



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS



**EFFECTO DE LA CONTAMINACIÓN POR
METALES PESADOS EN *Chione undatella* (G. B.
Sowerby I, 1835) DEL PUERTO MINERO DE
SANTA ROSALÍA, BAJA CALIFORNIA SUR,
MÉXICO**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORADO EN CIENCIAS MARINAS**

PRESENTA:

CE ACATL ARCE PEINADO

LA PAZ, B.C.S., DICIEMBRE, 2019



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

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 03 del mes de Diciembre del año 2019

El (la) que suscribe M en C. CE ACATL ARCE PEINADO Alumno (a) del Programa
DOCTORADO EN CIENCIAS MARINAS

con número de registro B150201 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

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

DR. MARCIAL ARELLANO MARTÍNEZ Y DRA. BERTHA PATRICIA CEBALLOS VÁZQUEZ

y cede los derechos del trabajo titulado:

"EFECTO DE LA CONTAMINACIÓN POR METALES PESADOS EN *Chione undatella*

(G.B. Sowerby I, 1835) DEL PUERTO MINERO DE SANTA ROSALÍA, 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: peinado.ceacatl@gmail.com - bpceballos@gmail.com - arellano.marcial@gmail.com

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


M en C. CE ACATL ARCE PEINADO

Nombre y firma del alumno



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS



**EFFECTO DE LA CONTAMINACIÓN POR
METALES PESADOS EN *Chione undatella* (G. B.
Sowerby I, 1835) DEL PUERTO MINERO DE
SANTA ROSALÍA, BAJA CALIFORNIA SUR,
MÉXICO**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORADO EN CIENCIAS MARINAS**

PRESENTA:

CE ACATL ARCE PEINADO

LA PAZ, B.C.S., DICIEMBRE, 2019

A mi familia

¡Gracias!

AGRADECIMIENTOS

Al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) del Instituto Politécnico Nacional, que hizo posible mis estudios de Maestría y Doctorado.

Un agradecimiento especial al Dr. Marcial Arellano Martínez y a la Dra. Bertha Patricia Ceballos Vázquez, por haber dirigido mi trabajo y abrirme las puertas de su laboratorio.

A los miembros de mi Comité Revisor: Dr. Felipe Galván Magaña, Dra. Griselda Margarita Rodríguez Figueroa y Dr. Leonardo Andrés Abitia Cárdenas por su tiempo y dedicación a mi investigación, así como sus valiosas observaciones, correcciones y aportaciones a este trabajo.

A la Biol. Mar. Alma Rosa Rivera Camacho, por su asesoría y ayuda en el procesamiento de muestras de esta investigación.

Índice

Lista de figuras	I
Lista de tablas	IV
Resumen	V
Abstract	VI
1. Introducción	1
2. Antecedentes	3
2.1 <i>Contaminación del medio marino</i>	3
2.2 <i>Contaminación en el Golfo de California</i>	4
2.3 <i>Contaminación en Santa Rosalía</i>	7
2.4 <i>Contaminación en bivalvos</i>	9
2.5 <i>Consideraciones sobre los elementos</i>	12
2.6 <i>Indicadores morfofisiológicos de la salud de los organismos marinos</i>	13
2.6.1 <i>Indicadores moleculares y genéticos</i>	15
2.3.2 <i>Indicadores fisiológicos y biométricos</i>	17
2.6.3 <i>Indicadores histopatológicos</i>	19
2.7 <i>Generalidades de Chione undatella</i>	21
3. Justificación	24
4. Objetivo	25
4.1 <i>Objetivos específicos</i>	25
5. Área de estudio	26
6. Metodología	28
6.1 <i>Recolecta</i>	28
6.2 <i>Distribución de tallas, proporción sexual, índice de condición y relaciones peso – longitud</i>	28
6.3 <i>Análisis histológico</i>	29
6.4 <i>Descripción del ciclo reproductivo y estimación de la talla de primera madurez de Chione undatella</i>	30
6.5 <i>Análisis histopatológico de los tejidos</i>	30
6.4 <i>Análisis de la ultraestructura de los tejidos</i>	31
6.5 <i>Análisis histoquímico e inmunohistoquímico</i>	31
6.6 <i>Análisis de elementos potencialmente tóxicos</i>	32

6.7 Análisis estadísticos.....	33
7. Resultados	34
7.1 Variables ambientales.....	34
7.2 Concentración de elementos potencialmente tóxicos.....	35
7.3 Proporción sexual.....	39
7.4 Distribución de tallas.....	40
7.5 Variables biométricas e índice de condición.....	41
7.6 Relaciones peso – longitud.....	44
7.7 Ciclo reproductivo.....	45
7.8 Talla de madurez sexual (L _{50%}).....	53
7.9 Alteraciones histopatológicas y presencia de parásitos.....	54
7.9.1 Costa de Santa Rosalía.....	54
7.9.2 Bahía Falsa.....	58
7.10 Alteraciones en gónada, glándula digestiva y branquia a nivel ultraestructura.....	63
7.11 Análisis histoquímico para detectar Fe, Cu.....	74
7.12 Análisis inmunohistoquímico para detectar la enzima CYP1A1.....	76
8. Discusión	80
9. Conclusiones	91
10. Referencias	92

Lista de Figuras

Figura 1.- Esquema general de actividades antropogénicas que aportan contaminantes al medio marino.....	4
Figura 2.- Contaminación por sólidos suspendidos totales y por coliformes fecales durante el periodo 2004-2007 en el golfo de California en siete estaciones de monitoreo y sus vecindades estimadas por interpolación.....	6
Figura 3.- Instalaciones de Minera y Metalúrgica del Boleo S.A. de C.V, ubicada al norte de Santa Rosalía.....	8
Figura 4.- Esquema general de respuesta inmune de bivalvos producidas por diferentes estresores.....	11
Figura 5.- Ejemplar de <i>Chione undatella</i>	23
Figura 6.- Áreas de estudio.....	27
Figura 7.- Variación mensual de temperatura superficial del mar y concentración de clorofila a, en la costa de Santa Rosalía y Bahía Falsa, BCS, México.....	35
Figura 8.- Concentración promedio (\pm EE) de elementos potencialmente tóxicos en <i>Chione undatella</i> en la costa de Santa Rosalía y Bahía Falsa, BCS, México....	36
Figura 9.- Histograma de frecuencia de tallas por sexo de <i>Chione undatella</i> en la costa de Santa Rosalía y Bahía Falsa, BCS, México.....	40
Figura 10.- Variación estacional por sexo del índice de condición general de <i>Chione</i> en Bahía de Falsa y la costa de Santa Rosalía, BCS, México.....	44
Figura 11.- Microfotografía de gónada indiferenciada de <i>Chione undatella</i> teñida con la técnica de Hematoxilina-eosina.....	47
Figura 12.- Microfotografías de las fases de desarrollo gonadal de hembras de <i>Chione undatella</i> teñidas con la técnica de Hematoxilina-eosina: Desarrollo, Madurez, Desove, Recuperación.....	48
Figura 13.- Microfotografías de las fases de desarrollo gonadal de machos de <i>Chione undatella</i> teñidas con la técnica de Hematoxilina-eosina: Desarrollo, Madurez, Espermiación, Recuperación.....	49
Figura 14.- Ciclo reproductivo de hembras y machos de <i>Chione undatella</i> en la costa de Santa Rosalía, BCS, México.....	51
Figura 15.- Ciclo reproductivo de hembras y machos de <i>Chione undatella</i> en Bahía Falsa, BCS, México.....	52
Figura 16.- Talla de madurez sexual ($L_{50\%}$) de <i>Chione undatella</i> en la costa de Santa Rosalía y Bahía Falsa, BCS, México.....	53
Figura 17.- Microfotografías de gónada, glándula digestiva, branquia, manto y sifón de <i>Chione undatella</i> con presencia de infiltraciones hemocíticas.....	55
Figura 18.- Variación mensual de la intensidad de infiltración hemocítica (Ih) en distintos tejidos de <i>Chione undatella</i> en la costa de Santa Rosalía, BCS, México.	57

Figura 19.- Variación por grupo de talla de la intensidad de infiltración hemocítica (Ih) en distintos tejidos de <i>Chione undatella</i> en la costa de Santa Rosalía, BCS, México.....	58
Figura 20.- Cercarias en diferentes tejidos de <i>Chione undatella</i> teñidas con técnica de Hematoxilina-eosina: Gónada; branquia; glándula digestiva.....	60
Figura 21.- Glándula digestiva de <i>Chione undatella</i> teñida con Hematoxilina-eosina.....	61
Figura 22.- Quistes de células procariotas en lamelas branquiales de <i>Chione undatella</i> teñida con Hematoxilina-eosina.....	62
Figura 23.- Microfotografías de corte semifino de gónada de <i>Chione undatella</i> . Hembra de Bahía Falsa; Macho de Bahía Falsa; Hembra de la costa de Santa Rosalía; Macho de la costa de Santa Rosalía, BCS, México.....	64
Figura 24.- Microfotografía de la ultraestructura de gónada de hembras de <i>Chione undatella</i> de Bahía Falsa y de la costa de Santa Rosalía, BCS, México....	65
Figura 25.- Microfotografía de la ultraestructura de gónada de macho de <i>Chione undatella</i> . Espermatocitos secundarios de macho de Bahía Falsa; espermatogonia y espermatozoides de macho de la costa de Santa Rosalía; célula de Sertoli de macho de la costa de Santa Rosalía, BCS, México.....	67
Figura 26.- Microfotografía de la ultraestructura de gónada de macho de <i>Chione undatella</i> . Macho de Bahía Falsa; Macho de la costa de Santa Rosalía, BCS, México.....	68
Figura 27.- Microfotografía de corte semifino de glándula digestiva de <i>Chione undatella</i> de un organismo de Bahía Falsa y un organismo de la costa de Santa Rosalía, BCS, México.....	69
Figura 28.- Microfotografía de la ultraestructura de glándula digestiva de <i>Chione undatella</i> en Bahía Falsa, BCS, México. Célula digestiva; cilios; célula digestiva; célula basófila.....	70
Figura 29.- Microfotografía de la ultraestructura de glándula digestiva de <i>Chione undatella</i> en la costa de Santa Rosalía, BCS, México. Célula digestiva; célula basófila.....	71
Figura 30.- Microfotografía de corte semifino de branquia de <i>Chione undatella</i> . Organismo de Bahía Falsa; organismo de Santa Rosalía.....	72
Figura 31.- Microfotografía de la ultraestructura de branquia de <i>Chione undatella</i> de Bahía Falsa, BCS, México. Células ciliadas; gránulos de mucus.....	73
Figura 32.- Microfotografía de la ultraestructura de branquia de <i>Chione undatella</i> de Santa Rosalía, BCS, México. Células ciliadas (a, b y d); fibra de colágeno.....	74
Figura 33.- Reacción positiva a Fe con azul prusia de perls en gónada, glándula digestiva, branquia y manto de <i>Chione undatella</i>	75

Figura 34.- Prevalencia de gránulos de Fe en los tejidos de <i>Chione undatella</i> en la costa de Santa Rosalía y Bahía Falsa, BCS, México.....	76
Figura 35.- Reacción positiva para CYP1A1 en gónada, glándula digestiva, branquia de <i>Chione undatella</i>	77
Figura 36.- Reacción positiva para CYP1A1, en manto y sifón de <i>Chione undatella</i>	78
Figura 37.- Reacción promedio a CYP1A1 en diferentes tejidos de <i>Chione undatella</i> en la costa de Santa Rosalía y Bahía Falsa, BCS, México.....	79

Lista de tablas

Tabla I.- Rangos de concentración de algunos contaminantes en organismos marinos.....	10
Tabla II.- Límites máximos permisibles de algunos elementos potencialmente tóxicos para consumo humano en tejidos de moluscos bivalvos.....	13
Tabla III.- Biomarcador molecular específico de efectos biológicos de contaminación.....	16
Tabla IV.- Gradiente cualitativo utilizado para la evaluación de la intensidad de alteraciones histopatológicas encontradas en los diferentes tejidos de <i>Chione undatella</i>	30
Tabla V.- Análisis Kruskal-Wallis de concentración de elementos potencialmente tóxicos en los organismos de la costa de Santa Rosalía y Bahía Falsa, BCS, México	37
Tabla VI.- Límites máximos permisibles de algunos elementos potencialmente tóxicos para consumo humano en tejidos de moluscos bivalvos y concentraciones promedio encontradas en moluscos bivalvos en diferentes localidades del pacífico mexicano.....	38
Tabla VII.- Proporción sexual de <i>Chione undatella</i> en la costa de Santa Rosalía y Bahía Falsa, BCS, México.....	39
Tabla VIII.- Comparación de las variables biométricas y del índice de condición general de <i>Chione undatella</i> en la costa de Santa Rosalía y Bahía Falsa, BCS, México.....	41
Tabla IX.- Comparación de las variables biométricas y del índice de condición general por sexo de <i>Chione undatella</i> en la costa de Santa Rosalía y Bahía Falsa, BCS, México.....	42
Tabla X.- Parámetros de la relación peso-longitud y tipo de crecimiento de <i>Chione undatella</i> en la costa de Santa Rosalía y Bahía Falsa, BCS, México.....	45
Tabla XI.- Fases de desarrollo de las gónadas de <i>Chione undatella</i>	46
Tabla XII.- Prevalencia de alteraciones histológicas encontradas en diferentes tejidos de <i>Chione undatella</i> en Bahía Falsa, BCS, México.....	59
Tabla XIII.- Diferencia de las alteraciones histopatológicas encontradas en los diferentes tejidos analizados.....	63
Tabla XIV.- Análisis Kruskal-Wallis de los puntajes finales de la expresión de citocromo P405 1A1 en diferentes tejidos de <i>Chione undatella</i> entre las localidades de la costa de Santa Rosalía y Bahía Falsa, BCS, México.....	79

Resumen

En las últimas décadas, el deterioro ambiental de la zona costera del puerto minero de Santa Rosalía ha sido evaluado, resultando que las anomalías de concentración de elementos potencialmente tóxicos (EPTs) detectados en los sedimentos marinos, se transfieren a peces, invertebrados y algas. Este trabajo tiene como objetivo comparar el estado de salud de la almeja roñosa *Chione undatella* viviendo en un ambiente contaminado por metales pesados y en un ambiente no contaminado. A través de indicadores morfofisiológicos, se encontraron diferencias en el ciclo reproductivo entre las comunidades de zonas altamente contaminadas con metales pesados y no contaminadas. En ambas comunidades, *Chione undatella* mostró un ciclo continuo; con diferencias en la temporalidad de los picos máximos de hembras desovantes. No se encontró una relación significativa del ciclo reproductivo con la temperatura superficial del mar o con la concentración de clorofila *a*. Respecto a los resultados del índice de condición y la relación peso – longitud, éstos no son concluyentes entre la zona control y los organismos de la zona altamente contaminada en Santa Rosalía, donde se presentaron las mayores tallas e índice de condición general. Además, en ambas localidades las comunidades de *Chione undatella*, tuvieron un crecimiento alométrico negativo. Los indicadores histopatológicos evidenciaron fuerte infiltración hemocítica en los individuos de Santa Rosalía. Sin embargo, se observó un alto porcentaje de individuos parasitados en Bahía Falsa, la zona control; entre otras alteraciones. Con las pruebas histoquímicas se identificaron aglomeraciones de Fe en diferentes tejidos de *Chione undatella* en ambas localidades, mientras que, con las pruebas inmunohistoquímicas se encontró una reacción positiva en diferentes tejidos para CYP1A1. Se encontraron concentraciones de algunos EPTs en tejido mayores a los límites máximos permisibles para consumo humano. Con base en los resultados encontrados, se concluye que las diferencias en la concentración de EPTs en tejido de *Chione undatella* están ligadas al grado de contaminación de los sedimentos, generando efectos histopatológicos distintos a los encontrados en la zona control, por lo que éstos organismos podrían ser utilizados como bioindicadores de la salud ambiental con relación a contaminación de EPTs.

Abstract

In recent decades, the environmental deterioration of the coastal zone of the Santa Rosalía mining port has been evaluated, it turns out that the anomalies of concentration of potentially toxic elements (PTEs) detected in marine sediments, are transferred to fish, invertebrates and algae. This work aims to compare the health status of the *Chione undatella* living in an environment contaminated by heavy metals and in an uncontaminated environment. Through morphophysiological indicators, differences in the reproductive cycle were found between communities in areas heavily contaminated with heavy metals and uncontaminated. In both communities, *Chione undatella* showed a continuous cycle; with differences in the temporality of the maximum peaks of spawning females. No significant relationship of the reproductive cycle was found with the sea surface temperature or with the chlorophyll *a* concentration. Regarding the results of the condition index and the weight-length ratio, these are not conclusive between the control zone and the organisms in the highly polluted area in Santa Rosalía, where the largest sizes and general condition index were presented. In addition, in both locations the communities of *Chione undatella*, had a negative allometric growth. Histopathological indicators showed strong hemocytic infiltration in the individuals of Santa Rosalía. However, a high percentage of parasitized individuals were observed in Bahía Falsa, the control zone; among other alterations. Histochemical tests identified agglomerations of Fe in different tissues of *Chione undatella* in both locations, while, with immunohistochemical tests, a positive reaction was found in different tissues for CYP1A1. Concentrations of some PTEs in tissue were found greater than the maximum permissible limits for human consumption. Based on the results found, it is concluded that the differences in the concentration of PTEs in *Chione undatella* tissue are linked to the degree of sediment contamination, generating different histopathologic effects to those found in the control region, so that these organisms could be used as bio-indicators of environmental health in relation to contamination of PTEs.

1. Introducción

Las lagunas costeras y estuarios de México y el mundo están sometidos a la presión que el hombre ejerce sobre ellos al depositar directa o indirectamente desechos urbanos e industriales, por lo que en estas zonas se presenta una compleja mezcla de contaminantes, entre los más comunes que llegan a la zona costera provenientes de diversas fuentes se encuentran los metales pesados y los hidrocarburos poliaromáticos (PAH), los cuales perturban el equilibrio y ponen en riesgo incluso la salud humana (Botello & Páez, 1986).

Se ha documentado que los organismos que viven en zonas contaminadas o son expuestos a algún tipo de contaminante presentan alteraciones histológicas de los tejidos (Palace *et al.*, 2006), lo cual provoca en última instancia cambios locales o regionales de una población (Mouneyrac *et al.*, 2008), efecto negativo en el desarrollo gonádico (Regoli *et al.*, 2001), entre otros.

Evaluar el deterioro en la salud de los organismos bentónicos en zonas contaminadas es complejo; esto se debe principalmente a las consecuencias no predecibles del uso de casi 100000 productos químicos que la sociedad moderna está produciendo en una cantidad tal, que están amenazando el ambiente (Jørgensen, 1998). Las actividades humanas se ejercen en todas las direcciones, lo que contribuye cada vez más al desequilibrio de los sistemas naturales (Branco, 1984).

La ecotoxicología ha desarrollado un enfoque metodológico basado en la medición de las respuestas bioquímicas, celulares, fisiológicas o comportamentales que pueden ser medidas en un organismo y sean reflejadas frente a uno o más contaminantes indicando un deterioro en la salud de los organismos (WHO, 1993; Depledge, 1994). Cada una de estas respuestas o biomarcadores, representa una señal integrada del nivel de contaminación de una determinada zona, por consiguiente, constituye un indicador del nivel de riesgo toxicológico a la que está sometida una determinada población (Chambers *et al.*, 2002).

Los estudios sobre las alteraciones en moluscos bivalvos son ecológicamente relevantes, ya que estos representan uno de los grupos más abundantes y diversos

del bentos marino y son de gran importancia en el funcionamiento de estos ecosistemas, así como, parte importante en la alimentación y economía de los habitantes de zonas costeras de todo el mundo (DeFur *et al.*, 1999; FAO, 2001; Nevesskaja, 2009). Su abundancia, su amplia distribución geográfica, la forma de vida sésil, su modo de alimentación (filtradores de partículas en suspensión), su amplia tolerancia a fluctuaciones ambientales y la capacidad para acumular contaminantes en sus tejidos, ha llevado al uso de estos organismos como los más importantes bioindicadores de contaminación en diferentes programas de monitoreo ambiental alrededor del mundo (Goldberg, 1975; Rainbow, 1995; Boening, 1999; Zhou *et al.*, 2008).

El género *Chione*, que pertenece a la familia Veneridae (la más ampliamente distribuida), ha sido utilizado como bioindicador de contaminación antropogénica por introducción de aguas negras (McNulty, 1961) presencia de insecticidas como el Dicloro Difenil Tricloroetano (DDT) (Núñez-Esquer, 1975) y de hidrocarburos clorados (Gutiérrez-Galindo *et al.*, 1988).

