

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**EVALUACIÓN DE DAÑO GENÉTICO EN ROEDORES SILVESTRES DEL
GÉNERO *Peromyscus* POR CONTAMINANTES AMBIENTALES DEL
CENTRO-SUR DE NUEVO LEÓN, MÉXICO**

POR:

GLORIA STEFANY ESPARZA PAZ

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CONSERVACIÓN, FAUNA SILVESTRE Y SUSTENTABILIDAD**

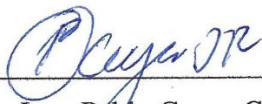
2024

**EVALUACIÓN DE DAÑO GENÉTICO EN ROEDORES SILVESTRES DEL
GÉNERO *Peromyscus* POR CONTAMINANTES AMBIENTALES DEL
CENTRO-SUR DE NUEVO LEÓN, MÉXICO**

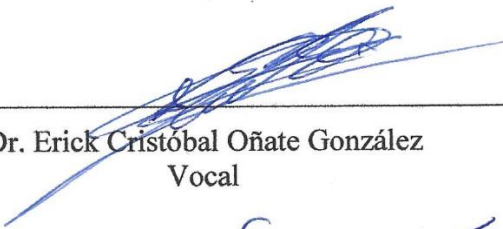
Comité de Tesis



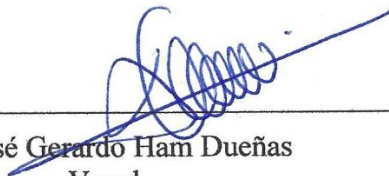
Dra. Evelyn Patricia Ríos Mendoza
Presidente



Dr. Juan Pablo Ceyca Contreras
Secretario



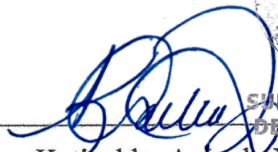
Dr. Erick Cristóbal Oñate González
Vocal



Dr. José Gerardo Ham Dueñas
Vocal



Dr. Jesús Ángel de León González
Vocal



SUBDIRECCIÓN
DE POSGRADO

Dra. Katiushka Arevalo Niño
Subdirector de Posgrado

**EVALUACIÓN DE DAÑO GENÉTICO EN ROEDORES SILVESTRES DEL
GÉNERO *Peromyscus* POR CONTAMINANTES AMBIENTALES DEL CENTRO-
SUR DE NUEVO LEÓN, MÉXICO**

Dirección de Tesis



Dra. Evelyn Patricia Ríos Mendoza

Director de Tesis



Dra. Rachel Mercado Vallejo

Asesor Externo

DERECHOS RESERVADOS©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta Tesis está protegido, el uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material contenido que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo mencionando al autor o autores.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer en primer lugar a mi familia, por todo el apoyo para poder lograr este proyecto.

Debo agradecer de manera especial y sincera a la Dra. Susana Favela por todo el apoyo durante mi proceso académico, a la Dra. Evelyn P. Ríos Mendoza por aceptarme para realizar esta tesis de maestría bajo su dirección, gracias por su apoyo y confianza y capacidad para guiarme y por poder unir mis ideas dispersas, al Dr. Juan P. Ceyca, por toda la ayuda con la estadística, junto con el Dr. Luis Alexander Peña Peniche y también al Dr. Erick Cristóbal Oñate González por ayudarme a unir varias ideas dentro de la clase de tesis y abrir mi panorama al cuestionamiento continuo y a la Dra. Rachel Mercado Vallejo por involucrarse en este proyecto.

También quiero agradecer al Parque Ecológico Chipinque, por permitirnos trabajar con ellos en esta investigación.

DEDICATORIA

Quiero dedicar este logro a mi amada familia, quienes han sido mi fuente inagotable de amor y apoyo a lo largo de este emocionante viaje académico. Su paciencia y aliento han sido mi mayor motivación y, sin ustedes este logro no sería posible.

A la Universidad Autónoma de Nuevo León, agradezco profundamente por brindarme la oportunidad de aprender y crecer en un entorno académico excepcional. A mis estimadas mentoras, la Dra. Susana Favela Lara y la Dra. Evelyn P. Ríos Mendoza, les debo una gran deuda de gratitud. Sus enseñanzas, sabiduría y apoyo inquebrantable fueron fundamentales para mi éxito. ¡Gracias por guiar mi camino con paciencia y dedicación!

A mis respetados profesores, quienes con su pasión y conocimiento nutrieron mi mente y me desafiaron a superar mis límites, les agradezco por su incansable labor educativo. Su fe en mis capacidades han sido mi motor para perseverar y aprender.

Por último, pero no menos importante, a mis padres, junto con mis hermanas, fueron mis héroes silenciosos, quienes estuvieron a mi lado en los momentos más difíciles y me inspiraron con su amor incondicional. Sin su apoyo y aliento constante, este logro académico no sería una realidad. ¡Gracias por estar siempre ahí!

Este logro es un tributo a todos ustedes, quienes han sido mi fuente de inspiración y mi razón para nunca renunciar. Cada paso que he dado en este viaje académico ha sido enriquecedor por su amor y apoyo. ¡Gracias por ser mi mayor tesoro!

ÍNDICE

Resumen.....	i
Abstract.....	ii
1.Introducción	1
2. Antecedentes	4
2.1. Contaminantes más comunes en el ambiente detectados en Nuevo León.....	4
2.1.1. Importancia de los contaminantes ambientales a través de la dinámica del ecosistema.....	5
2.1.2. Mutaciones cromosómicas y patologías causadas por contaminantes ambientales..	6
2.2. Generalidades sobre los eritrocitos en mamíferos	7
2.2.1. Bioindicadores de micronúcleos.....	8
2.2.2. Tipos de anemia más comunes en mamíferos y posibles causas.....	9
2.3. Especies Bioindicadoras	11
2.3.1. Generalidades sobre el género <i>Peromyscus</i>	11
3. Justificación	13
4. Hipótesis	14
5. Objetivos	15
5.1. Objetivo general.....	15
5.2. Objetivos específicos	15
6. Material y Métodos.....	16
6.1. Área de estudio	16
6.1.1. Área Metropolitana de Monterrey (AMM)	16
6.1.2. Municipio de Galeana.....	18
6.1.3. Municipio de Aramberri	18
6.2. Muestreo	19
6.2.1. Captura de roedores	19
6.2.2. Ensayo de eritrocitos micronucleados	20
6.3. Análisis de datos	22
7. Resultados.....	24
7.1. Representación de especies en el área de estudio	24

7.2. Variaciones interespecíficas.....	24
7.2.1 Frecuencia de EMN.. ..	24
7.2.2. Eritrocitos deformes.....	28
8. Discusión	32
9. Conclusión	36
10. Bibliografía.....	38
Anexo 1.....	41
Anexo 2.....	44

RESUMEN

La actividad humana ha impactado negativamente al ambiente desde sus primeras etapas; tanto el crecimiento poblacional como el aumento en el uso de tecnología han propiciado la intensificación de la degradación ambiental. En México, el Área Metropolitana de Monterrey, situada en el estado de Nuevo León, se destaca por ser una de las zonas más contaminadas del país y de Latinoamérica. La alta contaminación en esta región se debe a la emisión de sustancias tóxicas provenientes de actividades urbanas, industriales, el aumento del parque vehicular y el desarrollo agrícola. Estos problemas ambientales generan efectos adversos tanto en la salud humana como en la vida silvestre, cuyos alcances aún se están estudiando. Para evaluar la calidad del ambiente, se emplean bioindicadores, siendo una de las técnicas más utilizadas la prueba de micronúcleos en muestras de sangre en especies indicadoras. En este estudio, se evaluaron las frecuencias de eritrocitos micronucleados (EMN) y de eritrocitos con deformidades citoplasmáticas en cinco especies de roedores del género *Peromyscus* (*P. difficilis*, *P. gratus*, *P. levipes*, *P. melanophrys* y *P. pectoralis*) de tres áreas del centro-sur de Nuevo León: el Área Metropolitana de Monterrey, Galeana y Aramberri. De las cinco especies estudiadas solo *P. melanophrys* no mostró EMN. El análisis reveló un mayor número de deformidades citoplasmáticas, comparado con EMN. En cuanto a las frecuencias de EMN, la variabilidad observada no fue explicada por la especie; sin embargo, *P. pectoralis* y *P. levipes* presentaron frecuencias más altas de EMN en comparación con las otras especies. En términos de deformidades citoplasmáticas, *P. pectoralis* mostró frecuencias significativamente mayores en comparación con *P. levipes*. No se encontraron efectos significativos relacionados con el sexo de los individuos ni con la interacción entre especie y sexo. Este estudio es exploratorio y sugiere que los mamíferos pueden presentar indicadores diferentes de daño genético. Para futuros estudios, una mayor recolección de muestras de las mismas especies en todos los sitios de estudio permitiría una comparación más precisa entre sitios y entre especies.

ABSTRACT

Human activity has negatively impacted the environment since its early stages, and with population growth and increased technology use, environmental degradation has intensified. In Mexico, the Metropolitan Area of Monterrey, located in the state of Nuevo León, stands out as one of the most polluted areas in the country and Latin America. The high pollution in this region is due to the emission of toxic substances from urban and industrial activities, increased vehicular traffic, and agricultural development. These environmental issues generate adverse effects on both human health and wildlife, the extent of which is still being studied. To assess environmental quality, bioindicators are used, and one of the most commonly employed techniques is the micronucleus test on blood samples from indicator species. In this study, frequencies of micronucleated erythrocytes (MNE) and erythrocytes with cytoplasmic abnormalities were evaluated in five species of the genus *Peromyscus* (*P. difficilis*, *P. gratus*, *P. levipes*, *P. melanophrys*, and *P. pectoralis*) from three areas in central-southern Nuevo León: the Metropolitan Area of Monterrey, Galeana, and Aramberri. Of the five species studied only *P. melanophrys* did not show MNE. The analysis revealed a higher number of cytoplasmic abnormalities compared to MNE. Regarding MNE frequencies, the observed variability was not significantly explained by the species; however, *P. pectoralis* and *P. levipes* exhibited higher MNE frequencies compared to the other species. In terms of cytoplasmic abnormalities, *P. pectoralis* showed significantly higher frequencies compared to *P. levipes*. No significant effects related to the sex of individuals or the interaction between species and sex were found. This study is exploratory and suggests that mammals may present different indicators of genetic damage. To obtain more robust conclusions, it would be ideal to have samples of the same species from all study sites, which would allow for a more precise comparison between sites and between species.

1. INTRODUCCIÓN

La población humana sigue incrementándose, lo cual lleva a un mayor requerimiento de alimento, insumos, energía, entre otros, que se obtienen a través de la agricultura, la minería, la fundición y otras actividades industriales, las cuales han resultado en degradación ambiental (Carrquiriborde 2021). La actividad agrícola, por ejemplo, requiere de pesticidas. Esto ha provocado efectos adversos en la salud humana y en el medio ambiente. La constitución química y el mecanismo tóxico en las diferentes vías de absorción de los pesticidas pueden ser un riesgo para los seres vivos a través de la inhalación de vapores, polvos, absorción gastrointestinal, por penetración a través de la piel y de la mucosa. Los efectos de estos productos químicos en el ambiente pueden ser perjudiciales también para la fauna (Badii & Varela 2008).

A nivel global, en el ambiente podemos encontrar contaminantes como los metales pesados, tanto en el suelo, agua, aire y en el alimento (Parra-Ochoa 2014); la actividad industrial y minería liberan metales pesados y otros contaminantes (Orta-García *et al.* 2016). Los metales pesados son minerales que se generan por ciclos geológicos o por la actividad antropogénica; estos son considerados importantes, ya que la formación de los radicales libres producen estrés oxidativo e imposibilita la reparación de los daños al ADN (Parra-Ochoa 2014). Es importante detectar estos agentes dañinos en el ambiente debido a que la bioacumulación está afectando de forma negativa la estabilidad de los ecosistemas e impactando en la biodiversidad, por lo que es un peligro creciente para todos los seres vivos. Esta bioacumulación implica altas concentraciones de contaminantes en el organismo a lo largo del tiempo, donde las sustancias tóxicas se van acumulando a través de los distintos niveles tróficos en las cadenas alimenticias. Este proceso se caracteriza por una absorción continua de sustancias químicas que supera la capacidad del organismo para eliminarlas eficazmente, resultando en niveles crecientes en los tejidos corporales, y estas concentraciones pueden manifestarse con problemas físicos y neurológicos (Parra-Ochoa 2014; Carrquiriborde 2021). Además, estos contaminantes se biomagnifican, por lo que quedan disponibles en los ecosistemas tróficos, ingresando en la cadena alimenticia, lo que implica que los diferentes contaminantes permanecen en los organismos, lo cual tiene un impacto en la red trófica (Carrquiriborde 2021).

Las sustancias químicas sintéticas, como por ejemplo el dicloro difenil tricloroetano, y sus metabolitos los bifenilos policlorados, también tienen características bioacumulativas, tóxicas y transportables de largo alcance. Estas se distribuyen en el aire, agua, suelo y biota, al ser puestas en libertad de los puntos de descarga. La exposición a éstas se produce principalmente a través de la dieta y de la inhalación, o por contacto con suelo y agua contaminados (Orta-García *et al.* 2016).

