



**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL  
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS**



**VARIACIÓN ESTACIONAL DE LOS  
INDICADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN  
TRES ESPECIES DE ABANICOS DE MAR  
(CNIDARIA: OCTOCORALLIA) EN LA BAHÍA DE  
LA PAZ, BAJA CALIFORNIA SUR, MÉXICO**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS**

**PRESENTA**

**OLINDA SARAÍ SORIANO SANTIAGO**

**LA PAZ, B.C.S., JUNIO DE 2015**





INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 12:00 horas del día 3 del mes de Junio del 2015 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis titulada:

"VARIACIÓN ESTACIONAL DE LOS INDICADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN TRES ESPECIES DE ABANICOS DE MAR (CNIDARIA: OCTOCORALLIA) EN LA BAHÍA DE LA PAZ, BAJA CALIFORNIA SUR, MÉXICO"

Presentada por el alumno:

SORIANO SANTIAGO OLINDA SARAÍ
Apellido paterno materno nombre(s)
Con registro: B 1 3 0 8 7 4

Aspirante de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron APROBAR LA DEFENSA DE LA TESIS, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA
Directores de Tesis

DR. JAIME GÓMEZ GUTIÉRREZ
Director de Tesis

DR. CARLOS ARMANDO SANCHEZ ORTIZ
2º Director de Tesis

DRA. MARÍA DINORAH HERRERO PEREZRUI

MC. GUSTAVO DE LA CRUZ AGÜERO

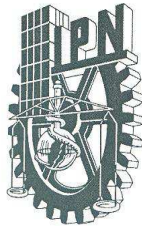
DRA. TANIA ZENTENO-SAVIN

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

DR. MARÍA MARGARITA CASAS VALDEZ



IPN
CICIMAR
DIRECCION



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL  
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

**CARTA CESIÓN DE DERECHOS**

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 10 del mes Junio del año 2015

el (la) que suscribe OCEAN. OLINDA SARÁ SORIANO SANTIAGO alumno(a) del

Programa de MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

con número de registro B130874 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de:

DR. JAIME GÓMEZ GUTIÉRREZ Y DR. CARLOS ARMANDO SÁNCHEZ ORTIZ

y cede los derechos del trabajo titulado:

"VARIACIÓN ESTACIONAL DE LOS INDICADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN TRES ESPECIES DE ABANICOS  
DE MAR (CNIDARIA:OCTOCORALLIA) EN LA BAHÍA DE LA PAZ, BAJA CALIFORNIA SUR, MÉXICO"

al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Éste, puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: olinda 88@yahoo.com.mx - jgomezgu@gmail.com - csanchez@uabcs.mx

Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

OCEAN. OLINDA SARÁ SORIANO SANTIAGO

*nombre y firma*

## **AGRADECIMIENTOS**

A CONACyT por la beca de posgrado otorgada para realizar la Maestría durante el periodo de dos años (2013-2015) y a la Beca de Estímulo Institucional de Formación de Investigadores (BEIFI).

Al Instituto Politécnico Nacional (IPN) y al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) por las facilidades prestadas para estudiar la Maestría en Ciencias en Manejo de Recursos Marinos. En especial al Departamento de Servicios Escolares, Humberto Ceseña y Cesar Casas, por su paciencia y ayuda en la realización de los trámites administrativos.

A los proyectos institucionales SIP-IPN 2013-2015 (20130224, 20140497 y 20150113), Ciencia Básica CONACyT 2012 Interacciones parasíticas de los eufásidos y sus depredadores en el Golfo de California para inferir su ciclo de vida (CONACyT CB-2012-17815-01), CONABIO 2013-JF190/13, Proyecto de Monitoreo Ecológico (ProMares) UABCS-SCRIPPS-CBMC (Golfo de California 1998-2015) y CIBNOR (PC0.10 y PAC).

A mis directores de tesis, Dr. Jaime Gómez Gutiérrez (CICIMAR) y Dr. Carlos Sánchez Ortiz (UABCS), por creer en mí y por brindarme todo el apoyo para la realización de esta tesis de un tema que juntos fuimos aprendiendo, aún falta un largo camino por recorrer.

A los integrantes del comité tutorial, Dra. Tania Zenteno Savín, Dra. Ma. Dinorah Herrero Perezrul y al MC Gustavo de la Cruz Agüero, sus críticas y comentarios fueron parte medular del trabajo, gracias por su tiempo y dedicación. En especial a la Dra. Tania, por aceptar la propuesta de trabajo, su paciencia y disponibilidad para seguir enseñándome del estrés oxidativo.

Al Laboratorio de Estrés Oxidativo (CIBNOR) por brindarme las facilidades técnicas necesarias para la realización con éxito de los análisis de los indicadores de estrés oxidativo, en especial a los técnicos Norma Olgún y Orlando Lugo, sin ustedes

chicos jamás habría terminado en tiempo los análisis de estrés oxidativo y aportar mi granito de arena al conocimiento de los abanicos de mar. A los compañeros del grupo de trabajo de estrés oxidativo, Marce, Roberto, Priscila, Bere, Iris, Dr. Ramón, Aldo; sus comentarios, ánimos y charlas hicieron más ameno mi paso por esta etapa.

Al equipo del Proyecto Fauna Arrecifal (PFA, UABCS), Fernando, Benny, Osvaldo, Diego, Úrsula, Ramiro y todos los integrantes que de alguna manera contribuyeron con la parte más importante de este trabajo, la recolección de las muestras de abanicos de mar, muchas gracias chicos, su disponibilidad y entusiasmo hicieron de cada salida de campo una aventura inolvidable.

A la Dra. Vanesa Labrada Martagón, mil gracias por enseñarme y asesorarme en la construcción de los Modelos Lineales Generalizados, su aportación fue invaluable.

Al Dr. Marco A. Liñan Cabello, mi mentor académico, sin sus consejos y enseñanzas no hubiera sido posible dar el siguiente paso en mi formación académica, de algo sirvieron los cinco años trabajando en su equipo de trabajo, al final no odie a las zooxantelas aunque ya no seguí trabajando con ellas.

Por último pero no menos importante a mis compañeros del aula 6, por todos los momentos compartidos durante estos dos años y los ánimos cuando uno quería tirar la toalla (días previos a los seminarios). Millo, Cristina, Marcelino, Isabel, Amaru, Juan David, Rosita, Hisol y Marijo gracias por su amistad y su apoyo en todo momento.

## **DEDICATORIA**

*A mis padres, gracias por su apoyo, amor incondicional y por cuidar cada uno de mis pasos*

*A la familia Puerta Soriano, en especial al nuevo integrante, Santiago Hiram que ha sido mi motor para continuar*

*A Julio, por ser el guardián de mis sueños, sigamos compartiéndolos y haciéndolos realidad*

## ÍNDICE GENERAL

LISTA DE TABLAS.....	i
LISTA DE FIGURAS.....	iii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	v
GLOSARIO.....	vii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	13
ANTECEDENTES.....	17
Toxicidad del oxígeno.....	17
Antioxidantes.....	18
Estrés oxidativo en macroinvertebrados marinos.....	19
Abanicos de mar del Golfo de California.....	21
JUSTIFICACIÓN.....	25
HIPÓTESIS.....	25
OBJETIVO GENERAL.....	27
Objetivos específicos.....	27
ÁREA DE ESTUDIO.....	29
MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
Colección de abanicos de mar y registro de condiciones ambientales.....	33
Remoción de pólipos.....	34
Indicadores de estrés oxidativo.....	34
Superóxido dismutasa (EC 1.15.1.1).....	34
Glutación peroxidasa (EC 1.11.1.9).....	35
Glutación total.....	35
Peroxidación de lípidos.....	35
Proteínas totales.....	36
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	37
RESULTADOS.....	39
Condiciones ambientales: Temperatura y salinidad.....	39



Indicadores de estrés oxidativo.....	42
Superóxido dismutasa (SOD).....	42
Glutación Peroxidasa (GPx).....	43
Glutación total (GSH-Eq).....	44
Peroxidación de lípidos (TBARS).....	45
Modelos lineales generalizados (GLM).....	46
<i>Leptogorgia rigida</i> .....	46
<i>Muricea austera</i> .....	49
<i>Muricea fruticosa</i> .....	51
DISCUSIÓN.....	53
Indicadores de estrés oxidativo.....	53
Relación espacio-temporal de los indicadores de estrés oxidativo en función de las variables ambientales.....	59
CONCLUSIONES.....	65
BIBLIOGRAFÍA.....	67
ANEXOS.....	79



## LISTA DE TABLAS

**Tabla 1.** Registros de profundidad (P), temperatura (T) y salinidad (S) promedio en las localidades de colecta (Los Islotes, Punta Lobos y San Rafaelito) de tres especies de abanicos de mar *Leptogorgia rigida*, *Muricea austera* y *Muricea fruticosa* durante septiembre 2013, marzo y mayo 2014, de acuerdo a su ámbito de distribución vertical.

**Tabla 2.** Modelos mínimos ajustados para los indicadores de estrés oxidativo de *Leptogorgia rigida* de la Bahía de La Paz. T= Temperatura, P= Profundidad, GPx= Glutación peroxidasa, SOD= Superóxido dismutasa, TBARS= peroxidación de lípidos.

**Tabla 3.** Coeficientes (a y b) de los Modelos Lineales Generalizados (GLM) para las variables dependientes, actividad de glutación peroxidasa (GPx), actividad de superóxido dismutasa (SOD) y niveles de peroxidación de lípidos (TBARS) con una distribución del error gamma (función de enlace inversa) para la especie *Leptogorgia rigida*. May= mayo 2014, Sep= septiembre 2013, GPx= Glutación peroxidasa.

**Tabla 4.** Modelos mínimos ajustados para los indicadores de estrés oxidativo en *Muricea austera* de la Bahía de La Paz. S= Salinidad, T= Temperatura, GPx= Glutación peroxidasa, SOD= Superóxido dismutasa, TBARS= peroxidación de lípidos.

**Tabla 5.** Tabla 5. Coeficientes (a y b) de los modelos lineales generalizados (GLM) para las variables dependientes, actividad de glutatión peroxidasa (GPx), actividad de superóxido dismutasa (SOD) y concentraciones de peroxidación de lípidos (TBARS) con una distribución de error gamma (función de enlace inversa) para *Muricea austera*. May= mayo 2014, Sept= septiembre 2013, PL= Punta Lobos, SR=San Rafaelito, SOD= Superóxido dismutasa.

**Tabla 6.** Modelos mínimos ajustados para cada uno de los indicadores de estrés oxidativo para *Muricea fruticosa* de la Bahía de La Paz. P= Profundidad, S= Salinidad, T= Temperatura, LI= Los Islotes, PL= Punta Lobos, SR= San Rafaelito.

**Tabla 7.** Coeficientes (a y b) del modelo lineales generalizados (GLM) para la variable dependiente actividad de superóxido dismutasa (SOD) con una distribución del error gamma (función de enlace inversa) para *Muricea fruticosa*. May= mayo 2014, Sep= septiembre 2013, PL=Punta Lobos, SR= San Rafaelito.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Distribución y abundancia de *Leptogorgia rigida*, *Muricea austera* y *Muricea fruticosa* en el Golfo de California estimada a partir de censos ecológicos por transectos lineales (Gamero-Huayhua, 2014). Fotos © Carlos Sánchez.

**Figura 2.** Localización de los sitios de muestreo (círculo rojo) para las tres especies de abanicos de mar en la Bahía de La Paz. (Los Islotes, Punta Lobos y San Rafaelito). Se muestran las isobatas de 30, 100 y 200 m ([http://topex.ucsd.edu/cgi-bin/get\\_data.cgi](http://topex.ucsd.edu/cgi-bin/get_data.cgi)).

**Figura 3.** Perfiles verticales de temperatura en Los Islotes (LI, línea gris), Punta Lobos (PL, negra) y San Rafaelito (SR, negra punteada) localidades de colecta de tres especies de abanicos de mar *Leptogorgia rigida*, *Muricea austera* y *Muricea fruticosa*, durante (a) septiembre 2013, (b) marzo y (c) mayo 2014.

**Figura 4.** Actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) en tres especies de abanicos de mar *Leptogorgia rigida*, *Muricea austera* y *Muricea fruticosa* recolectadas en Los Islotes (LI), Punta Lobos (PL) y San Rafaelito (SR) en septiembre 2013, marzo y mayo 2014. Los datos se presentan como la mediana y percentiles (25%, 75%). Los subíndices representan las diferencias intraespecíficas entre temporadas ( $p < 0.05$ ).

**Figura 5.** Actividad de la enzima glutatión peroxidasa (GPx) en tres especies de abanicos de mar *Leptogorgia rigida*, *Muricea austera* y *Muricea fruticosa* recolectadas en Los Islotes (LI), Punta Lobos (PL) y San Rafaelito (SR) en septiembre 2013, marzo y mayo 2014. Los datos se presentan como la mediana y percentiles (25%, 75%). Los subíndices representan las diferencias intraespecíficas entre localidades (A, B) y temporadas (a, b) ( $p < 0.05$ ).

**Figura 6.** Variación de las concentraciones de peroxidación de lípidos (TBARS) en tres especies de abanicos de mar *Leptogorgia rigida*, *Muricea austera* y *Muricea fruticosa* recolectadas en Los Islotes (LI), Punta Lobos (PL) y San Rafaelito (SR) en septiembre 2013, marzo y mayo 2014. Los datos se presentan como la mediana y percentiles (25%, 75%). Los subíndices representan las diferencias intraespecíficas entre localidades ( $\alpha$ ,  $\beta$ ) y temporadas (a, b), y diferencias interespecíficas (A, B) ( $p < 0.05$ ).



## LISTA DE ABREVIATURAS

**AGC:** Agua del Golfo de California

**AsSsT:** Agua Subsuperficial Subtropical

**cGPX:** Glutación peroxidasa clásica o citosólica

**CCA:** Análisis de Correspondencias Canónicas

**CTD:** Sensor de temperatura, profundidad y profundidad

**DTNB:** 5,5 v-ditiobis 2-ácido nitrobenzoico

**EDTA:** Ácido tetra acético de etilendiamina

**ERO:** Especies reactivas de oxígeno

**GLM:** Modelos lineales generalizados

**GPx:** Glutación peroxidasa

**GPx-GI:** Glutación peroxidasa gastrointestinal

**GR:** Glutación reductasa

**GSH:** Glutación reducido

**GSH-Eq:** Glutación total

**GST:** Glutación S-transferasa

**GSSG:** Glutación oxidado

**H<sub>2</sub>O:** Agua

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Peróxido de hidrógeno

**HPLC:** Cromatografía líquida de alta resolución

**HSC70:** Cognado de choque térmico (70)

**HSP70:** Proteína de choque térmico (70)

**KW:** Prueba de Kruskal-Wallis

**MDA:** Malondialdehído

**MAAs:** Aminoácidos tipo micosporina

**mM:** mili molar

**NADPH:** Dinucleótido de nicotinamina y adenina fosforilado reducido

**NBT:** Nitroazul de tetrazolio

**O:** Oxígeno atómico

**O<sub>2</sub>:** Oxígeno

**O<sub>2</sub><sup>·-</sup>:** Radical superóxido

**<sup>1</sup>O<sub>2</sub>:** Oxígeno singulete

**O<sub>3</sub>:** Ozono

**<sup>·</sup>OH:** Radical hidroxilo

**PHGPx:** Glutación peroxidasa de fosfolípidos

**pGPx:** Glutación peroxidasa plasmática

**PMSF:** Fenil-metil-sulfonil fluoruro

**SOD:** Superóxido dismutasa

**TBA:** Ácido tiobarbitúrico

**TBARS:** Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico

**TCA:** Ácido tricloroacético

**TEP:** 1, 1, 3,3-tetratoxipropano

**U:** Unidad de actividad enzimática

**UV:** Ultravioleta



## GLOSARIO

**Antioxidante:** Cualquier molécula o sustancia en concentraciones menores que aquellas del sustrato oxidable que remueve los radicales y que tiene el efecto de retrasar, prevenir o eliminar el daño oxidativo de una especie reactiva (Halliwell & Gutteridge, 2007; Forman *et al.*, 2015).

**Azooxantelado:** Término utilizada para referirse a organismos que no se encuentran en simbiosis con el dinoflagelado *Symbodinium* y obtienen su alimento del medio (Fabricius & Alderslade, 2001).

**Daño oxidativo:** Daño a nivel molecular que puede ser ocasionado por las especies reactivas sobre los componentes celulares durante el proceso de estrés oxidativo (Halliwell & Whiteman, 2004)

**Devianza residual:** Criterio de bondad de ajuste estadístico utilizado para evaluar la contribución de cada una de las variables predictoras durante el proceso de selección y ajuste del modelo lineal generalizado (Zuur *et al.*, 2009; Celis de la Rosa & Labrada-Martagón, 2014).

**Enzima:** Proteína catalizadora con dos funciones principales, 1) acelerar y 2) regular las reacciones químicas específicas. Las enzimas tienen sustratos y productos, que pueden ser dos o más dependiendo de su función metabólica (Hill *et al.*, 2012).

**Escleractinios:** Organismos bentónicos con pólipos solitarios o coloniales pertenecientes al filo Cnidaria, clase Anthozoa, subclase Hexacorallia, orden Scleractinia, conocidos como corales pétreos o duros. Estos forman estructuras calcáreas y la mayoría de las especies tienen simbiosis con dinoflagelados del género *Symbodinium* (Ruppert & Barnes, 1996)

**Especies reactivas de oxígeno (ERO):** Especies químicas del oxígeno que son más reactivas que el oxígeno en su estado basal de energía. Se consideran ERO al oxígeno atómico (O) y al ozono (O<sub>3</sub>) que se genera con la unión del O al O<sub>2</sub>, al oxígeno singulete (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) que se produce con la excitación de uno de los electrones

no pareados del O<sub>2</sub> así como al radical superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), al peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y al radical hidroxilo (•OH) (Hansberg-Torres, 2008).

**Estrés oxidativo:** Perturbación en el balance entre prooxidantes y antioxidantes, a favor de los primeros de tal manera que ocasionan un daño oxidativo a los componentes celulares (Sies, 1985,1986; Halliwell & Whiteman, 2004).

**Indicadores de estrés oxidativo:** Indicadores que permiten evaluar el efecto de la disrupción del balance entre prooxidantes y antioxidantes (Halliwell & Gutteridge, 2007).

**Octocorales:** Organismos bentónicos del filo Cnidaria, clase Anthozoa y subclase Octocorallia. En su mayoría forman colonias de pólipos y cada pólipo se caracteriza por tener ocho tentáculos pinnados y ocho septos mesentéricos, con la cavidad gastrovascular dividida en ocho cámaras y separadas por ocho tabiques o sarcoseptos. Esta subclase comprende los corales conocidos como plumas de mar, coral azul, corales blandos y abanicos de mar o gorgonias (McFadden *et al.*, 2010)

**Prooxidante:** Agente reductor que convierte moléculas como el oxígeno a un radical libre o un ion de algún metal de transición a un estado más bajo de oxidación (Halliwell & Poulsen 2006; Konigsberg-Fainstein, 2008)

**Radical libre:** Átomo o grupo de átomos que contienen un electrón no pareado dentro de su estructura (Miranda, 2008).

**Zooxantelado:** Término utilizada para referirse a organismos que se encuentran en simbiosis con el dinoflagelado *Symbodinium* y que utilizan el procesos de la fotosíntesis para obtener sus necesidades energéticas, así como la ingesta de alimento del medio (Fabricius & Alderslade, 2001).

## RESUMEN

Los eventos de lesiones fungales y blanqueamiento en abanicos de mar zooxantelados se han asociado con los incrementos de la temperatura promedio del mar. Sin embargo, aún se desconocen los efectos fisiológicos de la variación estacional de la temperatura en los abanicos de mar azooxantelados. Se evaluó la variación estacional de los indicadores de estrés oxidativo en colonias de tres especies de abanicos de mar con distinta distribución vertical (*Leptogorgia rigida* < 5 m, *Muricea austera* 5-20 m y *Muricea fruticosa* >20 m) recolectadas en Los Islotes, Punta Lobos y San Rafaelito en la Bahía de La Paz durante septiembre 2013, marzo y mayo 2014. Se analizaron las concentraciones totales del glutatión (GSH-Eq), la actividad de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx) y las concentraciones de peroxidación de lípidos (TBARS) mediante espectrofotometría. La concentración de GSH-Eq en las tres especies de abanicos de mar estuvo por debajo del nivel de detección del método espectrofotométrico. Se observaron diferencias intraespecíficas temporal y espacialmente en la actividad de SOD y GPx para las tres especies de abanicos de mar. Durante la temporada cálida (septiembre 2013) la actividad de SOD fue menor, mientras que la actividad de GPx fue mayor en *L. rigida* en San Rafaelito y en *M. austera* en Punta Lobos. En la época fría (marzo 2014) se observó una mayor actividad de SOD en Punta Lobos para las tres especies. Durante la temporada de transición fría-cálida (mayo 2014) se observó mayor actividad de SOD y GPx para las especies del género *Muricea*. Las concentraciones de TBARS presentaron variación interespecífica, siendo mayores en *M. austera* durante la temporada de marzo 2014 en San Rafaelito. Se concluye que la mayor actividad de SOD y GPx que se registró durante marzo y mayo 2014 posiblemente esté asociada a una mayor disponibilidad de alimento e incremento de la temperatura. No se observaron diferencias interespecíficas en los indicadores estrés oxidativo a lo largo del perfil batimétrico y en las localidades muestreadas; ello sugiere que las especies analizadas responden de manera similar a los cambios estacionales de temperatura y salinidad en un ambiente costero caracterizado por encontrarse completamente mezclado.