La región minera de Santa Rosalía, ubicada en el Golfo de California, México, presenta altas concentraciones de elementos potencialmente tóxicos en los sedimentos marinos provenientes de la antigua minería de cobre, los cuales son hasta unos órdenes de magnitud más altos que en diversas áreas costeras paralelas dentro del Golfo de California (Muñoz-Barbosa & Huerta-Díaz, 2013); a pesar del potencial riesgo toxicológico, se sabe poco sobre los efectos en la biota bentónica marina local. Bajo este contexto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la contaminación por metales pesados sobre el estado de salud de la almeja roñosa *Chione undatella* en el puerto minero de Santa Rosalía, Baja California Sur, México; en esta investigación se utilizaron diferentes indicadores, con los que se obtuvo una visión integral del estatus fisiológico de los organismos; a la par se estudió una población de *C. undatella* en una zona no contaminada dentro del Golfo de California.

2. Antecedentes

2.1 Contaminación del medio marino

La Convención de las Naciones Unidas para el Derecho del Mar define contaminación del medio marino como la introducción por el hombre, directa o indirectamente, de sustancias o de energía en el medio marino incluidos los estuarios, que produzca o pueda producir efectos nocivos tales como daños a los recursos vivos y a la vida marina, peligros para la salud humana, obstaculización de las actividades marítimas, deterioro de la calidad del agua del mar y como consecuencia afectar significativamente a las pesquerías (Islam & Tanaka, 2004).

Por lo tanto, el control en la contaminación ha sido identificado como una necesidad inmediata para el manejo sustentable y conservación de pesquerías existentes y recursos con potencial pesquero. Desafortunadamente, el problema de contaminación se caracteriza por interacciones complicadas, incertidumbre, conflictos y limitaciones, dificultando el control del problema. Además, el conocimiento científico sobre la contaminación marina es limitado, las lagunas en el conocimiento son el mayor problema para introducir estrategias de manejo efectivas para su control (Islam & Tanaka, 2004).

En décadas recientes, una gran cantidad de xenobióticos han sido liberados en el ambiente marino como consecuencia de los asentamientos humanos, uso de recursos como: construcción, agricultura, desarrollo industrial, urbanización, turismo, etc. (Figura 1.). Los contaminantes de mayor relevancia por son fertilizantes, pesticidas, agroquímicos, aguas municipales residuales, petróleo, compuestos orgánicos y plásticos, que incluyen trazas de elementos en su composición (Islam & Tanaka, 2004, Tosti & Gallo, 2012).

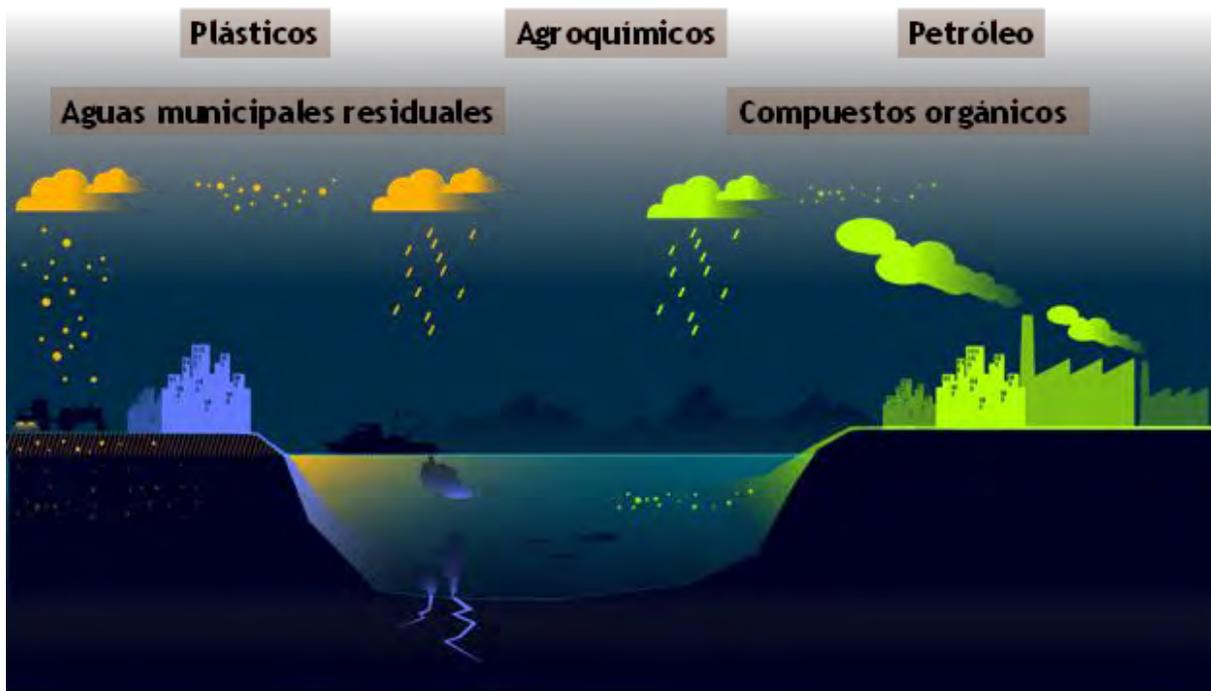


Figura 1.- Esquema general de actividades antropogénicas que aportan contaminantes al medio marino.

2.2 Contaminación en el Golfo de California

El Golfo de California es un ambiente prioritario de conservación por su rica biodiversidad, elevada tasa de productividad biológica, y por el endemismo de peces, aves, mamíferos marinos y macroinvertebrados. Sin embargo, como muchos de los ecosistemas marinos, enfrenta diferentes retos, principalmente sobrepesca y la degradación de hábitats costeros (Páez-Osuna *et al.*, 2017).

La región adyacente al Golfo de California aloja cerca de 10 millones de habitantes y soporta diferentes actividades como, turismo, minería, agricultura intensiva, pesquerías y acuicultura, que ponen en riesgo la salud ambiental. Se han encontrado cuatro problemas principales: 1) sobrepesca, 2) variabilidad del clima y cambio climático, 3) contaminación por actividades económicas de los asentamientos humanos, y 4) daño y/o alteración del hábitat (Páez-Osuna *et al.*, 2003; Páez-Osuna *et al.*, 2017).

La contaminación por agricultura en los márgenes continentales del Golfo de California, resulta de 1.7 millones de ha cultivables por irrigación, donde se utilizan grandes cantidades de pesticidas y fertilizantes; Pérez-Olvera *et al.* (2011) reporta 50,000 t de ingredientes activos en 2005. Los pesticidas más utilizados son fungicidas seguidos de herbicidas e insecticidas; predominan compuestos químicos como ditiocarbamatos, bupirilos, organofosforados, organoclorados, compuestos inorgánicos, carbamatos y piretroides. Se utilizan entre 3.5 y 5.5 kg/ha de pesticidas para granos y oleaginosas, mientras que para vegetales se utilizan 35 kg/ha; se estima que el consumo de pesticidas en el Golfo de California es aproximadamente de 4500 t anuales (Karam-Quiñones, 2002; Páez-Osuna *et al.*, 2017).

El exceso de materia orgánica (MO) ha desencadenado procesos de eutrofización de los cuerpos de agua costeros, causando modificaciones e incluso pérdida de hábitat. Las principales fuentes de MO de origen antrópico, son la producción de alimentos (agricultura, ganadería y agricultura), descargas de aguas municipales, emisiones de automóviles, procesamiento de alimentos, producción de electricidad, minería y actividades portuarias; adicional a los eventos de surgencias en invierno y primavera en el margen oriental del golfo (Páez-Osuna *et al.*, 2007; 2013; Álvarez-Borrego, 2012; Arreola-Lizárraga *et al.*, 2016).

Respecto a la contaminación asociada con ETPs, para elementos altamente tóxicos como el Hg, en el mundo, las principales fuentes de Hg y otros metales son naturales, cargas antropogénicas de impurezas metálicas en materias primas (combustibles fósiles, minería, productos químicos para la agricultura y la acuicultura), emisiones antropogénicas de los procesos de producción de cemento y metales, así como de emisiones antropogénicas pasadas en suelos y agua. En México 31.3 t de Hg se emiten anualmente a la atmosfera (Acosta *et al.*, 2001). Las fuentes de Hg son minería de oro (36%), minería de Hg (30.8%), industrias cloro-álcali (15.7%), fundición de cobre (4.9%) Combustión domestica de madera (3.7%), plantas carboeléctricas (2.5%) y refinamiento de petróleo (2.2%) (PNUMA, 2005; Ruelas-Inzunza *et al.*, 2013).

Con la expansión de las actividades económicas como la acuicultura, agricultura, turismo y minería, los problemas de contaminación del Golfo de California (Fig. 2)

desencadenaran riesgos ecológicos y de salud pública en los próximos años, especialmente en los márgenes continentales; en algunos sitios, la contaminación ya ha causado cambios en comunidades algales, moluscos, peces y mamíferos marinos (Páez-Osuna *et al.*, 2017)

Los niveles de Hg en sedimento de algunos ecosistemas costeros en el Golfo de California mostraron niveles entre 0.006-2.25 mg/kg, Guaymas relacionado a actividades portuarias y en Santa Rosalía de 0.14 a 0.18 mg/kg, indicando un impacto por las actividades portuarias y mineras respectivamente. También se ha encontrado Hg en musculo de tiburones, rayas, peces, aves, mamíferos, camarones, bivalvos y tortugas, indicando la necesidad de estudios sobre el riesgo a la salud humana por el consumo de estos (Kot *et al.*, 2009; Páez-Osuna *et al.*, 2017).

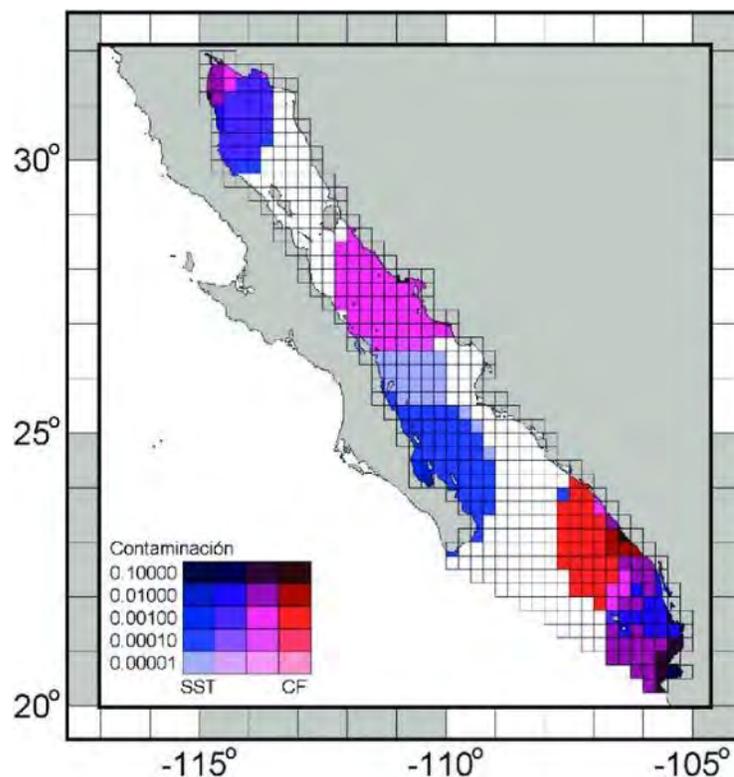


Figura 2.- Contaminación por sólidos suspendidos totales (SST, azul) y por coliformes fecales (CF, rojo) durante el periodo 2004-2007 en el Golfo de California en siete estaciones de monitoreo y sus vecindades estimadas por interpolación. Extraído de Arellano-Peralta & Medrano-González (2013).

Algunas lagunas costeras dentro del Golfo de California presentan altas concentraciones de metales. Los niveles de As, Se y Cu en agua y músculo de peces en el delta del río Colorado son bajos o moderados; organoclorados se detectaron en algunas lagunas costeras, fueron evidentes en moluscos bivalvos, reflejando las concentraciones en sedimentos. Estos actúan como disruptores endocrinos y causan desordenes reproductivos e inmunes. Sin embargo, la investigación en los efectos de la contaminación sobre la biota marina es escasa en el Golfo de California (Páez-Osuna *et al.*, 2017).

2.3 Contaminación en Santa Rosalía

Santa Rosalía es un puerto minero y pesquero localizado en la parte central de la costa este de la península de Baja California (Rodríguez-Figueroa, 2004). Desde 1868, fueron descubiertos depósitos de cobre y comenzaron a ser explotados por mineros alemanes que, para 1874, produjeron 6,000 toneladas de mineral cuprífero (Romero-Gil, 1991). Para 1885, las minas comenzaron a ser explotadas por la compañía minera de propiedad francesa “Compagnie du Boleo, S.A.”, que para 1900 llegó a aportar la mayor parte de la producción cuprífera del país (Mendoza-Arroyo, 2003), con una producción promedio anual máxima de 11,297 toneladas de cobre (Romero-Gil, 1991). En 1985, las actividades mineras cerraron y generaron aproximadamente 370 millones de toneladas de escoria que fueron depositadas sobre terrenos continentales próximos a la zona costera y vertidos también en el mar adyacente (Shumilin *et al.*, 2011). En 2010, contratistas de “Ingeniería, Compra y Construcción” iniciaron un nuevo proyecto con el nombre de “Minera y Metalúrgica del Boleo S.A. de C.V”, en una zona diferente ubicada al norte de la ciudad (CAM, 2011), operando desde 2014 (Fig. 3).



Figura 3.- Instalaciones actuales de Minera y Metalúrgica del Boleo S.A. de C.V, ubicada al nortedel puerto de Santa Rosalía.

Se estima que existen más de 3 millones de toneladas de escoria de la fundición de cobre, acumuladas en montículos sobre terrenos dentro del pueblo de Santa Rosalía, y una cantidad no cuantificada dentro del mar y ~1,300,00 toneladas de estos desechos en las presas de jales. La escoria presenta concentraciones de Cd (≥ 65 mg/kg), Ni (≥ 160 mg/kg), Pb (≥ 500 mg/kg), Ba ($\geq 6,000$ mg/kg) y Zn ($\geq 8,000$ mg/kg), aunque en formas no lixiviables, por lo que se consideran residuos más voluminosos que tóxicos (Volke-Sepúlveda *et al.*, 2003).

Los sedimentos marinos costeros de la dársena del puerto de Santa Rosalía presentan concentraciones promedio anómalas de Mn (6,770 mg/kg), Cu (3,390 mg/kg), Zn (1,916 mg/kg), Pb (226 mg/kg) y Co (mg/kg) principalmente, además de U (11.8 mg/kg) y Cd (3.76 mg/kg) (Shumilin *et al.*, 2013). Estos elementos se encuentran en mayores concentraciones en los sedimentos cercanos al puerto, con un gradiente decreciente hacia las zonas más lejanas del mismo (Shumilin *et al.*, 2000, 2011, 2013). La concentración de estos elementos es tan elevada que se considera un potencial riesgo tóxico para la biota marina que vive dentro o en la entrada del puerto (Shumilin *et al.*,

2013). Muchos elementos exceden los rangos de efectos tóxicos en sedimentos, con factores de enriquecimiento que indican mayores aportes antropogénicos que naturales, especialmente en la zona central del puerto (Shumilin *et al.*, 2011, 2013). Específicamente, las concentraciones de Cu exceden hasta 17 veces el Efecto de Rango Mediano (ERM), lo que se traduce en la posibilidad de un efecto biológico negativo para el 50% de los organismos marinos (Shumilin *et al.*, 2011).

Se ha reportado en esa zona que los mejillones *Modiolus capax* y *Mytilus edulis*, presentan concentraciones de Cu hasta 11 veces más altas que las de otras áreas de la península de Baja California (Gutiérrez-Galindo *et al.*, 1999; Cadena-Cárdenas *et al.*, 2009), así como anomalías en concentración de elementos no esenciales en *Padina durvillaei* (Rodríguez-Figueroa *et al.*, 2009). En *Octopus hubbsorum*, se cuantificaron mayores contenidos de Cd, Co, Cr, Mn, Ni, Pb y Zn, que los organismos capturados en Bahía de La Paz (zona control) y se reportó que la glándula digestiva y los corazones branquiales fueron los que mayor bioacumulación mostraron (Roldán-Wong, 2017).

En *Megapitaria squalida* se reporta un estado de salud deteriorado, evidenciado por su menor tamaño, baja condición y un crecimiento alométrico negativo, así como castración parasitaria dentro de los folículos gonadales (tremátodos digéneos). Con una respuesta inflamatoria, evidenciada por una intensa infiltración hemocítica y la formación de granulocitomas (Yee-Duarte, 2017).

2.4 Contaminación en bivalvos

La contaminación representa un peligro para los animales marinos debido a que el impacto puede advertirse tanto en individuos como en poblaciones; una vez que un agente químico penetra el organismo, se une a varias moléculas en diferentes tejidos. Esta interacción molecular resulta en cambios metabólicos que pueden afectar distintas funciones a nivel celular y de tejido, con consecuencias a nivel individual como: desarrollo de enfermedades, bajo crecimiento, comportamiento anormal,

problemas de reproducción con modificaciones en comportamiento (Lagadic, 2002; Baqueiro-Cárdenas *et al.*, 2007; Tosti & Gallo, 2012).

Los procesos metabólicos son regulados por hormonas, y esto requiere energía. El control hormonal y balance energético son de gran importancia, eventualmente estos determinan la capacidad reproductiva de los individuos. El éxito reproductivo es esencial para la perpetuación de las especies, y a su vez determina características poblacionales en términos de estructura/composición, densidad/talla y estabilidad/evolución (parámetros demoecológicos) (Lagadic, 2002).

Las respuestas son gobernadas por diferentes factores como, grado de toxicidad, concentración, tiempo de exposición, características ambientales del sistema receptor, edad y condición de los organismos expuestos, patógenos en el ecosistema, presencia de otros tóxicos, capacidad de biodegradación del compuesto y proceso de transporte, es decir, la distribución del compuesto químico entre la atmosfera, el agua y el suelo, dependiendo de la afinidad de dicho compuesto por cada fase (Hart & Fuller, 1974; Mills *et al.*, 1982).

La ocurrencia de contaminantes como PCBs, PAHs, PCDDs, PCDFs, TBT, nitriaromáticos, ésteres de ftalato, radionucleidos, pesticidas organoclorados y metales tóxicos (Cd, Hg, Ag, Co, Cr, Ni, Pb, Zn Cu, etc.) en el ambiente marino se han convertido en un problema mayor de salud de los ecosistemas debido a la acumulación de sus residuos en los tejidos de diferentes especies marinas. La biomagnificación de estos contaminantes en niveles tróficos mayores a través de la cadena trófica resulta en una dispersión de contaminantes desde el punto de origen (Sarkar *et al.*, 2006) (Tabla I).

Tabla I. Rangos de concentración de algunos contaminantes en organismos marinos. Modificado de Sarkar *et al.* (2006).

Contaminante	Almejas	Crustáceos	Peces	Aves marinas	Foca anillada
DDT (ng/g)	0.6 – 3.4	18 – 24	7.4 – 12.6	0.2 – 18.8	34.8 – 904
PCBs (ng/g wet wt)	1.6 – 15.4	6.1 – 14	13.8 -24.0	0.4 – 340	501 – 6010
PAHs	2.1 -24.5	98 - 180	0.2 -0.6	0 - 333	65.8 – 140.7

La ecotoxicología ha desarrollado un enfoque metodológico basado en la medición de las respuestas bioquímicas, celulares, fisiológicas o comportamentales que pueden ser medidas en un organismo y sean reflejadas frente a uno o más contaminantes indicando un deterioro en la salud de los organismos (WHO, 1993; Depledge, 1994). Cada una de estas respuestas o biomarcadores, representa una señal integrada del nivel de contaminación de una determinada zona, por consiguiente, constituye un indicador del nivel de riesgo toxicológico a la que está sometida una determinada población (Fig. 4), sin embargo, evaluar el deterioro en la salud de los organismos bentónicos en zonas contaminadas es complejo, esto se debe principalmente a las consecuencias no predecibles del uso de casi 100,000 productos químicos que la sociedad moderna está produciendo, lo que contribuye cada vez más al desequilibrio de los sistemas naturales (Branco, 1984; Jørgensen, 1998; Chambers *et al.*, 2002).



Figura 4.- Esquema general de respuesta inmune de bivalvos producidas por diferentes estresores. Modificado de Carella *et al.* (2015).

2.5 Consideraciones sobre los elementos

Los elementos que se consideran indispensables para el metabolismo de los organismos y, por lo tanto, son fundamentales para mantener la vida, se denominan “elementos esenciales”. Sin embargo, no todos los elementos son esenciales para todos los organismos, como el Co, Cr, F, los cuales son esenciales en bajas concentraciones para animales, pero no para plantas (Bautista-Zúñiga, 1999). Otros elementos son esenciales en bajas concentraciones, pero son tóxicos cuando sobrepasan ciertos niveles, como el Cr, Cu y Zn para el humano (Díaz-Báez *et al.*, 2004). Por otra parte, los elementos que se presentan en bajas concentraciones en los tejidos de los organismos (<1000 mg/kg) se denominan elementos traza (Zevenhoven & Kilpinen, 2001).