Dentro de los daños de los contaminantes en los organismos, se encuentra la genotoxicidad, expresada en diferentes efectos como en problemas teratogénicos, mutagénicos y carcinogénicos; en humanos se han observado en infecciones respiratorias, enfermedades cardíacas, mayores probabilidades de generar cáncer de pulmón, retraso en el crecimiento intrauterino y embriotoxicidad (Parra-Ochoa 2014). Las afectaciones por los metales pesados y las sustancias químicas sintéticas no son exclusivas de ambientes saturados de ellos, ya que incluso con concentraciones bajas también son tóxicos, y pueden facilitar el desarrollo de enfermedades en los organismos (Guzmán-Velasco *et al.* 2021).

Por tal motivo, es necesario identificar su presencia en los diferentes ecosistemas. Para ello, en el presente estudio se empleó la detección indirecta de los contaminantes ambientales a través de bioindicadores, estos permiten evaluar la presencia y concentración de los contaminantes en el entorno. El uso de bioindicadores, como plantas y animales, sirven como una estrategia para evaluar la calidad del ambiente con base en la presencia de metales pesados, que además se complementa con la prueba de micronúcleos *in vivo* (Guzmán-Velasco *et al.* 2021; Villar 2014). La prueba de micronúcleos puede realizarse mediante observaciones a través de un microscopio de fluorescencia, donde se observan las muestras de sangre periférica para examinar los tipos de células sanguíneas y así evaluar la maduración de eritrocitos determinados (Villar 2014). En esta técnica, se analizan los fragmentos de cromosomas o cromosomas completos, que de forma espontánea o por causa de agentes genotóxicos, quedan fuera del núcleo durante el proceso de división celular; estos fragmentos son conocidos como micronúcleos (MN) (Cedano-Díaz *et al.* 2012). Debido a que los eritrocitos maduros de los mamíferos no tienen núcleo, se puede detectar de manera fácil los MN (Villar 2014).

En este estudio se utilizó la prueba de MN para determinar si los contaminantes ambientales han afectado a especies de roedores silvestres en tres áreas de Nuevo León con distinto grado de contaminación, y extrapolar nuestros hallazgos a otras especies.

2. ANTECEDENTES

2.1. Contaminantes más comunes en el ambiente detectados en Nuevo León

Como resultado de las actividades humanas en ciudades industrializadas, agrícolas y urbanas, se ha observado que existen grandes problemas en el ambiente, causados por metales pesados y otros contaminantes. Un estudio reciente en el Área Metropolitana de Monterrey (AMM), México, evaluó en suelos superficiales al aire libre los niveles de éteres difenilo polibromados (PBDEs), bifenilos policlorados (BPCs), diclorodifeniltricloroetano (DDT), diclorodifenildicloroetano (DDE) y metales pesados como arsénico, cadmio y plomo. Los compuestos antes mencionados, a excepción del arsénico y el cadmio, son sustancias químicas sintéticas que no se presentan de manera natural en el ambiente. Los niveles totales de PBDEs oscilaron entre 1.80 y 127 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Se encontró que el 100% de las muestras de suelo tenían niveles detectables del metabolito p,p'-DDE. Los niveles medios de arsénico, cadmio y plomo en el suelo fueron de $5.30 \pm 1.35 \text{ mg}/\text{kg}$, $2.20 \pm 1.20 \text{ mg}/\text{kg}$ y $455 \pm 204 \text{ mg}/\text{kg}$, respectivamente. Estos contaminantes se encuentran tanto de forma natural como a consecuencia de actividades antropogénicas. Por lo que es importante tener en cuenta que el suelo es una de las vías principales de exposición para cualquier ser vivo, lo que puede resultar en la biotransferencia de la toxicidad del suelo a los organismos (Orta-García *et al.* 2016).

El uso descontrolado de los plaguicidas en el sector agrícola ha generado contaminación en el estado de Nuevo León, México, lo que constituye un problema económico. Elizarragaz-De La Rosa *et al.* (2018), determinaron a un nivel multi-residual la presencia de 93 plaguicidas en naranjas frescas para importación, en el municipio de Montemorelos, Nuevo León. Los resultados de este estudio fueron que todos los plaguicidas que se encontraron cumplen con los límites máximos permitidos conforme a los estándares de inocuidad establecidos por dos de los países de destino del producto (Estados Unidos y Japón), pero no para la Unión Europea. Al analizar 27 muestras de naranja, se detectó que el 66.67% tenía presencia de uno o más plaguicidas. Lo anterior demuestra que aún las zonas alejadas del AMM, están siendo afectadas por diferentes tipos de contaminantes, como en este caso con los plaguicidas.

2.1.1. Importancia de los contaminantes ambientales a través de la dinámica del ecosistema

Como resultado del aumento poblacional e industrial, la cantidad de metales pesados se ha incrementado e introducido a los ecosistemas, los cuales han afectado negativamente su estabilidad y esto ha causado un impacto ambiental. Los iones de metales pesados son altamente estables, por lo que en concentraciones bajas pueden biomagnificarse en la red trófica de la cadena alimenticia, aumentando el peligro para la vida silvestre; esta biomagnificación implica un aumento en la concentración de contaminantes a un nivel trófico superior (Parra-Ochoa 2014). Si los depredadores que se encuentran en los ecosistemas se alimentan de los roedores, y éstos a su vez de plantas o invertebrados, los depredadores se verán afectados por estos metales absorbidos por las plantas, ya que puede existir una biomagnificación.

Ieradi *et al.* (1996) estudiaron a roedores silvestres (*Mus domesticus*) en tres sitios de Roma, Italia, con diferentes grados de perturbación ambiental para determinar si existe una correlación entre el daño genético y la concentración de metales pesados. En este estudio, usaron dos pruebas de mutagenicidad: micronúcleos y ensayo de anomalía espermática. Los resultados obtenidos mostraron que los contenidos de plomo y cadmio fueron mayores en los animales colectados en zonas con alto flujo vehicular; también se obtuvo un aumento significativo de la frecuencia de eritrocitos micronucleados y de espermatozoides anormales en los ratones de esos sitios. Este estudio hace énfasis en el tráfico vehicular y los daños que este genera al ambiente y a la fauna silvestre.

En un estudio con peces de un lago de Michoacán, México, Torres-Bugarín *et al.* (2007) hallaron la existencia de micronúcleos en la sangre de 10 especies, las cuales se proponen como posibles bioindicadores de agentes genotóxicos. Los autores indican que la presencia de micronúcleos es causada por la contaminación de la extensión de agua continental, lo cual genera problemas que ponen en riesgo la calidad del agua y que está destinada para el servicio de ciudades. Hay sustancias que se esparcen de forma diaria en el agua, lo que también cambia la calidad de vida de los organismos que habitan aguas continentales. Los metales de cadmio, cromo, cobre, mercurio, arsénico y selenio producen potencialmente efectos micronucleogénicos. Asimismo, en dicho lago se han encontrado diferentes

contaminantes en los cuerpos de agua, originados por actividades antropogénicas, como en la producción de desechos agropecuarios, empresas de servicios como la hotelería y restaurantes, desechos de procesadoras de alimentos y bebidas alcohólicas, industrias farmacéuticas, electromecánicas, metalúrgicas, petroquímicas y producción y uso de plaguicidas.

2.1.2. Mutaciones cromosómicas y patologías causadas por contaminantes ambientales

Gómez-Arroyo *et al.* (2013) comentan sobre las intoxicaciones y las muertes causadas por plaguicidas, y que la exposición a estos implica un riesgo no solamente para el ser humano, sino también para cualquier ser vivo, y en general, al ambiente. La carencia de equipos de protección de quienes hacen uso de los plaguicidas, el manejo inadecuado, así como la ignorancia de su manipulación, son el resultado del desconocimiento de los trabajadores agrícolas sobre el riesgo que existe del contacto directo e indirecto con dichas sustancias. En este estudio analizaron biomarcadores empleados en la valoración de daño genético causado por estas sustancias, además de realizar una revisión de los estudios que se han hecho en América Latina en poblaciones expuestas a dichas sustancias. Los autores mencionan que el biomarcador de micronúcleos es conocido como uno que anticipa enfermedades crónicas, y que la presencia de este biomarcador señala que una incidencia de ellos pronostica el riesgo de contraer cáncer en seres humanos.

Existe un porcentaje elevado de casos de intoxicación causada por plaguicidas; estos causan diferentes enfermedades y una elevada tasa de mortalidad en el mundo, en particular en los países en desarrollo. La red de acción de plaguicidas (*Pesticide Action Network*) dio a conocer en junio de 2013, diferentes plaguicidas de gran peligro para la salud. En ella se agregan más de 400 productos, lo que se fundamentó sobre criterios establecidos acerca de su alta toxicidad. También se examinó considerando su impacto de toxicidad a largo plazo; es decir, fueron etiquetados como, carcinógenos, probables carcinógenos, o sospechosamente carcinógenos, en seres vivos que son expuestos a ellos (Gómez-Arroyo *et al.* 2013).

Da Silva *et al.* (2000), mencionan que el carbón tiene varios compuestos químicos que producen efectos mutagénicos y cancerígenos. Y se mostró por medio de ensayos cometa y

de micronúcleos que los roedores silvestres *Ctenomys torquatus* que consumen las reservas del carbón en Brasil (Rio Grande do Sul), tuvieron lesiones en los cromosomas de sus células.

2.2. Generalidades sobre los eritrocitos en mamíferos

Los eritrocitos son las células sanguíneas más numerosas de los mamíferos, una de sus funciones principales es transferir oxígeno (O_2) y dióxido de carbono (CO_2) entre los tejidos y los pulmones, por lo que, si los eritrocitos se alteran, ya sea por cambios en su número, forma o funcionalidad, su capacidad para realizar estas funciones de transporte de gases puede verse afectada. Su morfología podría variar en los animales con espina dorsal, pero normalmente en los mamíferos tienen estructura de disco bicóncavo, con la zona central deprimida debido a la ausencia de núcleo. Si los eritrocitos tienen núcleo, se considera como un daño en su función y forma (Gartner y Lhiatt 1997).

La estructura bicóncava de los eritrocitos facilita una superficie grande con relación a su volumen para que se lleve a cabo su empleo fundamental en el resto de los órganos del cuerpo, dichos eritrocitos liberan el O_2 por gradiente de concentración. El CO_2 se traslada por medio de la hemoglobina, y se esparce desde los tejidos a la sangre. Lo hace en forma de carbaminohemoglobina en su traslado hasta los pulmones, donde la difusión de los gases se hace por gradiente de concentración. La oxihemoglobina, la cual es la combinación de la hemoglobina con el oxígeno, puede trasladar en una célula millones de moléculas de oxígeno. Por consiguiente, cuatro grupos hemo se unen a una molécula de oxígeno y hay 280 millones de moléculas de hemoglobina por célula. Si la hemoglobina no contiene oxígeno se denomina deoxihemoglobina y presenta un color rojo más oscuro (Gartner y Lhiatt 1997). En regiones de los tejidos con baja concentración de oxígeno y alta de CO_2 , se transfiere oxígeno y se obtiene dióxido. Por otro lado, se obtiene oxígeno y se suelta CO_2 en regiones ricas en oxígeno y pobres en CO_2 , es decir, en el área de los pulmones. Por lo tanto, es relevante describir la función de los eritrocitos, ya que hay anomalías en este proceso que pueden estar ligadas con una patología, y esto engloba un gran número de enfermedades. Por lo tanto, si la oxihemoglobina se ve alterada, de igual forma se vería alterado el oxígeno, lo cual puede afectar al eritrocito, provocando problemas de núcleos en

este. Dicho caso, no debería presentarse en los mamíferos ya que, como ya se mencionó anteriormente, en ellos los eritrocitos no tienen núcleo.

2.2.1. Bioindicadores de micronúcleos

En los estudios del ambiente de diferentes países se ha hecho el uso de pruebas de genotoxicidad con el objetivo de evaluar la exposición a contaminantes. Una gran cantidad de estas pruebas se hacen en especies centinelas de mamíferos, utilizando la prueba de micronúcleos (MN) *in vivo* en células sanguíneas como uno de los ensayos más empleados. La función de la prueba es detectar daños genotóxicos ocasionados por exposiciones crónicas a contaminantes durante la división celular o mitosis, donde el material genético se replica y se divide en partes iguales, creando a dos células hijas exactas. Sin embargo, si hay fallas en la replicación del ADN por agentes genotóxicos, se generan disminuciones cromosómicas y la repartición del material genético no es correcta. Por lo tanto, el material genético separado puede derivar de cromosomas completos, o más frecuentemente de la inexactitud de fragmentos de cromosomas sin centrómeros, siendo excluidos de las nuevas células mitóticas durante el proceso del anafase (Villar 2014). La prueba de MN es utilizada con el objetivo de identificar el efecto de agentes que mutan sobre los cromosomas mediante la identificación de fragmentos sin centrómero y/o cromosomas que quedan fuera del núcleo, formando dichas estructuras (Fig. 1). Esta prueba concede detectar tanto agentes clastogénicos (que rompen cromosomas) como aneuploidogénicos (que afectan el uso mitótico; Torres-Bugarin *et al.* 2007); los plaguicidas causan este efecto en los cromosomas, al igual que los metales pesados y otros contaminantes (Ieradi *et al.* 1996; Ceyca *et al.* 2014; Badii y Varela 2015).