## ABSTRACT

The massive bleaching events of hermatypic corals and fungal lesions in symbiotic sea fans have been associated with increasing sea surface temperature. The physiological effects of seasonal changes in temperature are poorly understood for non-symbiotic sea fans that are a frequent and abundant taxonomic group at rocky reefs of La Paz Bay, Baja California Sur, Mexico. The oxidative stress biomarkers of three sea fan species with distinct bathymetric distribution (*Leptogorgia rigida* < 5 m, *Muricea austera* 5-20 m, and *Muricea fruticosa* > 20 m) sampled in Los Islotes, Punta Lobos, and San Rafaelito during September 2013, March and May 2014 in La Paz Bay, Baja California Sur, Mexico were evaluated to understand the seasonal variability. Sea fans total glutathione concentration (GSH-Eq), activity of antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx), and lipid peroxidation levels (TBARS) were measured using spectrophotometric assays. GSH-Eq concentrations of the three octocoral species were below detection threshold of the spectrophotometric method. The three species of sea fans showed intraspecific temporal and spatial variability of the oxidative stress indicators. The SOD activity was lower, although GPx activity was higher in *L. rigida* in San Rafaelito and in *M. austera* in Punta Lobos during the warm season (September 2013) than in other locations and seasons. The cold season (March 2014) was characterized by higher activity of SOD in Punta Lobos for the three sea fan species, while in the other sites the enzymatic activity had low variability. The cold-to-warm transitional season (May, 2014) was characterized by higher activity of SOD and GPx for the two species of *Muricea*. TBARS concentrations were higher in March 2014 in San Rafaelito suggesting differences among the three species. It is concluded that the higher activity of SOD and GPx recorded in May 2014 was likely associated with the increased food availability and temperature which enhance metabolic activity. The interspecific seasonal and spatial variability of the oxidative stress biomarkers was similar, given that these species inhabiting in an environment characterized by well-mixed water column.



## INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas se han presentado eventos de blanqueamiento masivo en especies de cnidarios zooxantelados, es decir, que se encuentran en simbiosis con dinoflagelados del género *Symbiodinium*. Tal es el caso de los cnidarios hexacorales como corales pétreos (escleractinios), anemonas (actinarios) y los octocorales como corales blandos y abanicos de mar. Estos eventos de blanqueamiento han sido asociados con el incremento en la temperatura media del agua de mar en latitudes tropicales y subtropicales a distintas escalas espaciales y temporales (Glynn, 1991, 2001; Wilkinson, 2000, 2002; Downs *et al.*, 2002; Douglas, 2003). En abanicos de mar estas variaciones térmicas pueden incrementar la vulnerabilidad a lesiones ocasionadas por la infección de organismos patógenos (Harvell *et al.*, 2001; Mydlarz *et al.*, 2008; Toledo-Hernández *et al.*, 2012). En corales pétreos las variaciones térmicas estimulan la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO). Un aumento en la producción de ERO puede inducir al estrés oxidativo, es decir, el desbalance entre la producción de ERO y las defensas antioxidantes, en el organismo (Lesser 2004). El estrés oxidativo puede afectar o inclusive inducir la pérdida total de la simbiosis entre el cnidario y el simbiote, provocando el fenómeno conocido como “blanqueamiento” (Douglas, 2003).

Los indicadores de estrés oxidativo permiten inferir si los organismos se encuentran en condiciones ambientales favorables o desfavorables y evaluar temporalmente su respuesta fisiológica cuando son expuestos a condiciones ambientales cambiantes (temperatura, luz, salinidad, etc.) cambiantes (Downs *et al.*, 2000; Lesser, 2006). La información de la respuesta fisiológica permite deducir la integridad celular (salud) bajo condiciones ambientales contrastantes (Downs *et al.*, 2000). En organismos bentónicos marinos se ha investigado el efecto de la variación espacial y temporal de la temperatura durante las últimas décadas debido a que éstas afectan múltiples procesos fisiológicos como la reproducción, tolerancia térmica, tasa metabólica, entre otros (Pörtner, 2002).

En los arrecifes rocosos del Pacífico mexicano y el Golfo de California habita una elevada diversidad de macroinvertebrados. A pesar de que los corales abanicos de mar (familias Gorgoniidae y Plexauridae) son un grupo numéricamente dominante, la mayoría del conocimiento generado es de índole taxonómico y pocos ecológicos, mientras que los estudios biológicos (ej. reproducción, alimentación y fisiología) son nulos. Los abanicos de mar tienen una relevante función ecológica como formadores de microhábitats de refugio y alimentación para pequeñas especies de crustáceos, equinodermos, esponjas y moluscos. También son hábitats críticos para el reclutamiento de larvas y juveniles de peces y macroinvertebrados (Aburto-Oropeza, 2007; Aburto-Oropeza *et al.*, 2008). En monitoreos ecológicos de macroinvertebrados de arrecifes rocosos del Golfo de California, los abanicos de mar representan el 23% de diversidad de especies y el 26% de la abundancia. Los géneros más frecuentes, diversos y abundantes son *Pacifigorgia* (34 especies), *Leptogorgia* (32 especies) y *Muricea* (25 especies) (Sánchez-Ortíz, 2004a, b; Hernández-González, 2014).

La distribución biogeográfica de los arrecifes coralinos (scleractinios) comprende las zonas tropicales, donde las condiciones son propicias para su desarrollo (Buddemeier *et al.*, 2004). La mayor diversidad y abundancia de especies de scleractinios ocurre en la región del Indo-Pacífico y con menor magnitud en el Atlántico, donde el mar Caribe es la región más diversa y abundantes (Veron, 1995). Sin embargo, los abanicos de mar no comparten esta distribución biogeográfica restringida latitudinal ni vertical debido a que éstos se distribuyen desde el Ártico hasta el Antártico habitando desde la zona intermareal hasta estratos abisales (Alderslade, 1984). Los abanicos de mar del Caribe y la Gran Barrera de Arrecifes (Australia) presentan simbiosis con el dinoflagelado *Symbodinium*, mientras que los que se encuentran en el Pacífico Oriental (incluyendo México) son azooxantelados (van Oppen *et al.*, 2005). La condición de no tener zooxantelas podría representar una adaptación al ambiente imperante en el Pacífico Oriental y a lo largo del estrato batimétrico.



Existen cuatro reportes acerca del efecto de las variaciones térmicas a distinta escala de tiempo (ej. escala estacional) en los procesos fisiológicos de los abanicos de mar azooxantelados (Mydlarz & Jacobs, 2006; Torrents *et al.*, 2008; Preati *et al.*, 2010; Teixeira *et al.*, 2013). En el presente estudio se evaluaron los indicadores de estrés oxidativo (peroxidación de lípidos (TBARS), actividad de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx), así como la concentración total del glutatión (GSH-Eq)) en tres especies de abanicos de mar que habitan distintos estratos de profundidad en la región litoral de la Bahía de La Paz y que presumiblemente se encuentran bajo distintas condiciones térmicas a lo largo del año. Esta información permitirá deducir las respuestas ecofisiológicas de los abanicos de mar en la Bahía de La Paz ante cambios asociados a las variaciones climáticas estacionales que posiblemente puedan ser re-interpretadas a otras escalas de tiempo y espacio.



## ANTECEDENTES

### Toxicidad del oxígeno

El incremento de la concentración de oxígeno en la atmósfera durante períodos geológicos ha modificado la diversidad y estructura de las comunidades en los hábitats terrestres y marinos. Durante estos periodos los organismos evolucionaron distintas rutas metabólicas y respuestas a variaciones en la concentración de oxígeno en el ambiente (Lesser, 2004). El oxígeno se ha considerado como una molécula inocua ya que comprende aproximadamente el 21% de los gases presente en la atmósfera, siendo el segundo elemento más abundante después del nitrógeno (78%). El océano contiene aproximadamente 34% de oxígeno disuelto debido a que es más soluble en el agua que el nitrógeno. Su solubilidad depende de la temperatura. En general, a mayor temperatura menor solubilidad del oxígeno y viceversa (Lesser, 2011). En las células, el oxígeno participa en la cadena de transporte de electrones que ocurre en las mitocondrias haciendo de éste un elemento vital en organismos aeróbicos (Halliwell, 2006). A pesar de las altas concentraciones de oxígeno en la atmósfera y el océano, así como su baja reactividad en condiciones ambientales, el oxígeno es un elemento tóxico para los organismos con metabolismo aerobio (Hansberg-Torres, 2008).

La toxicidad del oxígeno radica en su contribución a la formación de las especies reactivas de oxígeno (ERO), moléculas más reactivas que el oxígeno en su estado basal de energía (Hansberg-Torres, 2008). Las ERO pueden ser generadas por una amplia variedad de sistemas químicos y biológicos (Halliwell, 2005). El radical superóxido ( $O_2^{\bullet -}$ ), el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y el radical hidroxilo ( $\bullet OH$ ) son algunas de las ERO que pueden tener efectos nocivos en los organismos aeróbicos. Estas ERO pueden afectar la estructura y la función de los lípidos, proteínas y nucleótidos (Lesser, 1996, 2004). Sies (1985, 1986) definió al estrés oxidativo como una perturbación en el balance entre prooxidantes y antioxidantes, a favor de los primeros, de tal manera que se puede ocasionar un daño oxidativo (Halliwell & Whiteman, 2004). Los concentraciones y efectos de las

ERO son controlados por una compleja cadena de defensas antioxidantes, las cuales contribuyen a evitar o minimizar el daño oxidativo a las moléculas (Halliwell, 2005; Lesser, 2006).

### **Antioxidantes**

Los antioxidantes son sustancias o moléculas que aún en concentraciones más bajas que el sustrato metabolizan las ERO y tienen el efecto de retrasar, prevenir o eliminar el daño oxidativo de una molécula en específico (Halliwell & Gutteridge, 2007; Forman *et al.*, 2015). Aunque la clasificación de los antioxidantes depende de los marcos de referencia que se tomen en cuenta (Boveris *et al.*, 2008), una de las formas más generales de categorizar a los antioxidantes es en antioxidantes no enzimáticos y antioxidantes enzimáticos.

**Antioxidantes no enzimáticos.** Los mecanismos antioxidantes no enzimáticos incluyen compuestos de bajo peso molecular que son adquiridos a través de la alimentación o de una fuente endógena. Entre ellos se encuentran el ácido ascórbico o vitamina C, glutatión reducido (GSH), carotenoides y  $\alpha$ -tocoferol. Estos antioxidantes funcionan como fuentes reductoras de las ERO y contribuyen a metabolizar algunos radicales libres (Halliwell & Gutteridge, 2007). Por ejemplo, el GSH es un tripéptido que actúa como cosustrato para la glutatión S-transferasa (GST) y como donador de electrones para la glutatión peroxidasa (GPx); estas enzimas participan en la cadena de reacciones de detoxificación de las ERO (Asada & Takahashi, 1987; Halliwell & Gutteridge, 2007; Halliwell, 2006; Lesser, 2006).

**Antioxidantes enzimáticos.** Algunas de las enzimas que tienen función antioxidante incluyen la catalasa, la superóxido dismutasa (SOD), la glutatión reductasa (GR), GPx, GST, glutaredoxina, trioredoxina y trioredoxina reductasa (Hermes-Lima & Zenteno-Savín, 2002). La SOD cataliza la dismutación del  $O_2^{\cdot-}$  a  $H_2O_2$ , el cual a su vez es convertido a  $H_2O$  por la catalasa o el GPx (Halliwell, 2006; Gómez-Quiroz & Cuevas-Bahena, 2008). Existen cuatro formas de SOD, con diferente estructura y organización dentro la célula; la diferencia más relevante

entre estas cuatro moléculas es el tipo de enlace metálico, cobre y zinc (Cu, Zn-SOD), manganeso (Mn-SOD) y hierro (Fe-SOD) (Hermes-Lima, 2004). La enzima GPx es una selenoproteína ampliamente presente en los tejidos animales, que requiere de GSH para reducir el  $H_2O_2$  en  $H_2O$  y oxidar el GSH a glutatión oxidado (GSSG), esta reacción ocurre simultáneamente (Hermes-Lima, 2004; Konigsberg, 2008). La GPx se ha detectado en tejido de mamíferos en cuatro formas: GPx clásica o citosólica (cGPx), GPx gastrointestinal (GPx-GI), GPx plasmática (pGPx) y GPx de fosfolípidos (PHGPx) (Cárdenas *et al.*, 2008). La actividad de GPx y GST es requerida para prevenir daños a células expuestas a factores ambientales y biológicos desfavorables que inducen al estrés oxidativo (Asada & Takahashi, 1987; Halliwell & Gutteridge, 2007; Lesser, 2006).

Los organismos marinos, además de su distribución biogeográfica y las adaptaciones morfológicas y fisiológicas resultantes de su distribución biogeográfica y filogenia, se encuentran expuestos a una gran variedad de factores ambientales que varían a distintas escalas espaciales y temporales. Estas variaciones pueden influir en la capacidad de adaptación de los organismos mediante efectos en diversas rutas metabólicas, algunas de las cuales pueden afectar la producción de ERO y/o la respuesta antioxidante (Lesser, 2005).

### **Estrés oxidativo en macroinvertebrados marinos**

En invertebrados marinos la producción de ERO se lleva a cabo mediante múltiples mecanismos que involucran estrategias de defensa y respuesta a la variación de las condiciones ambientales. En moluscos bivalvos la producción de ERO aumenta en respuesta a la exposición a xenobióticos, algunos contaminantes y cambios en la temperatura ambiental (Mitchelmore *et al.*, 1998; Abele *et al.*, 2002). Las esponjas experimentan condiciones de hiperoxia, esto es, exposición a altas concentraciones de oxígeno, derivadas de la fotosíntesis de las cianobacterias con las cuales tienen una relación simbiótica (Lesser, 2006). Los corales pétreos que están en simbiosis con el dinoflagelado *Symbodinium* también experimentan el procesos de hiperoxia (Lesser, 2006). Las anemonas y corales pétreos presentan una mayor capacidad antioxidante cuando habitan aguas

someras, posiblemente como una respuesta adaptativa asociada a los cambios temporales de la temperatura y luz a los que están expuestos (Middlebrook *et al.*, 2008).

La producción de amebocitos y peroxidasas forman parte del sistema inmune de los abanicos de mar ante la infección por agentes patógenos (Couch *et al.*, 2008; Mydlarz & Harvell, 2007; Reed *et al.*, 2010). La variación estacional o interanual de la temperatura del agua de mar se ha asociado a una mayor susceptibilidad a enfermedades en abanicos de mar, especialmente lesiones provocadas por el hongo *Aspergillus sydowii* (Harvell *et al.*, 2001; Mydlarz *et al.*, 2008; Toledo–Hernández *et al.*, 2012). Los estudios relacionados con la infección por microorganismos patógenos en abanicos de mar contribuyen al conocimiento de la respuesta metabólica de estos organismos ante potenciales incrementos de la temperatura media del agua de mar asociados a la variabilidad climática. Por ejemplo, *Gorgonia ventalina* muestra inflamación localizada e incremento en la concentración de amebocitos en respuesta a la infección por patógenos cuando están expuestas a condiciones térmicas estresantes (>31.5°C) (Mydlarz *et al.*, 2008). La presencia de amebocitos en zonas de lesiones de la colonia y la posterior actividad fagocítica resulta en una respuesta inflamatoria, que es parte del sistema de defensa de estos invertebrados coloniales (Ellner *et al.*, 2007; Olano & Bigger, 2000). Esto puede comprometer la sobrevivencia de organismos infectados durante eventos climáticos estresantes (Mydlarz *et al.*, 2008). El aumento en la actividad de las peroxidasas y el consecuente estímulo en la producción de ERO es una de las primeras respuestas de los abanicos de mar a infecciones por hongos patógenos, como *Aspergillus sydowii* (Mydlarz & Harvell, 2007).

Al igual que los scleractinios, los abanicos de mar zooxantelados también están expuestos al fenómeno de blanqueamiento, causados por incrementos anómalos de temperatura, debido a la susceptibilidad de los clados simbioses y a la presencia de ciertos patógenos oportunistas (Fabricius, 1999, Harvell *et al.*, 2001; Goulet *et al.*, 2008). Sin embargo, a diferencia de los scleractinios, aún no

se ha relacionado estos eventos en octocorales con el estrés oxidativo como precursor del blanqueamiento.

El abanico de mar azooxantelado *Leptogorgia chilensis* tiende a producir ERO cuando es expuesto a lesiones físicas que aumentan la vulnerabilidad a una posterior infección por patógenos (Mydlarz & Jacobs, 2006). En colonias someras (~10-12 m) del coral rojo *Corallium rubrum* del Mediterráneo expuestas a condiciones de estrés térmico (exposición larga a 24°C y exposición corta a 25°C) registraron desarrollo retardado de necrosis de la conoenucima, alta actividad de los pólipos y altas tasas de calcificación en comparación con colonias de aguas profundas (>40 m) bajo los mismos tratamientos, estos resultados sugieren que las colonias más someras muestran una mayor termotolerancia que las que se encuentran en aguas más profundas (Torrents et al., 2008). En colonias de octocorales azooxantelados de *Paramuricea clavata*, *Eunicella cavolinii* y *Corallium rubrum* se observó que al incrementarse la temperatura de 18°C a 20°C el consumo de oxígeno y la actividad de los pólipos aumenta; sin embargo, conforme la temperatura sigue aumentando (25°C) el consumo de oxígeno y actividad de los pólipos disminuye sugiriendo una reducción del metabolismo a mayor temperatura (Previati et al., 2010). En la pluma de mar no simbiótica *Veretillum cynomorium* de la zona intermareal de Portugal, se detectó mayor actividad de las enzimas GST y catalasa, así como la presencia de proteínas de choque térmico HSC70/HSP70, como indicadores de preparación metabólica a eventos de emersión e inmersión a los cuales está expuesta esta especie de manera natural en la zona intermareal (Teixeira et al., 2013). Este último estudio es el único reporte conocido hasta ahora sobre el uso de indicadores de estrés oxidativo en abanicos de mar azooxantelados bajo condiciones de hipoxia/hiperoxia.

### **Abanicos de mar del Golfo de California.**

El programa de investigación para la conservación de la fauna arrecifal (PFA- UABCS) en coordinación con la Instituto de Oceanografía Scripps (SIO) de la Universidad de California San Diego (UCSD) y el Centro para la Biodiversidad

Marina y La Conservación A.C. (CMBC) cuentan con una base de datos de monitoreos ecológicos cuantitativos de riqueza, abundancia y tallas de macroinvertebrados y peces (Promonitor) obtenidos desde 1998 a la fecha disponible en Data Mares (<http://datamares.ucsd.edu/eng/projects/promonitor/>). La base de datos de Promonitor contiene información de especies de abanicos de mar que habitan los arrecifes rocosos del Golfo de California.