Los “elementos potencialmente tóxicos” (EPTs), se presentan en concentraciones variables en todos los ecosistemas marinos y debido a que no se degradan, son conservativos en la columna de agua, sedimentos o en los organismos. Esta característica de permanencia, aunada al incremento en sus concentraciones en algunas regiones marinas y su toxicidad para muchos organismos, incluyendo al humano, han generado un creciente interés por conocer el impacto en los organismos a nivel internacional (Islam & Tanaka, 2004; Jakimska *et al.*, 2011a, b). Los niveles de EPTs en un ecosistema marino dependen de diversos factores que aportan o secuestran estos elementos del medio, entre estos destacan: el ingreso por fuentes naturales y por actividades antropogénicas, el transporte por advección y difusión, la retención en sedimentos y la incorporación a los organismos (Ahumada *et al.*, 2006).

Dependiendo de sus concentraciones, los ETPs pueden tener efectos benéficos o perjudiciales para los organismos. Los efectos benéficos se relacionan con concentraciones naturales de Mn, Fe, Co, Cu, Zn y Mn, en el control enzimático, funciones nerviosas, contracción muscular, y producción de hormonas (Bánfalvi, 2011). Los efectos perjudiciales pueden relacionarse con concentraciones altas de Cu, Ni y Zn, que pueden resumirse en alteraciones o inhibiciones enzimáticas, respiración celular, desequilibrio electrolítico, alteraciones de membranas celulares, daño oxidativo, alteraciones histopatológicas y alteraciones en el sistema endocrino,

nervioso, inmune, digestivo, respiratorio y reproductor (Díaz-Báez *et al.*, 2004; Volke-Sepúlveda *et al.*, 2005; Bánfalvi, 2011), por lo que algunas instituciones internacionales recomiendan niveles máximos permisibles de consumo humano para garantizar salud pública (Tabla II).

Tabla II.- Límites máximos permisibles de algunos elementos potencialmente tóxicos para consumo humano en tejidos de moluscos bivalvos.

	Límites máximos Permisibles (mg/kg)					
	FDA	CODEX	UE	Brasil	NOM-2009	MERCOSUR
Fe						
Zn				50		
Mn						
Cu				30		
As	86			1	80	1
Ni	80			5		
Pb	1.7		1.5	2	1	1.5
Co						
Cd	4	2	1	1	2	2
Cr	13			0.1		
Hg			0.5	0.5		0.5

Brasil: Resolução da Diretoria Colegiada – rdc nº 42, de 29 de agosto de 2013

CODEX: CODEX STAN 193-1995 Enmienda 2015 (CODEX, 2015)

FDA: FDA Documentos de Orientación (US FDA)

MERCOSUR: Reglamento técnico MERCOSUR sobre límites máximos de contaminantes inorgánicos en alimentos

NOM 2009: NOM-242-SSA1-2009 (DOF, 2011)

UE: Reglamento de la Comunidad Europea No 1881/2006 (Commission, 2006)

2.6 Indicadores morfofisiológicos de la salud de los organismos marinos

Actualmente, se diagnostica la salud de los ecosistemas usando marcadores a diferentes niveles de organización biológica en organismos asociados al medio. Estos indicadores, denominados biomarcadores, son respuestas biológicas que permiten revelar cambios significativos en la calidad ambiental y la fisiología de los organismos (Hamza-Chaffai *et al.*, 2003; Nicholson, 2003; Regoli *et al.*, 2004).

Un biomarcador se define como la variación inducida por una sustancia contaminante al nivel de los componentes bioquímicos o celulares de un proceso, de una estructura o de una función, que puede medirse en un sistema biológico (Bayne *et al.*, 1985), que

permiten evaluar los cambios en el entorno y establecer un programa de control de calidad (Torres et al, 2008).

Dichas variaciones pueden proporcionar información sobre la amplitud de la respuesta del organismo en función de la entidad del ataque químico, así como sobre la conexión entre los efectos de una sustancia contaminante y los diversos niveles de organización estructural, además pueden evidenciar efectos nocivos a muy bajas concentraciones y durante períodos cortos de exposición (Bayne *et al.*, 1985; Palacio, 2007).

Una variedad de biomarcadores ha sido utilizada en invertebrados marinos, especialmente organismos bentónicos, preferiblemente aquellos que se alimentan mediante la filtración de partículas suspendidas en la columna del agua, como es el caso de los bivalvos. Debido a la importancia que tienen los bivalvos en los ecosistemas marinos y su capacidad de respuestas de defensa para evitar daños por xenobióticos, éstos han sido sugeridos como eficientes modelos biológicos para estudios de impacto ambiental inducido por contaminantes (Dyrynda *et al.*, 2000). En un programa de biomonitorio el marcador puede ser la presencia del propio contaminante o la respuesta biológica específica de cualquier sistema del organismo que resulta de la acción de los tóxicos en el individuo (Páez-Osuna & Osuna-Martínez, 2011).

El sistema inmune de los bivalvos ofrece aspectos de interés para su aplicación en estudios de toxicología ambiental (Nicholson, 2003). Este lo conforman un conjunto de elementos funcionales no específicos, humorales (aglutininas, enzimas lisosomales, moléculas opsonizantes, péptidos antimicrobianos) y celular-mediados (fagocitos) que presentan cierta analogía u homología a los mecanismos de inmunidad de otros organismos, tanto acuáticos y terrestres, de diferentes grupos taxonómicos. El impacto de contaminantes sobre la biota marina ocurre a distintos niveles de complejidad. Frecuentemente, los cambios son detectados a nivel celular, particularmente en organelos tales como mitocondrias o lisosomas, existiendo diversas vías por las cuales la estructura o funciones de tales organelos celulares puedan ser alteradas por xenobióticos (Moore, 1985; Cheung *et al.*, 2004). Los fagocitos (hemocitos) representan defensa interna contra parásitos, patógenos y material extraño, jugando

un papel relevante en la prevención de enfermedades, su función está regulada por factores internos, tales como hormonas presentes en el suero y es altamente sensible a factores ambientales como la temperatura, salinidad y en particular la polución ambiental (Sauvé *et al.*, 2002).

2.6.1 Indicadores moleculares y genéticos

Los indicadores moleculares de la contaminación pueden ser definidos como macromoléculas (ácidos nucleicos, proteínas, lípidos o carbohidratos), para los cuales una alteración en su estructura o función puede ser usada como un indicador de la exposición a xenobióticos o del deterioro del estado de salud de los organismos (Toro-Restrepo, 2011). Las respuestas bioquímicas y genéticas tales como: la inducción de citocromo P450, la inhibición de la colinesterasa, las metalotioneínas, y la integridad del ADN reciben atención especial para biomonitoreo del impacto ecotoxicológico de los contaminantes (Sarkar *et al.*, 2006); generalmente se basan en modelos de interacciones químicas al nivel molecular y celular, y son frecuentemente muy definidas debido a la especificidad de los receptores de proteína por la estructura química. Como consecuencia, la especificidad de las respuestas es característica de las familias de químicos que comparten las mismas propiedades. Sin embargo, la debilidad radica en la no especificidad para los efectos de una causa y la baja relevancia de los efectos ecológicos (Toro-Restrepo, 2011).

Las respuestas, pueden ser muy inconstantes debido a factores biológicos inherentes (edad, sexo, estado reproductivo), a la variabilidad genética (en términos de tasa toxicocinética, metabolismo y susceptibilidad a los xenobióticos), y a la exposición de mezclas complejas de xenobióticos y compuestos químicos naturales. Se ha trabajado mucho en peces, pero se sabe poco en invertebrados, aunque ya se está utilizando la clase Theta de glutatión S-transferasa (GST-T) en poliquetos. Por lo tanto, muchos de estos métodos están en etapa de investigación pues, aunque algunos indicadores como los enzimáticos pueden ser muy sensibles, la detección de la respuesta no necesariamente tiene implicaciones para la salud del organismo, y el comportamiento normal del indicador no necesariamente implica una buena calidad ambiental o la

ausencia efectos nocivos (Southward, 1982; Hodson, 2002; Theodorakis & Wirgin, 2002; Palacio, 2007, Rhee *et al.*, 2007).

Estos biomarcadores son de gran significancia para evaluar la exposición y efectos de diferentes contaminantes (Tabla III) y pueden ser medidos utilizando diferentes enfoques moleculares (Ross *et al.*, 2002). Moluscos bivalvos como los mejillones son especies centinelas apropiadas (Bodin *et al.*, 2004) para la mayoría de los estudios de biomarcadores, excepto para la inducción del sistema citocromo P4501A, que es utilizado en peces (Lau *et al.*, 2004; Petrovic *et al.*, 2001).

Tabla III. Biomarcador molecular específico de efectos biológicos de contaminación.

Biomarcador	Observaciones	Técnica de análisis
ADN – daño	Indicador de la exposición y daño por xenobióticos orgánicos como PAHs, PCBs y PCDDs	Medición de roturas de la cadena de ADN y formación de aductos de ADN por mediciones fluorométricas
Inhibición de AChE	Indicador de la exposición a organofosforados, carbamato, metales tóxicos como cadmio, cobre, plomo, etc.	Medición de actividad enzimática (espectrofotometría, mediciones de delta-pH métrico)
Metalotioneínas	Indicador de la exposición a metales como Zn, Cu, Cd y Hg	Estimación de proteínas (polarografía de pulso diferencial, cromatografía líquida) ligadas a metales (espectroscopia de absorción atómica)

Las enzimas citocromo P450 monooxigenasa (CYP) componen una superfamilia y tienen una función en el metabolismo de xenobióticos, bioactivación y en el desarrollo y mantenimiento de la homeostasis, regulando moléculas como hormonas esteroideas (de Freitas *et al.*, 2003; Zanette *et al.*, 2013). La CYP1A es una subfamilia en la que se ha puesto atención por su rol en la biotransformación de dioxinas, furanos, PCBs y PAHs.

2.6.2 Indicadores fisiológicos y biométricos

Son indicadores de la salud del organismo relacionados con el estrés, entre los cuales se encuentran los hematológicos, los neurotransmisores, proteínas de choque térmico, hormonas de estrés, índices gonadosomáticos. Una de sus ventajas es la facilidad para coleccionar los datos, además, son de gran relevancia ecológica, dado que proveen de un vínculo entre el estrés fisiológico y los impactos al nivel de la población. Sin embargo, debido a su inespecificidad de la causa, hay mucha incertidumbre acerca de la interpretación y del gran número de factores ambientales y biológicos que pueden influir en la respuesta que ha generado inconsistencia entre los estudios. Por lo tanto, la capacidad de diagnóstico de las mediciones fisiológicas puede ser fortalecida por la medición de covariables (edad, sexo, tamaño, estación, hábitat, etc.) y la distribución espacial y temporal de las respuestas y los tensores (Bayne *et al.*, 1976; Bayne *et al.*, 1985; Widdows, 1985; Widdows & Donkin, 1991; Barton *et al.*, 2002; Hodson, 2002).

Índices biométricos son utilizados comúnmente como herramientas para evaluar la salud (estado nutricional y reservas energéticas) y estatus fisiológico (crecimiento, reproducción) de los organismos por su bajo costo y rapidez en resultados. Estas medidas son representativas y sensitivas por lo que son utilizadas como diagnósticos preliminares del efecto de la contaminación en organismos que habitan zonas contaminadas (Mercado-Silva, 2005).

Se ha reportado en bivalvos que habitan una zona contaminada una baja tasa de crecimiento y menores tallas promedio, aunado a una pobre condición, puesto que las reservas energéticas se canalizan a procesos de detoxificación (Nicholson & Lam, 2005; Yee-Duarte *et al.*, 2017). El peso húmedo de los tejidos es el índice más fácil de utilizar, sin embargo, se critica su uso por dificultades en la estandarización en el drenado de fluidos del cuerpo y la posibilidad de confundirlo con inanición, por lo que es preferible utilizar el peso seco (Lucas & Beninger, 1985).

Se menciona que el crecimiento isométrico es el más común en bivalvos marinos, sin embargo, en una zona caracterizada por altas concentraciones de metales pesados se observa en *Megapitaria squalida* un crecimiento alométrico negativo (mayor

incremento en talla que en peso), sugiriendo un cambio fisiológico (Gaspar *et al.*, 2001; Malathi & Thippeswamy, 2011; Yee-Duarte *et al.*, 2017).

Los disruptores endocrinos (DEs), son un grupo diverso de compuestos que afectan la salud de los organismos o a su progenie, por la interacción con el sistema endocrino. Se incluyen químicos orgánicos usados en la industria y agricultura, como bifenilos policlorados y pesticidas organoclorados, así como plastificantes y surfactantes. Muchos de los DEs son estrogénicos, afectando particularmente las funciones reproductivas. Debido a la naturaleza lipofílica y persistente de la mayoría de los estrógenos xenobióticos y sus metabolitos, muchos se bioacumulan y se biomagnifican en la biota marina (Porte *et al.*, 2006).

El efecto de la contaminación en el sistema endocrino se ha demostrado en algunos invertebrados. Se conoce que algunos aleloquímicos vegetales utilizados como insecticidas afectan el crecimiento y reproducción de moluscos. El tributilestaño (TBT) se ha identificado como un compuesto que actúa en el sistema reproductivo, este es un compuesto utilizado en pinturas antiincrustantes que se aplican en embarcaciones. Estudios en poblaciones de gasterópodos han demostrado que el TBT induce un fenómeno llamado “imposex”, que resulta en el desarrollo de características masculinas en hembras. Este cambio fue reportado por primera vez en *Nucella lapillus* y *Nassarius obsoletus* (Smith, 1971; Ellis & Pattisina, 1990) y se ha reportado en más de 40 especies expuestas a TBT. Se han hecho estudios sobre el efecto a nivel subcelular, individual y poblacional en *N. lapillus* y *Ocenebrina aciculata* debido a que son altamente susceptibles al TBT. En hembras, el TBT puede inhibir tanto el citocromo P450 aromatasa (que se encarga de convertir la testosterona en 17 β -oestradiol) como la inhibición de la conjugación de azufre y la excreción de testosterona y sus metabolitos, lo que aumenta el nivel de esteroides masculinos, produciendo la esterilización o muerte de las hembras afectadas; incluso se ha reportado la desaparición de poblaciones enteras de *N. lapillus* y *O. aciculata* (Bryan *et al.*, 1986; Oehlmann *et al.*, 1996).

2.6.3 Indicadores histopatológicos

Las evaluaciones histopatológicas, ya sea con histología convencional o a nivel ultraestructural, son consideradas excelentes herramientas como indicadores de salud y de calidad ambiental, ya que reflejan los efectos de la exposición a una variedad de contaminantes (Costa *et al.*, 2013; Boscolo-Papo *et al.*, 2014). Además, es un método fácil de aplicar a corto y largo plazo, el cual ha sido ampliamente utilizado en programas de monitoreo ambiental y es complementario a otras técnicas evaluadoras de efectos biológicos por contaminación (Yee-Duarte, 2017).

En ambientes contaminados los ciclos reproductivos pueden ser modificados, en tiempo, sincronización, aparición y duración de cada fase reproductiva. En *Scrobicularia plana*, en tres sitios es diferentes de muestreo con condiciones de contaminación diferentes, se encontró un ciclo reproductivo similar, sin embargo, en la zona más contaminada el periodo de desove fue menos intenso (Mouneyrac *et al.*, 2008). En otros estudios se ha observado una posible interferencia de los contaminantes sobre la producción de gametos, retrasando la fase de madurez como en *Donax trunculus* (Tlili *et al.*, 2011) y *Mytilus galloprovincialis* (Ruiz *et al.*, 2011; Izaguirre *et al.*, 2014).

Los programas de monitoreo químico se restringen a identificar un rango limitado de contaminantes y proveen escasa o ninguna información de su importancia biológica. Por lo que, en los últimos años, se ha enfocado la atención de diversos grupos de investigación a determinar la relación entre el contaminante y efectos biológicos observables en organismos marinos (Thain *et al.*, 2008).

La aplicación de indicadores histopatológicos es una herramienta útil ya que pueden evaluar los efectos de exposición presentes o a priori de tóxicos al nivel individual, representando el nivel intermedio de organización biológica. Las lesiones detectadas en las células, tejidos u órganos representan una integración de los efectos acumulativos de los tóxicos fisiológicos y bioquímicos. Por lo tanto, pueden ser vinculados a la exposición, subsecuente metabolismo de contaminantes químicos, a

las respuestas bioquímicas y fisiológicas tempranas y potencialmente a los niveles de organización superior.

Las branquias y la glándula digestiva de los moluscos bivalvos juegan un importante rol en la captación de alimento, absorción y digestión. Una exposición crónica a contaminantes en agua y sedimentos pueden afectar la capacidad de absorción de nutrientes y comprometer el crecimiento y reproducción. Debido a los hábitos filtradores las branquias no solo están en constante contacto con los contaminantes, sino que pueden concentrar estos por el gran volumen de agua que se filtra (Au, 2004).

Las alteraciones histopatológicas en branquias y glándula digestiva se han observado en respuesta a diferentes contaminantes. *C virginica* presenta necrosis en glándula digestiva e hiperplasia en tejido epitelial de branquias en organismos expuestos a metales pesados y petróleo (Gold-Bouchot *et al.*, 1995). En bivalvos se ha reportado en glándula digestiva una alta vacuolización al ser expuestos a derivados del petróleo y a metales pesados (Neff *et al.*, 1987; Wedderburn *et al.*, 2000), así como una alta incidencia de granulocitomas al ser expuesta a derrames experimentales de petróleo (Neff *et al.*, 1987); se han encontrado infiltraciones hemocíticas en tejido conectivo de almejas expuestas en estuarios en zonas altamente urbanizadas e industrializadas (Nasci *et al.*, 1999). De igual forma, se ha reportado en ostras, donde se observa un daño provocado por un incremento de hemocitos que presentan una relación lineal con Cd (Gold-Bouchot *et al.*, 1995). Sin embargo, la relación causa-efecto entre alteraciones histopatológicas y la exposición a contaminantes no se ha comprendido completamente (Au, 2004).

Las lesiones y alteraciones histopatológicas en organismos silvestres se han considerado uno de los enfoques más importantes para evaluar los efectos adversos causados en organismos utilizados en estudios de biomonitorio. Estos marcadores histopatológicos proveen información directa del estado de salud de los organismos. Avances en evaluaciones semicuantitativas han fusionado a la histopatología con análisis estadístico dándole fuerza como un biomonitor crítico (Bignell *et al.*, 2011; Costa *et al.*, 2013). Índices histopatológicos que integran diferentes alteraciones

histopatológicas en los órganos en un solo valor, aún se están desarrollando en peces y en menor grado en invertebrados (Costa *et al.*, 2013; Cuevas *et al.*, 2015).

Sin embargo, se debe ser precavido al realizar estudios histopatológicos, ya que pueden verse afectados por varios factores, por lo que se requiere un conocimiento profundo de las características biológicas específicas de los organismos, desde cambios relacionados con la estación (incluido el desarrollo de gónadas) y parásitos, hasta la identificación de rasgos anatómicos específicos (Cuevas *et al.*, 2015).

Los análisis a nivel ultraestructural sirven como parámetros para la determinación de alteraciones en los orgánulos celulares. Estas herramientas son reconocidas como piezas importantes para la evaluación de los efectos por contaminantes en el que se alcanza un mayor detalle en comparación con la histología convencional. En moluscos bivalvos, existen estudios de alteraciones a nivel ultraestructural relacionadas a diversos contaminantes. Park & Lee (2010), analizaron la toxicidad del cloruro de tributil estaño sobre la ultraestructura de la glándula digestiva de *Gomphina veneriformis* y reportan la presencia de lisosomas anómalamente alargados y malformaciones en las mitocondrias. Yurchenko & Vaschenko (2010) analizaron el proceso de espermatogénesis del mejillón *Modiolus kurilensis* en un ambiente contaminado, principalmente por PAHs. Ellos encontraron malformaciones en los componentes de estas células, tales como la destrucción del acrosoma y la ocurrencia de espermias con doble acrosoma.

2.7 Generalidades de *Chione undatella*

Los moluscos bivalvos del género *Chione* (Megerle von Mühlfeld, 1811) pertenecen a la familia Veneridae (Rafinesque, 1815). De Acuerdo con Keen (1971), este género incluye seis Subgéneros (*Chione s.s.*, *Chionista*, *Chionopsis*, *Iliochione*, *Lirophora* y *Timoclea*) con 40 especies caracterizadas por tener escultura concéntrica, seno palial pequeño y el diente cardinal denticulado. La distribución actual de este género comprende aguas templadas y subtropicales del Atlántico occidental, desde Carolina del Sur hasta Brasil y del Pacífico oriental, desde el sur de California hasta Perú

(Roopnarine, 1996). El Pacífico americano cuenta con 25 especies, de las cuales 15 se distribuyen en la Península de Baja California (Keen, 1971; Abbott, 1974).