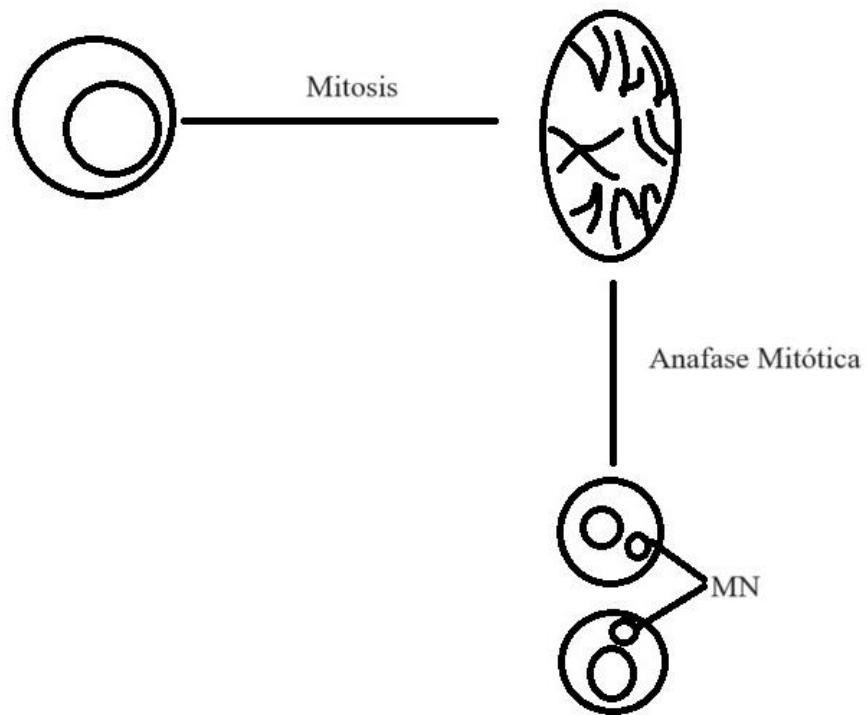


Fig. 1. Formación de micronúcleos (MN) por errores durante el proceso de división celular (anafase).

2.2.2. Tipos de anemia más comunes en mamíferos y posibles causas

Los reticulocitos o eritrocitos policromáticos son glóbulos rojos jóvenes que se liberan en el flujo sanguíneo en una etapa temprana, lo que los hace más grandes y más basofílicos (Fig. 2).

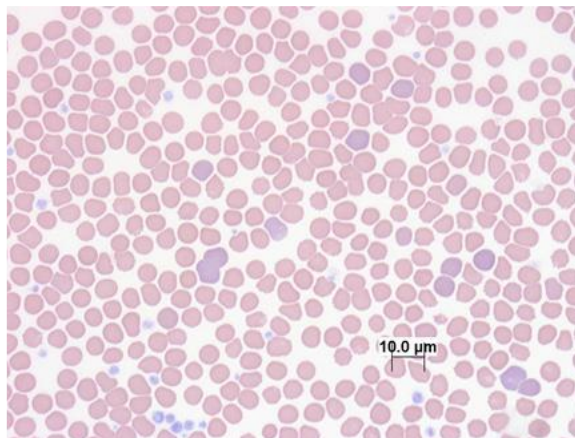


Fig. 2. Eritrocitos policromáticos de roedor (*Mus musculus*).

El nivel de policromasia es útil para identificar la causa de la anemia. Por ejemplo, un aumento en los reticulocitos ocurre con la pérdida de sangre o la destrucción de glóbulos rojos, mientras que una disminución o ausencia de policromasia puede observarse en anemias causadas por hipoplasia eritroide o anemia aplásica. La hipoplasia en mamíferos se detecta cuando el tinte revela un glóbulo rojo más claro con un área más grande de palidez central. Los glóbulos rojos hipocrómicos indican una deficiencia de hierro, que en adultos puede deberse a pérdidas crónicas de sangre por hemoparásitos, úlceras gástricas, enfermedades inflamatorias, especialmente intestinales, o neoplasias. En animales muy jóvenes, la deficiencia de hierro suele deberse a una dieta deficiente en este mineral (Campbell 2014).

La poiquilocitosis se refiere al aumento del número de glóbulos rojos con formas anormales. Las alteraciones en la forma de los glóbulos rojos de mamíferos pueden incluir células espiculadas y esferocitos. Los fragmentos de glóbulos rojos, comúnmente llamados esquistocitos, son células espiculadas causadas por trauma intravascular, problemas de coagulación o hemangiosarcoma, así como daño oxidativo con anemia por deficiencia de hierro. Los queratocitos son glóbulos rojos deficientes en hierro con dos o más espículas que se forman durante el daño oxidativo. Los esquinocitos se pueden observar en condiciones patológicas como enfermedades renales, linfoma y envenenamiento por víbora de cascabel (Campbell 2014).

Los glóbulos rojos con núcleo son células inmaduras que ocasionalmente se encuentran en la sangre y se liberan de la médula ósea en etapas tempranas de maduración, normalmente como parte de la regeneración en respuesta a la anemia o hipoxia. La liberación de estos glóbulos rojos con núcleo en el torrente sanguíneo puede observarse en casos de envenenamiento con plomo o condiciones mielodisplásicas (Campbell 2014).

Los cuerpos de Howell-Jolly son inclusiones redondas de diversos tamaños con una tonalidad oscura en el citoplasma de los glóbulos rojos. Estas inclusiones son vestigios nucleares que pueden surgir como parte de la respuesta regenerativa o indicar una disminución en la función del bazo (Campbell 2014).

2.3. Especies bioindicadoras

Una especie indicadora o bioindicadora se refiere a aquella que brinda información sobre la calidad del ambiente mediante el análisis de la exposición a contaminantes en los hábitats de la especie estudiada (Parra-Ochoa 2014). Los roedores del género *Peromyscus* han sido estudiados para este fin; Rojas y Barboza (2007), mencionan que esto es debido a su amplia distribución y que se pueden encontrar en distintas altitudes, desde 600 a 3000 msnm, en especial en sitios con características específicas para las especies. Las características que debe cumplir un bioindicador son: tener un periodo de vida corto, que tenga contacto con contaminantes mediante inhalación e ingestión en suelos contaminados, tener una amplia área de distribución geográfica, y que se encuentren tanto en sitios contaminados como no contaminados (Tovar-Sánchez *et al.* 2012).

2.3.1. Generalidades sobre el género *Peromyscus*

Los roedores del género *Peromyscus* pertenecen a la familia Cricetidae, el cual está ampliamente distribuido por Norteamérica (Pardiñas *et al.* 2017), por lo que varias de sus especies pudieran ser consideradas como centinelas para pruebas de genotoxicidad.

En el centro-sur del estado de Nuevo León se distribuyen 10 especies de *Peromyscus*: *P. difficilis*, *P. eremicus*, *P. gratus*, *P. leucopus*, *P. levipes*, *P. maniculatus*, *P. melanophrys*, *P. melanotis*, *P. nasutus* y *P. pectoralis*. De manera general, son ratones de tamaño mediano a moderadamente grandes, su cuerpo puede ser largo y con un pelaje dorsal de coloración que varía con la altitud, humedad y la estación del año, pudiendo ir desde ocre a grisáceos, pasando por tonos rojizos y amarillentos; ventralmente son de color más claro y blanquecino (Fig. 3). Pueden tener una cola al menos un tercio de su longitud total, tener escamas en esta y quedar ocultas por pelos, suelen tener una coloración generalmente bicolor, con la parte inferior generalmente blanca y oscura dorsalmente (Hall 1981). Suelen ser de amplia distribución ecológica y se encuentra en distintos tipos de vegetación como bosques de coníferas, bosques húmedos de montaña, bosques semidecuidos, bosques secundarios, matorrales, selvas y vegetación riparia (Ceballos y Oliva 2005).



Fig. 3. Espécimen representante del género *Peromyscus*. Individuo de la especie *P. pectoralis*, colectado en el Parque Ecológico Chipinque, dentro del Área Metropolitana de Monterrey.

3. JUSTIFICACIÓN

En el estado de Nuevo León, México, el Área Metropolitana de Monterrey (AMM), es reconocida como la más contaminada del país, y de las más contaminadas de Latinoamérica. La causa es por la emisión de sustancias tóxicas como consecuencia de las actividades urbanas, la actividad industrial, el incremento del parque vehicular y del desarrollo agrícola, particularmente en los municipios al sur del AMM (Orta-García *et al.* 2016), ocasionando problemas serios de contaminación, cuyos efectos sobre la salud humana y de la vida silvestre aún se desconocen.

En este estudio se trabajó con roedores silvestres del género *Peromyscus* como modelo para evaluar la exposición de estos pequeños mamíferos a contaminantes ambientales, empleando ensayos de micronúcleos en muestras de sangre de individuos provenientes de sitios con diferentes grados de perturbación ambiental en la región centro-sur de Nuevo León. Los resultados de este estudio podrán relacionarse con la afectación de otras especies silvestres prioritarias para la conservación, como lo son los carnívoros, así como la población humana. Esto se enlaza con la biomagnificación de la red trófica de los seres vivos antes mencionados. Por lo tanto, la importancia de detectar esta problemática en los roedores silvestres radica en las posibilidades de que su consumo genere toxicidad a partir de la bioacumulación en los mamíferos carnívoros como depredadores tope, además de aves de presa y serpientes.

4.- HIPÓTESIS

Los roedores silvestres del género *Peromyscus* del centro-sur de Nuevo León, serán especies bioindicadoras adecuadas para evaluar daño genético por contaminantes ambientales, esperando encontrar una diferencia en el daño genético relacionado con los niveles de contaminación de las áreas en donde habitan estos mamíferos. Por lo que los roedores del Área Metropolitana de Monterrey presentarán mayor daño genético, calculado como frecuencia de micronúcleos en eritrocitos, mientras que los individuos del municipio de Galeana tendrán un nivel intermedio por ser un área agrícola, y los del municipio de Aramberri un nivel inferior.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Evaluar las variaciones interespecíficas y geográficas del daño genético observado en las frecuencias de micronúcleos y deformidades citoplasmáticas en eritrocitos de sangre periférica de especies de roedores del género *Peromyscus* en tres áreas bajo distinto uso de suelo en el centro-sur de Nuevo León.

5.2. Objetivos específicos

- 1) Determinar las frecuencias de micronúcleos y deformidades citoplasmáticas en eritrocitos de sangre periférica de especies de roedores silvestres del género *Peromyscus* procedentes del Área Metropolitana de Monterrey, y de los municipios de Galeana y Aramberri, Nuevo León.
- 2) Comparar las variaciones de las frecuencias de micronúcleos y deformidades citoplasmáticas en eritrocitos entre las especies estudiadas para identificar a la más susceptible y con mayor potencial como bioindicador de perturbación ambiental.
- 3) Describir el patrón geográfico de las frecuencias de eritrocitos micronucleados y deformidades citoplasmáticas en los eritrocitos de los roedores capturados en tres zonas bajo distinto uso de suelo en el centro-sur de Nuevo León.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1. Área de estudio

Para caracterizar las frecuencias de eritrocitos micronucleados y deformidades citoplasmáticas en roedores nativos del género *Peromyscus*, se establecieron tres localidades en áreas bajo distinto uso de suelo en el centro-sur de Nuevo León (Fig. 4). La primera localidad se ubicó en el AMM, considerada el área más contaminada de México (Orta-García *et al.* 2016). Esta zona presenta un alto grado de perturbación ambiental debido a la actividad industrial y urbanización. El punto de muestreo se ubicó en el extremo sur del AMM, en el municipio de San Pedro Garza García, específicamente dentro de las instalaciones del Parque Ecológico Chipinque. El segundo sitio correspondió a un área rural en el municipio de Galeana, donde la actividad preponderante es la agricultura, lo que podría estar asociado con el uso de fertilizantes y plaguicidas. La tercera localidad también se ubicó en un área rural en el municipio de Aramberri, donde existen pequeños poblados y se encuentra alejada de fuentes de contaminación detectables (agricultura o industria); esta localidad se consideró como una zona con menor perturbación.

6.1.1. Área Metropolitana de Monterrey (AMM)

El AMM es la tercera área metropolitana más grande de México, compuesta por los municipios de Apodaca, Ciudad Benito Juárez, García, General Escobedo, Guadalupe, Santa Catarina, San Nicolás de los Garza, San Pedro Garza García, Santiago, Cadereyta Jiménez y Salinas Victoria.