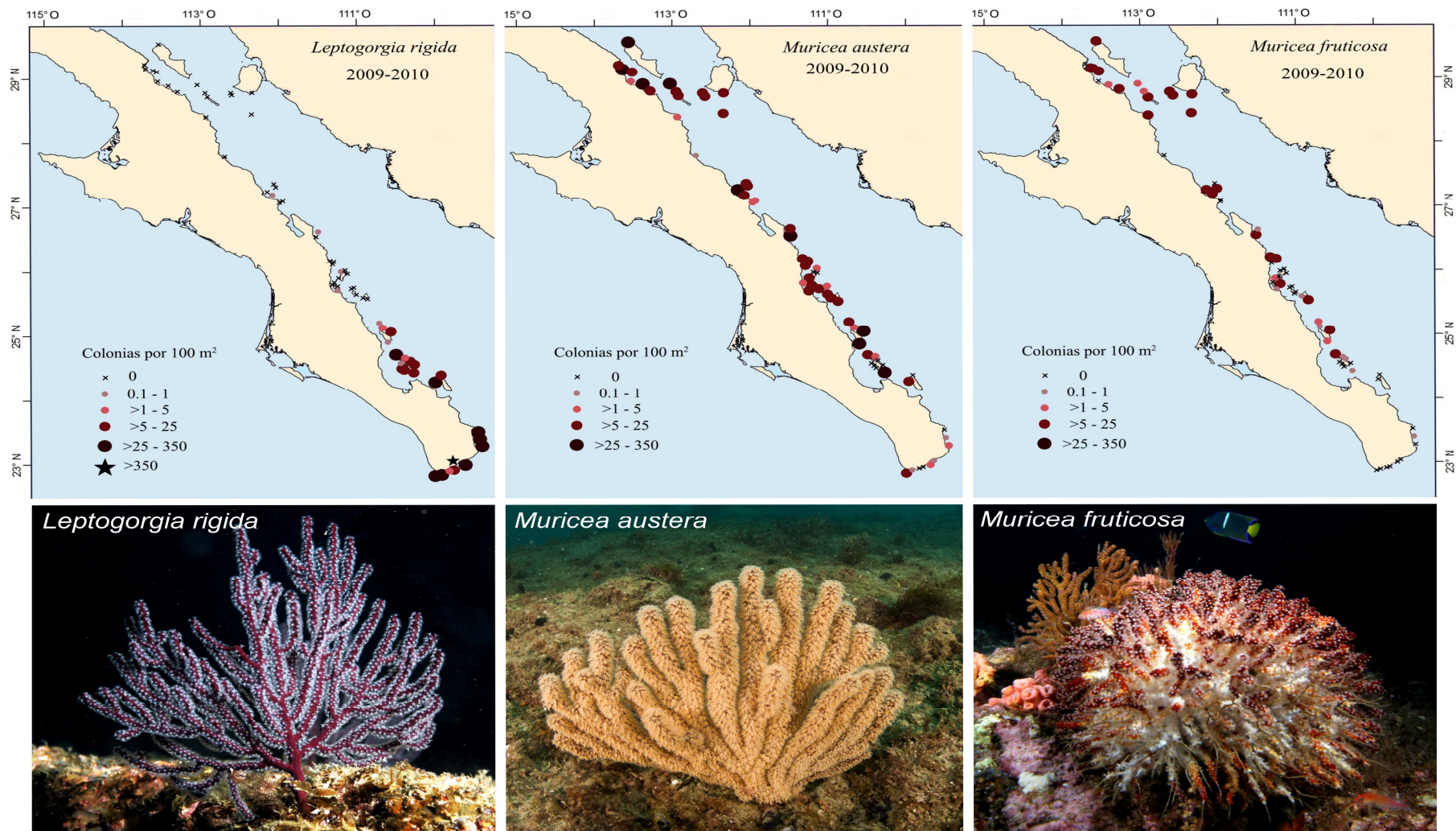
Aún se desconocen muchas de las especies de abanicos de mar que habitan en el Pacífico mexicano, los estudios de taxonomía de estos organismos aún están en proceso de investigación para conocer la diversidad específica de este grupo (Hernández-González, 2014). La identificación específica en algunos especímenes es difícil debido a una elevada diversidad de morfotipos y el poco éxito con el uso de marcadores moleculares (ADN mitocondrial y ADN nuclear ribosomal) que han sido poco resolutivos para la identificación de especies a nivel molecular (Sánchez *et al.*, 2003; Gamero-Huayhua, 2014, Hernández-González, 2014). Lo anterior ha limitado los estudios biológicos y ecológicos de las especies de octocorales en el Golfo de California.

Las especies de abanicos de mar azooxantelados de los arrecifes rocosos de la Bahía de La Paz, presentan un patrón de abundancia y distribución vertical diferencial presumiblemente en respuesta a las condiciones ambientales y oceanográficas, entre las cuales posiblemente la temperatura, la luz, la velocidad y dirección de las corrientes marinas sean las que presenten mayor influencia (Sánchez-Ortiz, 2004a, b). Dentro de las especies de abanicos de mar más abundantes en arrecifes los rocosos en la Bahía de La Paz, *Leptogorgia rigida* tiende a distribuirse y presentar sus mayores densidades en zonas someras (0-5 m), *Muricea austera* en zonas intermedias (1-25 m) y *Muricea fruticosa* tiende a predominar en regiones de relativamente mayor profundidad (20-50 m) (Sánchez-Ortiz, 2004a, b; 2010).

*L. rigida* es una especie de afinidad biogeográfica tropical que tiende a distribuirse en aguas superficiales cálidas, registrándose en su límite biogeográfico norte hasta el centro del Golfo de California y con mayores densidades poblacionales en



la región suroeste del Golfo. *M. austera* y *M. fruticosa* son especies de afinidad subtropical y su distribución muestra sus mayores densidades en la parte norte y centro del Golfo de California, siendo la frecuencia de aparición de ambas especies ocasional o rara en la región suroeste de la península (Fig. 1) (Gamero-Huayhua, 2014). Cada especie presumiblemente habita bajo distintas condiciones ambientales debido a que tienen intervalos de distribución vertical y biogeográfica distintos; por lo tanto, es posible que estas especies tengan diferente respuesta metabólica ante los cambios estacionales de temperatura.



**Figura 1.** Distribución y abundancia de *Leptogorgia rigida*, *Muricea austera* y *Muricea fruticosa* en el Golfo de California estimada a partir de censos ecológicos por transectos lineales (Gamero-Huayhua, 2014). Fotos © Carlos Sánchez.

## JUSTIFICACIÓN

Los abanicos de mar son uno de los grupos de macroinvertebrados bentónicos de arrecifes rocosos más frecuentes y abundantes en la costa peninsular del Golfo de California. Hasta ahora, la mayor parte de los reportes realizados en abanicos de mar se han enfocado en aspectos de taxonomía, distribución y abundancia; sin embargo, aún se desconocen aspectos ecofisiológicos ante variaciones ambientales en sus hábitats. Las variaciones de temperatura en escala estacional y la influencia de procesos de variabilidad climática en su hábitat pueden representar considerables retos de aclimatización y subsecuentemente adaptación. Es relevante investigar las respuestas ecofisiológicas de los abanicos de mar ante cambios térmicos estacionales que permitan conocer las respuestas intra- e interespecíficas ante distintos escenarios de la variabilidad climática en el Golfo de California.

## HIPÓTESIS

La variación estacional de la temperatura en la zona litoral induce una respuesta interespecífica diferente en abanicos de mar en términos de los indicadores de estrés oxidativo. Esto podría influenciar de manera distinta a tres especies de abanicos de mar (*Leptogorgia rigida* <5 m, *Muricea austera* <25 m, *Muricea fruticosa* 20-50 m) (variabilidad interespecífica) entre localidades y épocas de muestreo (variabilidad intraespecífica). La variación dependerá de su distribución a lo largo del perfil vertical y afinidad biogeográfica en los arrecifes rocosos de la Bahía de La Paz.



## OBJETIVO GENERAL

Evaluar y comparar la variabilidad interespecífica e intraespecífica de los indicadores de estrés oxidativo en tres especies de abanicos de mar (*Leptogorgia rigida*, *Muricea austera* y *Muricea fruticosa*) que presentan distinta distribución batimétrica y afinidad biogeográfica recolectados en tres hábitats costeros de la Bahía de La Paz, Baja California Sur, México durante condiciones térmicas contrastantes a escala estacional (septiembre 2013, marzo y mayo 2014).

### Objetivos específicos

- 1) Cuantificar la actividad de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx) y la concentración total del glutatión (GSH-Eq) en tres especies de abanicos de mar (*L. rigida*, *M. austera*, *M. fruticosa*) con distinta distribución batimétrica y bajo condiciones térmicas contrastantes a escala estacional en tres localidades de la Bahía de La Paz con hábitat rocoso.
- 2) Evaluar el daño oxidativo a lípidos mediante la cuantificación de las concentraciones de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) en tres especies de abanicos de mar (*L. rigida*, *M. austera* y *M. fruticosa*) con distinta distribución batimétrica bajo condiciones térmicas contrastantes a escala estacional.
- 3) Identificar posibles relaciones de los indicadores de estrés oxidativo analizados en las tres especies de abanicos de mar en función de la temperatura, profundidad y salinidad por época de muestreo y localidad en la Bahía de La Paz.



## ÁREA DE ESTUDIO

La Bahía de La Paz es la bahía de mayor dimensión en el Golfo de California y se localiza en la parte sur occidental del Golfo. La Bahía de La Paz se encuentra separada del Golfo de California por una barrera natural formada por tres grandes islas, la Isla Espíritu Santo y la Isla La Partida, fuera de la Bahía se encuentra la Isla San José localizada al noroeste de la Bahía (Obeso-Nieblas *et al.*, 2004). Las aguas del Golfo de California entran en la Bahía principalmente a través de tres canales, la Boca Norte la cual es una comunicación ancha y profunda (~350 m), el Canal de San José estrecho y poco profundo (entre Isla Espíritu Santo y La Partida), y el Canal de San Lorenzo (entre Isla Espíritu Santo y Playa el Tecolote) con corrientes dinámicas y somero (~10 m) (Fig. 2).

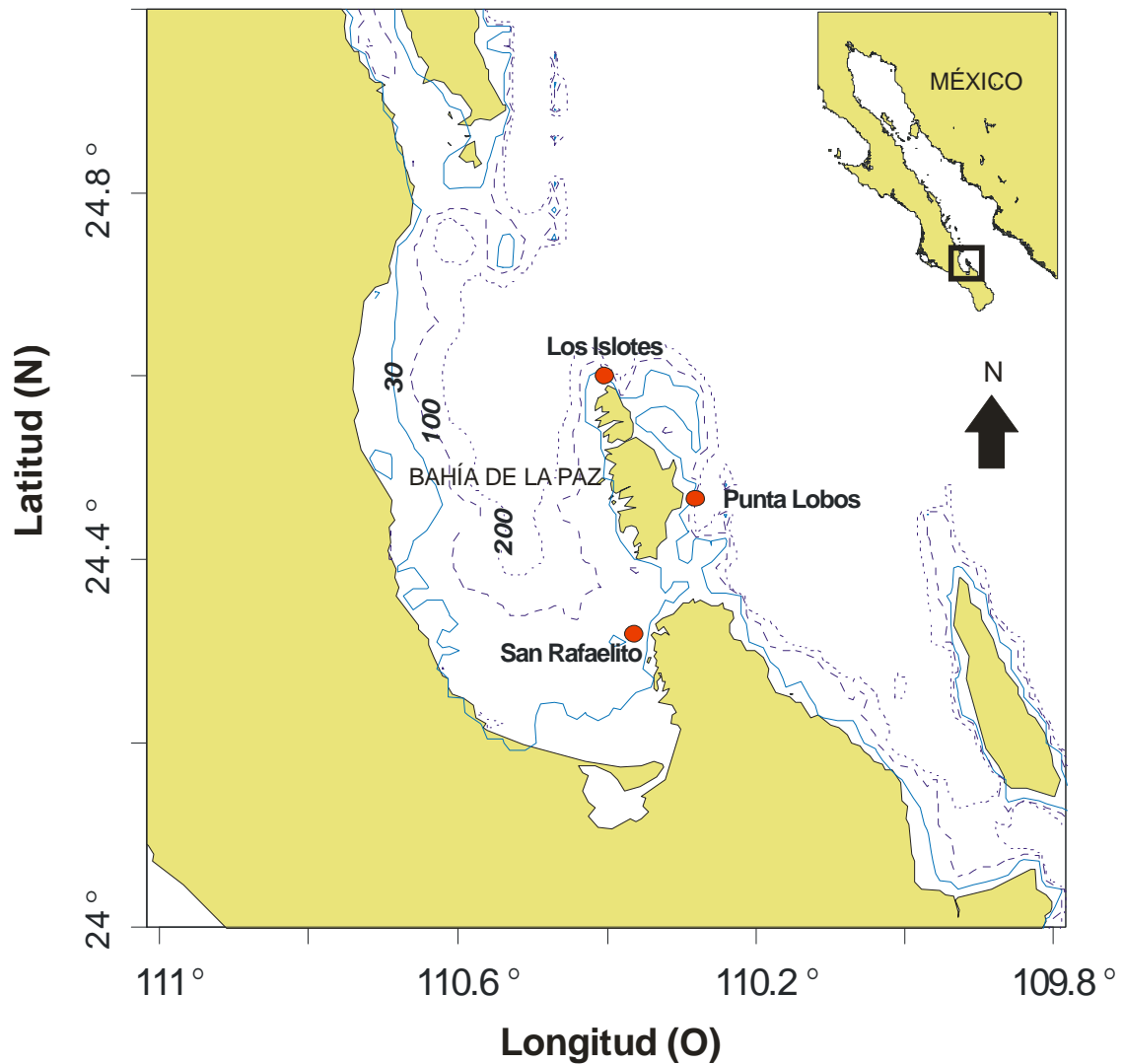
La estacionalidad de las condiciones ambientales del Golfo de California se clasifica en dos épocas con distintas condiciones hidrográficas, una época cálida (julio a octubre) y una época fría (noviembre a mayo) con dos periodos de transición uno frío a cálido en junio y uno de cálido a frío en noviembre (Valdez-Holguín *et al.*, 1999; Hidalgo-González & Álvarez-Borrego 2001). El primer estudio definió el criterio de temperatura superficial del mar  $>24^{\circ}\text{C}$  como indicativo de la época cálida, mientras que la temperatura promedio  $<24^{\circ}\text{C}$  indica las condiciones frías de mezcla intensa y el inicio de los eventos de surgencia en la costa este del Golfo de California.

Durante los meses de noviembre a mayo los vientos provenientes del noroeste soplan por la mañana y después cambian a vientos del sur por la tarde. Durante el resto del año los vientos predominantes son de sureste y del suroeste (Obeso-Nieblas *et al.*, 20014). Las condiciones oceanográficas en la Bahía de La Paz han sido caracterizadas a escala estacional como de estratificación durante el verano (mayo-septiembre) y de mezcla durante otoño-invierno (noviembre-abril) (Jiménez-Illescas *et al.*, 1994). La estratificación de la temperatura y salinidad para

época de primavera y verano dentro y fuera de la Bahía de La Paz se deben a los vientos débiles predominantes y la radiación solar propias de dichas épocas (Guevara-Guillen, 2011). En contraste, durante la época de invierno no se detecta una capa de mezcla definida y se presentan condiciones de estratificación; además se presentan fenómenos de surgencias continentales, así como la presencia de Agua del Golfo de California (AGC) y Agua Subsuperficial Subtropical (AsSsT), durante la época de invierno (Guevara-Guillen, 2011). Las condiciones hidrográficas en la Bahía de La Paz presentan un retraso respecto a las condiciones presentes en el Sur del Golfo de California así como valores altos de productividad en las temporadas de invierno-primavera (época fría y transición) y bajos durante el verano (época cálida) (Reyes-Salinas *et al.*, 2003).

Las características geomorfológicas de la Bahía de La Paz incluyen alternancias entre zonas litorales con playas arenosas con dunas, formaciones rocosas y áreas con mangles, así como planicies costeras reducidas con playas amplias y la formación de la Laguna de La Paz delimitada al norte por una barra arenosa con manglar llamada el Mogote. Los arrecifes que se presentan dentro del Golfo de California son del tipo rocoso característicos en la Bahía de La Paz. Estos sitios tienen la función de formar hábitats para diversas especies de macroinvertebrados y peces arrecifales. La línea de costa y los ambientes costeros en el litoral de la Bahía de La Paz presentan una activa dinámica, ya que estos ambientes muestran modificaciones naturales y antropogénicas. La geomorfología costera y la batimetría tiene una zona rocosa con elevados acantilados y plataforma continental sumamente estrecha (Velasco-García, 2009).





**Figura 2.** Localización de los sitios de muestreo (círculo rojo) para las tres especies de abanicos de mar en la Bahía de La Paz. (Los Islotes, Punta Lobos y San Rafaelito). Se muestran las isobatas de 30, 100 y 200 m ([http://topex.ucsd.edu/cgi-bin/get\\_data.cgi](http://topex.ucsd.edu/cgi-bin/get_data.cgi)).



## MATERIALES Y MÉTODOS

### **Colección de abanicos de mar y registro de condiciones ambientales**

Las tres localidades de muestreo se ubicaron en la Bahía de La Paz en Los Islotes (24° 35' 34.8"N y 110° 23' 54.74" O), Punta Lobos (24° 29' 10.8"N y 110° 17' 47.5" O) y San Rafaelito (24° 17' 6.2" N y 110° 20' 58.1" O) (Fig. 2). En cada sitio de muestreo se registró el perfil vertical de la temperatura y salinidad mediante lances de un medidor de conductividad, temperatura y presión (CTD SeaBird 19A) a una profundidad máxima de 50 m (cerca del fondo).

Mediante buceos con equipo autónomo (SCUBA) se obtuvieron fragmentos de aproximadamente 3 cm<sup>2</sup> de tres distintas colonias para cada una de las especies (*L. rigida*, *M. austera* y *M. fruticosa*) en cada una de las localidades (Los Islotes, Punta Lobos y San Rafaelito) y profundidades seleccionadas. Estos muestreos se llevaron a cabo durante septiembre 2013, marzo y mayo 2014. Cada colonia se marcó con etiquetas plastificadas para su identificación y recolecta en posteriores muestreos con la finalidad de obtener las muestras de las mismas colonias. Los fragmentos de cada especie se obtuvieron de la parte distal de la colonia. Se asume que la posición del fragmento muestreado no afecta los indicadores de estrés oxidativo debido a que los abanicos de mar son formas clónales modulares, es decir, son producto de la reproducción asexual de sus pólipos. Esto implica que los pólipos tienen la misma información genética en la colonia entera y se espera que tengan una respuesta fisiológica similar al del resto de la colonia ante cambios térmicos estacionales.

Las muestras recolectadas fueron colocadas en bolsa Ziploc® de 50 x 40 cm con cierre hermético llenadas con agua *in situ* a la profundidad de recolección y transportadas a la superficie. Una vez en superficie cada fragmento fue traspasado a crioviales y congelado inmediatamente en un contenedor con nitrógeno líquido a bordo de la embarcación. Posteriormente, las muestras fueron preservadas en ultracongelación a -80°C hasta su análisis en el laboratorio de

Estrés Oxidativo del CIBNOR de La Paz, Baja California, Sur. Se recolectó un total de 27 fragmentos de colonias por temporada y 80 muestras en total para las tres especies de abanicos de mar.

### **Remoción de pólipos**

Para eliminar los organismos epibiontes de los fragmentos de las colonias, se mantuvieron sumergidos durante una hora en 25 mL de solución homogenizadora de fosfatos (50 mM, pH 7.5) y enjuagados una vez más en la misma solución, previo a la remoción mecánica de los pólipos. La extracción de pólipos de *L. rigida* y *M. fruticosa* se llevó a cabo por la técnica modificada de maceración en frío (Richier *et al.*, 2008); el tejido extraído fue pesado y resuspendido en 1 mL de solución para homogenizar. El extracto fue preservado a -80°C para su posterior análisis. Debido a que los pólipos de *M. austera* eran más grandes que los de las otras dos especies la extracción de pólipos se llevó a cabo por el método de WaterPik™ que consiste en la extracción de los pólipos con aire a presión (Johannes & Wieb, 1970). El tejido obtenido fue pesado y resuspendido en 1 mL de solución para homogenizar. El extracto fue preservado a -80°C para su posterior análisis.

### **Indicadores de estrés oxidativo**

Para los análisis de SOD, GPx, TBARS y proteínas totales se tomaron alícuotas de 100 µL del extracto de cada muestra. Para cuantificar la concentración de GSH-Eq se tomaron alícuotas de 50 µL. Los extractos fueron homogenizados con un homogenizador (Polytron, Suiza) en solución amortiguadora de fosfatos (50 mM, pH 7.5; EDTA 50 mM, PMSF 1 mM). Los homogenizados se centrifugaron (Sorvall, Alemania) a 1008 g durante 15 minutos a 4°C. Se desechó el precipitado y sólo se utilizó el sobrenadante.

#### **Superóxido dismutasa (EC 1.15.1.1)**

El sistema xantina/xantina oxidasa fue utilizado como fuente constante de  $O_2^{\bullet-}$  que, en contacto con el nitroazul de tetrazolio (NBT), reduce y forma un producto llamado formazán. Este producto se detectó con un espectrofotómetro (Beckman

Coulter, EUA) a 560 nm. La SOD inhibe la reducción del NBT. Las muestras se analizaron por triplicado con la finalidad de medir la actividad total de la SOD. Una unidad (U) de actividad de SOD es la cantidad de enzima necesaria para inhibir el 50% de la reacción del  $O_2^{\bullet-}$  con el NBT. Los resultados fueron expresados en U SOD  $mg^{-1}$  proteína (Suzuki, 2000).