La familia Veneridae, incluyendo el Género *Chione*, es una de las mayores familias de bivalvos y posiblemente la más ampliamente distribuida (García-Domínguez, 1991). En México, se conocen con el nombre común de “almeja roñosa” tres especies de *Chione*: *Chione undatella*, *C. californiensis* y *C. gnidia*; todas son de importancia económica en la costa del Pacífico mexicano (Arizpe-Covarrubias, 1992), incluyendo Baja California Sur (Holguín-Quiñones, 1976; Baqueiro-Cárdenas *et al.*, 1982). Estas especies se han explotado intensivamente por muchos años, con poca o ninguna regulación y se pueden considerar como un recurso potencial, pesquero y de cultivo (Baqueiro-Cárdenas, 1989); sin embargo, se conoce muy poco sobre su biología (Morris *et al.*, 1980; Arizpe-Covarrubias, 1992).

Chione undatella forma bancos en áreas someras, aun cuando se localiza hasta profundidades de 90 m (Keen, 1971). Se caracteriza por las costillas que la ornamentan, las cuales forman laminillas concéntricas delgadas y afiladas (Baqueiro-Cárdenas & Massó-Rojas, 1988) (Fig. 5).



Figura 5.- Ejemplar de *Chione undatella*.

El género *Chione* ha sido utilizado como bioindicador de contaminación antropogénica: *Chione cancellata* (Linnaeus) ha sido considerada como bioindicador de los efectos ecológicos negativos causados por la introducción de aguas negras (McNulty, 1961) y *Chione californiensis* (Broderip) de la presencia de insecticidas como el dicloro difenil tricloroetano (DDT) (Núñez-Esquer, 1975) y de hidrocarburos clorados (Gutiérrez-Galindo *et al.*, 1988).

3. Justificación

Baja California Sur reúne características litorales, hidrográficas, climáticas y geológicas que han permitido el desarrollo de diversas actividades económicas. Éstas, como cualquier otra actividad antropogénica, pueden introducir distintos tipos de material alóctono en el ambiente que pueden, en ocasiones, alcanzar niveles que excedan las concentraciones naturales causando efectos adversos directos e indirectos en el ecosistema, siendo entonces considerados contaminantes tóxicos (Albert, 1998).

En 1985 cerraron las actividades mineras en Santa Rosalía, éstas generaron aproximadamente 370 millones de toneladas de escoria que fueron depositados en tierra, en la zona costera y en el mar adyacente (Shumilin *et al.*, 2011). Debido a la falta de información sobre los efectos de contaminantes en la reproducción y en las respuestas inmuno-celulares y bioquímicas de los organismos que viven en la zona de Santa Rosalía, se utilizará como modelo a *Chione undatella*; tomando en cuenta que los moluscos bivalvos son de los grupos que son más vulnerables por su forma de vida sésil, su tipo de alimentación y su hábitat cercano a la costa.

En diversas investigaciones se ha establecido que el uso aislado de un biomarcador no refleja los efectos de los contaminantes. En tal sentido, en esta investigación se utilizarán varios biomarcadores, que puedan suministrar una visión integral del estatus fisiológico de los organismos, comparando con una población en una zona no contaminada como Bahía de la Paz.

4. Objetivo

Comparar el estado de salud de la almeja roñosa *Chione undatella* viviendo en un ambiente contaminado por metales pesados y en un ambiente no contaminado

4.1 Objetivos específicos

- Evaluar la salud general de *Chione undatella* mediante relaciones biométricas y el índice de condición general.
- Describir el ciclo reproductivo de *Chione undatella* de la costa de Santa Rosalía, Baja California Sur, México.
- Describir las alteraciones histopatológicas y ultraestructurales en diferentes tejidos como indicadores de la salud de *Chione undatella* proveniente de la costa de Santa Rosalía, Baja California Sur, México.
- Evaluar la actividad enzimática en diferentes tejidos como indicadores de estrés de *Chione undatella* proveniente de la costa de Santa Rosalía, Baja California Sur, México.
- Determinar la concentración de elementos potencialmente tóxicos en *Chione undatella* proveniente de la costa de Santa Rosalía, Baja California Sur, México.
- Comparar los resultados obtenidos con una población en una zona no contaminada (Zona Control: Bahía de La Paz).

5. Área de estudio

El puerto de Santa Rosalía se encuentra en la parte central de la costa este de la península de Baja California, México (27° 20' N, 112° 16' O), 450 Km al norte de la ciudad de La Paz (Fig. 6). El puerto colinda al este con el Golfo de California, limitado al sur por Punta Chivato y al norte por Punta Baja, su cuenca está limitada al norte por el sistema volcánico Las Tres Vírgenes-La Caldera-La Reforma y al sur, por la Sierra de Santa Lucía y presenta un clima árido, lluvias escasas y variables, con una media anual de 117.2 mm (Volke-Sepúlveda *et al.*, 2003). Los vientos dominantes se presentan en dirección noroeste-sureste durante el invierno (26-30 nudos de velocidad) y sureste-noreste en el verano (20 nudos); las mareas que se presentan son de tipo mixto, dominadas por mareas semi-diurnas de tipo lunar y solar, presentándose dos ciclos/astro (Filloux, 1973). La zona es invadida por masas de agua superficial del Pacífico Tropical Oriental y sub-superficial subtropical, con cierta modificación en la superficie debida a la gran evaporación producto de las elevadas temperaturas (Álvarez-Borrego & Schwartzlose, 1979).

Los sedimentos marinos costeros de la dársena del puerto de Santa Rosalía presentan concentraciones anómalas de Mn, Cu, Zn, Pb y Co (Rodríguez-Figueroa, 2004). Estos elementos se encuentran en mayores concentraciones en los sedimentos cercanos al puerto, con un gradiente decreciente hacia las zonas más lejanas del mismo (Shumilin *et al.*, 2000, 2011, 2013).

Bahía Falsa (24° 16' N, 100° 18' O) es un humedal ubicado dentro de Bahía de La Paz, a 10 km de la ciudad de La Paz (Fig. 6); presenta un fondo somero, bordeado por playas rocosas a los flancos, cuya pendiente suave hace que en el fondo arenoso se depositen sedimentos finos y exhibe un régimen de mareas de tipo mixto semidiurno (Baqueiro-Cárdenas *et al.*, 1981; Baqueiro-Cárdenas & Massó-Rojas, 1988). La temperatura superficial del mar en Bahía de La Paz varía entre 18 y 31° C, con un promedio de 21° C (Villaseñor-Casales, 1979). A lo largo de la zona costera en la Bahía de La Paz se encuentran localidades pequeñas y campos pesqueros, así como la zona urbana de la ciudad de La Paz (Velasco-García, 2009). En el Golfo de California, la circulación superficial está ligada al patrón de vientos estacionales y a un sistema

relativamente estable de corrientes costeras generado por mareas, el cual afecta a la Bahía de La Paz. Se reconoce un sistema de vientos provenientes del Sur que se intensifican durante verano-otoño que introducen al golfo aguas cálidas del Pacífico tropical oriental; en invierno-primavera los vientos dominantes provienen del Norte y aumentan la influencia de las aguas de la corriente de California al interior del golfo (Álvarez-Arellano & Murillo-Jiménez, 1989).

En la región noroeste de la bahía, se llevan a cabo actividades mineras. Sin embargo, los efectos de esta minería se consideran limitados, ya que las concentraciones de As, Cr, Sb y Zn determinadas en esta zona corresponden a un ambiente con bajo impacto antropogénico y se relacionan principalmente con la composición geológica de la región (Rodríguez-Castañeda *et al.*, 2006).

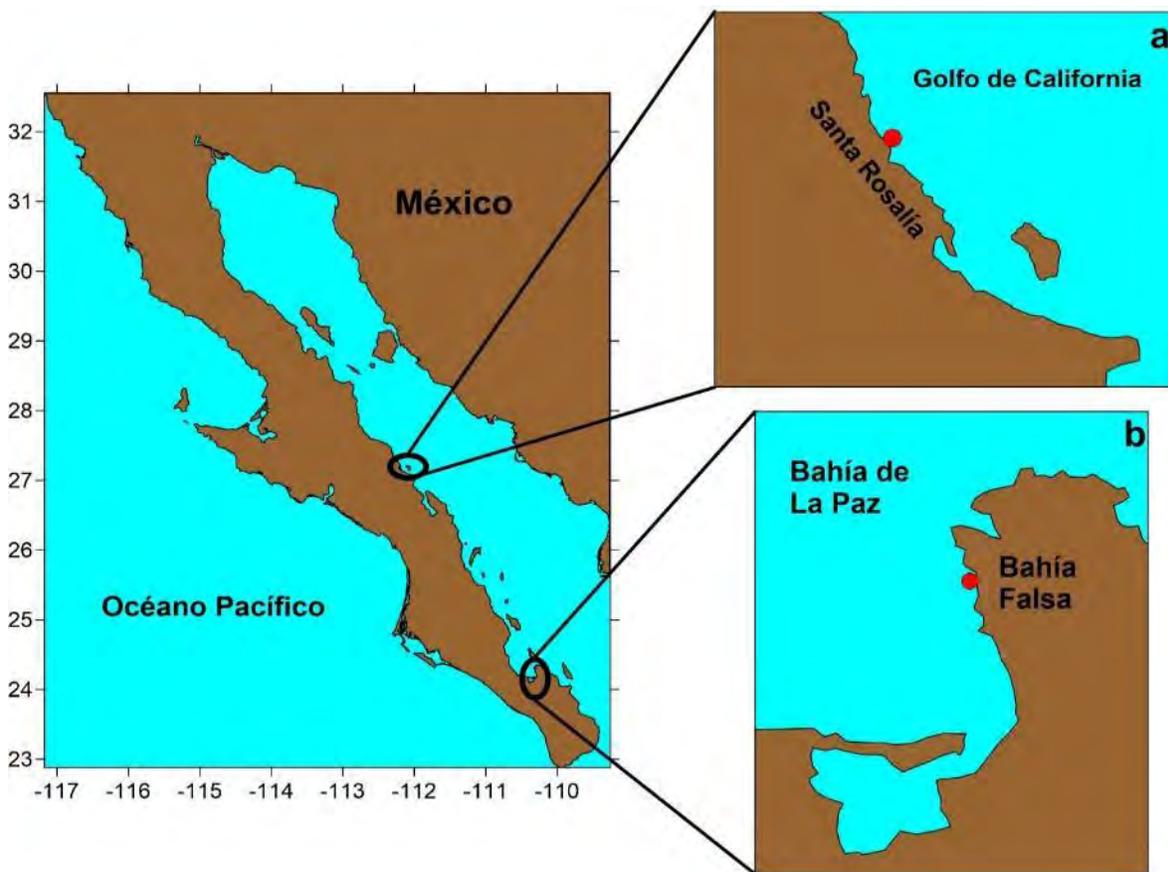


Figura 6.- Área de estudio. Costa de Santa Rosalía (a), BCS, México. Bahía Falsa (b), BCS, México.

6. Metodología

6.1 *Recolecta*

Se realizaron muestreos mensuales de almeja roñosa *Chione undatella* de septiembre de 2014 a agosto de 2015, del ambiente costero adyacente al puerto minero de Santa Rosalía y de septiembre de 2017 a agosto de 2018 en Bahía Falsa como zona control (sin reporte de contaminación). Se obtuvieron datos de promedios mensuales de la temperatura superficial del mar (TSM) y concentración superficial de clorofila *a*, desde el navegador en línea de la National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA) “CoastWatch Browser”. Para ambas variables se registraron los promedios mensuales para la zona aledaña a la dársena del Puerto de Santa Rosalía BCS en el periodo de 2014 a 2015 en las coordenadas 27° 20' 45.76" N, -112° 15' 49.28" O y para Bahía Falsa en las coordenadas 24° 14' 56.39" N, -110° 20' 20.39" O.

De cada organismo se registraron la longitud de la concha (distancia máxima antero-posterior de la concha) (0.1 mm de precisión) y los pesos: total, sin concha y el de la concha (0.1 g de precisión). Se hizo la disección de cada organismo para separar los diferentes tejidos. Los tejidos que se utilizaron para histología fueron fijados en formol al 10%, mientras que los tejidos usados para metales se preservaron en ultra congelación a -50°C. Más adelante se describen las metodologías específicas.

6.2 *Distribución de tallas, proporción sexual, índice de condición y relaciones peso-longitud*

Para analizar la distribución de tallas de *C. undatella* en cada zona, se realizaron histogramas de frecuencias a partir de la longitud de la concha.

El sexo de cada individuo se determinó mediante el análisis microscópico; la proporción sexual se calculó como la proporción entre el número total de hembras y el número total de machos. Para determinar si existía diferencia de 1:1 se aplicó la prueba χ^2 de corrección de continuidad de Yates, la cual se utiliza cuando se tienen dos

categorías (un grado de libertad), en este caso machos y hembras y se analizó bajo la hipótesis nula de que existe una proporción 1:1 (Zar, 1996). El estadístico χ_c^2 se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\chi_c^2 = \frac{(|f_1 - f_2| - 1)^2}{n}$$

donde, f_1 es el número de hembras, f_2 es el número de machos y n es el número total de individuos. La regla de decisión se realizó con una confianza del 95%, no aceptando la hipótesis cuando el valor de χ_c^2 calculado fuera mayor a 3.86 (Zar, 1996).

Se calculó el índice de condición general para cada organismo como la razón porcentual entre el peso sin concha y el peso total (Gongora-Gomez *et al.*, 2016).

Se estimó la relación peso-longitud por medio de una función potencial $y = ax^b$, donde: a y b son constantes, “ x ” es la longitud total y, “ y ” es el peso, en este estudio se hicieron tres cálculos: con los valores de peso total, peso sin concha y peso de la concha.

6.3 Análisis histológico

Una vez que los organismos estaban fijados, se obtuvieron submuestras de gónada, glándula digestiva, branquia, manto y sifón y se les aplicó la técnica histológica convencional (Humason, 1979) que consiste de deshidratación del tejido por medio de una serie de alcoholes de concentraciones crecientes (70° a 100°), aclarado con sustituto de xileno e inclusión en paraplast® y se realizaron cortes de 5 μ m de grosor. Para el análisis y descripción general, los cortes fueron teñidos con la técnica de hematoxilina-eosina.

6.4 Descripción del ciclo reproductivo y estimación de la talla de primera madurez de *Chione undatella*

La descripción del ciclo reproductivo se realizó a través de la estimación de las frecuencias relativas mensuales de cada fase de desarrollo gonádico (se describen más adelante).

Se obtuvo la talla de madurez sexual ($L_{50\%}$), que se define como la longitud de la concha a la cual el 50% de los individuos son sexualmente maduros mediante el modelo logístico $y = a/(1+be^{-c*L})$. Para esto se utilizó la proporción de organismos con evidencia de actividad reproductiva, es decir organismos en fase de madurez, desove/espermiación y recuperación.

6.5 Análisis histopatológico de los tejidos

Para evaluar la intensidad de las histopatologías encontradas durante el análisis microscópico, se utilizó el índice cualitativo propuesto por Bignell *et al.* (2011), que clasifica la presencia de alguna patología en el tejido como “ausente”, “presente”, “intermedio” y “abundante” con base en la proporción de cobertura en el tejido (Tabla IV).

Tabla IV.- Gradiente cualitativo utilizado para la evaluación de la intensidad de alteraciones histopatológicas encontradas en los diferentes tejidos de *Chione undatella* (modificado de Bignell *et al.* 2011).

Etapa	Proporción de alteraciones histopatológicas
0 Ausente	Sin presencia de alteración histopatológica en el tejido (0%)
1 Presente	Presencia de algunas alteraciones histopatológicas en el tejido ($> 0\% \leq 10\%$)
2 Intermedio	Presencia notable de alteraciones histopatológicas en el tejido ($> 10\% \leq 50\%$)
3 Abundante	Presencia abundante de alteraciones histopatológicas en el tejido ($> 50\%$)

6.6 Análisis de la ultraestructura de tejidos

Aunado a los muestreos para evaluar daños histopatológicos, se disecaron un macho y una hembra de cada localidad para el análisis ultraestructural de los diferentes tejidos a través de una evaluación con microscopio electrónico de transmisión con la finalidad de detectar anomalías que no pudieron ser detectadas con el análisis histopatológico. Muestras de 5 mm de gónada, glándula digestiva y branquia se fijaron en glutaraldehído al 2.5% por seis horas, después, se realizaron cinco lavados de diez minutos utilizando solución amortiguadora de Sorensen. La post-fijación se realizó con tetraóxido de osmio al 1% por una hora, seguido de lavados con solución amortiguadora de Sorensen cada 10 minutos. Después, las muestras se deshidrataron con una serie de alcoholes de concentración creciente (70° a 100°). Las muestras de tejidos fueron infiltradas en una solución de óxido de propileno y resina epóxica por tres horas y finalmente incluidas en resina EPON 812. Se obtuvieron cortes semi finos de 70 nm de grosor utilizando un ultramicrotomo y se tiñeron con azul de toluidina. Posteriormente, se realizaron cortes finos a 500 nm de grosor, y se tiñeron con acetato de uranilo y citrato de plomo. Los cortes semi finos se examinaron en un microscopio óptico, mientras que los cortes finos se examinaron en un microscopio electrónico de transmisión Jeol-100SX (60000 V). Se obtuvieron microfotografías de distintas porciones de cada tejido.

6.7 Análisis histoquímico e inmunohistoquímico

El análisis histoquímico se realizó para detectar Fe y Cu; por su parte el análisis inmunohistoquímico se realizó para detectar la enzima CYP1A1 como un indicador de estrés en los tejidos de *C. undatella*. Estos análisis se llevaron a cabo únicamente en hembras, 12 de la costa de Santa Rosalía y 8 de Bahía Falsa. Los tejidos llevaron el mismo tratamiento que en el análisis histológico convencional por duplicado.

Para el análisis histoquímico fueron teñidos con azul Prusia de Perls para detectar Fe y con hemateína de Mallory para detectar Cu, como lo describe Howard *et al.* (2004).

Para el análisis inmunohistoquímico se tiñeron con un sistema de detección de peroxidasa anti-peroxidasa (Laboratorios Signet, Dedham, MA) Se utilizó un anticuerpo monoclonal contra CYP1A (MAb 1-12-3, 0.3 µg/mL) y una proteína purificada no especificada de mieloma de ratón (MOPC31, 0.3 µg/mL, Sigma, St. Louis MO EUA) como anticuerpo, como se describe en Smolowitz *et al.* (1991). MAb 1-12-3 es altamente específica para CYP1A1 (Drahushuk *et al.*, 1998) y se reconoce como una epítrope específica para CYP1A1. La tinción de CYP1A1 se evaluó con microscopio óptico después de la incubación en Amino-9-etilcarbazol (AEC, Signet Laboratories) como sustrato cromogénico y se contrastaron con hematoxilina de Mayer (Sigma). Para cada sección y en cada tejido, se determinaron valores de tinción de CYP1A1 (escala de 0 a 15), valores resultantes del producto de la ocurrencia de la tinción (escala de 0 = Sin reacción positiva a 3 = Reacción positiva en todo el tejido) y la intensidad de la tinción (escala de 0 = Sin reacción positiva a 5 = reacción positiva fuerte).

6.8 Análisis de elementos potencialmente tóxicos

La concentración de elementos potencialmente tóxicos para los organismos (Cu, Cd, Cr, Ni, Pb, Zn, Fe, Co, Mn, As y Hg) se determinó en 21 organismos de Santa Rosalía y 19 de Bahía de La Paz. Los organismos fueron transportados al laboratorio aún con vida, se sacrificaron y se registraron los datos morfométricos de cada individuo. Se determinó la concentración total de EPTs en todo el tejido blando por lo que cada individuo fue pesado y se preservado en ultracongelación a -50°C, posterior a esto se liofilizó (-30 °C y 100 mtorr), pulverizó y homogenizó en mortero de ágata para su análisis. Con la finalidad de reducir el riesgo de contaminación, durante la manipulación de las muestras, se trabajó únicamente con material de acrílico y plástico previamente lavado con agua desionizada, utilizando material diferente para cada muestra.

Las muestras fueron digeridas en una mezcla de ácidos concentrados (HNO₃, HClO₄ y HF) y se analizó con un espectrofotómetro de absorción atómica de flama para

determinar las concentraciones de cada elemento en el Laboratorio de Análisis y Monitoreo Ambiental del Centro Interdisciplinario de Investigaciones y Estudios sobre Medio Ambiente y Desarrollo (CIEMAD-IPN).

6.9 Análisis estadísticos

Para detectar diferencias significativas en las tallas, pesos e índice de condición entre sexos y localidades, así como de las variables ambientales de temperatura superficial del mar y concentración de clorofila *a*, se realizaron análisis de varianza de una vía (ANDEVA). Para las variables con distribución normal ($p < 0.05$) comprobadas con la prueba de Kolmogorov-Smirnov y se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal – Wallis cuando los datos no presentaron una distribución normal. Se realizaron correlaciones de Spearman (análisis no paramétrico) entre los el ICG y las fases de desarrollo gonadal de mayor frecuencia (desove para hembras y madurez para machos), así como con las variables ambientales de temperatura superficial de mar y concentración de clorofila *a*. Los estadísticos se realizaron con el programa Minitab 18.