En cuanto a la hidrografía, el AMM presenta pocas corrientes de agua permanentes, siendo el Río Santa Catarina la más relevante. Este río se origina en la Sierra Madre, se nutre de las lluvias en La Huasteca y atraviesa la ciudad de oeste a este. Además, hay algunos arroyos cuyos cauces permanecen secos la mayor parte del tiempo, mostrando corriente solo durante la temporada de lluvias, y la cantidad de agua en estos arroyos depende de la intensidad de las precipitaciones (INAFED 2017).

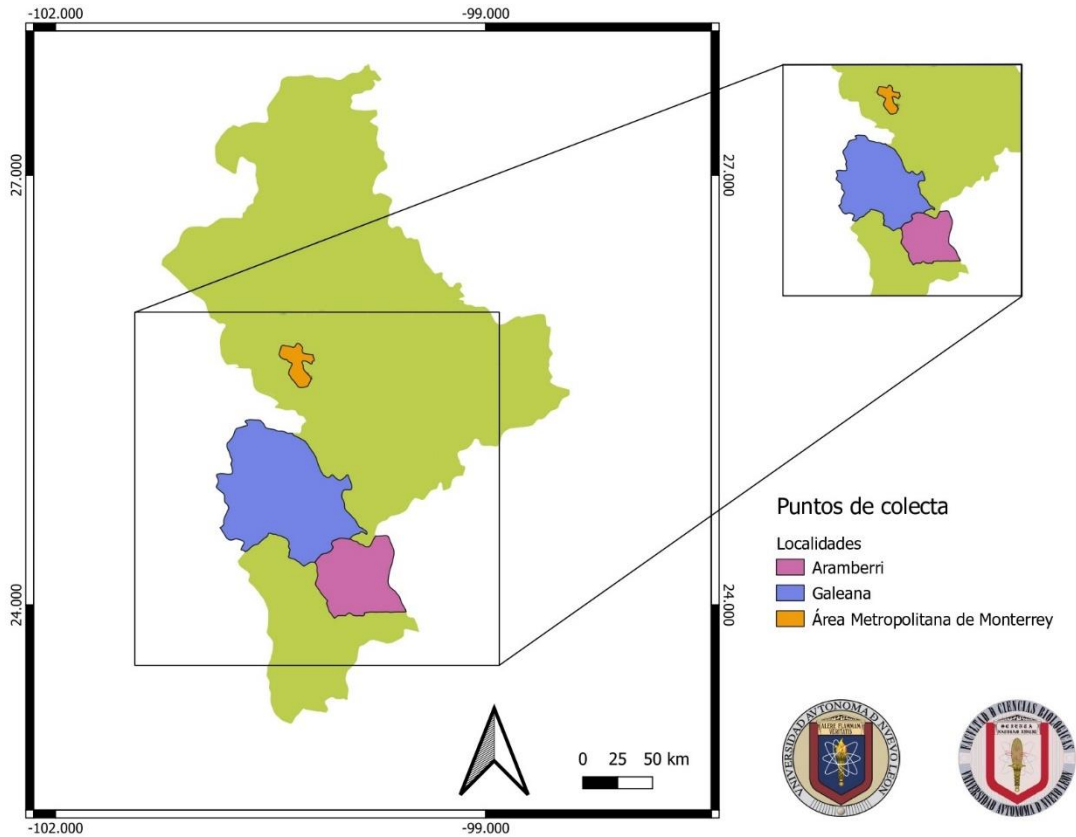


Fig. 4. Sitios de muestreo en el Centro-Sur de Nuevo León para la colecta de roedores del género *Peromyscus*.

El clima en el AMM es cambiante, variando según la zona geográfica. Desde la cabecera municipal en Monterrey hasta la falda de la sierra, hay una diferencia de 5°C, y en la cima de la Sierra Madre, la diferencia puede llegar hasta 8°C. La temperatura media anual es de 20°C y la temperatura máxima promedio es de 32°C y se presenta en los meses de mayo a agosto, la temperatura mínima promedio es de 5°C y se presenta en el mes de enero. La precipitación total anual oscila entre 400 y 600 mm (INEGI 2017).

El AMM cuenta con algunas áreas naturales protegidas y parques, incluyendo el Parque Nacional Cumbres de Monterrey, La Huasteca, Río La Silla y el Parque Ecológico Chipinque, en este último fue donde se realizaron los muestreos de roedores, particularmente en un área de matorral xerófilo y otra de bosque templado. Este parque se ubica al sur del municipio de San Pedro Garza García, en las coordenadas 25°40' de latitud norte y 100°24' longitud oeste. El Municipio de San Pedro Garza García, se localiza junto a la capital del estado de Nuevo León (Monterrey), en las coordenadas 25°40' de latitud norte

y 100°24' longitud oeste. Limita al norte y al este con la ciudad de Monterrey, y al sur y oeste con el municipio de Santa Catarina.

6.1.2. Municipio de Galeana

Galeana se localiza al sur del estado, representando el municipio más grande del estado de Nuevo León, con las coordenadas geográficas 24°81' de latitud y 100°11' de longitud. Colinda al norte con el municipio de Rayones y el estado de Coahuila, al sur con los municipios de Aramberri y Doctor Arroyo, al este con los municipios de Rayones, Linares e Iturbide, y al oeste los estados de Coahuila y San Luis Potosí (INAFED 2017).

Las actividades agropecuarias predominantes incluyen el cultivo de maíz, trigo, tomate, papa y manzana, entre otros productos. La agricultura de riego es preponderante debido a las escasas e impredecibles precipitaciones en la mayor parte del territorio. La actividad ganadera es limitada, principalmente debido a la falta de pastos de calidad. En términos industriales, la actividad es prácticamente inexistente. La extracción y procesamiento de la "lechuguilla", una planta cactácea característica del altiplano mexicano que proporciona fibra, constituye una modesta fuente de ingresos para algunos habitantes locales (INAFED 2017). En cuanto a su hidrografía, los ríos importantes son el río Pabillo, Potosí, la Laguna de los Labradores y las presas El Vikingo y El Carmen. En el municipio predomina el clima seco estepario frío y el templado con lluvias en verano, su temperatura media anual es de 19°C y su precipitación media es de 393 mm. Los vientos dominantes son del norte (INAFED 2017).

Su flora se compone de pino, encino, oyamel, cedro, mezquite, palma, lechuguilla, maguey, nopal, carrizo y nogal. En cuanto a su fauna, se han registrado liebres, leoncillo, armadillo, venado, coyote, oso, zorro, águila, ceniztonle, gorrión, perro de la pradera, entre otros (INAFED 2017). La colecta se realizó en área de matorral xerófilo.

6.1.3. Municipio de Aramberri

Se ubica en la parte sur del estado de Nuevo León, bajo las coordenadas 24°02' de latitud y 99°86' de longitud oeste, limita al norte con los municipios de Galeana e Iturbide, al sur

con los municipios de Doctor Arroyo y Zaragoza, al este con Tamaulipas y al oeste con los municipios de Galeana y Doctor Arroyo. Su clima es templado en la cabecera y partes aledañas oscilando la temperatura entre 20°C y 30°C y entre 12°C y 20°C en la sierra y la altiplanicie (INAFED 2017).

En cuanto a su hidrología, sobresale el Río Blanco que nace en el municipio de Zaragoza, entrando a Aramberri por la parte sureste y atraviesa todo el municipio; al norte se encuentran los ríos Vacas y Vírgenes, además de diversos arroyos de agua permanente cuyo nacimiento se da en las sierras del municipio y corren hacia Tamaulipas. En la porción de la altiplanicie, en Las Vegas, hay pozos profundos y esteros que abastecen de agua a las poblaciones (INAFED 2017).

La flora es variada, prevaleciendo en la sierra los pinos, encinos, oyameles, laureles y otros. En la fauna se encuentra el oso negro, coyote, zorra, venado cola blanca, liebre, conejo y diversas especies de aves (INAFED 2017). La colecta se realizó en área de matorral xerófilo y lomerío con coníferas.

6.2. Muestreo

6.2.1. Captura de roedores

Se visitaron los tres sitios seleccionados del centro-sur de Nuevo León (AMM, Galeana y Aramberri) para realizar capturas de roedores del género *Peromyscus* durante los meses de junio a noviembre del 2022. La captura de roedores se realizó con trampas tipo Sherman, dispuestas a lo largo de transectos lineales, priorizando las zonas de matorral xerófilo para intentar capturar a las mismas especies en los tres sitios. Se colocaron 72 trampas por noche, el número de noches y transectos colocados por sitio fue variable. Las trampas se colocaron con una separación de aproximadamente 10 m entre cada trampa; se utilizó un sebo de hojuelas de avena mezcladas con crema de cacahuete y esencia de vainilla. Para la dispersión de las trampas, se consideraron los microhábitats dentro del matorral xerófilo, con la finalidad de incrementar la posibilidad de capturar a todas las especies de roedores presentes en la localidad. Los individuos capturados se identificaron a nivel de especie utilizando claves taxonómicas y libros especializados (Álvarez-Castañeda *et al.* 2015);

adicionalmente se tomaron datos de sexo, condición reproductiva, edad del ejemplar, medidas somáticas y peso.

La mayoría de los ratones capturados se liberaron en las inmediaciones del sitio de muestreo, con excepción de dos individuos de cada especie y de cada localidad, que fueron sacrificados para ingresarlos a la Colección de Mamíferos de la Facultad de Ciencias Biológicas, UANL. Las colectas fueron realizadas bajo las licencias de colecta científica autorizadas por la SEMARNAT (SGPA/DGVS/04640/22, SPARN/DGVS/04864/22) y siguiendo las recomendaciones y procedimientos establecidos para el uso y manejo de mamíferos silvestres de la Asociación Americana de Mastozoólogos (Sikes *et al.* 2016).

6.2.2. Ensayo de eritrocitos micronucleados

Se colectó una muestra de sangre (~0.5 mL) de la punta de la cola de cada roedor, mediante la realización de una incisión con un bisturí esterilizado. La muestra de sangre se utilizó para realizar tres frotis sanguíneos en portaobjetos limpios, por cada individuo capturado. Los frotis se dejaron secar al aire y se fijaron con metanol absoluto durante 5 minutos (Meier *et al.* 1999). Cada portaobjetos se etiquetó individualmente para llevar un control de muestras.

Los frotis se tiñeron en el laboratorio utilizando el colorante naranja de acridina (0.02 mg/mL), que es específico para ácidos nucleicos (Gómez-Meda *et al.*, 2006). Esta técnica de tinción facilita la identificación de los MN en los eritrocitos al observar las células bajo microscopía óptica de fluorescencia a 1000x. Los frotis teñidos se observaron utilizando un microscopio de fluorescencia (Carl Zeiss Primo Star iLED, LED-base fluorescence). En cada frotis se determinaron las frecuencias de eritrocitos micronucleados (EMN) y de deformidades citoplasmáticas en 2,000 eritrocitos totales (Ieradi *et al.* 1996; Figs. 5 y 6).

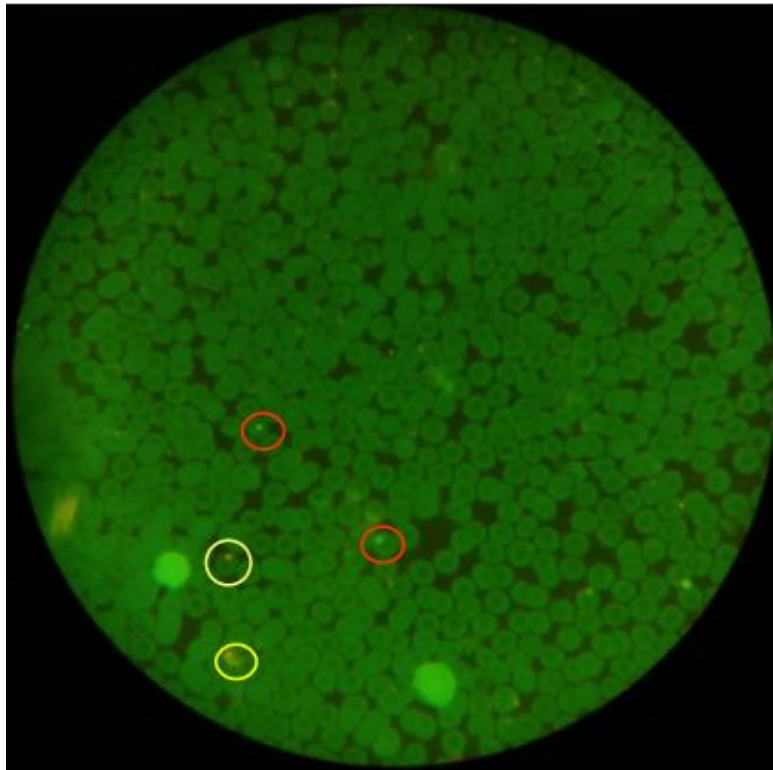


Fig. 5. Ejemplo de campo utilizado para el conteo de células sanguíneas, se registraron tanto los eritrocitos que tenían MN como aquellos con deformidades. Los círculos rojos señalan eritrocitos con MN, los círculos amarillos muestran algún tipo de material genético.