### **Glutación peroxidasa (EC 1.11.1.9)**

Para determinar la actividad de GPx, se midió el decremento continuo de las concentraciones del dinucleótido de nicotinamina y adenina fosforilado reducido (NADPH) al mantener constantes los niveles de GSH-Eq siguiendo el método de Flohé & Günzler (1984). La actividad de la enzima GPx se midió cada 3 segundos durante 40 segundos con un espectrofotómetro (Beckman Coulter, EUA). El consumo basal de NADPH (0.25 mM) se determinó utilizando un blanco con solución amortiguadora de fosfatos (50 mM) que contenía azida de sodio (2 mM), GSH-Eq (5 mM), GR ( $1.5 U mL^{-1}$ ) y la muestra. Una unidad de actividad de GPx se define como la cantidad de enzima que oxida  $1 \mu M$  de NADPH por minuto. Los resultados fueron expresados en U GPx  $mg^{-1}$  de proteína.

### **Glutación Total**

El glutación total (GSH-Eq) de las muestras de abanicos de mar fue analizado utilizando el método descrito por Tietze (1969) y Griffith (1980) con modificaciones (Hermes-Lima & Storey 1993; Ramos-Vasconcelos & Hermes-Lima 2003). La tasa de reducción del ácido 5,5 v-ditiobis 2 nitrobenzoico (DTNB) por GSH fue monitoreada a 412 nm en un espectrofotómetro (Jenway, Reino Unido) y comparada con aquella del estándar de la curva de GSH. Los resultados fueron expresados como nmol GSH-Eq  $mg$  proteína<sup>-1</sup>.

### **Peroxidación de lípidos**

Las concentraciones de peroxidación de lípidos fueron estimados mediante el contenido de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Persky *et al.*, 2000). Los hidroperóxidos y aldehídos lipídicos, productos resultantes de la peroxidación de lípidos de la membrana celular, reaccionan con el ácido

tiobarbitúrico (TBA) para formar malondialdehído (MDA) que se detecta espectrofotométricamente a 532-535 nm. Las muestras se incubaron con agitación por 15 minutos a 37°C (Polyscience, SH 20L, EUA), posteriormente se colocaron en un baño de hielo. Para detener la reacción se adicionó ácido tricloroacético (TCA) al 20% y TBA al 1%, las muestras se agitaron y se colocaron en baño maría (Precision, EUA) a 90°C con agitación durante 10 minutos. Posteriormente, se colocaron en un baño con hielo y se centrifugaron a 2124 g durante 10 minutos a 4°C. La absorbancia del sobrenadante fue registrada en un espectrofotómetro (Beckman Coulter, EUA) a 532 nm. La concentración de TBARS se calculó usando los coeficientes obtenidos de la regresión lineal de la curva estándar realizada con la solución de 1,1,3,3-tetratoxipropano (TEP) 10  $\mu\text{mol mL}^{-1}$  y los resultados se expresaron en nmol de TBARS  $\text{mg}^{-1}$  proteína.

### **Proteínas totales**

La concentración de proteínas en los sobrenadantes se determinó mediante el método de Bradford (1976) (Bio Rad©) adaptado a microplaca (Thermo Scientific, Holanda). Los resultados fueron expresados en mg proteína  $\text{mL}^{-1}$ .

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis exploratorio de los datos mediante pruebas de normalidad (Kolmogorov-Smirnov) y homogeneidad de varianzas (Bartlett y Levene) para definir si éstos tenían o no una distribución normal (Zar, 1999). Los datos de los indicadores de estrés oxidativo de las tres especies de abanicos de mar no cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, por lo que todos los análisis posteriores se realizaron utilizando pruebas estadísticas no paramétricas. Las comparaciones de las medianas de los indicadores de estrés oxidativo entre especies y sitios de muestreo por temporada (variabilidad interespecífica e intraespecífica) se realizaron con la prueba de Kruskal-Wallis, con un límite de confianza al 95%. Para esta prueba los indicadores de estrés oxidativo de cada especie por localidad y temporada se consideraron como variables dependientes; mientras que la temporada y la localidad fueron analizadas como variables independientes. Este análisis estadístico se realizó con el programa R versión 3.1.2. (R Core Team, 2014). Originalmente, se pretendía analizar los datos transformando las variables numéricas a logaritmo natural y utilizando un ordenamiento de Análisis de Correspondencias Canónicas (CCA) con el programa PCOrd (ver.6). Debido al tamaño de la matriz (28x3), al tener sólo tres especies, tres indicadores de estrés oxidativo (variables numéricas) y tres variables categóricas, no se cumplió con el número mínimo de variables (> 3 variables numéricas) que se requerían para este modelo estadístico multivariado (Bruce McCune, Oregon State University, comunicación personal) y, por ende, los resultados obtenidos no fueron estadísticamente robustos.

La relación de los indicadores de estrés oxidativo en función de las variables ambientales fue evaluada mediante modelos de regresión lineal generalizada (GLM, por sus siglas en inglés). Estos modelos permiten evaluar el efecto de las variables que no siguen una distribución de frecuencia normal. Los GLM tienen en su estructura tres propiedades estadísticas, 1) la estructura del error que permite aplicar diferentes distribuciones de probabilidad sin las necesidad de transformar los datos, 2) la función lineal predictiva que corresponde

a la suma lineal de los efectos de cada una de las variables predictoras sobre la variable de respuesta y 3) la función de enlace que es la que relaciona los valores medios estimados con la función lineal predictiva. Los GLM pueden utilizar variables categóricas (en este caso, temporada y localidad) para identificar el efecto sobre las variables de respuesta (Crawley, 2007; Zuur *et al.*, 2009; Celis de la Rosa & Labrada-Martagón, 2014).

Para los GLM, se tomó en cuenta la inclusión de las variables de respuesta o dependientes (indicadores de estrés oxidativo) con las variables predictoras o independientes (variables ambientales). Después de realizar el análisis con diferentes distribuciones de probabilidad y funciones de enlace, se decidió utilizar la distribución de probabilidad del error gamma empleada para variables cuantitativas continuas y la función de enlace inverso (canónica) (Zuur *et al.*, 2009). Para evaluar el ajuste del GLM se tomaron los valores mínimos de devianza residual; mientras más pequeño sea este valor mejor será el ajuste del GLM (Celis de la Rosa & Labrada-Martagón, 2014). Se estimaron modelos para cada indicador (SOD, GPx y TBARS) considerando las dos variables categóricas temporada y localidad utilizando el programa R versión 3.1.2 (R Core Team, 2014).



## RESULTADOS

### Condiciones ambientales: Temperatura y salinidad

La profundidad, temperatura y salinidad promedio registrada en Los Islotes, Punta Lobos y San Rafaelito donde se recolectaron las muestras de las tres especies de abanicos de mar durante septiembre 2013, marzo y mayo 2014 se resumen en la Tabla 1. Los perfiles verticales de temperatura para las tres zonas y temporadas de colecta se presentan en la figura 3. Durante septiembre 2013 (final de la época cálida) predominaron temperaturas  $>28^{\circ}\text{C}$  en los tres sitios de muestreo, Los Islotes  $29.3^{\circ}\text{C}$ , Punta Lobos  $29^{\circ}\text{C}$  y San Rafaelito  $28.1^{\circ}\text{C}$ . La temperatura fue ligeramente mayor en los estratos correspondientes a la zona de distribución de *L. rigida* y *M. austera* que a la de *M. fruticosa*. En la figura 3 se aprecia que la columna estuvo cálida y mezclada hasta los 25 m de profundidad (con un gradiente vertical  $<1.2^{\circ}\text{C}$ ) en Los Islotes y San Rafaelito, pero en Punta Lobos se presentó una termoclina de aproximadamente  $3^{\circ}\text{C}$  a los 28 m de profundidad. Durante marzo 2014 se registraron temperaturas  $<23^{\circ}\text{C}$ , siendo la zona de distribución de *M. fruticosa* y *M. austera* donde se encontraron las temperaturas relativamente más frías ( $< 22^{\circ}\text{C}$ ) en comparación con el estrato de los 0 a 5 m donde se distribuye *L. rigida* ( $26^{\circ}\text{C}$ ). En mayo 2014 la columna de agua estuvo mezclada (sin termoclina) pero la temperatura incrementó aproximadamente  $2.5^{\circ}\text{C}$  para Los Islotes y Punta Lobos con respecto al muestreo de marzo 2014. En San Rafaelito, el incremento de temperatura entre marzo y mayo 2014 fue de  $4^{\circ}\text{C}$  para el estrato en donde se distribuyó *L. rigida* (Fig. 3, Tabla 1).

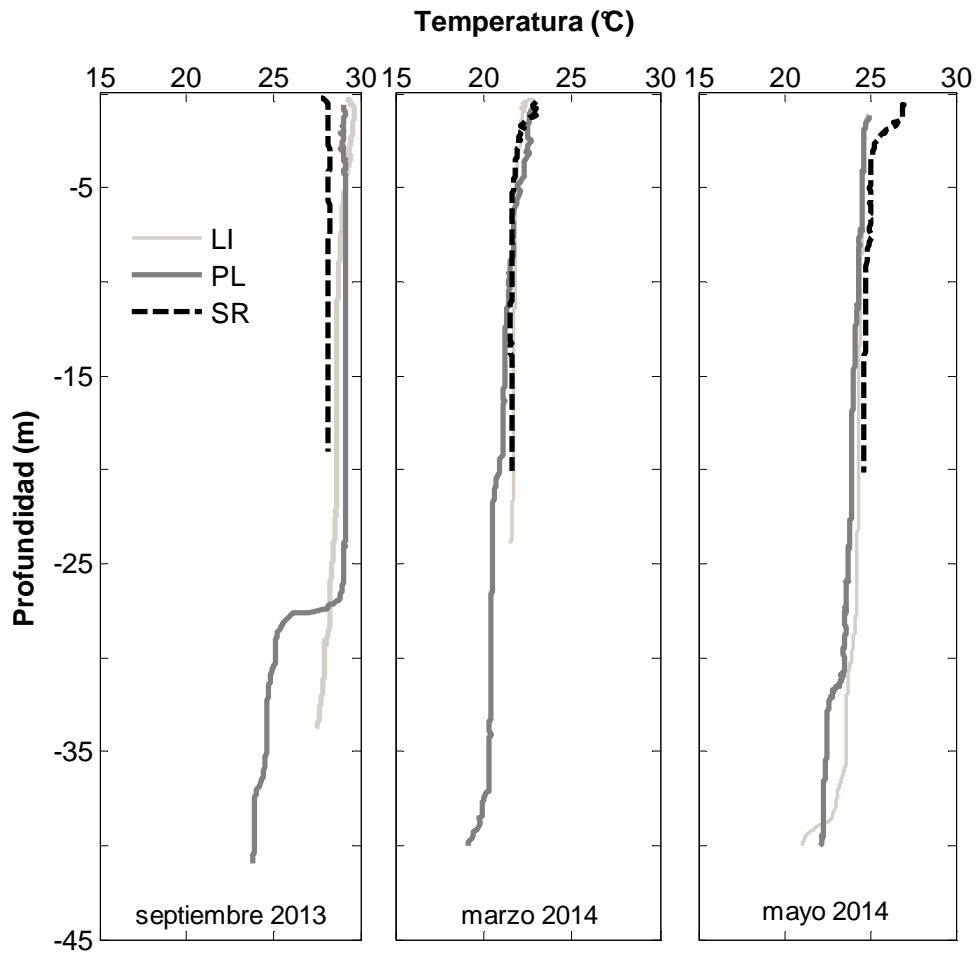
La salinidad promedio en Los Islotes durante septiembre 2013 fue de 34.7 UPS, en marzo y mayo 2014 la salinidad promedio se incrementó a 35.39 UPS. En Punta Lobos la salinidad promedio durante septiembre 2013 fue de 34.56, durante marzo 2014 fue de 35.1 UPS, y en mayo 2014 de 35.33 UPS; la salinidad incrementó de septiembre 2013 a marzo 2014, con poca la variación entre marzo a mayo 2014 (Tabla 1). En San Rafaelito, la salinidad promedio durante

septiembre 2013 fue de 35.04, mientras que para marzo 2014 fue de 35.24 UPS y para mayo 2014 de 35.62 UPS (Tabla 1). Durante septiembre 2013 se presentó mayor salinidad en San Rafaelito que en Los Islotes y Punta Lobos (Tabla 1). San Rafaelito fue el sitio menos profundo, donde la temperatura no varió en la columna de agua durante septiembre 2013 (Tabla 1).

**Tabla 1.** Registros de profundidad (P), temperatura (T) y salinidad (S) promedio en Los Islotes, Punta Lobos y San Rafaelito, localidades de colecta de tres especies de abanicos de mar *Leptogorgia rigida*, *Muricea austera* y *Muricea fruticosa*, durante septiembre 2013, marzo y mayo 2014.

Sitio	Especies	Variable								
		Temperatura (°C)			Profundidad (m)			Salinidad (UPS)		
		sep	mar	may	sep	mar	may	sep	mar	may
Los Islotes	<i>L. rigida</i> (3)	29.3	22.1	24.9	5	5	5	34.5	35	35.4
	<i>M. austera</i> (3)	28.7	21.7	24.4	20	20	20	34.7	35.1	35.4
	<i>M. fruticosa</i> (3)	28	21.5	24.1	29	21.9	30.1	34.8	35.1	35.3
Punta Lobos	<i>L. rigida</i> (3)	29	22.6	24.7	1.5	5	5	34.3	35	35.3
	<i>M. austera</i> (3)	29.2	21.3	24.1	15	15	15	34.5	35.1	35.3
	<i>M. fruticosa</i> (3)	26.7	20.2	23	26.9	25	25	34.5	35.1	35.3
San Rafaelito	<i>L. rigida</i> (3)	28.1	22.3	26.1	5	5	5	35	35.2	35.8
	<i>M. austera</i> (3)	28.2	21.5	24.7	15	15	15	35	35.2	35.5
	<i>M. fruticosa</i> (3)	28	21.5	24	20	20	20	35	35.2	35.4

sep= septiembre 2013, mar= marzo 2014, may= mayo 2014

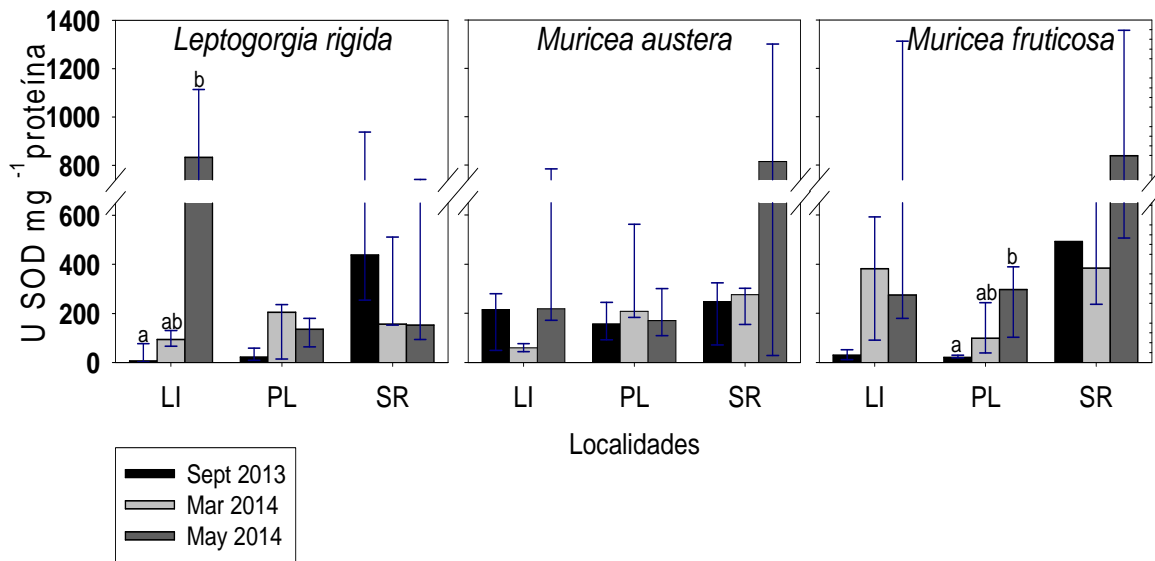


**Figura 3.** Perfiles verticales de temperatura en Los Islotes (LI, línea gris), Punta Lobos (PL, gris oscura) y San Rafaelito (SR, negra punteada) localidades de colecta de tres especies de abanicos de mar *Leptogorgia rigida*, *Muricea austera* y *Muricea fruticosa*, durante septiembre 2013, marzo y mayo 2014.

### Indicadores de estrés oxidativo

En las 80 muestras obtenidas de las tres especies de abanicos de mar en septiembre 2013, marzo y mayo 2014 y en las tres localidades de estudio, se analizaron los indicadores de estrés oxidativo (actividad de GPx y SOD, concentración de GSH-Eq y concentraciones de TBARS).

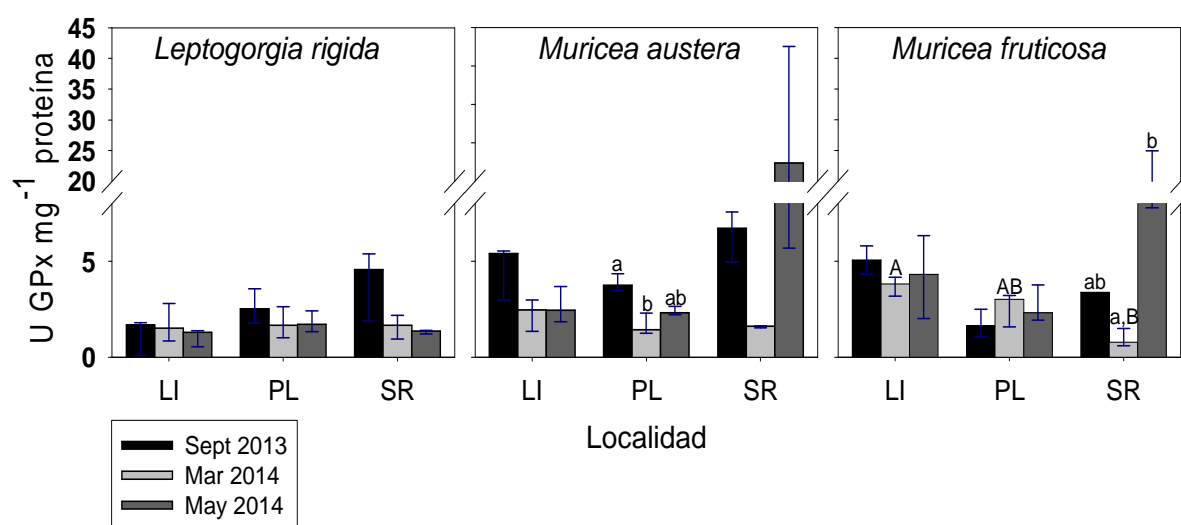
**Superóxido dismutasa (SOD).** Los resultados de la actividad de SOD en tres especies de abanicos de mar recolectados en Los Islotes, Punta Lobos y San Rafaelito en septiembre 2013, marzo y mayo 2014 se presentan en la Figura 4. La actividad enzimática de SOD en *L. rigida* en Los Islotes fue significativamente mayor en mayo 2014 que en septiembre 2013 ( $p=0.038$ ). En contraste en Punta Lobos la actividad de SOD fue mayor en marzo 2014 aunque no significativamente distinto (NS,  $p=0.193$ ). En *M. austera* no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la actividad de SOD entre muestreos y localidades; en San Rafaelito, la actividad de SOD tendió a ser mayor en mayo 2014 (NS,  $p=0.732$ ). La actividad de SOD en *M. fruticosa* fue significativamente mayor en mayo 2014 que en septiembre 2013 y marzo 2014 ( $p=0.009$ ). En las tres especies de abanicos de mar se observó una tendencia de menor actividad de SOD en septiembre 2013 que en mayo 2014 en Los Islotes y San Rafaelito, diferencia que fue estadísticamente significativa solo para *L. rigida* (Fig. 4). No se observaron diferencias interespecíficas a nivel espacial ni temporal en la actividad de SOD para ninguna de las tres especies analizadas en el presente estudio.



**Figura 4.** Actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) en tres especies de abanicos de mar *Leptogorgia rigida*, *Muricea austera* y *Muricea fruticosa* recolectadas en Los Islotes (LI), Punta Lobos (PL) y San Rafaelito (SR) en septiembre 2013, marzo y mayo 2014. Los datos se presentan como la mediana y percentiles (25%, 75%). Los subíndices representan las diferencias intraespecíficas entre temporadas ( $p < 0.05$ ).