7. Resultados

7.1 Variables ambientales

No se encontró una diferencia significativa en la temperatura superficial del mar entre ambas localidades ($F = 1.34$; $p = 0.260$), en cambio, la concentración de clorofila *a*, sí mostró diferencias significativas entre ambas localidades ($F = 8.23$; $p = 0.009$).

Sobre las variaciones a escala anual de la temperatura superficial del mar (TSM), en la región costera de Santa Rosalía se registraron temperaturas mayores a 25 °C en el periodo de junio a octubre, agosto fue el mes más cálido con 30.2 °C, a partir de noviembre se observa un decremento de la TSM hasta llegar a los 18.4 °C en enero. En Bahía Falsa se observa la misma tendencia en las temperaturas observadas en Santa Rosalía. Se observa un pico en la temperatura en el periodo de junio a noviembre, agosto muestra la temperatura superficial del mar promedio más alta (30.84 °C), la más baja en enero con 21.74 °C (Fig. 7a).

El ciclo anual de la concentración de clorofila *a* en la costa de Santa Rosalía mostró notables variaciones: tres periodos con valores altos, el máximo en marzo (47.66 mg/m^3), seguido de septiembre (41.44 mg/m^3) y el menor en junio (28.39 mg/m^3). Julio fue el mes con la menor concentración de clorofila *a* (0.63 mg/m^3). En Bahía Falsa la concentración de clorofila *a* al igual que en Santa Rosalía muestra una notable variación. Se observan dos periodos con valores altos: el máximo en abril (13.47 mg/m^3) seguido de septiembre con una concentración de 8.81 mg/m^3 (Fig.7b).

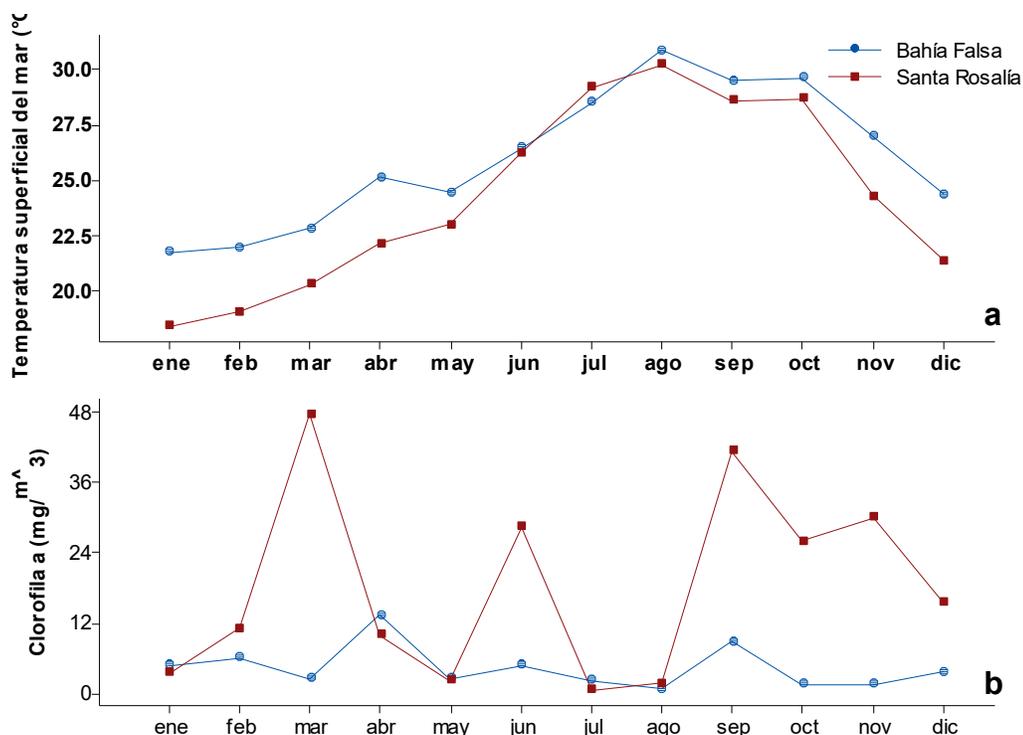


Figura 7.- Variación mensual de temperatura superficial del mar y concentración de clorofila a, en la costa de Santa Rosalía (a) y Bahía Falsa (b), BCS, México.

7.2 Concentración de elementos potencialmente tóxicos

Las concentraciones de elementos potencialmente tóxicos en todos los individuos analizados mostraron variación entre las concentraciones de un mismo elemento entre individuos (Fig. 8). Los elementos que presentaron las concentraciones máximas en Santa Rosalía fueron Fe (474.37 mg/kg), Mn (123.62 mg/kg), Zn (120.70 mg/kg) y Cu (68.87 mg/kg), en el caso de Bahía Falsa fueron Fe (198.84 mg/kg), Zn (90.82 mg/kg), Ni (45.21 mg/kg) y Co (39.89 mg/kg). De igual forma, las concentraciones promedio calculadas para estos EPTs responden concentrando más elementos traza en los organismos de la costa de Santa Rosalía: Fe (274.4 mg/kg), Zn (66.05 mg/kg), Mn (63.14 mg/kg) y Cu (28.16 mg/kg), que en los de Bahía Falsa: Fe (109.1 mg/kg), Zn (70.85 mg/kg), As (9.006 mg/kg) y Ni (8.26 mg/kg). En ambas localidades, los organismos evidencian las diferencias significativas en la concentración de la mayoría de los EPTs analizados, en contraste, Cd, Ni, Zn, Co, y As no muestran diferencias significativas (Tabla V).

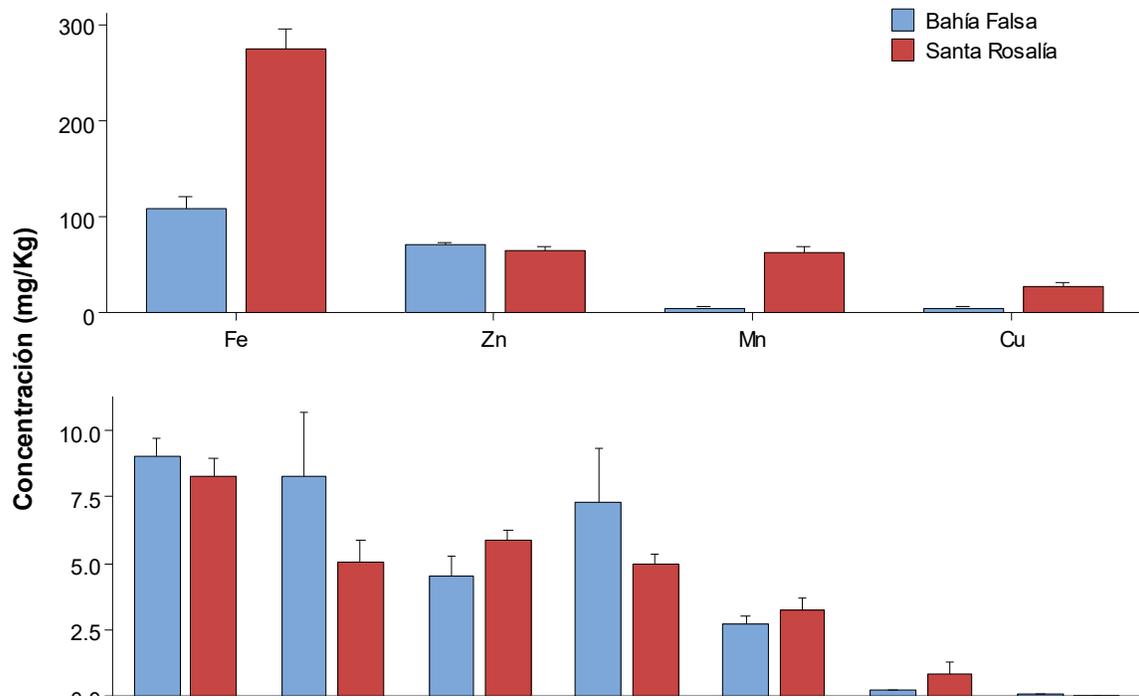


Figura 8.- Concentración promedio (\pm EE) de elementos potencialmente tóxicos en *Chione undatella* en la costa de Santa Rosalía y Bahía Falsa, BCS, México.

Tabla V.- Análisis Kruskal-Wallis de concentración de elementos potencialmente tóxicos en los organismos de la costa de Santa Rosalía y Bahía Falsa, BCS, México.

	Prueba de normalidad (Kolmogorov-Smirnov)		Kruskal-Wallis
	Bahía Falsa n = 18	Santa Rosalía n = 21	g.l. = 1
Cu	KS = 0.11 $p > 0.150^*$	KS = 0.21 $p = 0.017$	H' = 28.05 $p = 0.000^{**}$
Cd	KS = 0.1 $p > 0.150^*$	KS = 0.14 $p > 0.150^*$	H' = 0.18 $p = 0.673$
Cr	KS = 0.18 $p = 0.139^*$	KS = 0.40 $p < 0.010$	H' = 6.08 $p = 0.014^{**}$
Ni	KS = 0.36 $p < 0.010$	KS = 0.33 $p < 0.010$	H' = 2.86 $p = 0.091$
Pb	KS = 0.14 $p > 0.150^*$	KS = 0.01 $p > 0.150^*$	H' = 5.60 $p = 0.018^{**}$
Zn	KS = 0.16 $p > 0.150^*$	KS = 0.23 $p < 0.010$	H' = 3.78 $p = 0.052$
Fe	KS = 0.10 $p > 0.150^*$	KS = 0.13 $p > 0.150^*$	H' = 23.75 $p = 0.000^{**}$
Co	KS = 0.27 $p < 0.010$	KS = 0.16 $p = 0.147^*$	H' = 0.05 $p = 0.822$
Mn	KS = 0.22 $p = 0.033$	KS = 0.16 $p > 0.150^*$	H' = 28.35 $p = 0.000^{**}$
As	KS = 0.11 $p > 0.150^*$	KS = 0.14 $p > 0.150^*$	H' = 0.64 $p = 0.422$
Hg	KS = 0.19 $p = 0.092^*$	KS = 0.22 $p < 0.010$	H' = 13.42 $p = 0.000^{**}$

*presentan normalidad

**diferencias significativas

Diferentes organismos a nivel internacional han legislado sobre los límites máximos permisibles de distintos elementos tóxicos contenidos en productos para consumo humano priorizando algunos elementos como Zn, Cu, As, Ni, Pb, Cd, Cr, y Hg. Los organismos de Santa Rosalía mostraron concentraciones promedio por arriba de los límites en Zn, As, Pb, Cd y Cr; de igual forma los organismos de Bahía Falsa sobrepasan los límites de Zn, As, Ni, Pb, Cd y Cr. También se observan en algunos casos concentraciones relativamente bajas o altas dependiendo del elemento, al comparar con los registros en otras especies de bivalvos (Tabla VI)

Tabla VI.- Límites máximos permisibles de algunos elementos potencialmente tóxicos para consumo humano en tejidos de moluscos bivalvos y concentraciones promedio encontradas en moluscos bivalvos en diferentes localidades del Pacífico mexicano. *mayor a límite máximo permisible

		Fe	Zn	Mn	Cu	As	Ni	Pb	Co	Cd	Cr	Hg	Fuente
						86	80	1.7		4	13		FDA
										2			CODEX
Límites máximos permisibles (mg/kg)								1.5		1		0.5	UE
			50		30	1	5	2		1	0.1	0.5	Brasil
						80		1		2			NOM-2009
						1		1.5		2		0.5	MERCOSUR
<i>Chione undatella</i>	Bahía Falsa	109.1	70.9*	5.9	5.7	9*	8.3*	4.5*	7.3	2.7*	0.2*	0.08	Presente estudio
	Santa Rosalía	274.4	66.1*	63.1	28.2	8.2*	5	5.9*	4.9	3.2*	0.8*	0.04	Presente estudio
	Golfo de Santa Clara	189		3.7	5.7		4.4	9.2*		0.42			Cadena-Cárdenas <i>et al.</i> , 2009
<i>Chione californiensis</i>			77.5*	10.5	13.7					1.6*	0.3*		Gutiérrez-Galindo <i>et al.</i> , 1990
	Bahía Magdalena	286.3	67.8*	3.6	6.1		10.7*	0.3		2.3*			Méndez-Rodríguez <i>et al.</i> , 2007
	Altata	352	342*	50	10.4	8.9*				2.8*	1.1*		
<i>Chione subrugosa</i>	Ensenada del Pabellón	518	85*	46	43.4*		9*			2.8*	1.9*		Páez-Osuna <i>et al.</i> , 1993
<i>Chione gnidia</i>	Guaymas	397	148*	20	14.8		23.7*	4*		1.1*			Méndez <i>et al.</i> , 2002
	Santa Rosalía	193	25	2.8	9.5		1.7	0.3	2	1.3*			Roldán-Wong <i>et al.</i> , 2018
<i>Megapitaria squalida</i>	La Paz	205	40.1	4.7	9.3		3.2	0.1	2.3	9.7*			
	Loreto	572	49.8	2.9	181*		5.6*	<.03		4.7*			Cadena-Cárdenas <i>et al.</i> , 2009

7.3 Proporción sexual

Para este estudio, en total se analizaron 524 organismos de *Chione undatella*, 199 de Santa Rosalía y 325 de Bahía Falsa. En Santa Rosalía se encontraron 2 organismos indiferenciados (1%), 82 machos (47%) y 92 hembras (52%); en el caso de Bahía Falsa 7 organismos fueron indiferenciados (2%), 132 machos (41%) y 186 hembras (57%).

La proporción de sexos en el ambiente costero de Santa Rosalía fue 1.1H:1M, en Bahía Falsa la proporción de sexos fue 1.4H:1M, resultando significativamente diferente de la proporción 1:1 (χ^2 , $p < 0.05$), El análisis de la proporción de forma mensual solo arroja diferencias significativas en el mes de junio en Bahía Falsa (Tabla VII).

Tabla VII.- Proporción sexual de *Chione undatella* en Bahía Falsa y en la costa de Santa Rosalía, BCS, México. * diferencia significativa de la proporción 1:1.

Localidad	Mes	Machos	Hembras	N	χ^2	H:M
Bahía Falsa	Total	132	186	318	8.83*	1.4:1*
	Enero	11	13	24	0.04	1.2:1
	Febrero	10	18	28	1.75	1.8:1
	Marzo	13	15	28	0.04	1.2:1
	Abril	10	18	28	1.75	1.8:1
	Mayo	14	14	28	0.04	1:1
	Junio	6	19	25	5.76*	3.2:1
	Julio	12	18	30	0.83	1.5:1
	Agosto	13	16	29	0.14	1.2:1
	Septiembre	11	18	29	1.24	1.6:1
	Octubre	17	13	30	0.3	0.8:1
	Noviembre	6	14	20	2.45	2.3:1
	Diciembre	9	10	19	0	1.1:1
Santa Rosalía	Total	82	92	174	0.47	1.1:1
	Enero	12	8	20	0.45	0.7:1
	Febrero	8	14	22	1.14	1.8:1
	Marzo	10	11	21	0	1.1:1
	Abril	8	10	18	0.06	1.3:1
	Mayo	-	-	-	-	-
	Junio	4	3	7	0	0.8:1
	Julio	1	6	7	2.29	6:1
	Agosto	4	7	11	0.36	1.8:1
	Septiembre	12	9	21	0.19	0.8:1
	Octubre	8	9	17	0	1.3:1
	Noviembre	6	7	13	0	1.2:1
	Diciembre	9	8	17	0	0.9:1

7.4 Distribución de tallas

Los organismos de Santa Rosalía presentaron una longitud de la concha promedio de 59.06 mm ($\pm 0.33EE$), con un rango de 42 mm a 70 mm y una moda de 61 mm; en cambio, en Bahía Falsa el promedio de longitud de la concha fue de 36.90 mm ($\pm 0.23EE$), con un rango de 24 mm a 50 mm y moda de 37 mm (Fig. 9). Los organismos de Santa Rosalía fueron significativamente más grandes en comparación con los de Bahía Falsa ($H = 368.97$, $p < 0.0001$).

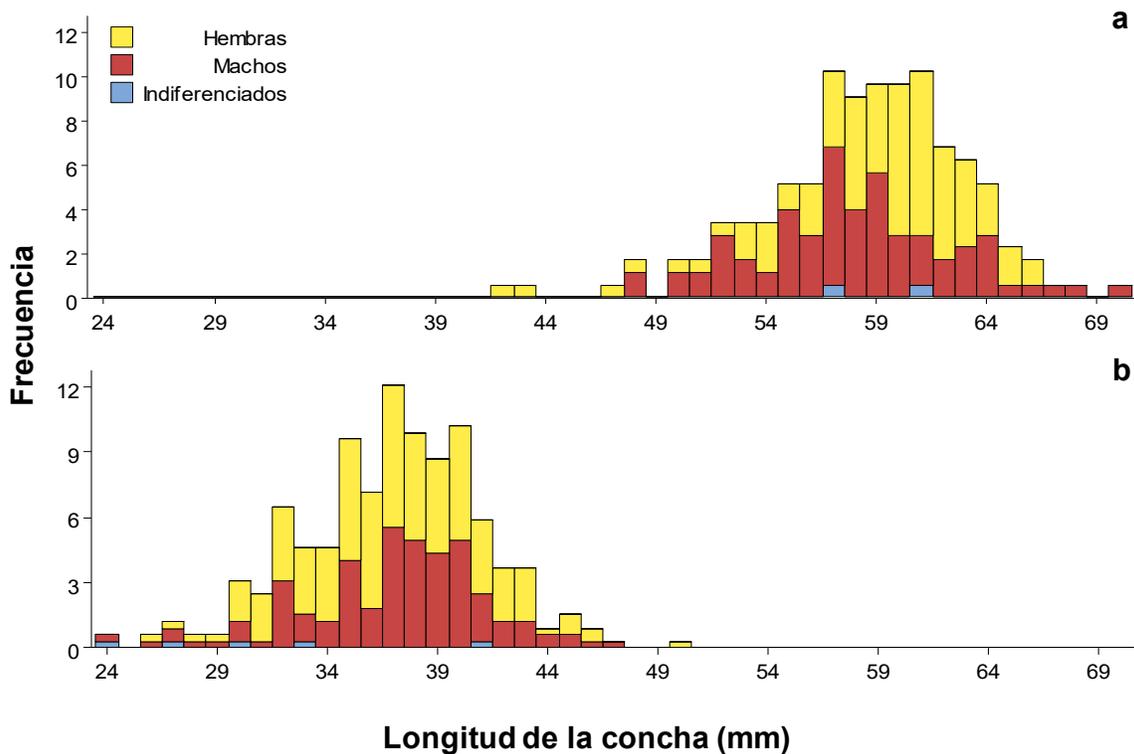


Figura 9.- Histograma de frecuencia de tallas por sexo de *Chione undatella* en la costa de Santa Rosalía (a) y Bahía Falsa (b), BCS, México.

Por otra parte, en Santa Rosalía se encontraron diferencias significativas en la longitud de la concha entre sexos ($H = 4.76$, $p = 0.029$); los machos presentaron menor longitud de concha promedio con 57.94 mm ($\pm 0.4EE$) y una moda de 57 mm, las hembras 58.84 mm ($\pm 0.47EE$) de longitud de la concha y una moda de 61 mm. En Bahía Falsa no se encontraron diferencias significativas entre sexos ($H = 0.68$, $p = 0.41$); los machos presentaron una longitud de concha promedio de 37.11 mm

($\pm 0.36EE$), mientras que las hembras de 36.92 mm ($\pm 0.30EE$, ambos presentaron una moda de 37 mm.

7.5 Variables biométricas e índice de condición

Se encontraron diferencias significativas en el peso total, peso sin concha (masa visceral) y en el índice de condición general entre las zonas de estudio; tanto en las variables biométricas como en el ICG, los organismos de la costa de Santa Rosalía presentaron los valores más altos (Tabla VIII).

Tabla VIII.- Comparación de las variables biométricas y del índice de condición general de *Chione undatella* en la costa de Santa Rosalía y Bahía Falsa, BCS, México. Se presentan media \pm error estándar y el rango entre paréntesis.

