.
- Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT]. (2010). Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres. Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación (DOF). https://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/435/1/NOM_059_SEMARNAT_2010.pdf
- Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT]. (2021). Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021. Que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5645374&fecha=11/03/2022#gsc.tab=0

- Secretaría del Medio Ambiente, Desarrollo Sustentable y Ordenamiento Territorial [SMADSOT] (2020). *Estudio Técnico Justificativo para el establecimiento del Área Natural Protegida Flor del Bosque*.
- Shruti, V. C., Rodríguez-Espinosa, P. F., Martínez-Tavera, E., & Hernández-Gonzalez, D. (2018). Metal concentrations in recent ash fall of Popocatepetl volcano 2016, Central Mexico: Is human health at risk?. *Ecotoxicology and environmental safety*, 162, 324-333.
- Sistema de Información, Monitoreo y Evaluación para la Conservación [SIMEC] (2024) *Áreas Naturales Protegidas decretadas*. Comisión Nacional De Áreas Naturales Protegidas. http://sig.conanp.gob.mx/website/pagsig/datos_anp.htm
- Sistema de Información Territorial del Estado de Puebla. (s.f.) Sistema Estatal de Áreas Naturales Protegidas. <https://dduia.puebla.gob.mx/SITEP/apartados/anapro.html>
- Sojka, M., Jaskuła, J., Barabach, J., Ptak, M., & Zhu, S. (2022). Heavy metals in lake surface sediments in protected areas in Poland: concentration, pollution, ecological risk, sources and spatial distribution. *Scientific Reports*, 12(1), 15006.
- Szymonik-Lesiuk, S., Czechowska, G., Stryjecka-Zimmer, M., Słomka, M., Mądro, A., Celiński, K., & Wielosz, M. (2003). Catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase activities in various rat tissues after carbon tetrachloride intoxication. *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery*, 10(4), 309–315. <https://doi.org/10.1007/s00534-002-0824-5>
- Tellechea, M. E., del Valle, J., Lozano, A. & Hierro, J. (2014) *Variabilidad de contaminantes atmosféricos en zonas naturales protegidas de España*. Congreso Nacional del Medio Ambiente [CONAMA]
- Teoh, S. L., Ogawa, S., & Parhar, I. S. (2015). Localization of genes encoding metallothionein-like protein (mt2 and smtb) in the brain of zebrafish. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 70, 20–32. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2015.10.004>
- Torres, G. A., González, S., Peña, E., & Torres, S. (2010). Descripción Anatómica, Histológica y Ultraestructural de la Branquia e Hígado de Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Anatomical, Histological and Ultraestructural Description of the Gills and Liver of the Tilapia (*Oreochromis niloticus*). In *Int. J. Morphol* (Vol. 28, Issue 3).
- United Nation Environment Programme World Conservation Monitoring Centre [UNEP-WCMC] & International Union for Conservation of Nature [IUCN] (2021) *Protected Planet Report 2020*. Cambridge UK; Gland, Switzerland. <https://livereport.protectedplanet.net/>
- Ureña Robles, R. (2007). Metalotioneínas en peces y gasterópodos: su aplicación en la evaluación de la contaminación. Universitat de València.
- Vázquez Ortega, L. E. (2015). *Determinación de metales pesados en vegetales del parque estatal General Lázaro Cárdenas “Flor del Bosque”, en el estado de Puebla*. Tesis de Maestría. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

- Velázquez-Vázquez, G., Pérez-Armendáriz, B., Soria, V. R., Handal-Silva, A., & Ortega, L. D. (2022). Genotoxicity and cytotoxicity of *Sambucus canadensis* ethanol extract in meristem cells of *Allium sativum*. *Caryologia*, 75(1), 99-107.
- Velea, T., Gherghe, L., Predica, V., & Krebs, R. (2009). Heavy metal contamination in the vicinity of an industrial area near Bucharest. *Environmental Science and Pollution Research*, 16, 27-32.
- Vliegenthart, A. B., Tucker, C. S., Del Pozo, J., & Dear, J. W. (2014). Zebrafish as model organisms for studying drug-induced liver injury. *British journal of clinical pharmacology*, 78(6), 1217-1227.
- Wallace, C. K., Bright, L. A., Marx, J. O., Andersen, R. P., Mullins, M. C., & Carty, A. J. (2018). Effectiveness of Rapid Cooling as a Method of Euthanasia for Young Zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science: JAALAS*, 57(1), 58–63
- Worboys, G. L., (2019) Conceptos, objetivo y retos. En Worboys, G.L, Lockwood, M., Kothari, A., Feary, S., & Pulsford, I. (2019). *Gobernanza y gestión de áreas protegidas*. www.iucn.org
- Worboys, G. L., Lockwood, M., Kothari, A., Feary, S., & Pulsford, I. (2019). *Gobernanza y gestión de áreas protegidas*. www.iucn.org
- World Health Organization [WHO] (1993). Biomarkers and risk assessment: concepts and principles. <https://www.who.int/publications/i/item/9241571551>
- Wu, S. M., Liu, J. H., Shu, L. H., & Chen, C. H. (2015). Anti-oxidative responses of zebrafish (*Danio rerio*) gill, liver and brain tissues upon acute cold shock. *Comparative Biochemistry and Physiology -Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 187, 202–213. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2015.05.016>
- Yan, C. H. M., & Chan, K. M. (2004). Cloning of zebrafish metallothionein gene and characterization of its gene promoter region in HepG2 cell line. *Biochimica et Biophysica Acta - Gene Structure and Expression*, 1679(1), 47–58. <https://doi.org/10.1016/j.bbaexp.2004.04.004>
- Yancheva, V., Velcheva, I., Stoyanova, S., & Georgieva, E. (2016). Histological biomarkers in fish as a tool in ecological risk assessment and monitoring programs: A review. In *Applied Ecology and Environmental Research* (Vol. 14, Issue 1, pp. 47–75). Corvinus University of Budapest. https://doi.org/10.15666/aeer/1401_047075
- Yáñez-Arancibia, A., Twilley, R. R., & Lara-Domínguez, A. L. (1998). Los ecosistemas de manglar frente al cambio climático global. In *Madera y Bosques* (Vol. 4, Issue 2).