**Glutación Peroxidasa (GPx).** Los resultados de la actividad de GPx en tres especies de abanicos de mar recolectadas en Los Islotes, Punta Lobos y San Rafaelito en septiembre 2013, marzo y mayo 2014 se presentan en la figura 5. En septiembre 2013 en Punta Lobos y San Rafaelito, *L. rigida* presentó mayor actividad de GPx en comparación con marzo y mayo 2014; sin embargo, las diferencias no fueron estadísticamente significativas (NS,  $p=0.301$ ,  $p=0.099$ ). En *L. rigida* y *M. austera* no se observaron diferencias significativas en la actividad de GPx entre localidades. Se observaron diferencias intraespecíficas estacionalmente en la actividad de GPx para *M. austera*, mientras que para *M. fruticosa* se observaron diferencias estacional y espacialmente. En Punta Lobos, fue menor la actividad de GPx en las colonias de *M. austera* muestreadas en marzo 2014 que aquellas muestreadas en septiembre 2013 ( $p=0.038$ ). En San Rafaelito, la actividad de GPx en *M. fruticosa* fue menor en marzo 2014 que en mayo 2014 ( $p=0.043$ ). Entre localidades la actividad de GPx en marzo para *M. fruticosa* fue

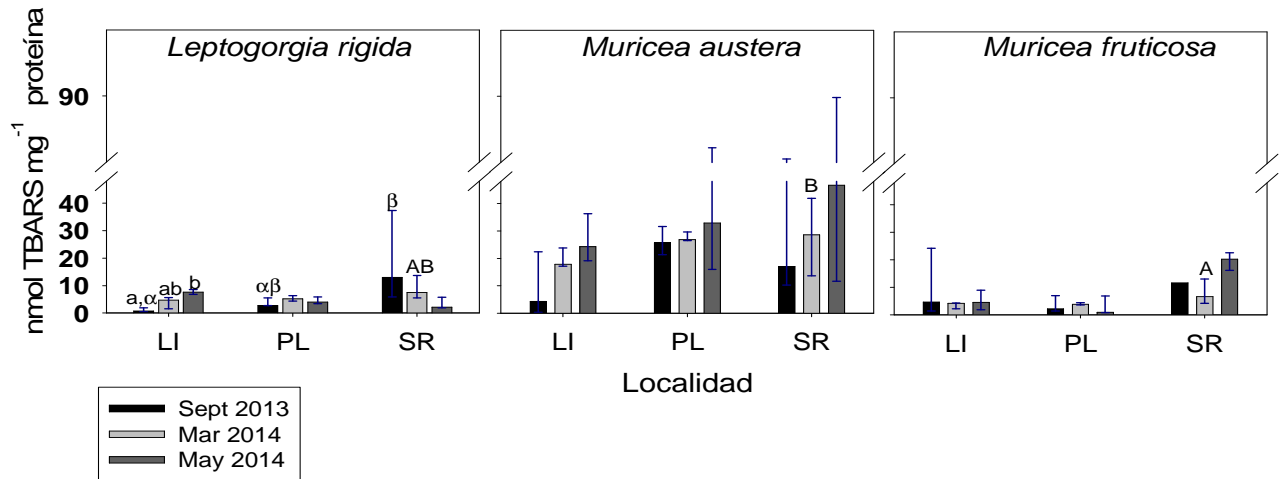
mayor en Los Islotes que en San Rafaelito ( $p= 0.039$ ), siendo este sitio donde se registró la menor actividad. Aunque en septiembre 2013 fue cuando se presentaron las condiciones más cálidas, la actividad de GPx en *M. austera* fue significativamente mayor en Punta Lobos con respecto a marzo 2014 ( $p=0.038$ ). En contraste, en *L. rigida* la actividad de GPx fue menor en mayo 2014 que en las otras temporadas de colecta en los tres sitios muestreados (Fig. 5). No se observaron diferencias interespecíficas en la actividad de GPx para organismos recolectados en la misma localidad y época del año.



**Figura 5.** Actividad de la enzima glutatión peroxidasa (GPx) en tres especies de abanicos de mar *Leptogorgia rigida*, *Muricea austera* y *Muricea fruticosa* recolectadas en Los Islotes (LI), Punta Lobos (PL) y San Rafaelito (SR) en septiembre 2013, marzo y mayo 2014. Los datos se presentan como la mediana y percentiles (25%, 75%). Los subíndices representan las diferencias intraespecíficas entre localidades (A, B) y temporadas (a, b) ( $p < 0.05$ ).

**Glutatión total (GSH-Eq).** Las concentraciones de GSH-Eq se encontraron por debajo del límite de detección de la técnica espectrofotométrica, tanto para las muestras de colonias congeladas en nitrógeno líquido como para las muestras de colonias analizadas en fresco.

**Peroxidación de lípidos (TBARS).** Los resultados de las concentraciones de TBARS en las tres especies de abanicos de mar recolectados en Los Islotes, Punta Lobos y San Rafaelito en septiembre 2013, marzo y mayo 2014 se presentan en la figura 6. En Los Islotes se observaron mayores concentraciones de TBARS en mayo 2014 con respecto a septiembre 2013 para *L. rigida* ( $p=0.038$ ). Comparando las localidades (diferencias intraespecíficas), se registraron las concentraciones más altas de TBARS de *L. rigida* en San Rafaelito durante la temporada de septiembre 2013 con respecto a Los Islotes ( $p=0.027$ ). En *M. austera* los mayores niveles de TBARS se observaron en San Rafaelito durante mayo 2014, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa ( $p=0.8371$ ). En los tres sitios y las tres temporadas de muestreo la especie con menores concentraciones de TBARS fue *L. rigida* ( $p=4.93 e^{-08}$ ) con respecto a las otras dos especies. Entre especies (diferencias interespecíficas), las concentraciones de TBARS de *M. austera* en San Rafaelito fueron mayores en marzo 2014 con respecto a *M. fruticosa* ( $p=0.038$ ).



**Figura 6.** Variación de las concentraciones de peroxidación de lípidos (TBARS) en tres especies de abanicos de mar (a) *Leptogorgia rigida*, (b) *Muricea austera* y (c) *Muricea fruticosa* recolectadas en Los Islotes (LI), Punta Lobos (PL) y San Rafaelito (SR) en septiembre 2013, marzo y mayo 2014. Los datos se presentan como la mediana y percentiles (25%, 75%). Los subíndices representan las diferencias intraespecíficas entre localidades (α, β) y temporadas (a, b), y diferencias interespecíficas (A, B) ( $p < 0.05$ ).

## Modelos lineales generalizados (GLM)

Con la finalidad de conocer cuales variables ambientales tuvieron mayor correlación con la variabilidad de los indicadores de estrés oxidativo de los abanicos de mar se realizaron siete GLM, tres modelos para *L. rigida* y *M. austera*, mientras que para *M. fruticosa* solo se realizó uno. Para TBARS se añadieron las actividades de las enzimas antioxidantes como variables independientes junto con las variables ambientales en los sitios y temporadas de colecta para cada especie de abanicos de mar.

***Leptogorgia rigida***. Los resultados obtenidos de los GLM mínimos ajustados para *L. rigida* considerando las variables significativas para cada uno de los indicadores de estrés oxidativo se presentan en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Modelos mínimos ajustados para los indicadores de estrés oxidativo de *Leptogorgia rigida* de la Bahía de La Paz. T= Temperatura, P= Profundidad, GPx= Glutación peroxidasa, SOD= Superóxido dismutasa, TBARS= peroxidación de lípidos.

Indicador	Temporada	Modelo	Mediana observada	Mediana calculada
GPx	marzo	$GPx = e^{-4.36+0.22T}$	1.66	1.72
	mayo	$GPx = e^{-3.85+0.22T}$	1.36	1.53
	septiembre	$GPx = e^{-5.98+0.22T}$	1.88	2.13
SOD	marzo	$SOD = e^{0.9-0.03S+0.01T}$	152.54	120.47
	mayo	$SOD = e^{0.88-0.03S+0.01T}$	180.07	565.89
	septiembre	$SOD = e^{0.83-0.03S+0.01T}$	58.17	32.67
TBARS	marzo	$TBARS = e^{16.2+0.02GPx+0.14P-0.67S+0.3T}$	5.47	5.12
	mayo	$TBARS = e^{15.59+0.02GPx+0.14P-0.67S+0.3T}$	5.72	5.21
	septiembre	$TBARS = e^{14.17+0.02GPx+0.14P-0.67S+0.3T}$	2.78	3.67



El GLM ajustado para la actividad de la enzima GPx en *L. rigida* (devianza residual=7.87) explicó 27.44% de la varianza, la actividad de esta enzima estuvo correlacionada de forma positiva con la temperatura y varió significativamente entre las tres temporadas de muestreo (Tabla 3). El GLM mínimo ajustado para la actividad de la enzima SOD en *L. rigida* (devianza residual=19.48) explicó el 56.38% de la varianza. La actividad de SOD estuvo correlacionada positivamente con la temperatura, de manera negativa con la salinidad, y varió significativamente entre temporadas (Tabla 3). Para la concentración de TBARS el GLM mínimo ajustado para *L. rigida* (devianza residual=5.33) explicó el 72.9% de la variabilidad de los datos. Las concentraciones de TBARS estuvieron correlacionadas positivamente con la actividad de la GPx, profundidad y temperatura y, negativamente con la salinidad. La concentración de TBARS varió entre las temporadas de muestreo (Tabla 3).

La variable ambiental que se correlacionó positivamente en los tres modelos de los indicadores de estrés oxidativo de *L. rigida* fue la temperatura, particularmente con aquella registrada en septiembre 2013 y mayo 2014 (Tabla 1). En todos los GLM la variación de la actividad de las enzimas antioxidantes y las concentraciones de TBARS se correlacionó con la temporada de muestreo.

**Tabla 3.** Coeficientes (a y b) de los Modelos Lineales Generalizados (GLM) para las variables dependientes, actividad de glutatión peroxidasa (GPx), actividad de superóxido dismutasa (SOD) y niveles de peroxidación de lípidos (TBARS) con una distribución del error gamma (función de enlace inversa) para la especie *Leptogorgia rigida*. May= mayo 2014, Sep= septiembre 2013, GPx= Glutatión peroxidasa.

Modelo	Variable	Coeficiente no estandarizado		Intervalos de confianza (95%) para <i>b</i>			
		b	Error estándar	<i>t</i>	<i>p</i>	Inferior	Superior
Glutatión peroxidasa	Intercepto	-4.361	2.018	-2.160	0.041	-8.465	-0.475
	Temperatura	0.221	0.090	2.453	0.022	0.047	0.405
U GPx mg <sup>-1</sup> proteína	Temporada [May]	-0.516	0.285	-1.809	0.083	-1.082	0.045
	Temporada [Sept]	-1.616	0.571	-2.827	0.009	-2.760	-0.495
Superóxido dismutasa	Intercepto	0.900	0.280	3.213	0.004	0.423	1.527
	Salinidad	-0.032	0.009	-3.286	0.003	-0.054	-0.015
U SOD mg <sup>-1</sup> proteína	Temperatura	0.010	0.003	3.354	0.002	0.005	0.018
	Temporada [May]	-0.024	0.006	-3.490	0.002	-0.039	-0.012
	Temporada [Sept]	-0.073	0.021	-3.460	0.002	-0.121	-0.037
Peroxidación de lípidos nmol TBARS mg <sup>-1</sup> proteína	Intercepto	16.201	5.36344	3.021	0.006	5.994	27.238
	GPx	0.024	0.011	2.110	0.047	0.004	0.051
	Profundidad	0.141	0.052	2.683	0.014	0.043	0.251
	Salinidad	-0.669	0.180	-3.715	0.001	-1.052	-0.341
	Temperatura	0.304	0.072	4.222	<0.001	0.176	0.459
	Temporada [May]	-0.612	0.181	-3.377	0.002	-0.996	-0.278
	Temporada [Sept]	-2.033	0.446	-4.554	<0.001	-2.995	-1.242

**Muricea austera.** Los modelos mínimos ajustados para los indicadores de estrés oxidativo con las variables significativas para *M. austera* se presentan en la Tabla 4.

**Tabla 4.** Modelos mínimos ajustados para los indicadores de estrés oxidativo en *Muricea austera* de la Bahía de La Paz. S= Salinidad, T= Temperatura, GPx= Glutación peroxidasa, SOD= Superóxido dismutasa, TBARS= peroxidación de lípidos.

Indicador	Temporada	Modelo	Mediana observada	Mediana calculada
GPx	marzo	$GPx = e^{46.46 - 1.01S - 0.48T}$	1.61	2.02
	mayo	$GPx = e^{47.83 - 1.01S - 0.48T}$	2.65	3.13
	septiembre	$GPx = e^{49.1 - 1.01S - 0.48T}$	4.95	4.58
SOD		$SOD = 0.213 - 0.005 S$	207.75	238.16
TBARS		$TBARS = 0.059 - 0.000021 SOD$	24.27	29.84

El GLM realizado para la actividad de GPx (devianza residual=3.29) en *M. austera* explicó 87.7% de la varianza. La actividad de esta enzima se correlacionó negativamente con la salinidad y la temperatura. La actividad de GPx varió entre las temporadas de muestreo (Tabla 4). El GLM para la actividad de SOD en *M. austera* (devianza residual=16.8) explicó el 22.22% de la varianza; la actividad de la SOD se correlacionó significativa y negativamente con la salinidad (Tabla 5). El GLM para la concentración de TBARS en *M. austera* (devianza residual=13.5) representó el 24% de la varianza explicada. La concentración de TBARS se correlacionó negativamente con la actividad de la enzima SOD. En *M. austera* la actividad de la enzima GPx fue el único indicador de estrés oxidativo que, de acuerdo a los GLM, tuvo variación significativa entre temporadas de muestreo.

**Tabla 5.** Coeficientes (a y b) de los modelos lineales generalizados (GLM) para las variables dependientes, actividad de glutatión peroxidasa (GPx), actividad de superóxido dismutasa (SOD) y concentraciones de peroxidación de lípidos (TBARS) con una distribución de error gamma (función de enlace inversa) para *Muricea austera*. May= mayo 2014, Sept= septiembre 2013, PL= Punta Lobos, SR=San Rafaelito, SOD= Superóxido dismutasa.

Modelo	Variable	Coeficiente no estandarizado				Intervalos de confianza (95%) para b	
		b	Error estándar	t	p	Inferior	Superior
Glutatión peroxidasa	Intercepto	46.461	6.878	6.755	<0.001	33.953	60.979
	Salinidad	-1.013	0.153	-6.583	<0.001	-1.335	-0.729
	Temperatura	-0.476	0.081	-5.814	<0.001	-0.649	-0.327
U GPx mg <sup>-1</sup> proteína	Temporada [May]	1.369	0.308	4.444	<0.001	0.809	2.020
	Temporada [Sept]	2.640	0.535	4.935	<0.001	1.662	3.765
Superóxido dismutasa	Intercepto	0.213	0.0745	2.864	0.008	0.074	0.366
	Salinidad	-0.005	0.002	-2.823	0.009	-0.0102	-0.002
U SOD mg <sup>-1</sup> proteína	Intercepto	0.059	0.012	6.602	<0.001	0.038	0.086
	SOD	-2.13e <sup>-05</sup>	9.66e <sup>-06</sup>	-2.208	0.037	-4.03e <sup>-05</sup>	-6.99e <sup>-07</sup>
Peroxidación de lípidos	Localidad [PL]	-0.023	0.013	-1.747	0.094	-0.053	0.0012
	Localidad [SR]	-0.020	0.014	-1.467	0.155	-0.050	0.005

**Muricea fruticosa.** Los GLM mínimos ajustados para los indicadores de estrés oxidativo con las variables significativas en *M. fruticosa* son presentados en la Tabla 6.

**Tabla 6.** Modelos mínimos ajustados para cada uno de los indicadores de estrés oxidativo para *Muricea fruticosa* de la Bahía de La Paz. P= Profundidad, S= Salinidad, T= Temperatura, LI= Los Islotes, PL= Punta Lobos, SR= San Rafaelito.

Indicador	Localidad	Temporada	Modelo	Mediana observada	Mediana calculada
Superóxido dismutasa	LI	marzo	$SOD = e^{4.97+0.001P+0.01S}$	382.04	350.67
		mayo	$SOD = e^{4.99+0.001P+0.01S}$	274.62	571.99
	septiembre	$SOD = e^{4.94+0.001P+0.01S}$	29.11	51.87	
	marzo	$SOD = e^{4.97+0.001P+0.01S}$	98.51	140.76	
U SOD mg proteína <sup>-1</sup>	PL	mayo	$SOD = e^{4.99+0.001P+0.01S}$	297.08	255.91
	SR	septiembre	$SOD = e^{4.94+0.001P+0.01S}$	20.69	16.30
		marzo	$SOD = e^{4.99+0.001P+0.01S}$	384.01	914.15
		mayo	$SOD = e^{5.01+0.001P+0.01S}$	839.62	925.32
		septiembre	$SOD = e^{4.96+0.001P+0.01S}$	493.12	471.29

El GLM realizado para la actividad de la enzima GPx (devianza residual= 3.9) explicó el 80% de la varianzade los datos de *M. fruticosa*. El coeficiente no fue significativo ( $p=0.27$ ) por lo que los resultados no se presentan en las tablas 6 y 7; sin embargo, las variables ambientales fueron significativas en el modelo mínimo ajustado. Los resultados sugieren que la actividad de GPx en *M. fruticosa* se correlacionó positivamente con la temperatura ( $p<0.05$ ) y profundidad ( $p<0.05$ ) y, negativamente con la salinidad ( $p<0.05$ ). La actividad de GPx en *M. fruticosa* varió significativamente entre localidades ( $p<0.05$ ) y temporadas ( $p<0.05$ ).

El GLM para la actividad de SOD (devianza residual=10.91) en *M. fruticosa* explicó el 70% de la varianza de los datos. Los resultados sugieren que la actividad de esta enzima estuvo correlacionada significativa y positivamente con la profundidad, mientras que con la salinidad la correlación fue significativamente

negativa. La actividad de SOD en *M. fruticosa* mostró variaciones significativas entre temporadas y localidades (Tabla 7). La mayor actividad de SOD se presentó en esta especie en mayo 2014.

**Tabla 7.** Coeficientes (a y b) del modelo lineales generalizados (GLM) para la variable dependiente actividad de superóxido dismutasa (SOD) con una distribución del error gamma (función de enlace inversa) para *Muricea fruticosa*. May= mayo 2014, Sep= septiembre 2013, PL=Punta Lobos, SR= San Rafaelito.

Modelo	Variable	Coeficiente no estandarizado		<i>t</i>	<i>p</i>	Intervalos de confianza (95%) para <i>b</i>	
		<i>b</i>	Error estándar			Inferior	Superior
Superóxido dismutasa	Intercepto	4.968	1.558	3.188	0.004	2.402	8.557
	Profundidad	0.001	0.0004	3.044	0.006	0.0006	0.002
	Salinidad	-0.142	0.044	-3.187	0.004	-0.245	-0.068
U SOD mg proteína <sup>-1</sup>	Temporada [May]	0.023	0.008	2.971	0.007	0.010	0.042
	Temporada [Sept]	-0.026	0.008	-3.147	0.005	-0.045	-0.012
	Localidad [PL]	0.002	0.001	1.581	0.13	-0.0004	0.006
	Localidad [SR]	0.019	0.006	3.027	0.006	0.008	0.034

## DISCUSIÓN

### Indicadores de estrés oxidativo

Los reportes de estrés oxidativo en cnidarios han sido particularmente dirigidos al papel que juegan las ERO en la fisiología de corales pétreos y su simbiosis con la zooxantela. El incremento de la temperatura y la exposición a radiación UV son algunas de las principales causas del fenómeno de “blanqueamiento coralino” en condiciones de campo y de laboratorio (Hoegh-Guldberg, 1999; Lesser, 2004; Hoegh-Guldberg *et al.*, 2007; Lesser, 2011). Esta respuesta dependerá de la duración, magnitud del gradiente de estrés térmico, exposición e interacción con otros factores bióticos y abióticos (Downs *et al.*, 2002; Lesser, 2011). El estrés térmico y lumínico puede ocasionar un incremento en la actividad de los antioxidantes enzimáticos y en la concentración de los antioxidantes no enzimáticos (Lesser, 1996; Downs *et al.*, 2002; Douglas, 2003).

En octocorales zooxantelados también se han reportado eventos masivos de blanqueamiento en los trópicos, asociados a los cambios de temperatura, registrados durante el evento del niño en 1998, pero su supervivencia varía entre las especies (Fabricius & Alderslade, 2001; Cerrano & Bavestro, 2008). Sin embargo, en algunas especies de octocorales como *Phenganax parrini* (Clavulariidae) (Alderslade & McFadden, 2011) y *Sarcothelia* sp. (Xeniidae) (McFadden *et al.*, 2006), se ha encontrado un patrón diferente a perturbaciones ocasionadas por cambios de magnitud y duración en la luz y la temperatura. En ambas especies se ha observado una migración del dinoflagelado *Symbiodinium* del lumen gastrovascular a los estolones, donde aparentemente permanecen hasta que las condiciones ambientales retornan a condiciones no estresantes, esto implica un cese temporal de la interacción únicamente en la parte distal (Parrin *et al.*, 2012). Recientemente se ha propuesto que esta migración de los simbiontes no es la causa *per se* del incremento en la producción de ERO en condiciones de incremento de temperatura y radiación ultravioleta, por lo que no

representa un riesgo de pérdida o atenuación de la relación simbiótica para el hospedero (Netherton *et al.*, 2014).