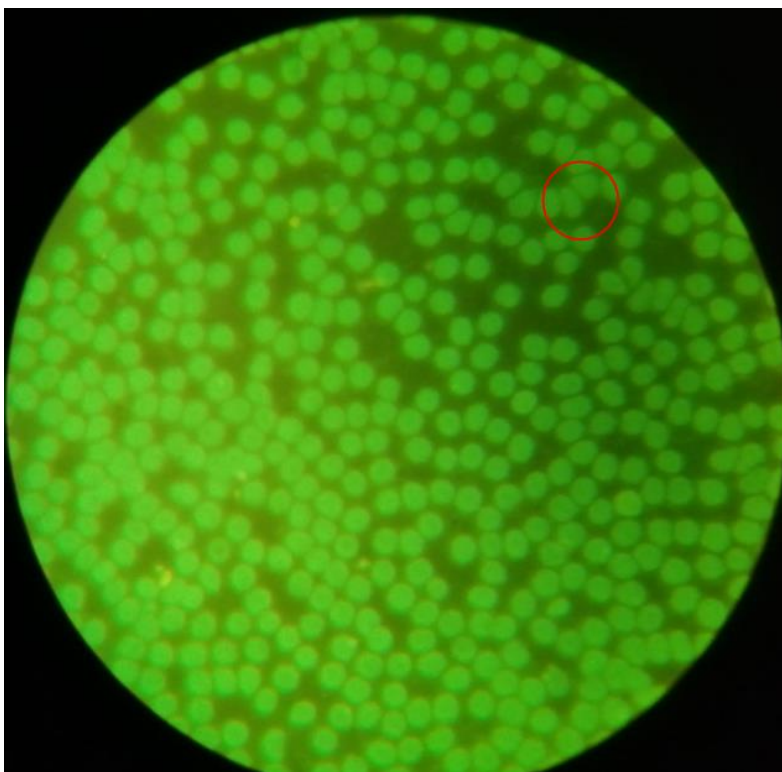


Fig. 6. Eritrocitos deformes que se obtuvieron por campo, el círculo rojo encierra a eritrocitos con deformidades.

6.3. Análisis de datos

Las frecuencias de EMN y deformidades citoplasmáticas en eritrocitos son variables discretas, debido a que fueron obtenidas mediante conteos celulares. Para este tipo de datos, las probabilidades de distribución de Poisson son las más adecuadas para los análisis estadísticos (Cameron y Trivedi, 2013; Sandoval-Herrera *et al.*, 2021); sin embargo, ninguna de las dos variables dependientes se ajustó a una distribución de Poisson (EMN: $\chi^2 = 1068.7$, $p < 0.001$; deformidades citoplasmáticas: $\chi^2 = \infty$, $p < 0.001$). Cuando esto sucede, Ceppi *et al.* (2011) sugieren a la distribución binomial negativa como alternativa, debido a que toma en cuenta la sobre-dispersión de los datos cuando la media y la varianza no tienen el mismo valor. Siguiendo esta alternativa, se consideró a la distribución binomial negativa como el modelo más adecuado para los datos de EMN ($\chi^2 = 2.1$, $p = 0.72$) y eritrocitos con deformidades citoplasmáticas ($\chi^2 = 6.9$, $p = 0.23$). Posteriormente, para comparar las frecuencias de EMN y de deformidades citoplasmáticas en los eritrocitos de las cinco especies de roedores del género *Peromyscus* consideradas en este estudio, se aplicaron dos

modelos lineales generalizados (GLM) con la distribución binomial negativa, seguidos de comparaciones a posteriori mediante la corrección de Bonferroni (Sandoval-Herrera *et al.*, 2021).

Adicionalmente, se utilizaron las frecuencias de EMN y deformidades citoplasmáticas en eritrocitos de las dos especies de *Peromyscus* mejor representadas en el AMM (*P. pectoralis* y *P. levipes*), para realizar una comparación interespecífica e intersexual. Las series de datos también se ajustaron a la distribución binomial negativa (EMN: $\chi^2 = 3.7$, $p = 0.46$; deformidades citoplasmáticas: $\chi^2 = 6.9$, $p = 0.23$), por lo que se aplicaron dos GLM con binomial negativa para analizar el efecto de la especie, el sexo y la interacción especie *vs* sexo sobre las frecuencias de EMN y de deformidades citoplasmáticas en los eritrocitos. Los análisis estadísticos se realizaron con R Studio (Ver. 06.0+421; R Development Core Team 2023), considerando un $\alpha = 0.05$, en todos los casos. Se reportan las medianas \pm desviación del cuartil.

7. RESULTADOS

7.1. Representación de especies en el área de estudio

Se colectó un total de 55 ratones de cinco especies distintas del género *Peromyscus* (*P. difficilis*, *P. gratus*, *P. levipes*, *P. melanophrys* y *P. pectoralis*); sin embargo, ninguna especie estuvo presente en los tres sitios de muestreo y únicamente *P. difficilis* ocurrió tanto en Galeana como Aramberri (Anexo 1). El esfuerzo de muestreo fue de 840 trampas/noche, pero el tamaño de muestra de cada especie, en cada sitio de estudio, fue bajo. Con respecto a las categorías de edades, los juveniles y subadultos estuvieron poco representados, por lo que se analizaron en conjunto con los adultos para evitar reducir los tamaños de muestra. Sólo para el AMM se lograron obtener cifras superiores a 15 individuos para dos especies (24 para *P. levipes* y 17 para *P. pectoralis*), por lo cual la comparación entre sexos de la frecuencia de EMN y eritrocitos con deformidades citoplasmáticas sólo se pudo realizar para este sitio. En el Anexo 2 se presentan los datos detallados de las frecuencias de EMN y las deformidades citoplasmáticas observadas en las diferentes especies de *Peromyscus*.

7.2 Variaciones interespecíficas

7.2.1. Frecuencias de EMN

De las cinco especies estudiadas, solo *P. melanophrys* proveniente de Aramberri no mostró EMN. Al incluir únicamente la variable especie, los resultados del GLM mostraron que la variabilidad de las frecuencias de EMN no fue explicada por las especies de roedores muestreadas del género *Peromyscus* en el presente estudio ($p > 0.05$, en todas las comparaciones; Tabla 1). Aunque los valores fueron más altos en *P. pectoralis* (5.0 ± 1.5) y *P. levipes* (4.0 ± 1.1), con respecto a *P. gratus*, *P. difficilis* y *P. melanophrys*, las variaciones no fueron estadísticamente significativas (Fig. 7).

Al considerar sólo a las dos especies mejor representadas en el AMM en un GLM, dirigido por la especie y el sexo de los individuos, ninguna de las variables explicativas individuales, ni la interacción, resultó significativa ($p > 0.05$, en todos los casos; Tabla 2); por lo tanto, las frecuencias de EMN no fueron estadísticamente diferentes entre *P. pectoralis* (5.0 ± 8.0) y *P. levipes* (4.0 ± 9.5 ; Fig. 8) y entre hembras (6.0 ± 9.0) y machos (5.0 ± 6.0 ; Fig. 9) de estas dos especies.

Tabla 1. Coeficientes del modelo lineal generalizado (GLM) de las frecuencias de eritrocitos micronucleados (EMN) en ratones de cinco especies del género *Peromyscus* del estado de Nuevo León. Las variables explicativas significativas están indicadas con asteriscos.

GLM: frecuencias de EMN ~ Especie	Estimación	Error estándar	Valor Z	<i>p</i>
(Intercepto)	1.145	0.387	2.96	0.003**
Especie <i>P. gratus</i>	-1.551	0.945	-1.64	0.101
Especie <i>P. levipes</i>	0.694	0.432	1.61	0.108
Especie <i>P. melanophrys</i>	-19.448	2858.766	-0.01	0.995
Especie <i>P. pectoralis</i>	0.874	0.448	1.95	0.051

Familia: binomial negativa
 Devianza nula: 86.088 en 54 g. l.
 Devianza residual: 57.452 en 50 g. l.

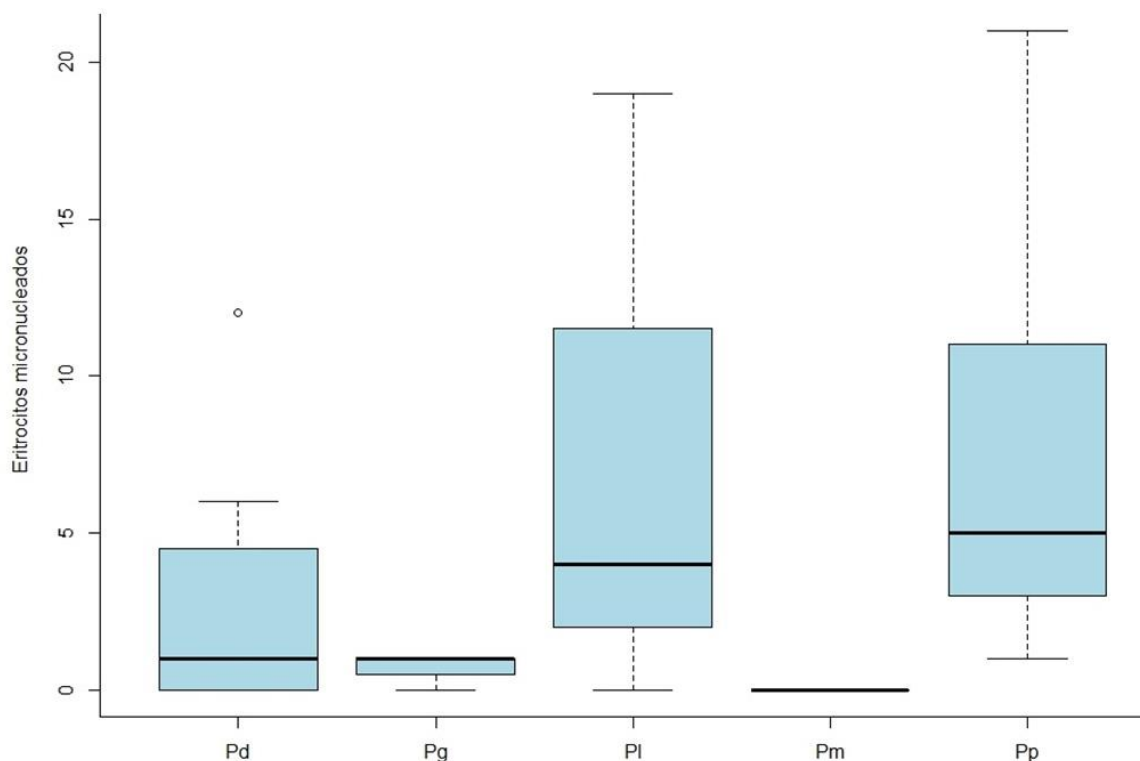


Fig. 7. Frecuencias de eritrocitos micronucleados en las cinco especies de ratones del género *Peromyscus* capturadas en el estado de Nuevo León. Se muestra la mediana (línea en el interior de cada caja) y el rango intercuartílico (líneas verticales punteadas). Pd = *P. difficilis*; Pg = *P. gratus*; Pl = *P. levipes*; Pm = *P. melanophrys*; Pp = *P. pectoralis*.

Tabla 2. Coeficientes del modelo lineal generalizado (GLM) de las frecuencias de EMN en *P. pectoralis* y *P. levipes*, procedentes del Área Metropolitana de Monterrey, Nuevo León, en función del sexo de los individuos. Las variables explicativas significativas están indicadas con asteriscos. GLM: frecuencias EMN ~ Especie + Sexo + Especie * Sexo.

	Estimación	Error estándar	Valor Z	<i>p</i>
(Intercepto)	1.877	0.223	8.43	< 0.001 * * *
Especie <i>P. pectoralis</i>	0.468	0.384	1.22	0.224
Sexo Macho	-0.104	0.366	-0.28	0.777
Especie <i>P. pectoralis</i> : Sexo Macho	-0.536	0.556	-0.96	0.335

Familia: binomial negativa
 Devianza nula: 48.940 en 40 g. l.
 Devianza residual: 46.048 en 37 g. l.

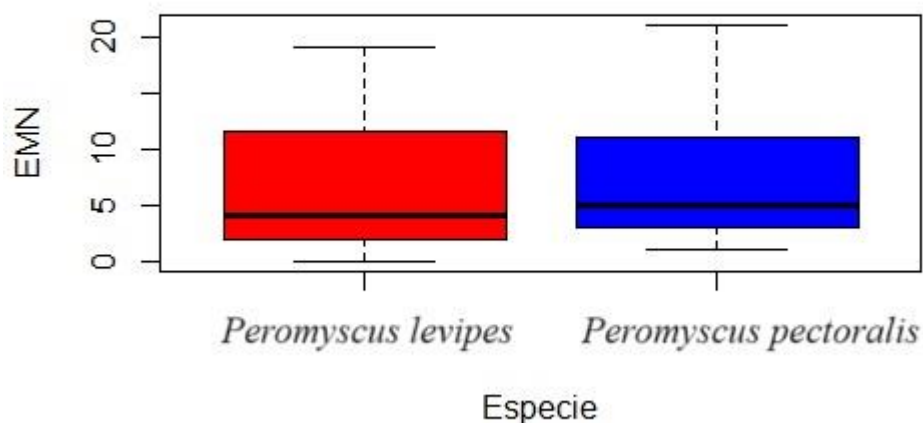


Fig. 8. Boxplot de frecuencia de EMN de las especies *P. levipes* y *P. pectoralis* del AMM donde se observa que no hay diferencias significativas entre ellas ($p = 0.846$). Se muestra la mediana (línea en el interior de cada caja) y el rango intercuartílico (líneas verticales punteadas).