	Santa Rosalía	Bahía Falsa	Kruskal – Wallis
	N = 199	N = 325	g.l. 1
Longitud de la concha (mm)	59.06 \pm 0.33 (42-70)	36.90 \pm 0.23 (24-50)	H= 368.97 $p < 0.0001$
Peso total (g)	65.61 \pm 1.01 (23.90-112.50)	21.02 \pm 0.36 (5.20-42.60)	H= 331.15 $p < 0.0001$
Peso sin concha (g)	13.60 \pm 0.27 (4.10-26.20)	2.29 \pm 0.04 (0.30-5.80)	H= 336.70 $p < 0.0001$
Índice de condición general	20.80 \pm 0.28 (10.25-44.23)	10.82 \pm 0.08 (5.66-16.13)	H= 324.19 $p < 0.0001$

En Santa Rosalía, las hembras fueron significativamente más grandes que los machos, tanto en longitud de la concha como en peso total; sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en el peso sin concha (masa visceral). En Bahía Falsa, no se encontraron diferencias significativas entre sexos, en ninguna de las variables. Los valores medios, error estándar y rango de las variables biométricas y del índice de condición general por sexo para cada zona, así como los resultados de las pruebas de Kruskal-Wallis se presentan en la Tabla IX.

Tabla IX.- Comparación de las variables biométricas y del índice de condición general por sexo de *Chione undatella* en la costa de Santa Rosalía y Bahía Falsa, BCS, México. Se presentan media \pm error estándar y el rango entre paréntesis. En negritas los casos con diferencias significativas.

		Macho	Hembra	Kruskal – Wallis
		N = 82	N = 92	g.l. 1
Santa Rosalía	Longitud de la concha (mm)	57.94 \pm 0.50 (48-70)	58.85 \pm 0.47 (42-66)	H= 4.73 $p = 0.029$
	Peso total (g)	62.82 \pm 1.62 (38.5-112.5)	65.45 \pm 1.44 (23.9-94.4)	H= 5.57 $p = 0.018$
	Peso sin concha (g)	12.59 \pm 0.31 (7.6-20.3)	13.30 \pm 0.35 (4.1-20.3)	H= 3.47 $p = 0.063$
	Índice de condición general	20.31 \pm 0.33 (10.25-25.94)	20.47 \pm 0.43 (11.68-44.23)	H= 0.18 $p = 0.669$
		N = 132	N = 186	g.l. 1
Bahía Falsa	Longitud de la concha (mm)	37.11 \pm 0.36 (24-47)	36.93 \pm 0.30 (26-50)	H= 0.68 $p = 0.409$
	Peso total (g)	21.38 \pm 0.56 (5.90-42.60)	20.99 \pm 0.47 (7.40-42.40)	H= 0.72 $p = 0.398$
	Peso sin concha (g)	2.32 \pm 0.07 (0.50-4.20)	2.30 \pm 0.06 (0.60-5.80)	H= 0.56 $p = 0.453$
	Índice de condición general	10.81 \pm 0.12 (6.67-14.40)	10.90 \pm 0.11 (7.63-16.13)	H= 0.02 $p = 0.898$

Al analizar la variabilidad estacional del ICG de los organismos de la costa de Santa Rosalía, sin distinción por sexo, se observó un promedio de 20.80 ± 0.28 EE. Durante mayo (24.33 ± 0.80 EE) se obtuvieron los valores promedio más altos y octubre (14.85 ± 0.77 EE) presentó el menor valor promedio. El ICG de machos y hembras mostró la misma tendencia con una correlación significativa ($Rho = 0.77$; $p = 0.005$; $N = 11$; Fig. 10); en Bahía Falsa, se obtuvo un valor promedio de ICG de 10.82 ± 0.08 EE. Durante julio (12.50 ± 0.30 EE) se calculó el valor promedio más alto y en mayo (9.64 ± 0.15 EE) y noviembre (9.64 ± 0.28 EE) los valores promedio más bajos. En Bahía Falsa se observa la misma tendencia en ambos sexos, con una correlación significativa ($Rho = 0.706$; $p = 0.010$; $N = 11$).

En la costa de Santa Rosalía los machos tuvieron el mayor valor promedio durante agosto (23.34 ± 0.63 EE) y septiembre (22.22 ± 0.59 EE), y durante octubre (15.29 ± 1.29 EE) y noviembre (17.92 ± 1.11 EE) los más bajos. Las hembras tuvieron los mayores valores en marzo (22.78 ± 0.48 EE), abril (23.40 ± 0.39 EE), agosto (22.27 ± 1.51 EE) y septiembre (24.55 ± 2.62 EE), al igual que en los machos, mientras que los menores valores promedio se encontraron en octubre (14.45 ± 0.94 EE) y noviembre (17.18 ± 0.59 EE) (Fig. 10).

En Bahía Falsa, los machos tuvieron los mayores valores promedio en abril (12.56 ± 0.27 EE) y en julio (12.26 ± 0.37 EE), y en enero (9.79 ± 0.39 EE), mayo (9.80 ± 0.23 EE) y noviembre (9.39 ± 0.36 EE) los más bajos. Las hembras tuvieron el valor promedio más alto en julio (12.66 ± 0.44 EE), mientras que los más bajos se observaron durante mayo (9.48 ± 0.20 EE), septiembre (9.90 ± 0.16 EE) y noviembre (9.74 ± 0.38 EE) (Fig. 10).

Se realizaron análisis de correlación del ICG con las variables ambientales de temperatura superficial del mar, y concentración de clorofila *a*, pero no se encontró una correlación significativa en ninguna de las localidades. Asimismo, se realizaron correlaciones entre el ICG y las fases de desarrollo gonadal, solo los organismos de la costa de Santa Rosalía mostraron una correlación inversamente proporcional ($Rho = -0.633$; $p = 0.010$; $N = 11$) entre los promedios mensuales del ICG y la fase de desarrollo de mayor frecuencia en hembras, pero no en machos.

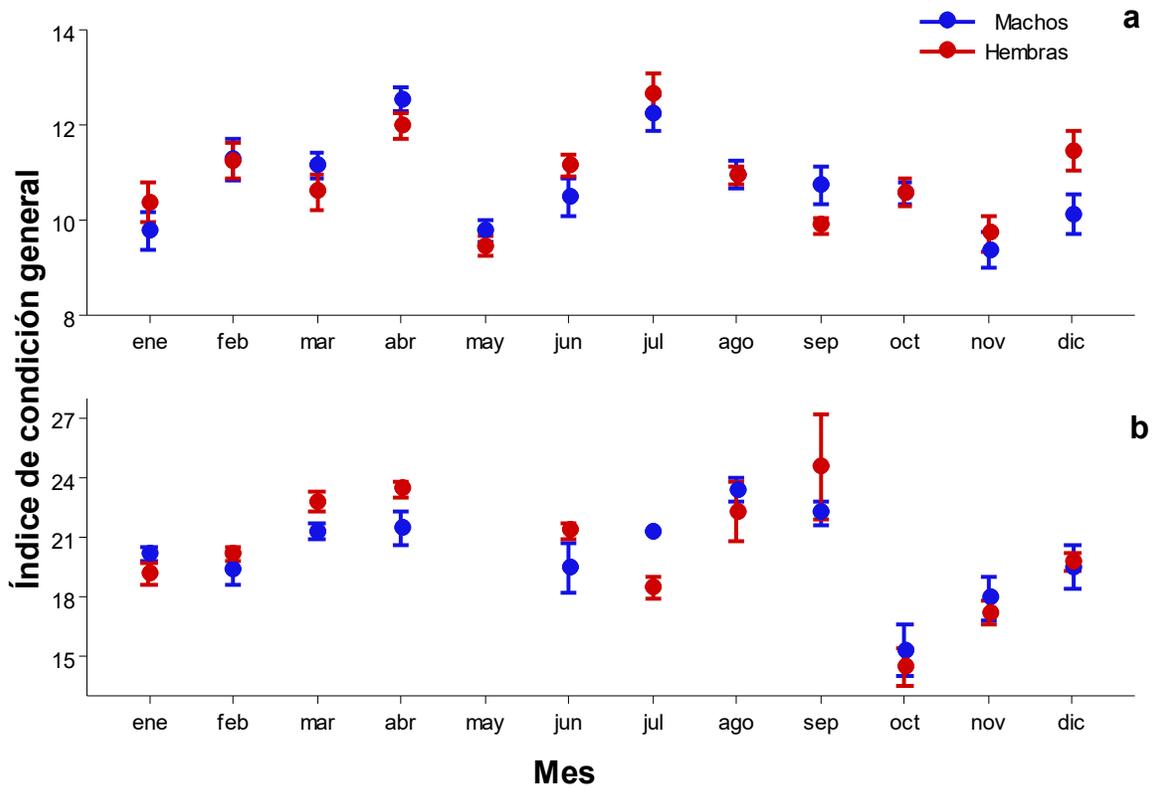


Figura 10.- Variación estacional por sexo del índice de condición general de *Chione undatella* en Bahía de Falsa (a) y la costa de Santa Rosalía (b), BCS, México.

7.6 Relaciones peso-longitud

En ambas localidades se observó que los organismos tienen un crecimiento alométrico negativo ($b < 3$), que podría ser característica general de la especie, en el caso de Bahía de La Paz, los valores de ajuste son relativamente más altos que los que se obtuvieron en la población de Santa Rosalía (Tabla X).

Tabla X.- Parámetros de la relación peso-longitud y tipo de crecimiento de *Chione undatella* en la costa de Santa Rosalía y Bahía Falsa, BCS, México. Ordenada al origen (*a*), pendiente (*b*) y coeficientes de correlación (*r*²).

	Relación	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>r</i> ²	Tipo de crecimiento
Santa Rosalía	Peso total*Longitud	- 89.03	2.62	0.74	Alométrico (-)
	Peso sin concha *Longitud	-21.47	0.59	0.55	Alométrico (-)
	Peso de la concha*Longitud	-67.56	2.03	0.62	Alométrico (-)
Bahía Falsa	Peso total*Longitud	-32.87	1.46	0.87	Alométrico (-)
	Peso sin concha *Longitud	-3.70	0.16	0.72	Alométrico (-)
	Peso de la concha*Longitud	-29.17	1.30	0.86	Alométrico (-)

7.7 Ciclo Reproductivo

Para poder hacer la descripción del ciclo reproductivo primero se hizo la categorización y descripción de cada fase de desarrollo gonádico (Tabla XI).

En el tejido gonadal se observó que al inicio del desarrollo la pared de los folículos está engrosada, las ovogonias y ovocitos en desarrollo en las hembras y los espermatocitos en los machos se encuentran embebidos en la pared de los folículos; hay tejido conectivo interfolicular muy evidente, el cual se reduce conforme se avanzaba en el proceso de maduración. Se observan gametos en diferentes fases de desarrollo en un solo individuo. Lo que permite determinar que hay una producción continua de gametos y desoves parciales.

Tabla XI.- Fases de desarrollo de las gónadas de *Chione undatella*.

Estadio de desarrollo gonádico	Hembras	Estadio de desarrollo gonádico	Machos
	Observación microscópica		Observación microscópica
Desarrollo	Folículos con ovocitos en diferentes fases (vitelogénicos y pedunculados). Los ovocitos se encuentran unidos a la pared del folículo y unos pocos libres en el lumen. Una marcada reducción en la cantidad de tejido conectivo entre los folículos (Fig. 12a)	Desarrollo	Una capa gruesa de espermatogonias y espermatoцитos en los túbulos seminíferos, separados por tejido conectivo (Fig. 13a)
Madurez	Folículos llenos de ovocitos libres en el lumen. Los núcleos y nucléolos de los ovocitos son visibles. Sin tejido conectivo entre folículos (Fig. 12b)	Madurez	Crecimiento de los túbulos seminíferos, sin espacio entre ellos, reducción en la cantidad de espermatogonias y espermatoцитos con un aumento en la cantidad de espermatozoides visibles en el centro de los túbulos (Fig. 13b)
Desove	Folículos parcialmente vacíos, con ovocitos libres en el lumen y presencia de fagocitos (Fig. 12c)	Espermiación	Algunos túbulos con espermatozoides abundantes y otros parcialmente vacíos con las paredes rotas (Fig. 13c)
Recuperación	Folículos vacíos, con algunos ovocitos residuales y actividad fagocitaria (Fig. 12d)	Recuperación	Los túbulos presentan gametos residuales, actividad fagocitaria y abundante tejido conectivo entre ellos (Fig. 13d)
Indiferenciado	Presencia de acinos vacíos, no se observan gametos. No se puede diferenciar el sexo. El tejido conjuntivo es abundante (Fig. 11)		



Figura 11.- Microfotografía de gónada indiferenciada de *Chione undatella* teñida con la técnica de Hematoxilina-eosina. Abreviatura: F, folículo.

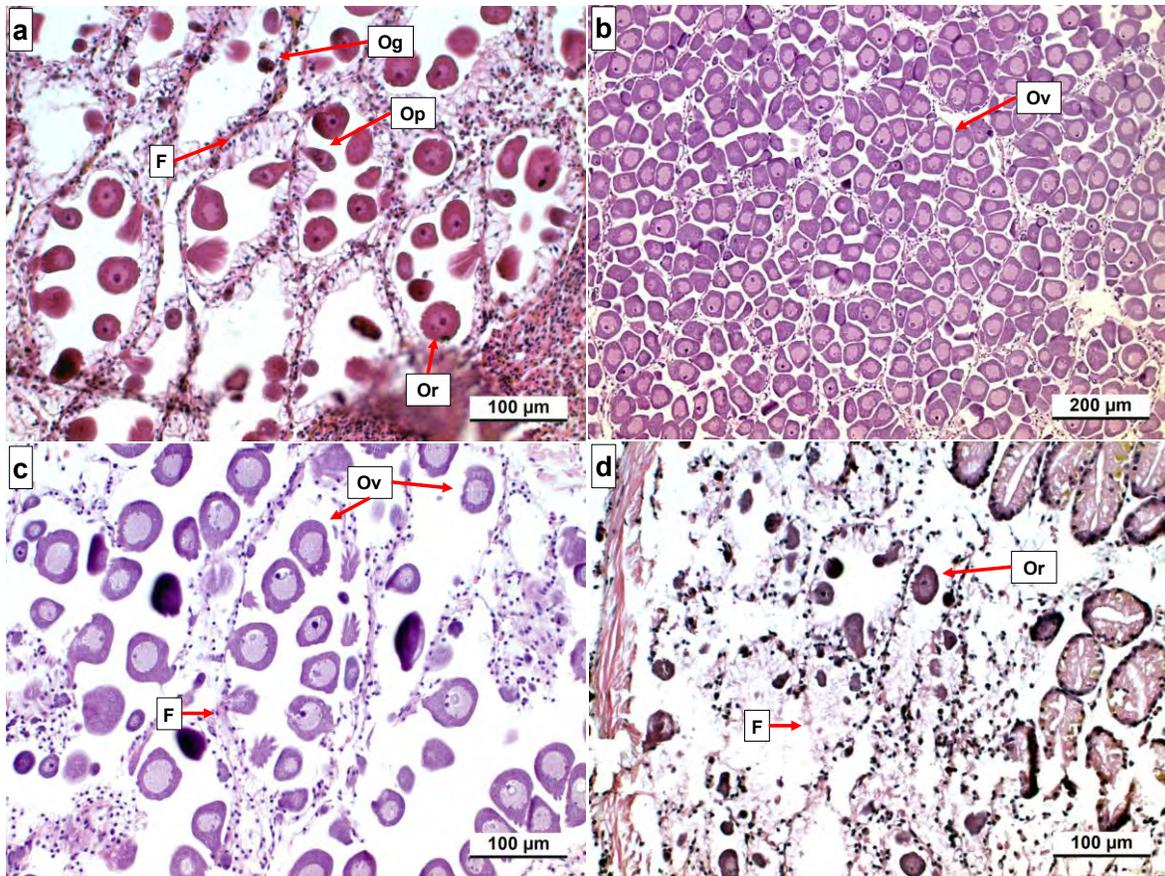


Figura 12.- Microfotografías de las fases de desarrollo gonadal de hembras de *Chione undatella* teñidas con la técnica de Hematoxilina-eosina: Desarrollo (a), Madurez (b), Desove (c), Recuperación (d). Abreviaturas: F, folículo; Og, ovogonia; Op, ovocito previtelogenico; Ov, ovocito vitelogenico; Or, Ovocito residual.

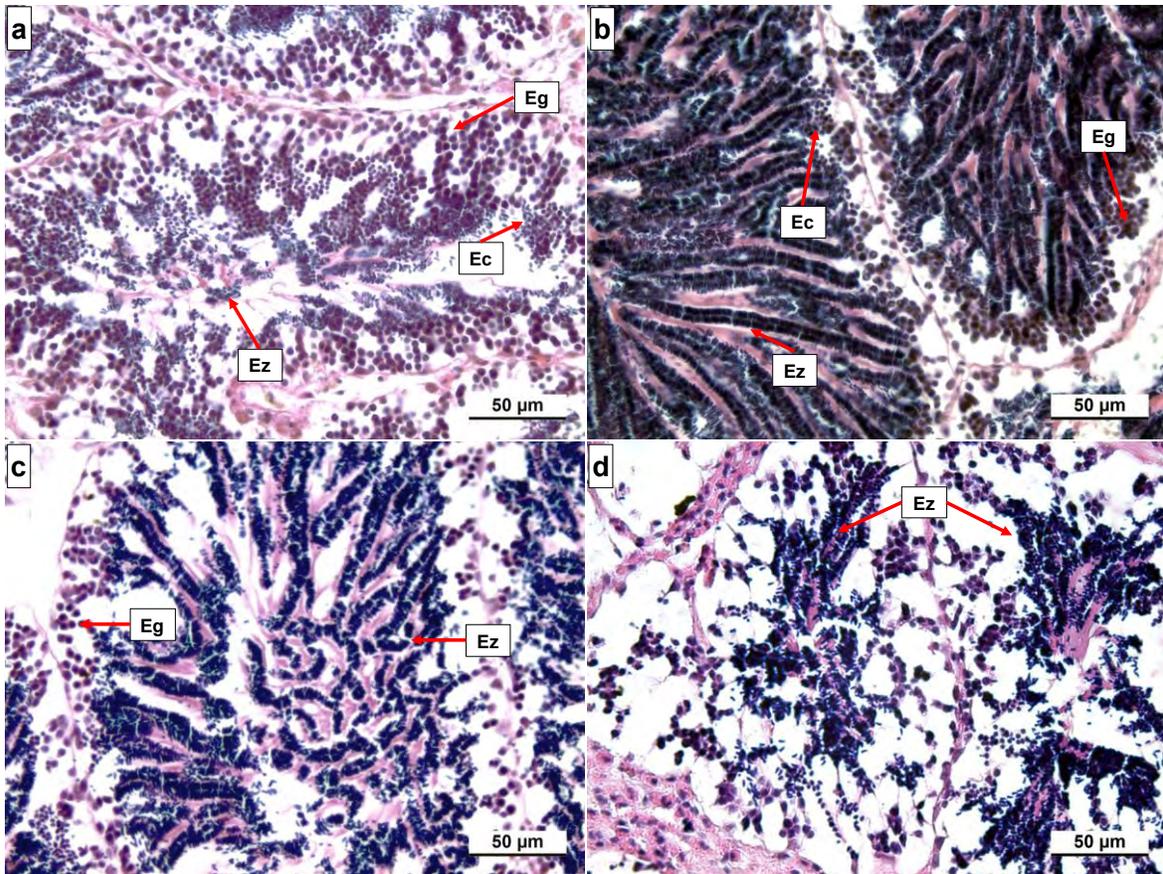
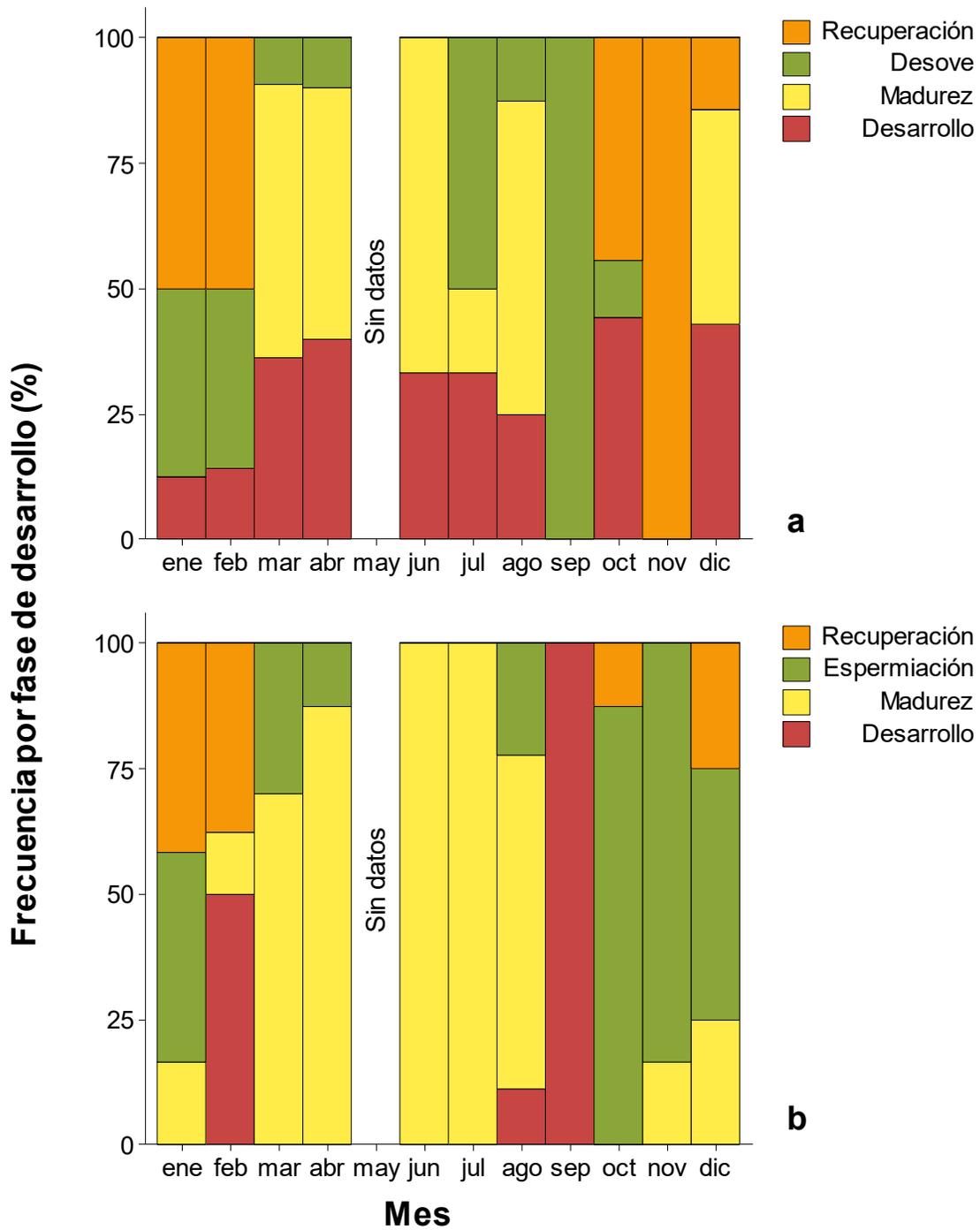