En abanicos de mar azooxantelados existen reportes relacionados con el posible efecto de la temperatura en la respuesta fisiológica. Éstos proponen que, 1) las colonias que se distribuyen cerca de la superficie muestran mayor termotolerancia a elevadas temperaturas que las especies de aguas más profundas de la misma especie (Torrents *et al.*, 2008), 2) los abanicos de mar azooxantelados pudieran tener mayor tolerancia al estrés térmico de las condiciones de verano que en invierno (Previati *et al.*, 2010), y 3) en la pluma de mar (*Veretillum cynomorium*) expuesta a condiciones de hiperoxia por cambios en la altura de la marea aumenta la actividad de las enzimas GST y catalasa, así como la concentración de proteínas de choque térmico HSC70/HSP70 durante la pleamar (Teixeira *et al.*, 2013). En el presente estudio en las especies recolectadas en la misma época de año y localidad no se observaron diferencias interespecíficas significativas en la actividad de las enzimas antioxidantes (SOD y GPx) debido a que la columna de agua permaneció mezclada. Es decir que hubo poca variación en la temperatura en el hábitat litoral. Debido a que se seleccionaron especies con distinta distribución batimétrica y no se encontraron diferencias interespecíficas se rechaza la hipótesis de que pudieran tener diferencias en los indicadores de estrés oxidativo en función de su distinta distribución vertical. Es posible que este patrón se encuentre en otras especies de abanicos de mar de esta zona arrecifal (<30 m).

Se ha propuesto que el incremento en la actividad de SOD en anémonas y corales escleractinios zooxantelados es debido al proceso de fotosíntesis bajo condiciones estresantes de temperatura y radiación UV (Lesser, 1996; Downs *et al.*, 2002; Richier *et al.*, 2003; Lesser, 2004). Por ejemplo, en colonias someras de *Montastrea annularis* (3 m) se observó mayor actividad de Cu, Zn-SOD y Mn-SOD cuando la temperatura superficial del mar fue >28°C en los meses de mayo a agosto, este patrón sugiere que la actividad de SOD en sus dos isoformas son componentes significativos de la capacidad antioxidante en la prevención del



proceso de blanqueamiento y en la tolerancia térmica de esta especie (Downs *et al.*, 2002). Las tres especies de abanicos de mar estudiadas mostraron diferencias intraespecíficas entre temporadas y localidades. En *L. rigida* no se observaron diferencias intraespecíficas entre temporadas en Punta Lobos y San Rafaelito. Sin embargo, la actividad de SOD en *L. rigida*, *M. austera* y *M. fruticosa* fue menor en septiembre 2013 (28-29°C) con respecto a mayo 2014 (24°C).

En invertebrados (corales pétreos, crustáceos y moluscos bivalvos), el incremento en la actividad de la enzima GPx se relaciona con incrementos de temperatura, baja salinidad, bajas concentraciones de oxígeno disuelto, variación del pH y mayor exposición a la radiación UV (Downs *et al.*, 2002; De Zoysa *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2009; Almeida & Di Mascio, 2011). En colonias del coral escleractinio *Pocillopora capitata* distribuidas en el Pacífico Tropical Mexicano, la actividad de las enzimas glutatión S-transferasa (GST), glutatión reductasa (GR), GPx y la producción de aminoácidos tipo micosporina (MAAs) es mayor cuando aumenta la temperatura (~25°C) y radiación UV durante el ciclo estacional (Liñan-Cabello *et al.*, 2010). En el presente estudio, la actividad de GPx en general tuvo poca variación (<5 U GPx mg<sup>-1</sup>proteína), excepto en *M. austera* y *M. fruticosa* que tuvieron mayor actividad de GPx en San Rafaelito durante mayo 2014 y en *L. rigida* fue ligeramente mayor en septiembre 2013 (NS). Las condiciones de radiación UV a las que puede estar expuesta *L. rigida* (especie somera) podrían sugerir que esta especie cuenta con un mecanismo de adaptación para evitar daño oxidativo durante las épocas de mayor radiación (septiembre) (Fig. 4a). Uno de los factores que puede producir H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en los sistemas biológicos es la interacción con la radiación UV por medio de las reacciones fotoquímicas, por lo cual puede ser producido en prácticamente todo tipo de tejidos (Halliwell & Gutteridge, 2007). La depuración del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> es catalizada por la acción de las enzimas peroxidasas, incluyendo catalasa y GPx (Peraza-Reyes, 2008). En macroalgas se ha observado mayor actividad SOD y GPx en las especies que se distribuyen en sitios de poca profundidad (~1 m) durante el verano (junio a noviembre), lo que podría indicar una respuesta ante los cambios propios de la temporada y de las condiciones intermareales (Tenorio-Rodríguez, 2012). La

actividad de GPx fue mayor en Los Islotes y Punta Lobos para *M. austera* y en Los Islotes para *M. fruticosa*, esto puede estar relacionado con el límite de distribución biogeográfica, que se encuentra precisamente al suroeste de la península de Baja California para ambas especies (Gamero-Huayhua, 2014) (Fig. 1).

El GSH es un tripéptido con función antioxidante presente en bacterias anaerobias, plantas y animales, además de ser un cofactor para la enzima GPx (Halliwell & Gutteridge, 2007). En anemonas y corales escleractinios zooxantelados las concentraciones de GSH-Eq son relativamente bajas en comparación a otros invertebrados (Downs *et al.*, 2001; Lavarías *et al.*, 2011). Por ejemplo, en la anemona *Aiptasia pallida* se reportaron concentraciones de GSH-Eq de 75 pmol  $\mu\text{g}^{-1}$  proteína (después de 72 h de exposición a 32.2°C,  $\pm$  0.10°C) (Sunagawa *et al.*, 2008). Se sugiere que el estrés térmico desencadena un incremento en la biosíntesis intracelular del GSH en cnidarios zooxantelados como una respuesta de protección al estrés oxidativo previo al blanqueamiento (Sunagawa *et al.*, 2008). Las concentraciones de GSH-Eq para las tres especies de abanicos de mar recolectadas en campo y congeladas en nitrógeno líquido del presente estudio estuvieron por debajo del límite de detección con el método propuesto por Tietze (1969) y Griffith (1980) con modificaciones (Hermes-Lima & Storey 1993; Ramos-Vasconcelos & Hermes-Lima 2003). Se hicieron pruebas para comprobar que este método estuviera detectando GSH-Eq en muestras recién recolectadas de camarón, pescado y abanicos de mar. Con los tejidos de camarón y pescado se detectó la presencia del GSH-Eq. Sin embargo, aún en los abanicos de mar frescos, la concentración del GSH-Eq estuvo por debajo del límite de detección. Por lo tanto, se recomienda en futuros estudios el análisis de las muestras de abanicos de mar con la técnica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés) utilizada previamente para cuantificar GSH-Eq en anemonas simbiotes (Farris & Reed, 1987; Sunagawa *et al.*, 2008).

La oxidación de los ácidos grasos, particularmente los poliinsaturados (PUFAs, por sus siglas en inglés), por la acción de radicales libres es conocida como el proceso de peroxidación de lípidos (Halliwell & Gutteridge, 2007; Zenteno-

Savín & Saldaña Balmori, 2008). La detección y la cuantificación de los productos de este proceso es la evidencia más frecuentemente utilizada del daño oxidativo generado por radicales libres (Gutteridge, 1995). Uno de los métodos más utilizados para detectar la peroxidación de lípidos *in vitro* es el ensayo con el ácido tiobarbitúrico (TBA). Este método mide los productos de descomposición de los hidroperóxidos lipídicos, tales como el malondialdehído (MDA) y otros aldehídos que son capaces de reaccionar con el TBA, los cuales son conocidos como sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS, por sus siglas en inglés) (Buege & Aust, 1978; Zenteno-Savín & Saldaña-Balmori, 2008). En la pluma de mar (*V. cynomorium*) los concentraciones de MDA son mayores durante el proceso de inmersión experimental (simulando condiciones de reoxigenación durante la pleamar) posiblemente debido a incrementos en la producción de ERO; por el contrario, durante la emersión (condiciones que simulan bajamar) los concentraciones de MDA permanecen sin variación y sin incrementos significativos (Teixeira *et al.*, 2013). En el presente estudio se observó variación intraespecífica en *L. rigida* entre localidades y temporadas. Los concentraciones de TBARS en *L. rigida* en mayo 2014 fueron mayores que en septiembre 2013 en Los Islotes y no diferencias significativas en las otras localidades. Esto sugiere que la actividad de las enzimas antioxidantes SOD, GPx y posiblemente otros antioxidantes no considerados en este estudio de *L. rigida* en Punta Lobos y San Rafaelito fueron suficientes para evitar daño a lípidos posiblemente asociado a la mayor temperatura en septiembre 2013. *M. austera* tuvo las mayores concentraciones de TBARS en comparación con las otras dos especies, para todos los sitios y temporadas de muestreo. La composición de PUFAs en octocorales azooxantelados del orden Alcyonacea varía de un 44 a 87% del total de lípidos dependiendo de la especie (Imbs *et al.*, 2007, 2009). Debido a que la obtención de estos ácidos grasos es por la alimentación de fitoplancton y zooplancton se ha sugerido que existen variaciones estacionales dependiendo de la cantidad y calidad del alimento (Dalsgaard *et al.*, 2003). Otro de los factores que puede influir en variaciones del contenido de los ácidos grasos en cnidarios es el desarrollo gonádico de las especies (Pernet *et al.*, 2002). Es posible que un

aumento en la disponibilidad de alimento y/o en la tasa metabólica en marzo y mayo 2014 influyera en la cantidad de PUFAs en *M. austera* y, por lo tanto, una mayor cantidad de los productos más susceptibles a la peroxidación de lípidos que derive en mayor concentración de TBARS (Fig. 6b).

En la gorgonia *Eunicella singularis* (octocoral zooxantelado) las tasas de calcificación y fotosíntesis disminuyeron en respuesta al estrés térmico (26°C) (bajo condiciones experimentales de laboratorio) y las colonias que se recolectaron en aguas más someras fueron comparativamente menos tolerantes al estrés térmico que las recolectadas en aguas más profundas (Ferrier-Pagès *et al.*, 2009). Bajo el mismo diseño experimental y especie de gorgonia *E. singularis* recolectada (35 m) se presentó menor acumulación de ubiquitina comparada con colonias de aguas someras (15 m) sugiriendo una mayor termotolerancia en las colonias de mayor profundidad después de ser expuestas durante dos semanas a estrés térmico (26°C) (Pey *et al.*, 2011). Sin embargo, con base en la actividad de las enzimas SOD y GPx así como las concentraciones de TBARS del presente estudio se sugiere que *L. rigida* por su distribución somera tiene una mayor tolerancia a cambios estacionales entre la época cálida, fría y de transición. Es posible que la ausencia de la simbiosis con dinoflagelados *Symbiodinium* (van Oppen *et al.*, 2005) permita que esta especie sea comparativamente menos susceptible a los cambios estacionales de las variables ambientales. Esto concuerda con los resultados de colonias de poblaciones someras (10-12 m) del coral rojo del Mediterráneo (*Corallium rubrum*), octocoral azooxantelado, el cual tiene una mayor tasa de calcificación y actividad de los pólipos con necrosis retrasada sugiriendo una mayor termotolerancia bajo condiciones de estrés térmico (25°C) (Torrents *et al.*, 2008). En corales pétreos simbióticos, se puede encontrar una mayor actividad de SOD, catalasa y ascorbato peroxidasa en colonias de aguas someras (Shick *et al.*, 1995; Downs *et al.*, 2002; Levy *et al.*, 2006).

## **Relación espacio-temporal de los indicadores de estrés oxidativo en función de las variables ambientales**

Para evaluar los efectos de la temperatura, salinidad y profundidad sobre los indicadores de estrés oxidativo, en el presente estudio se utilizaron modelos lineales generalizados (GLM) con los datos obtenidos para cada especie de abanicos de mar. Esta herramienta estadística no paramétrica ha sido utilizada para evaluar las bases de datos ecológicos e indicadores fisiológicos, siendo un método cuantitativo eficaz en estudios integrales cuando se consideran múltiples factores ambientales que pueden influir en los indicadores fisiológicos (Labrada-Martagón, 2013).

Los resultados de los GML de *L. rigida* (especie somera) sugieren que la actividad de las enzimas antioxidantes varió significativamente entre temporadas de muestreo. La actividad de las enzimas SOD y GPx se correlacionó positivamente con la temperatura y negativamente con la salinidad, principalmente en marzo y mayo 2014. Es posible que el incremento de temperatura superficial durante la época de transición (mayo 2014) en Los Islotes induzca un aumento en la tasa metabólica, lo cual puede contribuir a la mayor actividad de SOD observada durante mayo 2014. En invertebrados marinos se ha observado que la tasa metabólica es mayor en organismos tropicales y menor en los organismos de zonas polares, y que esto está relacionado con la temperatura, la disponibilidad de alimento y la concentración de oxígeno disuelto (Pörtner, 2002; Clarke, 2003; Abele & Puntarulo, 2004).

Los GLM sugirieron una correlación negativa de la actividad de la enzima GPx con la temperatura para *M. austera*, mientras que en *M. fruticosa* la actividad de SOD se correlacionó positivamente con la salinidad y profundidad. Estas especies se distribuyen a profundidades mayores a 15 m en la zona de muestreo de este estudio (Bahía de La Paz) y, a escala espacial, se encuentran en el límite sur de su distribución biogeográfica dentro del Golfo de California (Gamero-Huayhua, 2014). En San Rafaelito, *M. fruticosa* fue recolectada a los 20 m de

profundidad, cerca del límite más somero conocido para esta especie. El hecho de que las colonias estaban cerca de sus límites biogeográfico y batimétrico pudiera haber influido en la actividad de SOD y GPx. En la parte de norte del Golfo de California, donde se encuentran las mayores abundancias de estas dos especies del género *Muricea* (Gamero-Huayhua, 2014), las condiciones en la columna de agua permanecen mezcladas durante el verano hasta los 30 m, mientras que en el invierno pueden llegar a los 60 m, debido a los procesos de mezcla por marea y convección (Argote *et al.*, 1995). Durante los muestreos realizados en el presente estudio, la columna de agua permaneció mezclada en las tres localidades y en las tres temporadas de muestreo, a excepción de Punta Lobos en septiembre 2013 donde la termoclina se observó a partir de los 28 m; sin embargo, la profundidad máxima de colecta en este sitio fue 26.3 m (Tabla 1), por lo que las condiciones en las que se recolectaron las especies fueron de mezcla. La temperatura superficial en la parte central del Golfo de California varía de los 17.8 a 20.5 °C en condiciones de la época fría (noviembre a mayo) y durante condiciones cálidas (julio a octubre) 26.3°C (Hidalgo-González & Álvarez-Borrego, 2001). Las condiciones de mezcla de la columna de agua, prevalecientes durante los períodos de muestreo del presente estudio, podrían haber influido en que la temperatura no presentara una correlación positiva y significativa con la actividad de SOD y GPx en *M. austera* y *M. fruticosa*. Bajo condiciones de mezcla en el hábitat litoral (<30 m) es posible que otras especies de abanicos de mar pueden tener una respuesta similar a la presentada en las tres especies observadas en el presente estudio.

Se exploraron las posibles relaciones de la concentración de TBARS con la actividad de las enzimas antioxidantes en función de las variables ambientales para las tres especies de abanicos de mar analizadas. Para *L. rigida* las concentraciones de TBARS se correlacionaron significativa y positivamente con la actividad de GPx, la profundidad y la temperatura, y negativamente con la salinidad. Esto podría contribuir a explicar que las concentraciones de TBARS en septiembre 2013 en San Rafaelito fueron más altas que en Los Islotes, en donde la actividad de GPx podría haber contribuido a evitar el daño oxidativo. Las

condiciones de la época cálida como temperatura, y posiblemente la disponibilidad de oxígeno y radiación UV, pueden sugerir un mayor requerimiento de oxígeno, como se ha observado en otros invertebrados (Pörtner, 2001) y pueden influir en las concentraciones de TBARS y la actividad de GPx observada en *L. rigida* durante la temporada de septiembre 2013 en San Rafaelito. Para *M. austera* los GLM mostraron que las concentraciones de TBARS estuvieron negativamente correlacionadas con la actividad de SOD. Para esta especie se reportaron los valores más altos de TBARS durante marzo y mayo 2014 en los tres sitios de muestreo. En Los Islotes y Punta Lobos se observó la menor actividad de SOD durante las tres temporadas. Ello sugiere que la actividad de SOD en estos sitios no fue suficiente para evitar el daño a lípidos durante marzo y mayo 2014.

Los organismos bentónicos dependen tróficamente del plancton y materia orgánica particulada suspendida en la columna de agua. La limitación temporal del alimento puede afectar los indicadores de estrés oxidativo y su tolerancia posterior a las condiciones ambientales, lo que podría inducir cambios en la composición de la comunidad del bentos (Ribes *et al.*, 2003). En épocas en las que la disponibilidad de alimento es escasa muchos organismos bentónicos disminuyen sus tasas de alimentación de semanas a meses; en estos casos, generalmente también conlleva una disminución de la tasa metabólica (estado hipometabólico) como una estrategia para mantener las reservas de energía (Clarke, 1983; Brockington & Clarke, 2001; Almeida & Di Mascio, 2011). La condición de inanición tiene un efecto prooxidante debido a la inadecuada neutralización de las ERO generadas por el metabolismo aerobio y la disminución de defensas antioxidantes (Morales *et al.*, 2011). También, la supresión de la síntesis de proteínas inducida por la falta de alimento necesario para mantener la homeostasis puede disminuir la actividad de las enzimas directamente involucradas en la neutralización de las ERO y en el reciclamiento de moléculas antioxidantes como el GSH (Morales *et al.*, 2011). En el molusco bivalvo sésil *Nacella concinna* bajo condiciones de inanición durante un mes disminuyó la actividad de SOD en la glándula digestiva y la actividad de catalasa en las branquias (Abele *et al.*, 1998). En la Bahía de La Paz existe una época cálida

(junio a septiembre) con temperaturas superficiales generalmente mayores a 23°C cuando la capa de mezcla es estrecha debido a una termoclina poco profunda (<20 m); bajo estas condiciones la columna de agua se encuentra estratificada, lo cual propicia que las concentraciones de los nutrientes y la clorofila *a* sean bajas (Verdugo-Díaz, 2004). La temperatura en septiembre 2013 fue >28°C; en esta época, la columna de agua permaneció mezclada. La baja disponibilidad de alimento durante la época cálida (junio a septiembre) podría ser uno de los factores que, en conjunto con la temperatura, afectan la actividad de las enzimas antioxidantes SOD y GPx en las tres especies de abanicos de mar azooxantelados de los arrecifes rocosos de la Bahía de la Bahía de La Paz.

En el Mar Mediterráneo las máximas temperaturas y la menor disponibilidad de alimento se presentan durante el verano (julio-octubre); estas condiciones pueden ocasionar inanición y consecuentemente, un decaimiento de la actividad metabólica en las colonias de tres especies de abanicos de mar no simbióticos (*Eunicella cavolinii*, *Paramuricea clavata* y *Corallium rubrum*) y simbióticos (*Eunicella singularis*) (Rossi *et al.*, 2006; Previati *et al.*, 2010). En la Bahía de La Paz existen dos épocas estacionales de productividad primaria, una de alta productividad (entre marzo y agosto) y otra de baja productividad (septiembre-febrero), dependiendo de la penetración de luz y de la estratificación de la columna de agua que permita la disponibilidad de nutrientes (Cervantes-Duarte *et al.*, 2005). Además, la presencia de un giro ciclónico semipermanente en la porción profunda de la Bahía de La Paz ocasiona que las concentraciones de clorofila *a* sean mayores en mayo (Coria-Monter *et al.*, 2014). Las condiciones de la época fría (diciembre-abril) y de transición (mayo-agosto) propician un intenso recambio diario de agua por corrientes de marea en la boca principal de la Bahía y el canal de San Lorenzo favorecido por la influencia de vientos locales que causan dos picos de biomasa zooplanctónica durante febrero y mayo, seguidos de una disminución hasta el mes agosto (De Silva-Dávila, 1997). Todo lo anterior sugiere un incremento en el flujo vertical de materia orgánica y detritus en mayo que puede relacionarse con el incremento de la actividad de las enzimas antioxidantes,



particularmente para las especies que se encuentran en los estratos más profundos (*M. austera* y *M. fruticosa*).