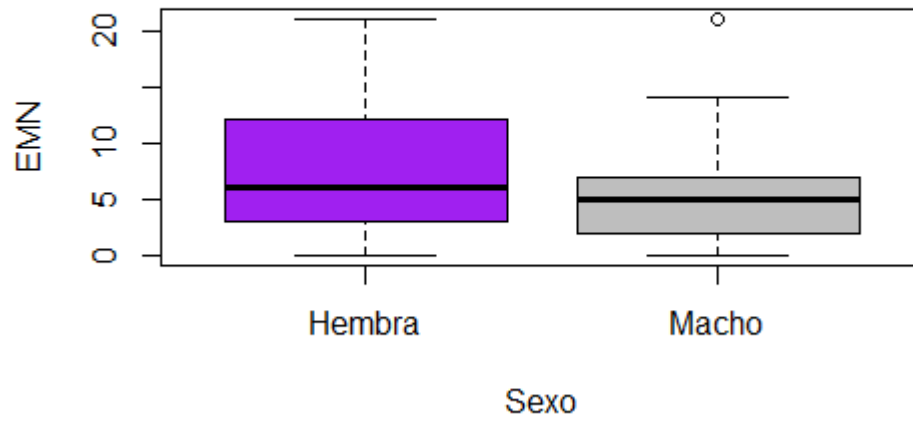


Fig. 9. Boxplot de frecuencia de EMN para hembras y machos colectados en de AMM no mostrando diferencias entre ellos ($p = 0.204$). Se muestra la mediana (línea en el interior de cada caja) y el rango intercuartílico (líneas verticales punteadas).

7.2.2. Eritrocitos deformes

Con respecto a las frecuencias de eritrocitos con deformidades citoplasmáticas, los resultados del GLM mostraron que la variable especie fue un predictor de las frecuencias observadas, resultando en un contraste significativo entre las frecuencias de *P. pectoralis* y *P. difficilis* (error estándar = 0.428, $Z = 3.24$, $p < 0.001$; Tabla 3). Adicionalmente, con la corrección de Bonferroni se comprobaron las diferencias estadísticas entre las frecuencias de eritrocitos deformes de estas dos especies (*P. pectoralis* y *P. difficilis*; $p = 0.010$) y entre *P. pectoralis* y *P. levipes* ($p = 0.032$). De esta manera, los valores de este biomarcador fueron más altos en *P. pectoralis* (228.0 ± 275.0), seguidos por aquellos en *P. levipes* (56.5 ± 147), *P. gratus* (61.0 ± 164.0), *P. difficilis* (53.0 ± 36.0) y *P. melanophrys* (51.5 ± 141.5 ; Fig. 10).

Al considerar en un GLM sólo a las dos especies mejor representadas en el AMM, dirigido por la especie y el sexo de los individuos, la variable especie también fue un predictor de las frecuencias de eritrocitos con deformidades citoplasmáticas, resultando en frecuencias significativamente más altas en *P. pectoralis* (228.0 ± 275.0) con respecto a *P. levipes* (56.5 ± 147.0 ; error estándar = 0.429, $Z = 2.13$, $p = 0.033$; Tabla 4; Fig. 11). Sin embargo, ni el sexo de los individuos (error estándar = 0.429, $Z = 2.13$, $p = 0.033$; Tabla 4; Fig. 12), ni la interacción especie x sexo (error estándar = 0.608, $Z = 0.13$, $p = 0.897$; Tabla 4) tuvieron efectos significativos en el modelo aplicado (error estándar = 0.608, $Z = 0.13$, $p = 0.897$; Tabla 4; Fig. 11).

Tabla 3. Coeficientes del modelo lineal generalizado (GLM) de las frecuencias de eritrocitos con deformidades citoplasmáticas en ratones de cinco especies del género *Peromyscus* del estado de Nuevo León. Las variables explicativas significativas están indicadas con asteriscos.

GLM: frecuencias eritrocitos deformes ~ especie	Estimación	Error estándar	Valor Z	<i>p</i>
(Intercepto)	4.087	0.361	11.32	< 0.001 ***
Especie <i>P. gratus</i>	0.494	0.658	0.75	0.452
Especie <i>P. levipes</i>	0.474	0.410	1.16	0.248
Especie <i>P. melanophrys</i>	0.387	0.598	0.65	0.517
Especie <i>P. pectoralis</i>	1.385	0.428	3.24	0.001 **

Familia: binomial negativa
 Devianza nula: 78.582 en 54 g. l.
 Devianza residual: 63.348 en 50 g. l.

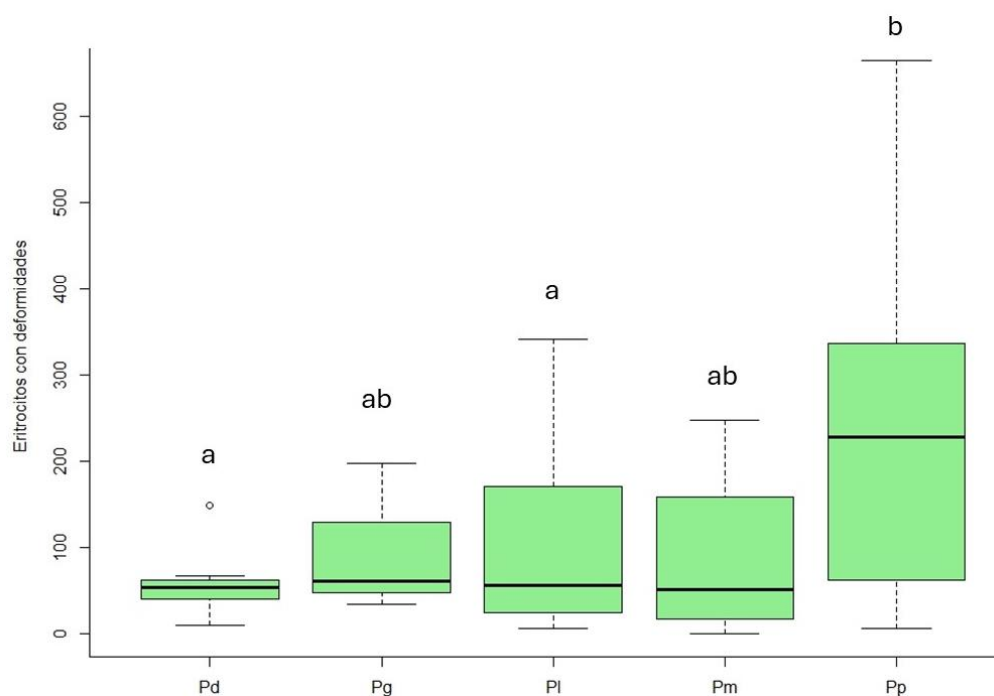


Fig. 10. Frecuencias de eritrocitos con deformidades citoplasmáticas en las cinco especies de ratones del género *Peromyscus* capturadas en el estado de Nuevo León. Se muestra la mediana (línea en el interior de cada caja) y el rango intercuartílico (líneas verticales punteadas). Letras minúsculas similares sobre las cajas indican grupos homogéneos ($p > 0.05$). Pd = *P. difficilis*; Pg = *P. gratus*; Pl = *P. levipes*; Pm = *P. melanophrys*; Pp = *P. pectoralis*.

Tabla 4. Coeficientes del modelo lineal generalizado (GLM) de las frecuencias de eritrocitos con deformidades citoplasmáticas en *P. pectoralis* y *P. levipes* procedentes del Área Metropolitana de Monterrey, Nuevo León, en función del sexo de los individuos. Las variables explicativas significativas están indicadas con asteriscos. GLM: frecuencias eritrocitos deformes ~ Especie + Sexo + Especie * Sexo.

	Estimación	Error estándar	Valor Z	p
(Intercepto)	4.634	0.242	19.12	< 0.001 ***
Especie <i>P. pectoralis</i>	0.912	0.429	2.13	0.033 *
Sexo Macho	-0.207	0.396	-0.52	0.601
Especie <i>P. pectoralis</i> : Sexo Macho	0.079	0.608	0.13	0.897

Familia: binomial negativa
Devianza nula: 56.286 en 40 g. l.
Devianza residual: 46.365 en 37 g. l.

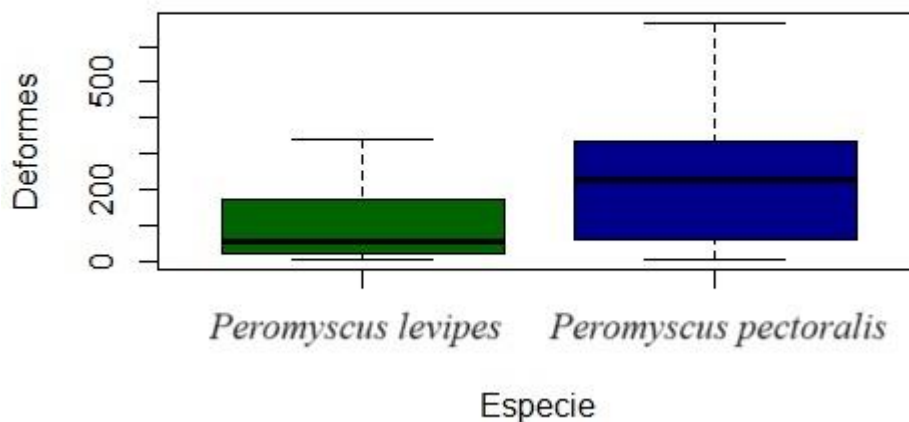


Fig. 11. Boxplot de frecuencia de eritrocitos deformes para las especies *P. levipes* y *P. pectoralis* del AMM mostrando diferencias significativas entre ellas ($p = 00.0005$). Se muestra la mediana (línea en el interior de cada caja) y el rango intercuartílico (líneas verticales punteadas).

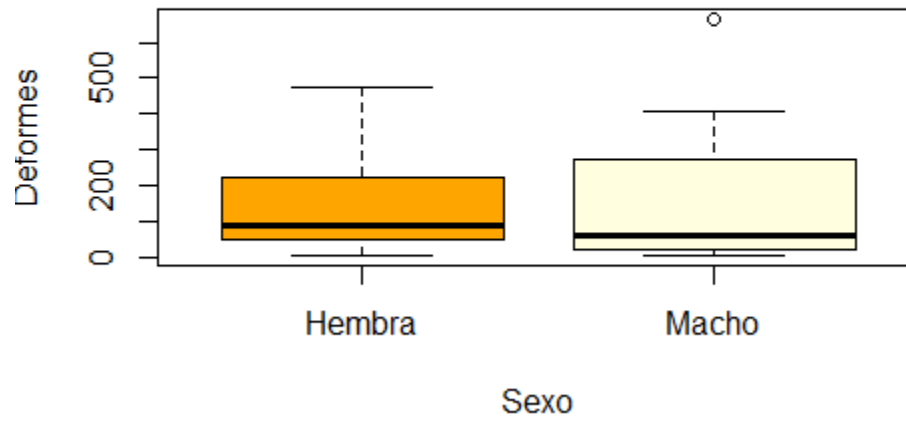


Fig. 12. Boxplot de frecuencia de eritrocitos deformes para hembras y machos colectados en AMM no mostrando diferencias entre ellos ($p = 0.5428$). Se muestra la mediana (línea en el interior de cada caja) y el rango intercuartílico (líneas verticales punteadas).

8. DISCUSIÓN

A pesar de haber realizado los muestreos en el mismo tipo de vegetación (matorral xerófilo) en los tres sitios que comprenden el área de estudio, no se pudieron coleccionar las mismas especies de roedores en ellas. Adicionalmente, se tuvieron complicaciones de acceso a algunas áreas, ya sea por lo difícil del terreno o a la inseguridad donde quedaban en riesgo las trampas de ser robadas; solo para el AMM, dentro de las instalaciones del Parque Ecológico Chipinque, se contó con mayores facilidades y seguridad. Sin embargo, queda evidente que se requiere de un esfuerzo de colecta mucho mayor para alcanzar el objetivo de contar con al menos una misma especie para los tres sitios evaluados.

Las frecuencias de EMN presentaron variación entre las especies de *Peromyscus* evaluadas en el área de estudio; sin embargo, no la suficiente para ser estadísticamente significativas. Al comparar los valores obtenidos con otros estudios, se observa que las frecuencias de EMN en otras especies de roedores expuestos a contaminantes ambientales también presentan variaciones similares (Da Silva *et al.*, 2000; Meier *et al.*, 1999). Esto sugiere que las frecuencias de EMN pueden ser influenciadas por factores ambientales, tales como la calidad del suelo, disponibilidad del agua, el nivel de nutrientes en el suelo, pero también pueden ser específicas de cada especie (Parra-Ochoa 2014). Adicionalmente, la variación observada pudo verse influida por el tamaño de muestra para cada especie.