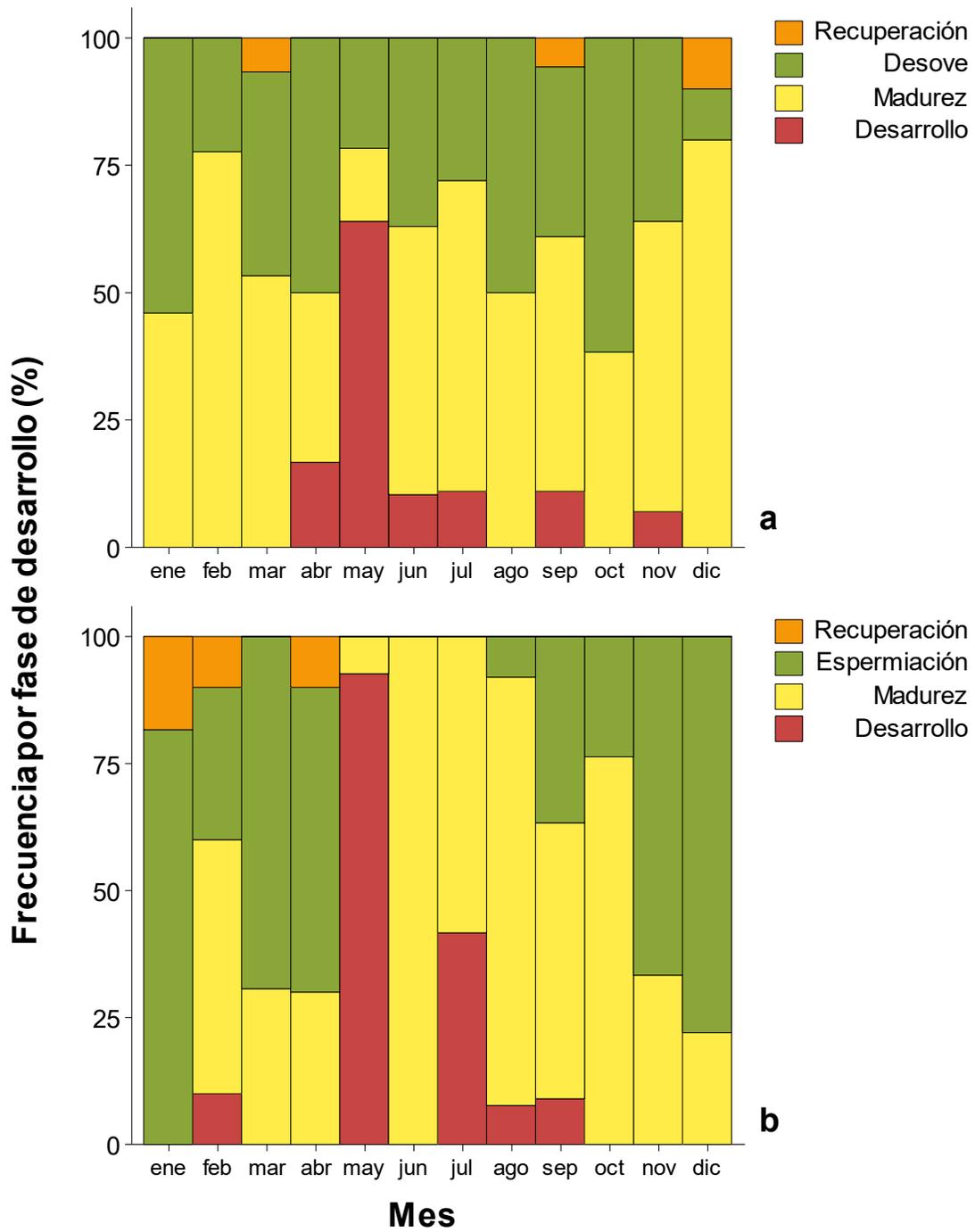
Figura 13.- Microfotografías de las fases de desarrollo gonadal de machos de *Chione undatella* teñidas con la técnica de Hematoxilina-eosina: Desarrollo (a), Madurez (b), Espermiación (c), Recuperación (d). Abreviaturas: Eg, espermatogonia; Ec, espermatozito; Ez, Espermatozoide.

En ambas localidades se presenta actividad reproductiva durante todo el año y de manera más evidente en machos (Figs. 14 y 15). En Santa Rosalía las hembras maduras se presentan en mayor proporción de marzo a agosto (>50%) y desovan con una mayor proporción durante julio y septiembre (50% y 100%, respectivamente), aunque presentan desove de menor intensidad durante enero y febrero (38% y 36%, respectivamente) (Fig. 14a). En Bahía Falsa, las hembras maduras o en desove se presentan en alta proporción durante todo el año (80-100%), a excepción de mayo, donde las hembras en fase de desarrollo alcanzaron el 64%. y desovan con una mayor proporción durante enero, abril y octubre ($\geq 50\%$) (Fig. 15a).

Los machos maduros en Santa Rosalía se observan prácticamente todo el año (excepto septiembre y octubre) y presentan un pico de espermiación entre octubre y enero, con mayor intensidad en octubre y noviembre (> 80%) (Fig. 14b). Los organismos en Bahía Falsa presentan una tendencia similar a los de la costa de Santa Rosalía, con machos maduros o en espermiación durante prácticamente todo el año, a excepción de mayo, en el que los machos en fase de desarrollo alcanzan el 93%. El mayor porcentaje de machos en espermiación se observó en noviembre (67%), diciembre (78%) y enero (82%); marzo y abril también presentan un porcentaje considerable en espermiación con el 69 y 60% respectivamente (Fig. 15b).



Figuras 14.- Ciclo reproductivo de hembras (a) y machos (b) de *Chione undatella* en la costa de Santa Rosalía, BCS, México.



Figuras 15.- Ciclo reproductivo de hembras (a) y machos (b) de *Chione undatella* en Bahía Falsa, BCS, México.

7.8 Talla de madurez sexual ($L_{50\%}$)

Comparando las dos zonas, los organismos de Santa Rosalía alcanzan la madurez sexual ($L_{50\%}$) a tallas mayores, en machos se estimó en 57.01 mm LC ($r^2 = 0.98$) y para hembras en 57.09 mm ($r^2 = 0.99$), aunque la hembra más pequeña con actividad reproductiva fue de 42 mmLC y el macho de 50 mmLC (Fig. 16). En Bahía Falsa se observa actividad reproductiva en organismos desde los 26 mm de longitud de la concha en ambos sexos, sin embargo, la talla de madurez sexual ($L_{50\%}$) para machos es de 36.44 mm ($r^2 = 0.99$) y en hembras de 35.21 mm ($r^2 = 0.99$) (Fig. 16).

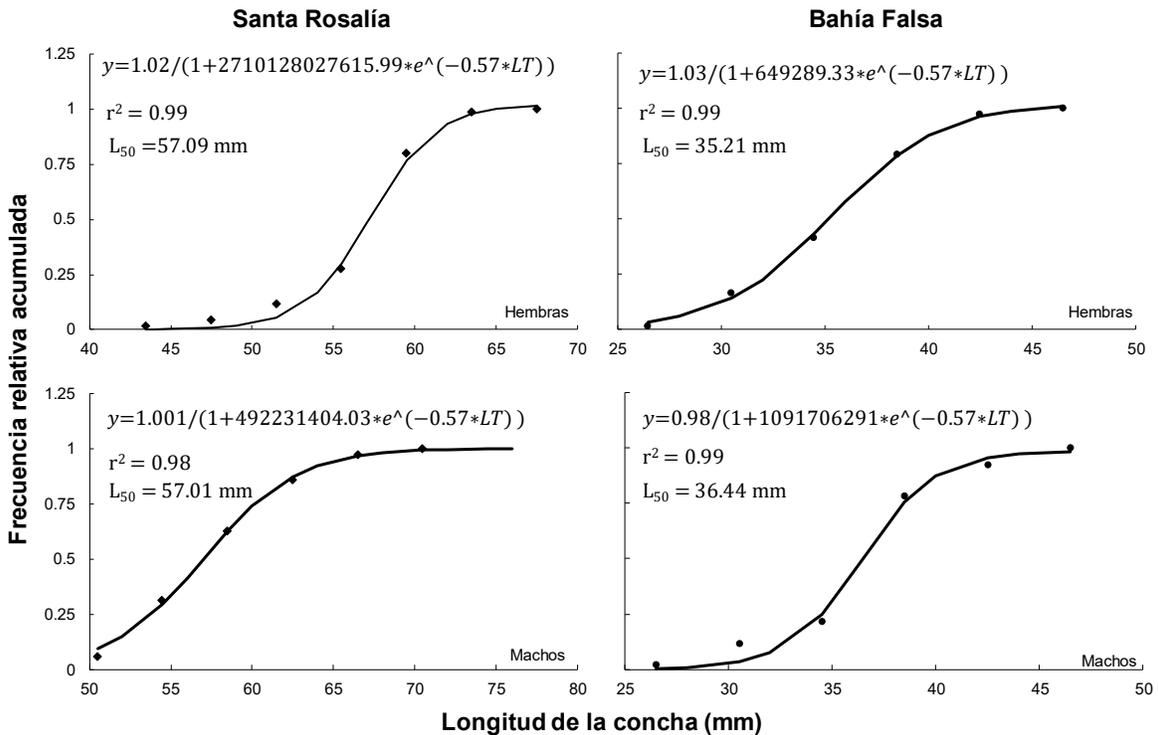


Figura 16.- Talla de madurez sexual ($L_{50\%}$) de *Chione undatella* en la costa de Santa Rosalía y Bahía Falsa, BCS, México.

7.9 Alteraciones histopatológicas y presencia de parásitos

Se encontraron diferentes alteraciones histopatológicas en los organismos de ambas localidades, por lo que se analizaron por separado.

7.9.1 Costa de Santa Rosalía

En organismos de Santa Rosalía se encontró infiltración de células hemocíticas en gónada, glándula digestiva, branquia, manto y sifónen distintas intensidades durante todo el año (Fig. 17). El 93.75% de los organismos presentó infiltración de células hemocíticas en al menos uno de los tejidos analizados; en octubre se reporta la prevalencia mensual más baja (70.59%), seguido de agosto (82.35%) y junio (85.71%), en algunos meses la prevalencia fue del 100% (enero, marzo, abril, julio, septiembre y noviembre). Gónada, glándula digestiva y branquia presentan un mayor número de individuos con intensidad en etapa 3, el manto presentó intensidades en etapa 2 y en contraste, en el sifón la presencia de células hemocíticas fue muy baja, así como en la intensidad que presentaron los individuos afectados (etapa 1).

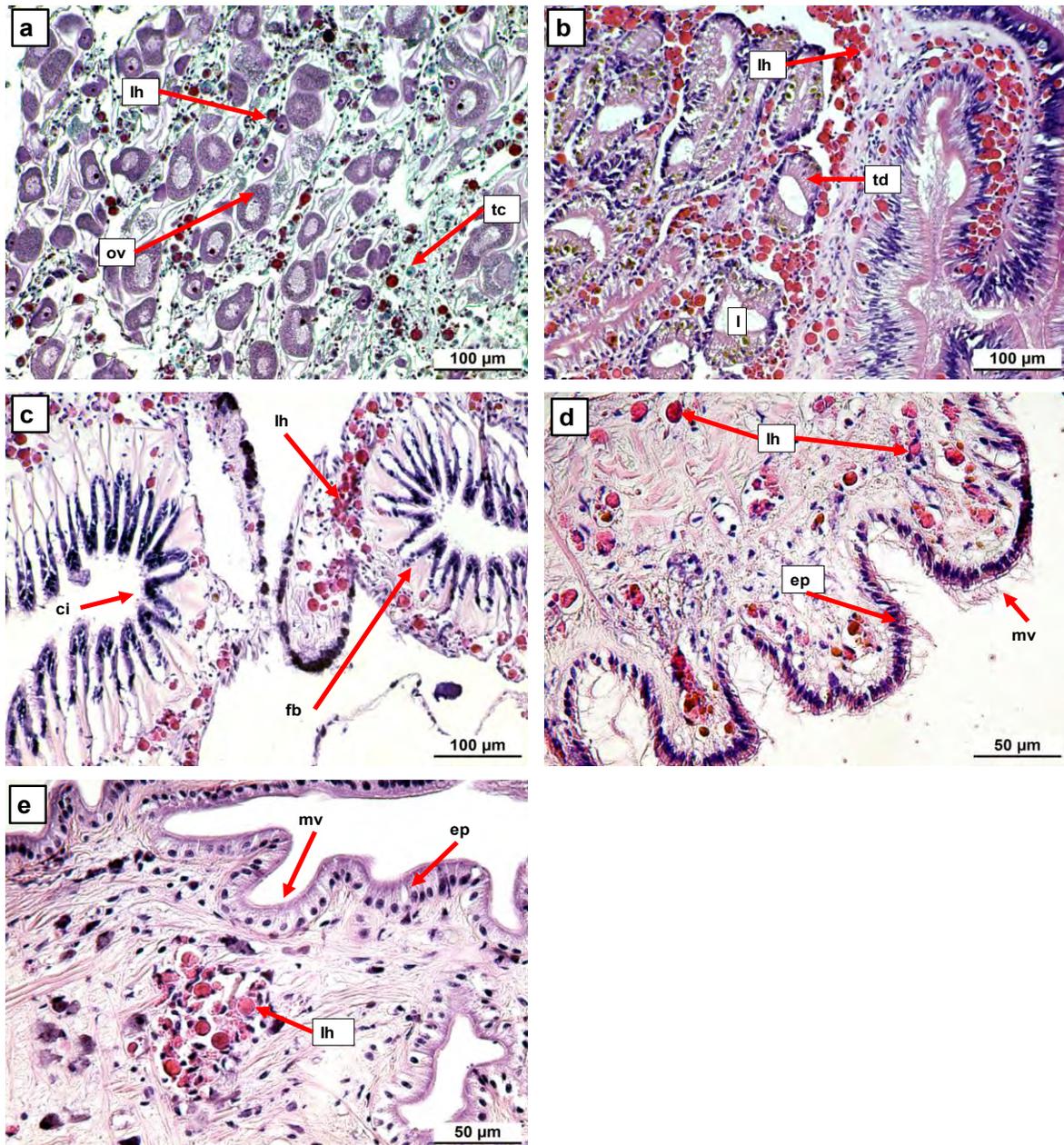


Figura 17.- Microfotografías de gónada (a), glándula digestiva (b), branquia (c) sifón (d) y manto (e) de *Chione undatella* con presencia de infiltraciones hemocíticas. Abreviaturas: ci, cilios; ep, células epiteliales; fb, filamentos branquiales; lh, infiltraciones hemocíticas; l, lumen; mv, microvellosidades; ov, ovocitos; tc, tejido conectivo; td, túbulos digestivos.

Las infiltraciones hemocíticas en gónada y glándula digestiva se presentan en etapa 2 y 3 en más del 50% de los individuos durante la mayor parte del año. En agosto y octubre se observó una menor prevalencia de células hemocíticas, así como una

menor intensidad en el caso de presentarse en alguno de los individuos, solo en el 6% se observaron en etapa 3 durante ambos meses (Fig. 18).

El porcentaje de individuos en etapa 2 y 3 de intensidad de infiltraciones hemocíticas en branquia es alto, resalta julio, mes en el que el 100% de los organismos presentó infiltración hemocítica en etapa 3, durante agosto se observa el menor porcentaje de individuos en etapa 3, sin embargo, sigue siendo una prevalencia alta con el 76% (Fig. 18) del total de individuos.

En manto se observaron infiltraciones hemocíticas, tejido epitelial sin alteraciones con células mucosas epiteliales y subepiteliales del mismo tamaño, y abundante tejido conectivo. Predominan individuos en etapa 2, con bajos porcentajes de individuos en etapa 3, resalta el mes de febrero, en el que el 100% se catalogó en etapa 0 (Fig. 18).

El sifón mostró la menor prevalencia de infiltraciones hemocíticas, al igual que en branquia durante julio se observó una mayor prevalencia con el 50% de los individuos en etapa 1, durante febrero, abril y agosto solo se observó en el 10% de los organismos (Fig. 18).

Se observó una variación estacional en las infiltraciones hemocíticas en los diferentes tejidos con diferencias estadísticas significativas en el que predominan los organismos con una intensidad abundante en infiltraciones hemocíticas, con excepción del sifón en el que no se observa una variación estacional ($H = 15.36$, $p = 0.082$) y un escaso porcentaje de organismos con infiltraciones hemocíticas (Fig. 18).

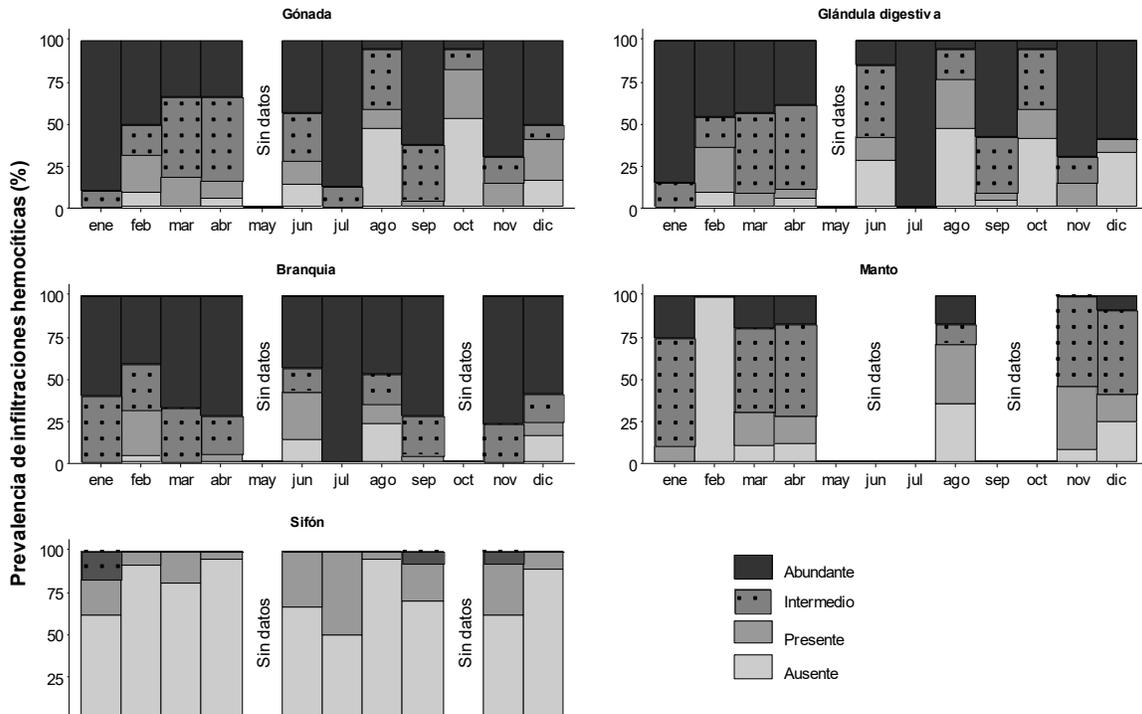


Figura 18.- Variación mensual de la intensidad de infiltración hemocítica (Ih) en distintos tejidos de *Chione undatella* en la costa de Santa Rosalía, BCS, México.