Al suroeste del Golfo de California se ha propuesto una distribución vertical marcada por el contraste entre las especies de afinidad tropical-subtropical y templado-frío (Sánchez-Ortíz, 2010). Dentro de la zona superficial se sugieren dos subzonas, una subzona superficial somera (0-50 m) y otra subzona superficial intermedia (50-200 m), ambas conectadas por la presencia de familias o géneros ecológicamente y filogenéticamente relacionados, lo cual contrasta con el patrón encontrado en las zonas profundas (200-400m) donde los grupos son de diferente grupo filogenético (Sánchez-Ortíz, 2010). Es posible que lo anterior contribuya a explicar la carencia de diferencias interespecíficas en los resultados ya que las especies estudiadas se localizan en la subzona superficial somera con características oceanográficas similares, por lo cual estarían respondiendo de manera similar estando filogenéticamente relacionadas. Sin embargo, se requieren más estudios de la fisiología de las especies de abanicos de mar distribuidas en diferentes zonas batimétricas incluyendo la comparación entre las especies más someras y las más profundas, así como entre especies con diferente origen filogenético.

Este estudio provee un primer precedente de la respuesta fisiológica de tres especies de abanicos de mar azooxantelados ante cambios en la temperatura a escala estacional. En este estudio se descartó la hipótesis originalmente planteada que los cambios de temperatura estacional pudieran influir en la variación de las enzimas antioxidantes a lo largo del perfil batimétrico. Debido a que prevalecieron condiciones de mezcla en la columna de agua (<30 m de profundidad) en todas las épocas y tres sitios de muestreos no se detectaron diferencias interespecíficas significativas. Es posible que las variaciones intraespecíficas observadas en el presente estudio, reflejen las distintas tolerancias térmicas resultado de la filogenia y distribución biogeográfica y batimétrica para las dos especies del género *Muricea* (subtropicales) y *L. rigida* (tropical y de aguas someras). Se requieren más estudios experimentales, en laboratorio y campo, para definir la tolerancia

térmica, así como la influencia de los cambios estacionales en la productividad primaria (como indicador de alimento) en el metabolismo de los abanicos de mar.

## CONCLUSIONES

- 1) No se detectaron diferencias interespecíficas en la actividad de las enzimas antioxidantes SOD y GPx de los abanicos de mar *L. rigida*, *M. austera* y *M. fruticosa* entre las temporadas, sitios y profundidades de muestreo. Ello sugiere que las tres especies responden de manera semejante a las mismas condiciones ambientales en los arrecifes rocosos.
- 2) La actividad de las enzimas SOD y GPx en *L. rigida* mostró variabilidad intraespecífica, siendo mayor durante las temporadas cálidas (septiembre) y en *M. austera* y *M. fruticosa* durante la época de transición fría-cálida (mayo) en comparación con la época fría (marzo). Estas variaciones posiblemente fueron asociadas con un incremento en la temperatura y radiación UV para *L. rigida* y un incremento en la disponibilidad de alimento en las especies del género *Muricea* que puede resultar en una mayor tasa metabólica propiciando mayor actividad de las enzimas antioxidantes.
- 3) Las tres especies de abanicos de mar azooxantelados recolectados en la Bahía de La Paz tuvieron concentraciones de GSH-Eq por debajo del nivel de detección del método espectrofotométrico (nmol) confirmando que estas especies tienen bajas concentraciones de GSH como se ha reportado en otros cnidarios.
- 4) El daño oxidativo (TBARS) fue significativamente mayor en *Muricea austera* que en *Muricea fruticosa* y *Leptogorgia rigida* sugiriendo diferencias interespecíficas con un posible incremento de la tasa metabólica en la época de mayor disponibilidad de alimento (marzo y mayo 2014).



## BIBLIOGRAFÍA

- Abele, D., B. Burlando, A. Viarengo & H.O. Pörtner. 1998. Exposure to elevated temperatures and hydrogen peroxide elicits oxidative stress and antioxidant response in the Antarctic intertidal limpet *Nacella concinna*. *Comp. Biochem. Phys. Comp. Biochem. Phys. B*, 120:425-435.
- Abele, D., K. Heise, H.O. Pörtner & S. Puntarulo. 2002. Temperature-dependence of mitochondrial function and production of reactive oxygen species in the intertidal mud clam *Mya arenaria*. *J. Exp. Biol.*, 205:1831-1841.
- Abele, D. & S. Puntarulo. 2004. Formation of reactive species and induction of antioxidant defence systems in polar and temperate marine invertebrates and fish. *Comp. Biochem. Phys. Comp. Biochem. Phys. A*, 138:405-415.
- Aburto-Oropeza, O. 2007. El pargo amarillo: depredador de los arrecifes rocosos. *Biodiversitas*, 73:8-11.
- Aburto-Oropeza O., B. Erisman, V. Valdez-Ornelas, G. Danemann, E. Torreblanca-Ramírez, J. Silva-Ramírez & G. Ortuño-Manzanarez. 2008. Serránidos de importancia comercial del Golfo de California: ecología, pesquerías y conservación. *Ciencia y Conservación*, 2009(1):1-23.
- Alderslade, P. 1984. *Subclass alcyonaria*. 45-48. En: P. Mather & I. Bennett (Eds.). *A coral reef handbook: A Guide to the Fauna, Flora and Geology of Heron Island and Adjacent Reefs and Cays*. The Australian coral reef society, Brisbane.
- Alderslade, P. & C.S. McFadden. 2011. A new sclerite-free genus and species of *Clavulariidae* (Coelenterata: Octocorallia). *Zootaxa*, 3104: 64-68.
- Alves de Almeida E. & P. Di Mascio. 2011. *Hypometabolism and antioxidative defense systems in marine invertebrates*. 39-55. En: A. Nowakowska & M. Caputa. (Eds). *Hypometabolism: Strategies of Survival in Vertebrates and Invertebrates*. Research Signpost, Kerala, India.
- Andersen, M.E. 1985. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. *Method. Enzymol.*, 113: 548-555.
- Argote, M.L., A. Amador, M.F. Lavín & J.R. Hunter. 1995. Tidal dissipation and wind stress in the Gulf of California. *J. Geophys. Res.*, 100:16103-16118.
- Armstrong, D. & R. Browne. 1994. The analysis of free radicals, lipid peroxides, antioxidant enzymes and compounds to oxidative stress applied to the clinical chemistry laboratory. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 366: 43-58.

- Asada, K & M. Takahashi. 1987. *Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis*. 228-87. En: D.J. Kyle, C.B. Osmond y C.J. Arntzen (Eds.), *Photoinhibition*. Elsevier, Amsterdam.
- Boveris, A., M.G. Repetto, A.D. Boveris & L.B. Valdéz. 2008. *Determinación del estrés oxidativo en seres humanos en situaciones clínicas*. 319-328. En: M. Konigsberg-Fainsten (Ed.). *Radicales libres y estrés oxidativo: Aplicaciones médicas*. Manual Moderno, México, D.F.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Bioch.*, 72: 248-254.
- Brockington, S. & A. Clarke. 2001. The relative influence of temperature and food on the metabolism of a marine invertebrate. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 258:87-99.
- Buddemeier R.W., J.A Kleypas & R.B. Aronson. 2004. *Coral Reefs & Global Climate Change: Potential Contributions of Climate Change to Stresses on Coral Reefs Ecosystems*. Pew Center on Global Climate Change. Arlington, Virginia, USA. 42p.
- Cárdenas-Rodríguez, N., O.N. Medina-Campos & J. Pedraza-Chaverrí. 2008. *Glutación peroxidasa: Una familia de enzimas*. 201-217. En: M. Konigsberg-Fainstein (Ed.). *Radicales libres y estrés oxidativo: Aplicaciones médicas*. Manual Moderno, México, D.F.
- Celis de la Rosa, A.J. & V. Labrada-Martagón. 2014. *Bioestadística*. Manual Moderno, México D. F., 338p.
- Cerrano, C., & G. Bavestrello. 2008. Medium-term effects of die-off rocky benthos in the Linguraun Sea. What can we learn from gorgonians? *Chem. Ecol.*, 24 (S1): 73-82.
- Cervantes-Duarte, R., G. Verdugo-Díaz & J.E. Váldez-Holguín. 2005. Modelo estacional de producción primaria estimada mediante fluorescencia en una región costera del Golfo de California, México. *Hidrobiológica*, 15(1): 79-87.
- Clarke, A. 1983. Life in cold water: the physiological ecology of polar marine ectotherms. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.*, 21:341-453.
- Clarke, A. 2003. Costs and consequences of evolutionary temperature adaptation. *Trends Ecol. Evol.*, 18(11):573-581.
- Coria-Monter, E., M.A. Monreal-Gómez, D.A. Salas de León, J. Aldeco-Ramírez & M. Merino-Ibarra. 2014. Differential distribution of diatoms and dinoflagellates in a cyclonic eddy confined in the Bay of La Paz, Gulf of California. *J. Geophys. Res. Oceans.*, 119, doi: 10.1002/2014JC009916.

- Couch, C.S., L. D. Mydlarz & C. D. Harvell & N. L. Douglas. 2008. Variation in measures of immunocompetence of sea fan coral, *Gorgonia ventalina*, in the Florida Keys. *Mar. Biol.*, 155: 281–292.
- Crawley, M.J. 2007. The R Book. John Wiley and Sons Ltd., England, 903p.
- Dalsgaard, J., M. St.John, G. Kattner, D. Müller-Navarra & W. Hagen. 2003. Fatty acid trophic markers in the pelagic marine environment. *Adv. Mar. Biol.*, 46:225-340.
- De Silva-Dávila, R. 1997. *Abundancia y distribución de los eufásidos y producción larvaria de Nyctiphanes simplex Hansen, en la Bahía de La Paz, B.C.S., México*. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituto Politécnico Nacional, La Paz, Baja California Sur, México. 112p.
- De Zoysa, M., I. Whang, Y. Lee, S. Lee, J.S. Lee, & J. Lee. 2009. Transcriptional analysis of antioxidant and immune defense genes in disk abalone (*Haliotis discus discus*) during thermal, low-salinity and hypoxic stress. *Comp. Biochem. Phys. B.*, 154(4):387-395.
- Douglas, A.E. 2003. Coral Bleaching-how and why? A review. *Mar. Pollut. Bull.*, 46: 385-392.
- Downs, C.A., J.E. Fauth & C.M. Woodley. 2001. Assessing the health of grass shrimp (*Palaeomonetes pugio*) exposed to natural and anthropogenic stressors: A molecular biomarker system. *Mar. Biotechnol.*, 3(4): 380-397.
- Downs, C.A., E. Mueller, S. Phillips, J.E. Fauth & C.M. Woodley. 2000. A molecular biomarker system for assessing the health of coral *Montastraea faveolata* during heat stress. *Mar. Biotechnol.*, 2: 533–544.
- Downs, C.A., J.E. Fauth, J.C. Halas, P. Dustan, J. Bemiss & C.M. Woodley. 2002. Oxidative stress and seasonal coral bleaching. *Free Radical Bio. Med.*, 33 (4): 533-543.
- Ellner, S.E., L.E. Jone, L.D. Mydlarz & C.D. Harvell. 2007. Within-host disease ecology in the sea fan *Gorgonia ventalina*: Modeling the spatial immunodynamics of a coral-pathogen interaction. *Am. Nat.*, 170(6):143-161.
- Fabricius, K. 1999 Tissue loss and mortality in soft corals following mass-bleaching. *Coral Reefs*, 18:54.
- Fabricius, K. & P. Alderslade. 2001. Soft corals and sea fans: a comprehensive guide to the tropical shallow water genera of the central-west Pacific, the Indian Ocean and Red Sea. Australian of Marine Science. Townsville MC, Queensland, Australia. 264p.
- Fariss, M.W., & D.J. Reed. 1987. High-performance liquid chromatography of thiols and disulfides: dinitrophenol derivatives. *Method. Enzymol.*, 143:101-109.

- Fernández-Checa, J.C. & C. García-Ruiz. 2008. *Glutathión*. 253-267. En: M. Konigsberg-Fainstein (Ed). Radicales libres y estrés oxidativo: Aplicaciones médicas. Manual Moderno, México, D.F.
- Ferrier-Pagès, C., E. Tambutté, T. Zamoum, N. Segonds, M. Pierre-Laurent, N. Bensoussan, D., Allemand, J. Garrabou, & S. Tambutté. 2009. Physiological response of the symbiotic gorgonian *Eunicella singularis* to a long-term temperature increase. *J. Exp. Biol.*, 212: 3007-3015.
- Flohé, L. & W.A. Günzler. 1984. Assays for glutathione peroxidase. *Method. Enzymol.*, 105: 114-120.
- Forman, H.J., O. Augusto, R. Brigelius-Flohe, P.A. Dennery, B. Kalyanaraman, H. Ischiropoulos, G.E. Mann, R. Radi, L.J. Roberts II, J. Vina & K.J.A. Davies. 2015. Even free radicals should follow some rules: A guide to free radical research terminology and methodology. *Free Radical Bio. Med.*, 78:233-235.
- Furla, P., D. Allemand, J.M. Shick, C. Ferrier-Pagès, S. Richier, A. Plantivaux, P.L. Merle & S. Tambutté. 2005. The symbiotic Anthozoan: A physiological chimera between alga and animal. *Integr. Com. Biol.*, 45: 595-604.
- Gamero-Huayhua, D.A. 2014. *Patrones de distribución, riqueza y densidad de abanicos de mar (Cnidaria: Octocorallia) en el Golfo de California, México durante los años 2009 y 2010*. Tesis de Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú. 73 p.
- Gerschman, R., D.L. Gilbert, S.W. Nye, P. Dwyer & W.O. Fenn. 1954. Oxygen poisoning and X-irradiation: a mechanism in common. *Science*, 119:4562-70.
- Glynn, P.W. 1991. Coral reef bleaching in the 1980s and possible connections with global warming. *Trends Ecol. Evol.*, 6:175-179.
- Glynn, P.W. 2001. A collection of studies on the effects of the 1997-98 El Niño-southern oscillation events on corals and corals reef in the Eastern Pacific. *B. Mar. Sci.*, 69: 1-288.
- Gómez-Quiroz, L.E. & D.B. Cuevas-Bahena. 2008. *Superóxido dismutasa*. 169-182. En: M. Konigsberg-Fainstein (Ed.). Radicales libres y estrés oxidativo: Aplicaciones médicas. Manual Moderno, México, D.F.
- Goulet, T.M., T.C. LaJeunesse & K.E. Fabricius. 2008. Symbiont specificity and bleaching among soft corals in the 1998 Great Barrier Reef mass coral bleaching event. *Mar Biol.* 154(5): 795-804.
- Griffith, O. W. 1980. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. *Anal. Bioch.*, 106(1): 207-212.
- Guevara-Guillen, C. 2011. Hidrografía en Bahía de La Paz y zona oceánica adyacente (2009). Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias



- Marinas, Instituto Politécnico Nacional, La Paz, Baja California Sur, México. 152p.
- Gutteridge, J. M. 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin. Chem.*, 41(12): 1819-1828.
- Halliwell, B. B. 2005. Free radicals and other reactive species in disease. *eLS.*, 1-7.
- Halliwell, B. B. 2006. Reactive species and antioxidants. Redox Biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol.*, 141: 312-322.
- Halliwell, B. B. & M. Whiteman. 2004. Measuring reactive species and oxidative damage *in vivo* and in cell culture. How should you do it and what do the results mean? *Brit. J. Pharmacol.*, 142: 231-255.
- Halliwell, B. B. & H.E. Poulsen. 2006. *Oxidative stress*. 1-4. En: B.B. Halliwell & H.E. Poulsen (Eds.). *Cigarette Smoke and Oxidative Stress*. Springer, Germany.
- Halliwell, B. B. & J.M.C.Gutteridge. 2007. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press. New York. 936 p.
- Hansberg-Torres, W. 2008. *El dioxígeno y sus especies reactivas*. 25-46. En: M. Konigsberg-Fainstein (Ed.). *Radicales libres y estrés oxidativo: Aplicaciones médicas*. Manual Moderno, México, D.F.
- Harvell, C.D., K. Mullen & E. Peters. 2002. Climate warming and disease risks for terrestrial and marine biota. *Science*, 296: 2158-2162
- Harvell, C.D., K. Kim, C. Quirolo, J. Weir & G.W. Smith. 2001. Coral bleaching and disease: Contributors to 1998 mass mortality in *Briareum asbestinum* (Octocorallia, Gorgonacea). *Hydrobiology*, 460: 97-104.
- Hermes-Lima, M. 2004. *Oxygen in biology and biochemistry: Role of free radicals*. 319-368. En: K.B. Storey (Ed). *Functional Metabolism: Regulation and Adaptation*. John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, New Jersey.
- Hermes-Lima, M. & K. B. Storey .1993. Antioxidant defenses in the tolerance of freezing and anoxia by garter snakes. *Am. J. Physiol.-Reg. I.*, 265(3): R646-R652.
- Hermes-Lima, M. & T. Zenteno-Savín. 2002. Animal response to drastic changes in oxygen availability and physiological oxidative stress. *Comp. Biochem. Phys. C*, 133(4): 537-556.
- Hernández-González, O. 2014. *Abanicos de mar del género Leptogorgia (Octocorallia: Gorgonidae) del Pacífico Mexicano y Golfo de California: Variaciones intraespecíficas y ámbito geográfico*. Tesis de Maestría. Centro

Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituto Politécnico Nacional, La Paz, Baja California Sur, México. 168p.

- Hidalgo-González, R.M. & S. Álvarez-Borrego. 2001. Chlorophyll profiles and the water column structure in the Gulf of California. *Oceanologica Acta*, 24(1): 19-28.
- Hill, R.W., G.A. Wyse & M. Anderson. 2012. *Animal Physiology*. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts. 985 p.
- Hoegh-Guldberg, O. 1999. Climate change, coral bleaching and the future of the world's coral reefs. *Mar. Freshwater R.*, 50(8): 839-866.
- Hoegh-Guldberg, O., P.J. Mumby, A.J. Hooten, R.S. Steneck, P. Greenfield, E. Gómez, C.D. Harvell, P.F. Sale, A.J. Edwards, K. Caldeira, N. Knowlton, C.M. Eakin, R. Iglesias-Prieto, N. Muthiga, R.H. Bradbury & M.E. Hatzitolos. 2007. Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. *Science*, 318(5857): 1737-1742.
- Imbs, A.B., N.A. Latyshev, N.V. Zhukova & T.N. Dautova. 2007. Comparison of fatty acid compositions of azooxanthellate *Dendronephthya* and zooxanthellate soft coral species. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 148: 314-321.
- Imbs, A.B., D.A. Demidkova, T. N. Dautova & N.A. Latyshev. 2009. Fatty Acid biomarkers of symbionts and unusual inhibition of tetracosapolyenoic acid biosynthesis in corals (Octocorallia). *Lipids*, 44: 325-335.
- Jiménez-Illescas A.R., M. Obeso-Nieblas., M. Alatorre-Mendieta & S. Troyo-Dieguez. 1994. Hidrología de la Bahía de La Paz. *Oceanol.* 1(2): 115-131.
- Kirk, N.L., J.R. Ward & M.A. Coffroth. 2005. Stable *Symbodinium* composition in the sea fan *Gorgonia ventalina* during temperature and disease stress. *Biol. Bull.*, 209 (3): 227-234.
- Johannes, R.E. & W.J. Wiebe. 1970. Method for determination of coral tissue biomass and composition. *Limnol. Oceanogr.*, 15: 822-824.
- Konigsberg-Fainstein, M. 2008. *Cadena respiratoria mitocondrial*. 49-59. En: M. Konigsberg-Fainstein (Ed). Radicales libres y estrés oxidativo: Aplicaciones médicas. Manual Moderno, México, D.F.
- Labrada-Martagón, V., L. Méndez-Rodríguez, M. Mangel & T. Zenteno-Savín. 2013. Applying generalized linear models as an explanatory tool of sex steroids, thyroid hormones and their relationship with environmental and physiological factors in immature East Pacific Green sea turtles (*Chelonia mydas*). *Comp. Biochem. Phys. A*, 166: 91-100.
- Lavarías, S., H. Heras, N. Pedrini, H. Tournier, M. Ansaldo. 2011. Antioxidant and oxidative stress levels in *Macrobrachium Borelli* (Crustacea: Palaemonidae)