En cuanto a las especies *P. pectoralis* y *P. levipes*, que fueron las especies con las frecuencias más altas de MN, la diferencia en los microhábitats también pueden influir en estos valores. Es posible que los individuos de estas especies estén recolectando desperdicios del ser humano, como plásticos, para formar sus madrigueras (Ceballos y Oliva 2005). Además, la calidad del bazo, encargado de la eliminación de estos contaminantes, es fundamental para entender la salud celular (Villar 2014). La diferencia en la altitud también puede jugar un papel importante. Como indicaron Gough & Kilgore (1964) que las adaptaciones y respuestas dentro del género *Peromyscus* pueden variar significativamente con cambios ambientales.

El proceso de eliminación de eritrocitos anormales es llevado a cabo por los macrófagos esplénicos, que identifican y fagocitan los eritrocitos anormales. Este mecanismo es esencial para la homeostasis hematológica, asegurando que solo circulen glóbulos rojos

sanos (Gartner y Lhiatt 1997). Villar (2014) señala que la eficiencia del bazo en esta tarea puede influir en los resultados de la prueba de MN, utilizada para evaluar el daño genotóxico en mamíferos. En consecuencia, es fundamental considerar la capacidad del bazo para eliminar eritrocitos micronucleados al analizar los resultados de la prueba de micronúcleos y evaluar la exposición crónica a agentes genotóxicos. Hasta ahora no se ha estudiado la funcionalidad del bazo para estas dos especies, pero pudiera ser que este órgano esté relacionado con la eliminación de los EMN en *P. levipes* o la adaptabilidad de esta especie a su entorno, como seleccionado alimentos de mejor calidad o sobreponiéndose a problemas que comprometan el sistema inmunológico o evitando factores que le generen estrés a los individuos (Parra-Ochoa, 2014). La ausencia de micronúcleos en *P. melanophrys* podría ser atribuible a factores genéticos que le confiere una mayor resistencia a ciertos agentes genotóxicos presentes en su entorno, así como a la función del bazo en la respuesta a estos agentes. Además, la diferencia en la anatomía y fisiología del bazo en roedores podría ser relevante, ya que en mamíferos esta variación puede influir en la respuesta a agentes genotóxicos (Villar 2014; Meier *et al.*, 1999; Pardiñas *et al.*, 2017).

Este resultado indica que las especies de *Peromyscus* tienen diferentes niveles de sensibilidad a los factores que causan deformidades citoplasmáticas en los eritrocitos, lo cual podría estar relacionado con diferencias genéticas como la funcionalidad del bazo o exposiciones ambientales específicas como el tipo de hábitat, la altura sobre el nivel del mar, la diferencia entre los sitios como, que tan perturbado este el sitio y el tipo de vegetación de cada sitio podría estar influenciado (Gartner & Lhiatt, 1997; Parra-Ochoa 2014; Gough & Kilgore 1964).

Peromyscus pectoralis podría ser más sensible a los factores ambientales que causan deformidades citoplasmáticas, ya que la especie fue encontrada en el área de Chipinque (AMM), se podría suponer que la calidad del aire influye en la cantidad de eritrocitos con deformidades citoplasmáticas. Esta área está ubicada a las orillas de la ciudad de Monterrey, lo que implica una posible exposición a contaminantes atmosféricos provenientes del tráfico vehicular y otras actividades urbanas. La proximidad a zonas con alta concentración de vehículos podría resultar en una mayor carga de contaminantes atmosféricos en el parque, lo cual puede afectar la salud de los roedores y manifestarse en

deformidades citoplasmáticas en los eritrocitos. Por lo tanto, la calidad del aire podría ser un factor importante en la evaluación de la salud genotóxica de esta especie. Además, la calidad del suelo en esta zona podría estar comprometida por la acumulación de contaminantes, lo que, a su vez, podría afectar los recursos alimenticios disponibles para *P. pectoralis*. Si los alimentos que consumen estos roedores están contaminados, esto podría contribuir a una mayor incidencia de deformidades citoplasmáticas (Ieradi 1996; Gómez-Arroyo *et al.* 2013; Parra-Ochoa 2014). Por lo tanto, tanto la calidad del aire como la del suelo, así como la posible contaminación de los recursos alimenticios, deben considerarse en la evaluación de la salud genotóxica de esta especie (Ceyca *et al.* 2014; Parra-Ochoa 2014).

La comparación entre sitios no se realizó debido al bajo tamaño de muestra en cada sitio y la falta de representación de todas las especies en los mismos sitios. Sin embargo, al observar las frecuencias generales de los dos biomarcadores, no se identificó un patrón claro que sugiera una diferencia consistente entre los sitios de muestreo. Las variaciones observadas podrían estar influenciadas por factores locales específicos, como la presencia de contaminantes ambientales (Orta-García *et al.* 2016), pero estos no se pudieron analizar de manera adecuada debido a las limitaciones del diseño del estudio.

Con relación al mayor número de eritrocitos deformes en *P. gratus* respecto a *P. levipes*, *P. difficilis* y *P. melanophrys*, esta situación podría atribuirse a la exposición a agentes ambientales específicos presentes en su hábitat, los cuales podrían ser más perjudiciales para esta especie en particular. *P. gratus* fue una especie encontrada en Aramberri, donde el tipo de contaminantes presentes era muy diferente al del AMM. En Aramberri, los contaminantes directos en el entorno incluían desechos de personas. La exposición a estos contaminantes específicos podría estar vinculadas a la mayor frecuencia de eritrocitos deformes observada en *P. gratus* (Ieradi 1996). Además, es importante considerar que el número de deformidades podría ser un indicador más relevante para los mamíferos en comparación con la presencia de micronúcleos (Ieradi *et al.* 1996). También es necesario tener en cuenta posibles diferencias en la biología reproductiva, la dieta y el comportamiento de *P. gratus*, factores que podrían hacer que esta especie sea más susceptible a los efectos adversos de los agentes genotóxicos (Orta-García *et al.* 2016).

Estos hallazgos sugieren que la relación entre la exposición a la actividad humana y la incidencia de deformidades en los roedores no es tan directa como se pensaba inicialmente. Es posible que otros factores, además de la contaminación ambiental, estén influyendo en la salud y el estado físico de las poblaciones de roedores. Una explicación podría ser que *P. gratus*, a pesar de habitar en un área con menos actividad humana que el AMM, está expuesta a otros factores estresantes en su hábitat natural que podrían contribuir a la aparición de deformidades. Estos factores podrían incluir la competencia intraespecífica, la disponibilidad de recursos alimenticios, la presión de depredación y otros aspectos relacionados con la ecología de la especie (Jiménez *et al.* 2015).

La presencia de micronúcleos y deformidades eritrocitarias en roedores silvestres del AMM confirma la utilidad de estos biomarcadores como indicadores tempranos de estrés ambiental (Da Silva *et al.* 2000; Villar 2014). El uso de roedores como bioindicadores ha sido respaldado en estudios previos, donde se han empleado para evaluar la calidad ambiental y la exposición a genotóxicos (Tovar-Sánchez *et al.*, 2012). La variabilidad en la frecuencia de EMN y deformidades eritrocitarias entre especies destaca la importancia de la selección adecuada de bioindicadores para reflejar la diversidad de respuestas a la exposición ambiental (Meier *et al.* 1999; Parra-Ochoa 2014).

9. CONCLUSIÓN

Aunque se requiere más investigación en Galeana y Aramberri, los resultados del AMM ofrecen una base sólida para futuros estudios y acciones de conservación ambiental en áreas urbanas. Se recomienda aumentar el tamaño de muestra y el esfuerzo en las colectas de roedores. Al contar con más muestras sanguíneas para cada especie y sitio de muestreo nos permitirá evaluar con más certeza cómo se ven afectados los eritrocitos a los contaminantes ambientales, lo ideal sería tener individuos de una sola especie para los tres sitios, para poder hacer una comparación entre áreas y entre especies.

Debido a que esta investigación es exploratoria, podría ser posible que para mamíferos pueda existir un indicador de daño genético diferente, dado que se observaron más deformidades de eritrocitos que la frecuencia de EMN. Para deformidades y EMN se observó mayor número de frecuencia para *Peromyscus pectoralis* que para *P. levipes*, lo cual nos indica que *P. pectoralis* podría ser mejor indicador de daño genético en el AMM.

El proceso de eliminación de eritrocitos anormales por los macrófagos esplénicos, como señala Villar (2014), es crucial para la homeostasis hematológica y puede influir en los resultados de la prueba de MN. Considerar la capacidad del bazo para eliminar eritrocitos micronucleados es esencial al analizar los resultados de la prueba de MN y evaluar la exposición crónica a agentes genotóxicos. Aunque no se ha estudiado la funcionalidad del bazo en *P. levipes* y *P. melanophrys*, es posible que este órgano esté relacionado con la eliminación de EMN en *P. levipes* o con la adaptabilidad de esta especie a su entorno. La ausencia de micronúcleos en *P. melanophrys* podría deberse a factores genéticos y la función del bazo en la respuesta a agentes genotóxicos.

En cuanto al mayor número de eritrocitos deformes en *P. gratus* en comparación con otras especies, podría estar relacionado con la exposición a agentes contaminantes ambientales específicos de su hábitat. La presencia humana en el área puede contribuir a este problema, ya que la falta de control sobre los desechos, como la basura, puede aumentar los niveles de contaminación y afectar negativamente a la fauna local. Esta situación resalta la necesidad de considerar posibles diferencias en la biología reproductiva, la dieta y el comportamiento que puedan hacer que *P. gratus* sea más susceptible a los efectos adversos de los agentes genotóxicos.

Finalmente, la presencia de micronúcleos y deformidades eritrocitarias en roedores silvestres del AMM confirma la utilidad de estos biomarcadores como indicadores tempranos de algún tipo de estrés ambiental. Siendo esta la primera ocasión que se trabaja con deformidades eritrocitarias, podría esto tomarse en cuenta para futuras investigaciones. El uso de roedores como bioindicadores, respaldado por estudios previos, resalta la importancia de la selección adecuada de bioindicadores para reflejar la diversidad de respuestas a la exposición ambiental.

BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez-Castañeda, S. T., Álvarez, T., & González-Ruiz, N. (2015). Guía para la identificación de los mamíferos de México en campo y laboratorio. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. y Asociación Mexicana de Mastozoología, A. C.
- Badii, M. H., & Varela, S. (2015). Insecticidas organofosforados: efectos sobre la salud y el ambiente. *Cultura Científica y Tecnológica*, (28).
- Cameron, A. C., & Trivedi, P. K. (2013). *Regression analysis of count data* (No. 53). Cambridge University Press.
- Campbell, T. (2014). Citología Hemática: Evaluación del frotis sanguíneo. *ZooLógica (1st ed., pp. 20–34)*
- Carriquiriborde, P. (2021). *Principios de Ecotoxicología*. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP).
- Ceyca, J. P., Torres-Bugarín, O., Castillo-Guerrero, J. A., & Betancourt-Lozano, M. (2014). Embriones de aves marinas como biomonitores de agentes genotóxicos micronucleogénicos: potencial aplicación para las costas de México. *Investigación de Biología Aviar*, 7, 223-234.
- Ceballos, G., & Oliva, G. (2005). *Los mamíferos silvestres de México*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad: Fondo de Cultura Económica.
- Cedano-Díaz, A., Martínez-González, S., Escalera-Valente, F., Salgado-Moreno, S., Carillo-Díaz, F., Macías-Coronel, H. & Peña-Parra, B. (2012). La prueba de micronúcleos en sangre como bioindicador de genotóxicos. *AbanicoVet*, 2, 43-54.
- Ceppi, M., Gallo, F., & Bonassi, S. (2011). Study design and statistical analysis of data in human population studies with the micronucleus assay. *Mutagenesis*, 26, 247-252.
- Da Silva, J., de Freitas, T. R., Heuser, V., Marinho, J. R., & Erdtmann, B. (2000). Genotoxicity biomonitoring in coal regions using wild rodent *Ctenomys torquatus* by Comet assay and micronucleus test. *Environmental and molecular mutagenesis*, 35(4), 270–278.
- Elizarragaz-De La Rosa, D., Alonso-Segura, D., Alcantar-Rosales, V. M., Heras-Ramírez, M. E., Lugo-Melchor, O. Y., & Gaspar-Ramírez, O. (2018). Análisis multi-residual de plaguicidas de uso agrícola en naranjas (*Citrus sinensis osbeck*) de Montemorelos, Nuevo León, México. *Agro Productividad*, 11(1).
- Gartner, L. P., & Lhiatt, J. (1997). *Texto Atlas de Histología*. McGraw-Hill Interamericana Editores S. A.