- exposed to the water-soluble fraction of petroleum. *Comp. Biochem. Phys. C*, 153(4): 415-421.
- Lesser, M.P. 1996. Action spectrum for the effects of UV radiation on photosynthesis in the hermatypic coral *Pocillopora damicornis*. *Mar. Ecol. - Prog. Ser.*, 134: 171-177.
- Lesser, M.P. 2004. Experimental coral reef biology. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 300: 217-252.
- Lesser, M.P. 2006. Oxidative stress in marine environments: Biochemistry and Physiological Ecology. *Annu. Rev. Physiol.*, 68: 253-278.
- Lesser, M.P. 2011. *Oxidative stress in tropical marine ecosystems*. 9-19. En: D. Abele, J.P. Vázquez-Medina, T. Zenteno-Savín. (Eds). *Oxidative Stress in Aquatic Ecosystems*. John Wiley & Sons. Malden, Mass, USA.
- Levy, O., Y. Achituv, Y.Z. Yacobi, N. Stambler & Z. Dubinsky. 2006. The impact of spectral composition and light periodicity on the activity of two antioxidant enzymes (SOD and CAT) in the coral *Favia fava*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 328: 35-46.
- Liñán-Cabello, M.A., L.A. Flores-Ramírez, T. Zenteno-Savín, N.O. Olgún-Monroy, R. Sosa-Avalos, M. Patiño-Barragán & A. Olivos-Ortíz. 2010. Seasonal changes of antioxidant and oxidative parameters in the coral *Pocillopora capitata* on the Pacific coast of Mexico. *Mar. Ecol.*, 31(3): 407-417.
- McFadden, C. S., S.C. France, J.A. Sánchez & P. Alderslade. 2006. A molecular phylogenetic analysis of the Octocorallia (Cnidaria: Anthozoa) based on mitochondrial protein-coding sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 41: 513-527.
- McFadden, C.S., J.A. Sánchez & S.C. France. 2010. Molecular phylogenetic insights into the evolution of Octocorallia: A review. *Integr. Comp. Biol.*, 50 (3): 389-410.
- Middlebrook, R., O. Hoegh-Guldberg & W. Leggat. 2008. The effect of thermal history on the susceptibility of reef-building corals to thermal stress. *J. Exp. Biol.*, 211: 1050-1056.
- Miller, N., C. Rice-Evans & M.K. Davies. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin. Sci.*, 84: 407-412.
- Miranda, L.D. 2008. *Química de los radicales libres*. 3-21. En: M. Konigsberg-Fainstein (Ed.). *Radicales libres y estrés oxidativo: Aplicaciones médicas*. Manual Moderno, México, D.F.
- Mitchelmore, C.L., C. Birmelin, J.K. Chipman & D.R. Livingstone. 1998. Evidence for cytochrome P-450 catalysis and free radical involvement in the production

- of DNA strand breaks by benzo [a] pyrene and nitroaromatics in mussel (*Mytilus edulis* L.) digestive gland cells. *Aquat. Toxicol.*, 41(3): 193-212.
- Mopper, K. & D.J. Kieber. 2000. *Marine photochemistry and its impact on carbon cycling*. 101-130. En: The effects of UV Radiation in Marine Environment. S. De Mora, S. Demers, M. Verne (Ed). Cambridge University Press. Cambridge, UK.
- Morales, A.E, A. Pérez-Jiménez, M. Furné & H. Guderley. 2012. *Starvation, energetics, and antioxidant defenses*. 281-293. En: D. Abele, J.P. Vázquez-Medina, T. Zenteno-Savín. (Eds). *Oxidative Stress in Aquatic Ecosystems*. John Wiley & Sons. Malden, Mass, USA.
- Mydlarz, L.D. & R.S. Jacobs. 2006. An inducible release of reactive oxygen radicals in four species of gorgonian corals. *Mar. Freshwater Behav. Phys.*, 39: 143-152.
- Mydlarz, L.D. & C.D. Harvell. 2007. Peroxidase activity and inducibility in the sea fan coral exposed to a fungal pathogen. *Comp. Biochem. Phys. A*, 146: 54-62.
- Mydlarz, L., S. Holthouse, E. Peters & C. Harvell. 2008. Cellular responses in sea fan corals: granular amoebocytes react to pathogen and climate stressors. *Plos ONE*, 3: e1811.
- Netherton, S.E., D.M. Scheer, P.R. Morrison, A.P. Parrin & N.W. Blackstone. 2014. Physiological correlates of symbiont migration during bleaching of two octocorales species. *J. Exp. Biol.*, 217: 1469-1477.
- Obeso-Nieblas M., B., Shirasago, L., Sánchez-Velasco & J.H., Gaviño-Rodríguez. 2004. Hydrographic variability in Bay of La Paz, BCS, Mexico, during the 1997-1998 El Niño. *Deep-Sea Res. Pt. II.*, 51: 689-710.
- Obeso-Nieblas M., J.H. Gaviño-Rodríguez, H. Obeso-Huerta & S.I. Muñoz-Casillas. 2014. Variabilidad espacial termohalina, masas de agua y circulación geostrofica en Bahía de La Paz, Golfo de California. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.*, 49 (3): 413:426.
- Olano, C.T & C.H. Bigger. 2000. Phagocytic activities of the gorgonian coral *Swiftia exserta*. *J. Invertebr. Pathol.*, 76(3):176-184.
- Parrin, A. P., K.L. Harmata, S.E. Netherton, M.A. Yaeger, L.S. Bross, & N.W. Blackstone. 2012. Within-colony migration of symbionts during bleaching of octocorals. *Biol. Bull.*, 223: 245-256.
- Peraza-Reyes, L. 2008. *Catalasa*. 183-200. En: M. Konigsberg-Fainstein (Ed.). *Radicales libres y estrés oxidativo: Aplicaciones médicas*. Manual Moderno, México, D.F.

- Pernet, V., V. Gavino, G. Gavino & M. Anctil. 2002. Variations of lipid and fatty acid contents during the reproductive cycle of the anthozoan *Renilla koellikeri*. *J. Comp. Physiol. B.*, 172: 455-465.
- Persky, A.M., P.S. Green, L. Stuble, C.O. Howell, L. Zaulyanov, G.A. Brzaeau & J.W. Simpkins. 2000. Protective effect of estrogens against oxidative damage to heart and skeletal muscle *in vivo* and *in vitro*. *P. Soc. Exp. Biol. Med.*, 223: 59-66.
- Pey, A., T. Zamoum, D. Allemahd, P. Furla & P.L. Merle. 2011. Depth dependent thermotolerance of the symbiotic Mediterranean gorgonian *Eunicea singularis*. Evidence for cellular stress markers. *Mar. Biol. Ecol.*, 404: 73-78.
- Pörtner, H.O. 2002. Climate variations and the physiological basis of temperature dependent biogeography: systemic to molecular hierarchy of thermal tolerance in animals. *Comp. Biochem. Phys. A*, 132: 739-761.
- Previati, M., A. Scinto, C. Cerrano & R. Osinga. 2010. Oxygen consumption in Mediterranean octocorals under different temperatures. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 390: 39-48.
- Ramos-Vasconcelos, G.R. & M. Hermes-Lima. 2003. Hypometabolism, antioxidant defenses and free radical metabolism in the pulmonate land snail *Helix aspersa*. *J. Exp. Biol.*, 206(4): 675-685.
- R Core Team. 2014. R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Reed, K.C., E. M. Muller & R. Van Woesik. 2010. Coral immunology and resistance to disease. *Dis. Aquat. Organ.*, 90: 85-92.
- Reyes-Salinas, A., R. Cervantes-Duarte, R.A. Morales-Pérez & J.E. Valdez-Holguín. 2003. Variabilidad estacional de la productividad primaria y su relación con la estratificación vertical en la Bahía de La Paz, B.C.S. *Hidrobiológica*, 13(2): 103-110.
- Ribes, M., R., Coma, & S., Rossi. 2003. Natural feeding of temperate asymbiotic octocoral-gorgonian *Leptogorgia sarmentosa* (Cnidaria: Octocorallia). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 254: 141-150.
- Rice-Evans, C. & N. Miller. 1994. Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Method. Enzymol.*, 234(24): 279-293.
- Richier, S., P.L. Merle, P. Furla, D. Pigozzi, F. Sola & D. Allemand. 2003. Characterization of superoxide dismutase in anoxia- and hyperoxia-tolerant symbiotic cnidarians. *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subjects*, 1621(1): 84-91.
- Richier, S., J-H. Cottalorda, M.M.M. Guillaume, C. Fernández, D. Allemand & P. Furla. 2008. Depth-dependent response to light of the reef building coral,

- Pocillopora verrucosa*: Implication of oxidative stress. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 357: 48-56.
- Rodríguez, A.D. & M.O. Cobar. 1995. The briarellins, new eunicellin-based diterpenoids from a Caribbean gorgonian, *Briareum asbestinum*. *Tetrahedron*, 51: 6869-6880
- Rossi, S., M. Ribes, R. Coma & J.M. Gili. 2006. Temporal variability in zooplankton prey capture rate of the passive suspension feeder *Leptogorgia sarmentosa* (Cnidaria: Octocorallia), a case study. *Mar. Biol.*, 144: 89-99.
- Ruppert, E.E. & R.D. Barnes. 1996. Zoología de los invertebrados. McGraw-Hill Interamericana. México. 1114pp.
- Sánchez, J.A., H.R. Lasker & D.J. Taylor. 2003. Phylogenetic analyses among octocorals (Cnidaria): mitochondrial and nuclear DNA sequences (lsu-rRNA, 16S and ssu-rRNA, 18S) support two convergent clades of branching gorgonians. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 29: 31-42.
- Sánchez-Ortíz, C.A. 2004a. Inventario de los octocorales (abanicos de mar, corales blandos y plumas de mar) del Pacífico Mexicano y Golfo de California. SEMARNAT-2004-01-445 (informe final de investigación).
- Sánchez-Ortíz, C.A. 2004b. Variabilidad espacial de la abundancia y distribución, y los patrones biogeográficos de los octocorales del Pacífico Mexicano y el Golfo de California. SEMARNAT-2004-01-445 (informe final de investigación).
- Sánchez-Ortíz, C.A. 2010. *Zonas de vida*. 107-119. En: O. Aburto-Oropeza, M. Caso, B. Erisman & E. Ezcurra (Eds). Bitácora del mar profundo. Una expedición por el Golfo de California. Instituto Nacional de Ecología, UC Mexus & Scripps Institution of Oceanography, México.
- Shick, J.M., M.P. Lesser, W.C. Dunlap, W.R. Stochaj, B.E. Chalker & J Wu Won. 1995. Depth-dependent responses to solar ultraviolet radiation and oxidative stress in the zooxanthellate coral *Acropora microphthalma*. *Mar. Biol.*, 122: 41-51.
- Sies, H. 1985. *Introductory remarks*. 1-8. En: Sies H (Ed.) Oxidative stress. Academic Press., London.
- Sies, H. 1986. Biochemistry of oxidative stress. *Angew. Chem. Int. Edit.*, 25 (12):1058-1071.
- Sunagawa, S., J. Choi, H.J. Forman & M. Medina. 2008. Hyperthermic stress-induced increase in the expression of glutamate-cysteine ligase and glutathione levels in the symbiotic sea anemone *Aiptasia pallida*. *Comp. Biochem. Phys. B*, 151(1): 133-138.

- Suzuki, K. 2000. *Measurement of Mn-SOD and Cu, Zn-SOD*. 91-95. En: N. Taniguchi & J. Gutteridge (Eds.) *Experimental protocols for reactive oxygen and nitrogen species*. Oxford University Press, U.K.
- Tapley, D.W., G.R. Buettner & J.M. Shick. 1999. Free radicals and chemiluminescence as products of the spontaneous oxidation of sulfide in seawater, and their biological implications. *Biol. Bull.* 196: 52-56.
- Teixeira, T., M. Diniz, R. Calado & R. Rosa. 2013. Coral physiological adaptations to air exposure: Heat shock and oxidative stress responses in *Veretillum cynomorium*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 439: 35-41.
- Tietze, F. 1969. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. *Anal. Bioch.*, 27(3): 502-522.
- Toledo-Hernández, C., V. Gulis, C.P. Ruíz-Díaz, A.M. Sabat & P. Bayman. 2012. When *aspergillosis* hits the fan: disease transmission and fungal biomass in diseased versus healthy sea fans (*Gorgonia ventalina*). *Fungal Ecol.*, 6(2): 161-167.
- Torrents, O., E. Tambutté, N. Caminiti & J. Garrabou. 2008. Upper thermal thresholds of shallow vs. deep populations of the precious Mediterranean red coral *Corallium rubrum* (L.): Assessing the potential effects of warming in the NW Mediterranean. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 357: 7-19.
- Valdez-Holguín, J.E., S. Álvarez-Borrego & C.C. Trees. 1999. Seasonal and spatial characterization of the Gulf of California phytoplankton photosynthetic parameters. *Cienc. Mar.*, 25: 445-467.
- van Oppen, M.J.H., J.C. Mieog, C.A. Sánchez-Ortíz & K.E. Fabricius. 2005. Diversity of algal endosymbionts (zooxanthellae) in octocorals: the roles of geography and host relationships. *Mol. Ecol.*, 14: 2403-2417.
- Velasco-García, J.A. 2009. *Ambientes geológicos costeros del litoral de la Bahía de La Paz, Baja California Sur, México*. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituto Politécnico Nacional, La Paz, Baja California Sur, México. 70p.
- Verdugo-Díaz, G. 2004. *Respuesta ecofisiológica del fitoplancton ante la variabilidad ambiental en una Bahía subtropical de Baja California Sur, México*. Tesis de Doctorado. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituto Politécnico Nacional, La Paz, Baja California Sur, México. 138p.
- Veron, J.E.N. 1995. *Corals in Space and Time*. University of New South Wales Press, Sydney, 321p.
- Wang, W. N., J. Zhou, P. Wang, T.T. Tian, Y. Zheng, Y. Liu, W.J Mai, & A.L. Wang. 2009. Oxidative stress, DNA damage and antioxidant enzyme gene

expression in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* when exposed to acute pH stress. *Comp. Biochem. Phys. C*, 150(4): 428-435.

Weis, V. M. 2008. Cellular mechanisms of Cnidarian bleaching: stress causes the collapse of symbiosis. *J. Exp. Biol.*, 211(19): 3059-3066.

Wilkinson, C.R. 2000. Status of Coral Reefs of the World: 2000. Global Coral Reef Monitoring Network and Australian Institute of Marine Science, Townsville, Australia, 363p.

Wilkinson, C.R. 2002. Status of Coral Reefs of the World: 2002. *Global Coral Reef Monitoring Network and Australian Institute of Marine Science*, Townsville, Queensland, Australia, 378p.

Yagi, K. 1998. Simple assay for the level of total lipid peroxides in serum or plasma. *Meth. Mol. Biol.*, 108: 101-106.

Zar, J.H. 1999. Biostatistical analysis. Prentice Hall. New Jersey. 663 p.

Zenteno-Savín, T & Y. Saldaña-Balmori. 2008. *Daño a lípidos*. 135-146. En: M. Konigsberg-Fainstein (Ed.). Radicales libres y estrés oxidativo: Aplicaciones médicas. Manual Moderno, México, D.F.

Zuur, A.F., E.N. Ieno, N.J. Walker, A.A. Saveliev & G.M. Smith. 2009. Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R. Springer. New York. 574p.



**Anexo 1.** Valores de mediana y percentiles (25% y 75%) de peroxidación de lípidos (TBARS, nmol TBARS mg<sup>-1</sup> proteína), actividad de las enzimas glutatión peroxidasa (GPx, U GPx mg<sup>-1</sup> proteína) y superóxido dismutasa (SOD, U SOD mg<sup>-1</sup> proteína) durante la temporada de septiembre 2013 en tres especies de abanicos de mar (*Leptogorgia rigida*, *Muricea austera* y *Muricea fruticosa*) y en tres localidades de muestreo (Los Islotes, Punta Lobos y San Rafaelito) de la Bahía de La Paz.

Temporada	Especie	Localidad	TBARS nmol TBARS mg <sup>-1</sup> proteína	GPx U GPx mg <sup>-1</sup> proteína	SOD U SOD mg <sup>-1</sup> proteína
septiembre 2013	<i>L. rigida</i>	LI	0.760±0.507,1.916	1.690±0.091,1.800	6.640±2.737,76.530
	<i>M. austera</i>	LI	4.320±0.399,22.433	5.400±2.966,5.527	214.240±48.741,279.548
	<i>M. fruticosa</i>	LI	4.600±1.308,24.190	5.070±4.316,5.789	29.110±11.692,51.105
	<i>L. rigida</i>	PL	2.780±2.694,5.487	2.520±1.790,3.569	22.520±8.777,58.168
	<i>M. austera</i>	PL	25.670±21.379,31.627	3.750±3.458,4.343	157.430±91.899,244.659
	<i>M. fruticosa</i>	PL	2.220±1.341,6.983	1.620±1.066,2.488	20.690±18.460,29.791
	<i>L. rigida</i>	SR	12.940±5.913,37.384	4.570±1.884,5.378	437.800±254.735,937.497
	<i>M. austera</i>	SR	17.010±10.289,85.246	6.700±4.954,7.560	246.630±71.479,323.828
	<i>M. fruticosa</i>	SR	11.650±ND	3.370±ND	493.120±ND

mediana±25%,75% percentil, ND=no hay datos, LI=Los Islotes, PL=Punta Lobos, SR=San Rafaelito

**Anexo 2.** Valores de mediana y percentiles (25% y 75%) de peroxidación de lípidos (TBARS, nmol TBARS mg<sup>-1</sup> proteína), actividad de las enzimas glutatión peroxidasa (GPx, U GPx mg<sup>-1</sup> proteína) y superóxido dismutasa (SOD, U SOD mg<sup>-1</sup> proteína) durante la temporada de marzo 2014 en tres especies de abanicos de mar (*Leptogorgia rigida*, *Muricea austera* y *Muricea fruticosa*) y en tres localidades de muestreo (Los Islotes, Punta Lobos y San Rafaelito) de la Bahía de La Paz.

Temporada	Especie	Localidad	TBARS nmol TBARS mg <sup>-1</sup> proteína	GPx U GPx mg <sup>-1</sup> proteína	SOD U SOD mg <sup>-1</sup> proteína
marzo 2014	<i>L. rigida</i>	LI	4.680±1.597, 5.582	1.520±0.850, 2.796	93.760±66.355, 130.565
	<i>M. austera</i>	LI	17.850±17.163, 23.761	2.460±1.341, 2.970	59.220±44.392, 76.402
	<i>M. fruticosa</i>	LI	4.160±2.207, 4.265	3.820±3.174, 4.159	382.040±90.843, 592.389
	<i>L. rigida</i>	PL	5.120±4.358, 6.290	1.660±1.016, 2.639	205.230±13.831, 235.686
	<i>M. austera</i>	PL	26.870±26.499, 29.584	1.430±1.238, 2.301	207.750±183.055, 562.932
	<i>M. fruticosa</i>	PL	3.810±3.568, 4.453	3.010±1.576, 3.213	98.510±38.896, 243.045
	<i>L. rigida</i>	SR	7.480±5.472, 13.652	1.670±0.948, 2.181	156.130±152.538, 511.938
	<i>M. austera</i>	SR	28.590±13.663, 41.839	1.610±1.530, 1.626	275.830±155.024, 301.732
	<i>M. fruticosa</i>	SR	6.630±4.179, 13.015	0.770±0.582, 1.490	384.010±237.025, 649.856

mediana±25%,75% percentil, LI=Los Islotes, PL=Punta Lobos, SR=San Rafaelito

**Anexo 3.** Valores de mediana y percentiles (25% y 75%) de peroxidación de lípidos (TBARS, nmol TBARS mg<sup>-1</sup> proteína), actividad de las enzimas glutatión peroxidasa (GPx, U GPx mg<sup>-1</sup> proteína) y superóxido dismutasa (SOD, U SOD mg<sup>-1</sup> proteína) durante la temporada de mayo 2014 en tres especies de abanicos de mar (*Leptogorgia rigida*, *Muricea austera* y *Muricea fruticosa*) y en tres localidades de muestreo (Los Islotes, Punta Lobos y San Rafaelito) de la Bahía de La Paz.

Temporada	Especie	Localidad	TBARS nmol TBARS mg <sup>-1</sup> proteína	GPx U GPx mg <sup>-1</sup> proteína	SOD U SOD mg <sup>-1</sup> proteína
marzo 2014	<i>L. rigida</i>	LI	7.670±6.824, 8.510	1.300±0.544, 1.385	833.220±671.928, 1113.829
	<i>M. austera</i>	LI	24.270±19.144, 36.285	2.440±1.833, 3.678	218.050±172.041, 784.431
	<i>M. fruticosa</i>	LI	4.470±1.870, 8.942	4.310±2.011, 6.326	274.620±179.489, 1312.321
	<i>L. rigida</i>	PL	4.020±3.374, 5.866	1.710±1.335, 2.408	135.390±64.266, 180.067
	<i>M. austera</i>	PL	32.830±15.975, 86.103	2.310±2.202, 2.649	170.250±108.339, 301.238
	<i>M. fruticosa</i>	PL	0.860±0.764, 6.810	2.310±1.925, 3.763	297.080±102.633, 389.662
	<i>L. rigida</i>	SR	2.080±1.850, 5.717	1.360±1.205, 1.404	152.630±93.640, 741.840
	<i>M. austera</i>	SR	46.650±11.627, 89.899	27.360±5.680, 42.541	814.530±28.437, 1300.323
	<i>M. fruticosa</i>	SR	20.240±16.218, 22.610	15.070±7.773, 24.930	839.620±507.172, 1357.061

mediana±25%,75% percentil, LI=Los Islotes, PL=Punta Lobos, SR=San Rafaelito