- Gómez-Arroyo, S., Martínez-Valenzuela, C., Carbajal-López, Y., Martínez-Arroyo, A., Calderón-Segura, M. E. Villalobos-Pietrini, R. & Waliszewski, S. M. (2013). Riesgo genotóxico por la exposición ocupacional a plaguicidas en américa latina. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29, 159-180.
- Gómez-Meda, B. C., Zamora-Perez, A. L., Luna-Aguirre, J., González-Rodríguez, A., Luisa Ramos-Ibarra, M., Torres-Bugarín, O., ... Zúñiga-González, G. M. (2006). Nuclear abnormalities in erythrocytes of parrots (*Aratinga canicularis*) related to genotoxic damage. *Avian Pathology*, 35, 206–210.
- Gough, B. J., & Kilgore, S. S. (1964). A comparative hematological study of *Peromyscus* in Louisiana and Colorado. *Journal of Mammalogy*, 45, 421-428.
- Guzmán-Velasco, A., Ramírez-Cruz, J. I., Ruiz-Aymá, G., Rodríguez-Sánchez, I. P., Garza-Ocañas, L., Treviño-Alvarado, V. M., González-Rojas, J.I & Olalla-Kerstupp, A. (2021). Great-tailed Grackles (*Quiscalus mexicanus*) as Biomonitors of Atmospheric Heavy Metal Pollution in Urban Areas of Monterrey, Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 106(6), 983-988.
- Hall, E. R. (1981). The Mammals of North America, Vol. II. *John Wiley & Sons, Inc.*
- Ieradi, L. A., Cristaldi, M., Mascanzoni, D., Cardarelli, E., Grossi, R., & Campanella, L. (1996). Genetic damage in urban mice exposed to traffic pollution. *Environmental Pollution*, 92, 323-328.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2017). *Conociendo Nuevo León*. https://www.inegi.org.mx/contenidos/productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/estudios/conociendo/702825098148.pdf
- Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal (INAFED). (2017). *Enciclopedia de los Municipios y delegaciones de México*. <https://www.derechomunicipal.org.mx/single-post/2018/07/24/enciclopedia-de-los-municipios-y-delegaciones-de-m%C3%A9xico>
- Meier, J. R., Wernsing, P., & Torsella, J. (1999). Feasibility of micronucleus methods for monitoring genetic damage in two feral species of small mammals. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 33, 219-225.
- Orta-García, S. T., Ochoa-Martínez, A. C., Carrizalez-Yáñez, L., Varela-Silva, J. A., Pérez-Vázquez, F. J., Pruneda-Álvarez, L. G., Torres-Dosal, A., Guzmán- Mar, J.L, & Pérez-Maldonado, I. N. (2016). Persistent organic pollutants and heavy metal concentrations in soil

from the metropolitan area of Monterrey, Nuevo Leon, Mexico. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 70(3), 452–463. doi.org/10.1007/s00244-015-0239-3

- Parra-Ochoa, E. (2014). Aves silvestres como bioindicadores de contaminación ambiental y metales pesados. *Revista CES Salud Pública*, 5(1).
- Pardiñas U. F. J., Meyers P., León-Paniagua L., Ordañez Garza N., Cook J. A., Křišťufek B., Haslaver R., Bradley R. D., Shenbrot G. I. y Patton J. L. (2017). Family Cricetidae (true hamsters, voles lemmings and new world rats and mice) Pp 204-535. En: Wilson, D. E., Lacher, T.E., Jr & Mittermeier, R. A. (eds). *Handbook of the mammals of the world. Vol.7 Rodents II*. Lynx Edicions, Barcelona.
- Torres-Bugarín, O., Zavala-Aguirre, J. L., Gómez-Rubio, P., Buelna-Osben, H. R., Zúñiga-González, G., & García-Ulloa Gómez, M. (2007). Especies de peces con potencial como bioindicadores de genotoxicidad en el lago "La Alberca", Michoacán, México. *Hidrobiológica*, 17(1), 75-81.
- Tovar-Sánchez, E., Cervantes, L. T., Martínez, C., Rojas, E., Valverde, M., Ortiz-Hernández, M. L., & Mussali-Galante, P. (2012). Comparison of two wild rodent species as sentinels of environmental contamination by mine tailings. *Environmental Science and Pollution Research*, 19, 1677-1686.
- Rojas Rojas, L., & Barboza Rodríguez, M. (2007). Ecología poblacional del ratón *Peromyscus mexicanus* (Rodentia: Muridae) en el Parque Nacional Volcán Poás, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 55, 1037-1050.
- Sandoval-Herrera, N., Paz Castillo, J., Herrera Montalvo, L. G., & Welch Jr, K. C. (2021). Micronucleus test reveals genotoxic effects in bats associated with agricultural activity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 40, 202-207.
- Sikes, R. S., & Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists. (2016). 2016 Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research and education. *Journal of mammalogy*, 97, 663-688.
- Villar, S. (2014). Is the micronucleus test indicative of the chronic exposure to genotoxic agents in all mammals? Implications of the spleen in the results of this test. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*, 25(1), 54-55.

ANEXO 1

Relación de laminillas de frotis sanguíneos analizados

Se presenta la información de procedencia de cada uno de los frotis sanguíneos analizados, indicando la etiqueta asignada a cada laminilla (ID), la especie de *Peromyscus* correspondiente, el sitio de estudio (área Metropolitana de Monterrey [AMM], municipios de Galeana y Aramberri), coordenadas geográficas en grados decimales, y el sexo, longitud total (LT) y peso (P) de los individuos capturados y evaluados.

ID Laminilla	Especie	Sitio	Latitud	Longitud	Sexo	LT	P
1	<i>P. pectoralis</i>	AMM	25.614435	-100.32347	Macho	198	19
2	<i>P. pectoralis</i>	AMM	25.614435	-100.32347	Hembra	185	17
3	<i>P. pectoralis</i>	AMM	25.614435	-100.32347	Macho	172	13
4	<i>P. pectoralis</i>	AMM	25.614435	-100.32347	Macho	185	12
5	<i>P. pectoralis</i>	AMM	25.614435	-100.32347	Macho	203	16
7	<i>P. pectoralis</i>	AMM	25.614435	-100.32347	Hembra	180	12
8	<i>P. pectoralis</i>	AMM	25.614435	-100.32347	Macho	157	10
9	<i>P. pectoralis</i>	AMM	25.614435	-100.32347	Macho	195	14
10	<i>P. pectoralis</i>	AMM	25.614435	-100.32347	Hembra	177	23
11	<i>P. pectoralis</i>	AMM	25.614435	-100.32347	Hembra	197	30
12	<i>P. pectoralis</i>	AMM	25.614435	-100.32347	Hembra	180	26
13	<i>P. pectoralis</i>	AMM	25.614435	-100.32347	Hembra	180	27
14	<i>P. pectoralis</i>	AMM	25.614435	-100.32347	Macho	177	25
17	<i>P. pectoralis</i>	AMM	25.614435	-100.32347	Macho	190	22
18	<i>P. pectoralis</i>	AMM	25.614435	-100.32347	Macho	180	26
19	<i>P. pectoralis</i>	AMM	25.614435	-100.32347	Macho	187	26
22	<i>P. pectoralis</i>	AMM	25.614435	-100.32347	Hembra	192	12

23	<i>P. levipes</i>	AMM	25.612778	-100.363333	Hembra	188	20
24	<i>P. levipes</i>	AMM	25.612778	-100.363333	Hembra	175	24
25	<i>P. levipes</i>	AMM	25.612778	-100.363333	Hembra	163	18
26	<i>P. levipes</i>	AMM	25.612778	-100.363333	Hembra	175	24
27	<i>P. levipes</i>	AMM	25.612778	-100.363333	Hembra	185	ND
28	<i>P. levipes</i>	AMM	25.612778	-100.363333	Macho	200	29
29	<i>P. levipes</i>	AMM	25.612778	-100.363333	Hembra	190	28
30	<i>P. levipes</i>	AMM	25.612778	-100.363333	Macho	209	23
31	<i>P. levipes</i>	AMM	25.612778	-100.363333	Hembra	178	20
32	<i>P. levipes</i>	AMM	25.612778	-100.363333	Macho	204	22
33	<i>P. levipes</i>	AMM	25.612778	-100.363333	Hembra	210	27
34	<i>P. levipes</i>	AMM	25.612778	-100.363333	Hembra	202	21
35	<i>P. levipes</i>	AMM	25.612778	-100.363333	Hembra	144	16
36	<i>P. levipes</i>	AMM	25.612778	-100.363333	Macho	182	27
37	<i>P. levipes</i>	AMM	25.612778	-100.363333	Macho	205	34
38	<i>P. levipes</i>	AMM	25.612778	-100.363333	Hembra	203	30
39	<i>P. levipes</i>	AMM	25.612778	-100.363333	Macho	185	23
40	<i>P. levipes</i>	AMM	25.612778	-100.363333	Hembra	204	34
41	<i>P. levipes</i>	AMM	25.612778	-100.363333	Macho	170	27
42	<i>P. levipes</i>	AMM	25.612778	-100.363333	Hembra	180	23
43	<i>P. levipes</i>	AMM	25.612778	-100.363333	Hembra	168	26
44	<i>P. difficilis</i>	Aramberri	24.061948	-99.873074	Hembra	260	42
45	<i>P. difficilis</i>	Aramberri	24.061948	-99.873074	Hembra	268	40
58	<i>P. melanophrys</i>	Aramberri	24.061948	-99.873074	Hembra	223	37
59	<i>P. gratus</i>	Aramberri	24.034284	-99.862309	Hembra	196	14

61	<i>P. levipes</i>	AMM	25.60752	-100.355207	Hembra	180	19
62	<i>P. levipes</i>	AMM	25.60752	-100.355207	Macho	180	18
63	<i>P. levipes</i>	AMM	25.60752	-100.355207	Hembra	186	17
64	<i>P. levipes</i>	AMM	25.60752	-100.355207	Macho	187	14
69	<i>P. melanophrys</i>	Aramberri	24.087222	-99.86056	Hembra	250	44
71	<i>P. gratus</i>	Aramberri	24.087222	-99.86056	Hembra	190	20
73	<i>P. gratus</i>	Aramberri	24.091475	-99.861252	Macho	190	21
76	<i>P.melanophrys</i>	Aramberri	24.042778	-99.866111	Hembra	240	21
80	<i>P. difficilis</i>	Galeana	24.811389	-100.113056	Hembra	200	26
81	<i>P. difficilis</i>	Galeana	24.811389	-100.113056	Hembra	220	35
82	<i>P. difficilis</i>	Galeana	24.811389	-100.113056	Hembra	271	49
83	<i>P.difficilis</i>	Galeana	24.811389	-100.113056	Macho	210	28
84	<i>P. difficilis</i>	Galeana	24.811389	-100.113056	Macho	220	35

ANEXO 2

Frecuencias de EMN y deformidades citoplasmáticas en diferentes especies de *Peromyscus* por sitio y sexo

En este anexo se presentan los datos detallados de las frecuencias de EMN y las deformidades citoplasmáticas observadas en diferentes especies de *Peromyscus*, desglosados por sitio de muestreo y sexo. Esta información es fundamental para comprender las variaciones específicas entre especies y su relación con los factores ambientales y genéticos.

Esta tabla proporciona una visión detallada y específica de los resultados obtenidos en el estudio, permitiendo identificar patrones y diferencias significativas entre especies, sexos y sitios de muestreo. La inclusión de estos datos como anexo permite mantener el flujo y la claridad del texto principal, mientras que se proporciona toda la información necesaria para una comprensión completa de los resultados.

Sitio		Especie									
		<i>Peromyscus pectoralis</i>		<i>Peromyscus levipes</i>		<i>Peromyscus melanophrys</i>		<i>Peromyscus difficilis</i>		<i>Peromyscus gratus</i>	
		Sexo	M	H	M	H	M	H	H	M	H
AMM	<i>n</i>	10	7	9	15						
	EMN	5.5 ± 1.9	10.4 ± 2.3	5.9 ± 1.8	6.5 ± 1.5						
	M	4	11	5	4						
	Mediana ± Cuartil	4±4	11.00±10.00	5.00±7.00	4.00±10.00						
	Deformidades	225.3 ± 67.2	256.1 ± 59.8	83.7 ± 35.7	102.9 ± 22.6						
	M	198.5	264	43	60						
	Mediana ± Cuartil	198.50±292.00	264.00±322.00	43.00±56.00	60.00±171.00						
Galeana	<i>n</i>							3	2		
	EMN							0.3 ± 0.3	4.5 ± 1.5		
	M							0	4.5		
	Mediana ± Cuartil							0.00±1.00	4.50±3.00		
	Deformidades							75.3 ± 40.3	42.0 ± 11.0		
	M							67	42		
	Mediana ± Cuartil							67.00±139.00	42.00±22.00		
Aramberri	<i>n</i>					0	3	2		2	1
	EMN						0.0 ± 0.0	6.0 ± 6.0		1.0 ± 0.0	0
	M						0	6		1	0
	Mediana ± Cuartil						0.00±0.00	6.00±12.00		1.00±0.00	0.00±0.00
	Deformidades						34.3 ± 19.9	53.5 ± 3.5		47.5 ± 13.5	198
	M						34	53.5		47.5	198
	Mediana ± Cuartil						34.00±69.00	53.50±7.00		47.50±27.00	198.00±0.00