Por grupos de talla el comportamiento es similar en la mayor parte de los tejidos, el porcentaje de individuos en etapa 0 es mayor en el grupo de talla chica aumentando el porcentaje de individuos en etapa 2 y 3 para los grupos de talla media y grande.; la excepción fue el sifón, en él no se observa la tendencia de los demás tejidos, el grupo de talla grande fue el que presentó un menor porcentaje de individuos en etapa 0 (61%), y el grupo de talla media con el 88% de individuos en etapa 0 fue el que presentó el menor porcentaje de individuos con infiltraciones hemocíticas (Fig. 19).

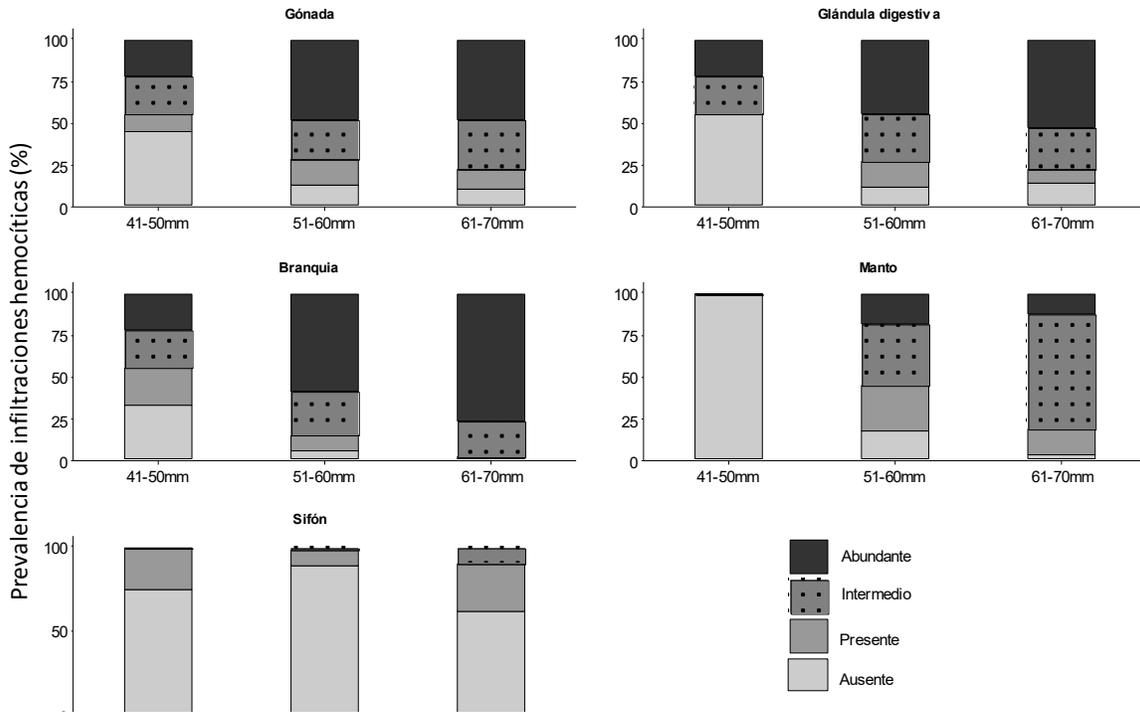


Figura 19.- Variación por grupo de talla de la intensidad de infiltración hemocítica (Ih) en distintos tejidos de *Chione undatella* en la costa de Santa Rosalía, BCS, México.

7.9.2 Bahía Falsa

En Bahía Falsa se encontraron alteraciones a nivel histológico en gónada, glándula digestiva y branquia; la glándula digestiva es el órgano con mayor porcentaje de alteraciones, el 44% presentó parásitos y el 48% lipofuscinas (Tabla XII).

Tabla XII.- Prevalencia de alteraciones histológicas encontradas en diferentes tejidos de *Chione undatella* en Bahía Falsa, BCS, México.

Órgano / Alteración histológica	Prevalencia			
	Intensidad 1	Intensidad 2	Intensidad 3	Intensidad 4
Gónada				
Parásitos	99	0	0.6	0.4
Atresia	84	15	0.5	0.5
Glándula digestiva				
Parásitos	56	43	0.6	0.4
Lipofucsinas	52	25	22	1
Branquia				
Colonia de organismos procariotas	70	30	0	0

Se observaron cercarias en gónada, glándula digestiva y branquia (Fig. 20), Sin embargo, la prevalencia de cercarias en gónadas fue de apenas el 1%, a diferencia de la glándula digestiva y branquia en el que las prevalencias fueron notablemente mayores, 44 y 30%, respectivamente.

En glándula digestiva se observaron células hemocíticas encapsulando a las cercarias (Fig. 20), cuando la intensidad de esta patología era ≥ 3 no se observaron células hemocíticas rodeándolos, en estos casos, podría ser una castración parasítica por supuesto que los parásitos invadían en gran proporción el tejido gonadal. Aunado a la presencia de cercarias en glándula digestiva se observaron lipofucsinas con una prevalencia de 22% y con intensidad 3 o moderada (Fig. 21).

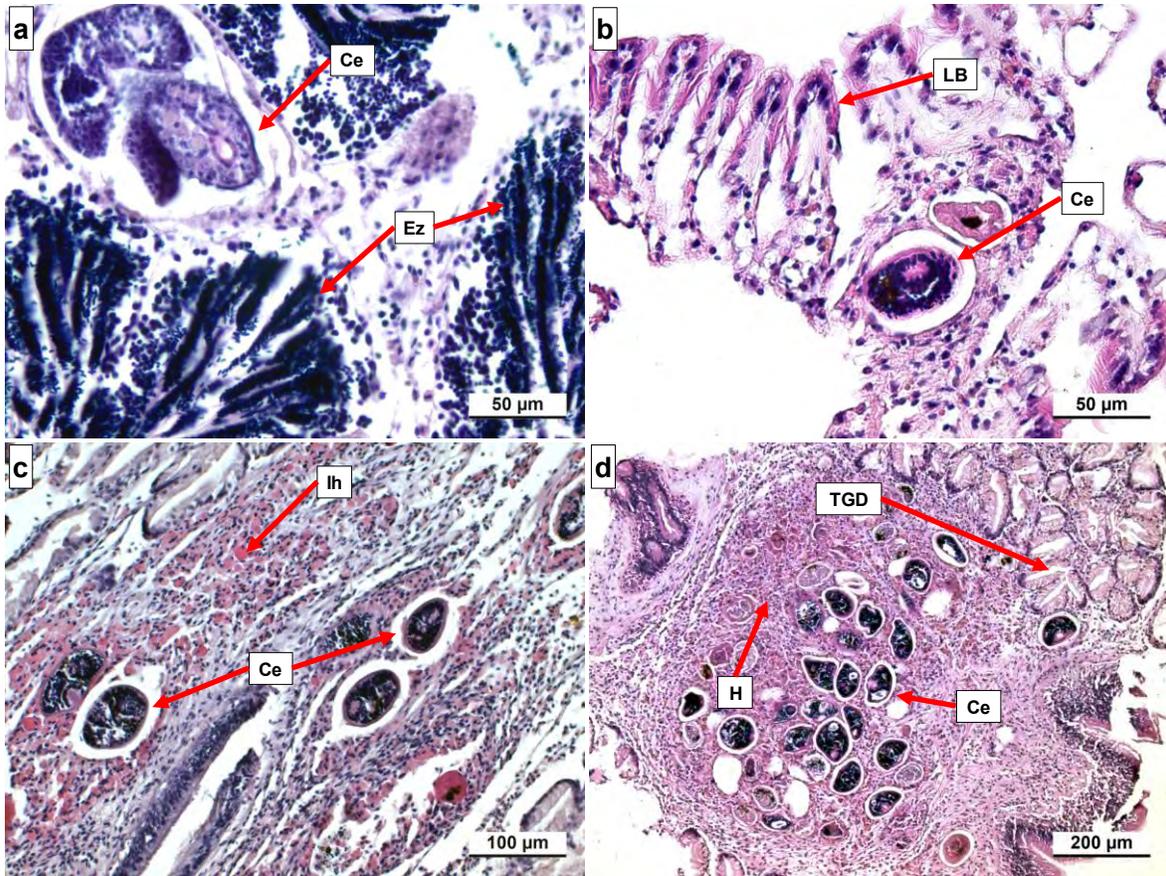


Figura 20.- Cercarias en diferentes tejidos de *Chione undatella* teñidas con técnica de Hematoxilina-eosina: Gónada (a); branquia (b); glándula digestiva (c y d). Abreviaturas: ce: cercarí, Ez: espermatozoide; H, hemocitos; Ih: infiltración hemocítica; LB: lamela branquial; TGD, túbulos de la glándula digestiva.

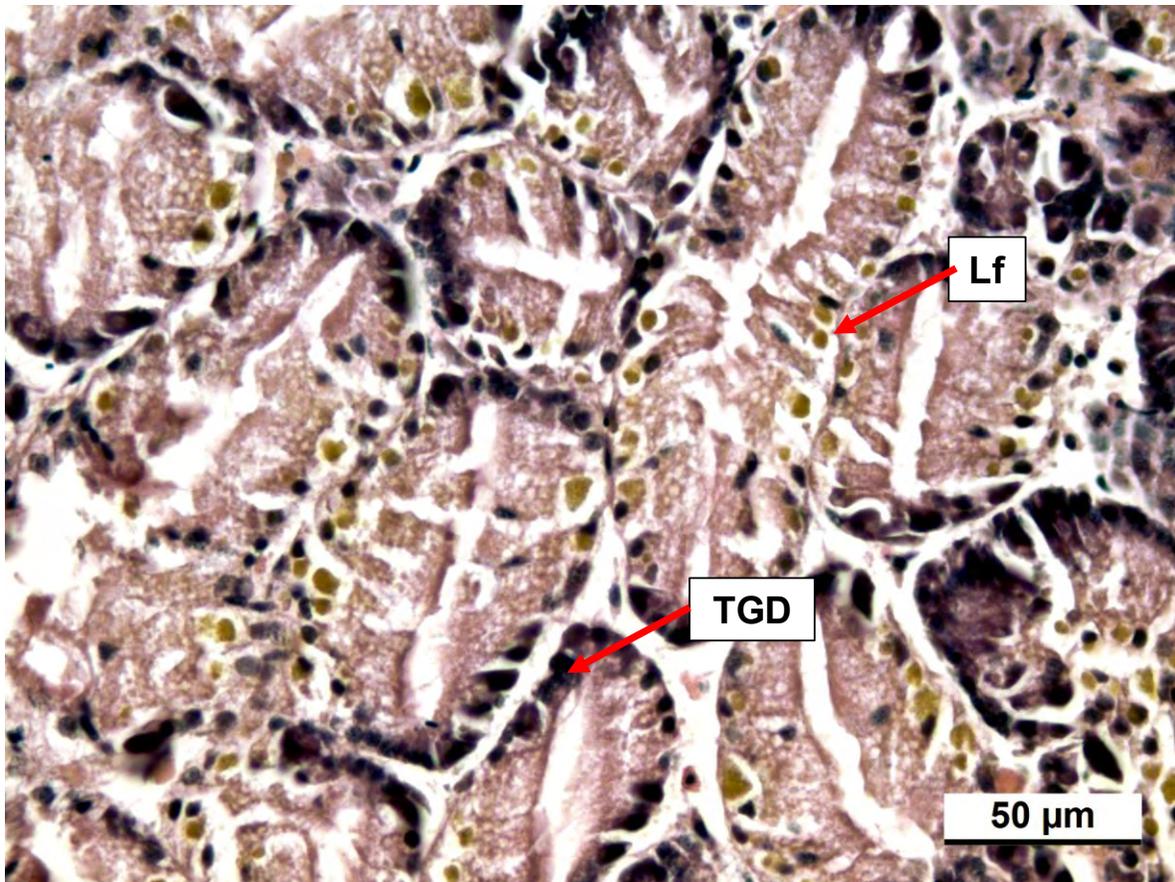


Figura 21.- Glándula digestiva de *Chione undatella* teñida con Hematoxilina-eosina. Abreviaturas: Lf, lipofucsina; TGD, túbulos de la glándula digestiva.

En branquia se encontraron quistes de células procariotas entre las lamelas branquiales, los organismos que presentaron estos quistes fue con una intensidad 1 y con una prevalencia del 30% (Fig. 22).

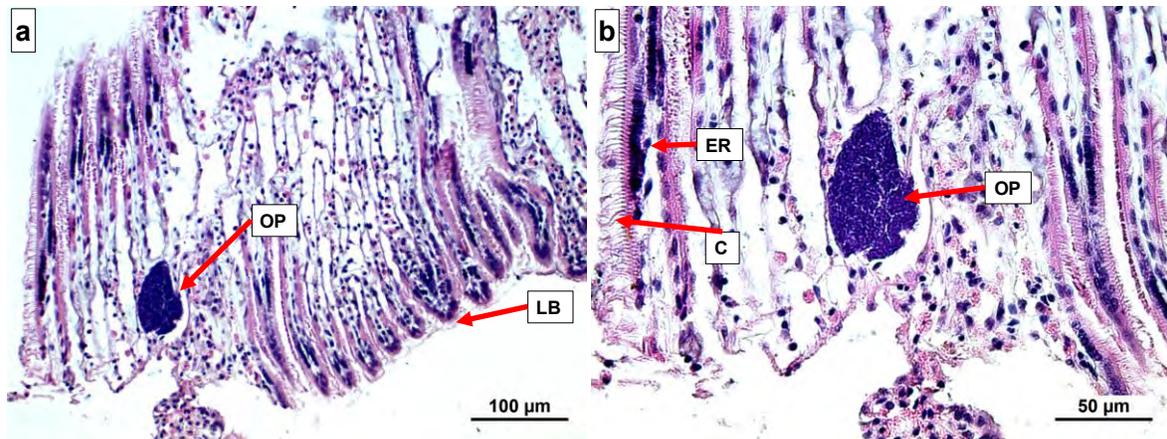


Figura 22.- Quistes de células procariotas en lamelas branquiales de *Chione undatella* teñida con Hematoxilina-eosina. Abreviaturas: C, cilios; ER, epitelio respiratorio; LB: lamelas branquiales; OP, organismos procariotas.

No se encontraron diferencias significativas entre sexos, ni grupos de talla para ninguna de las alteraciones encontradas en los tejidos. Se encontraron diferencias significativas en la variación estacional de presencia de parásitos y lipofuscinas en glándula digestiva, así como en la presencia de colonias procariotas en branquia (Tabla XIII).

Tabla XIII.- Diferencia de las alteraciones histopatológicas encontradas en los diferentes tejidos analizados de *Chione undatella* en Bahía Falsa, BCS, México.

* indica diferencias significativas.

Alteración patológica	Kruskal - Wallis	Kruskal - Wallis	Kruskal - Wallis
	Sexo g.l. 1	Grupo de talla g.l. 2	Meses g.l. 11
Gónada			
Atresia	-	H= 0.38 <i>p</i> = 0.83	H= 16.02 <i>p</i> = 0.14
Glándula digestiva			
Parásitos	H= 0.06 <i>p</i> =0.81	H= 2.32 <i>p</i> =0.31	H= 23.66 <i>p</i> = 0.01*
Lipofucsinas	H= 0.28 <i>p</i> = 0.60	H= 0.05 <i>p</i> = 0.97	H= 42.75 <i>p</i> < 0.0001*
Branquia			
Colonia de organismos procariotas	H= 0.98 <i>p</i> = 0.32	H= 1.89 <i>p</i> = 0.39	H= 38.89 <i>p</i> < 0.0001*

* Diferencias significativas

7.10 Alteraciones en gónada, glándula digestiva y branquia a nivel ultraestructura

La gónada contiene gran cantidad de acinos inmersos en tejido conectivo inter-acinal, cuyas paredes están formadas por una delgada capa de tejido conectivo que sostiene células foliculares y células germinales primarias. A medida que avanza la gametogénesis, el acino se va llenando de células sexuales en diferentes etapas de crecimiento, dependiendo del estadio de desarrollo gonádico de cada sexo. En Bahía Falsa se identificó en gónada femenina en cortes semifinos ovocitos con gránulos de vitelo y en el caso de la costa de Santa Rosalía se observaron inclusiones hemocíticas (Fig. 23); a nivel ultraestructural en Bahía falsa se observaron ovogonias y ovocitos cubiertos por microvellosidades, así como gránulos de vitelo y mitocondrias en su citoplasma, en cambio en la hembra de la costa de Santa Rosalía las microvellosidades fueron escasas, así como, los gránulos de vitelo, y no se logró observar mitocondrias en el citoplasma (Fig. 24).

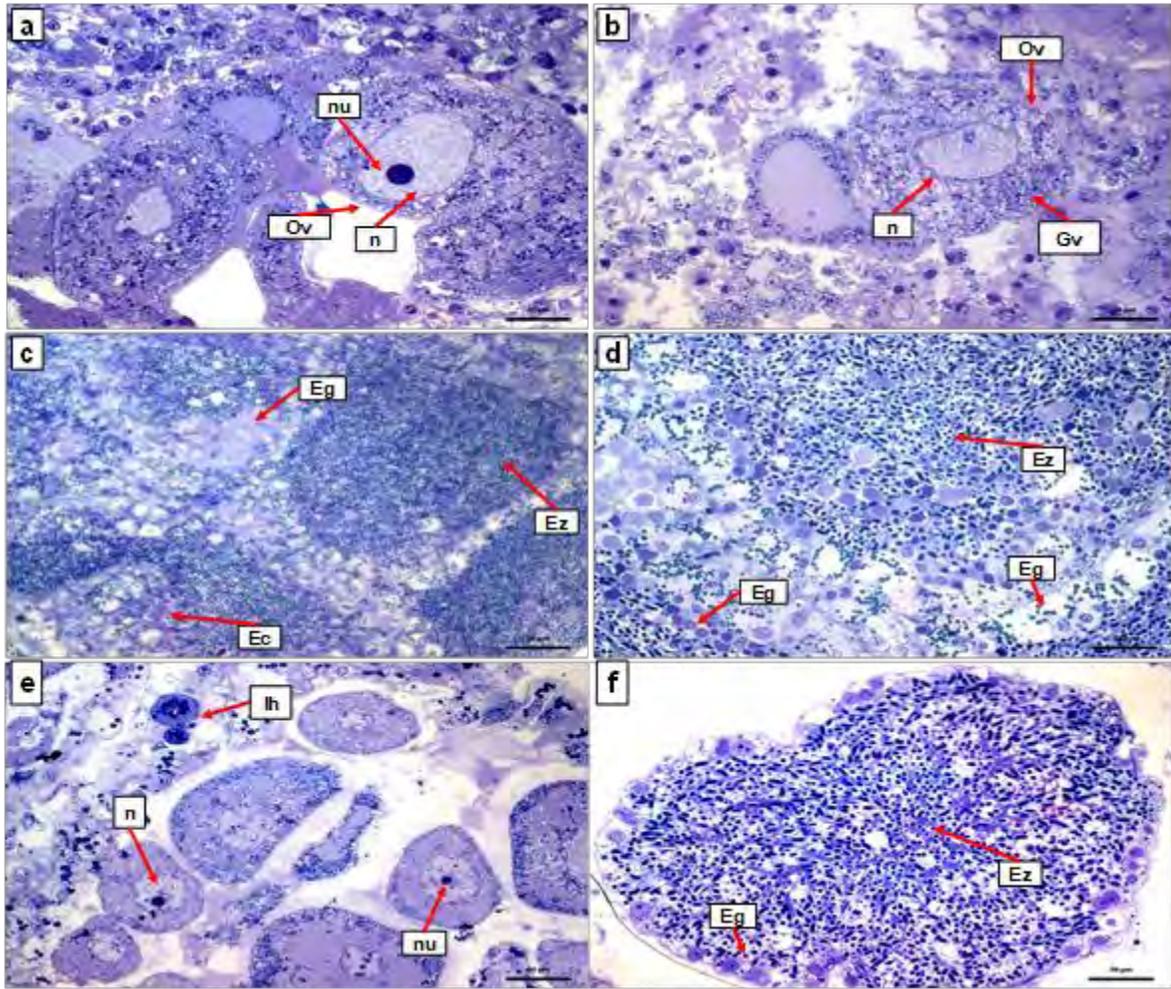


Figura 23.- Microfotografías de corte semifino de gónada de *Chione undatella*. Hembra de Bahía Falsa (a y b); Macho de Bahía Falsa (c y d); Hembra de la costa de Santa Rosalía (e); Macho de la costa de Santa Rosalía (f), BCS, México. Abreviaturas: Ec, espermatocono; Eg, espermatogonia; Ez, Espermatozoide; Gv, gránulos de vitelo; lh, infiltración hemocítica; n, núcleo; un, nucléolo; Ov, ovocito.

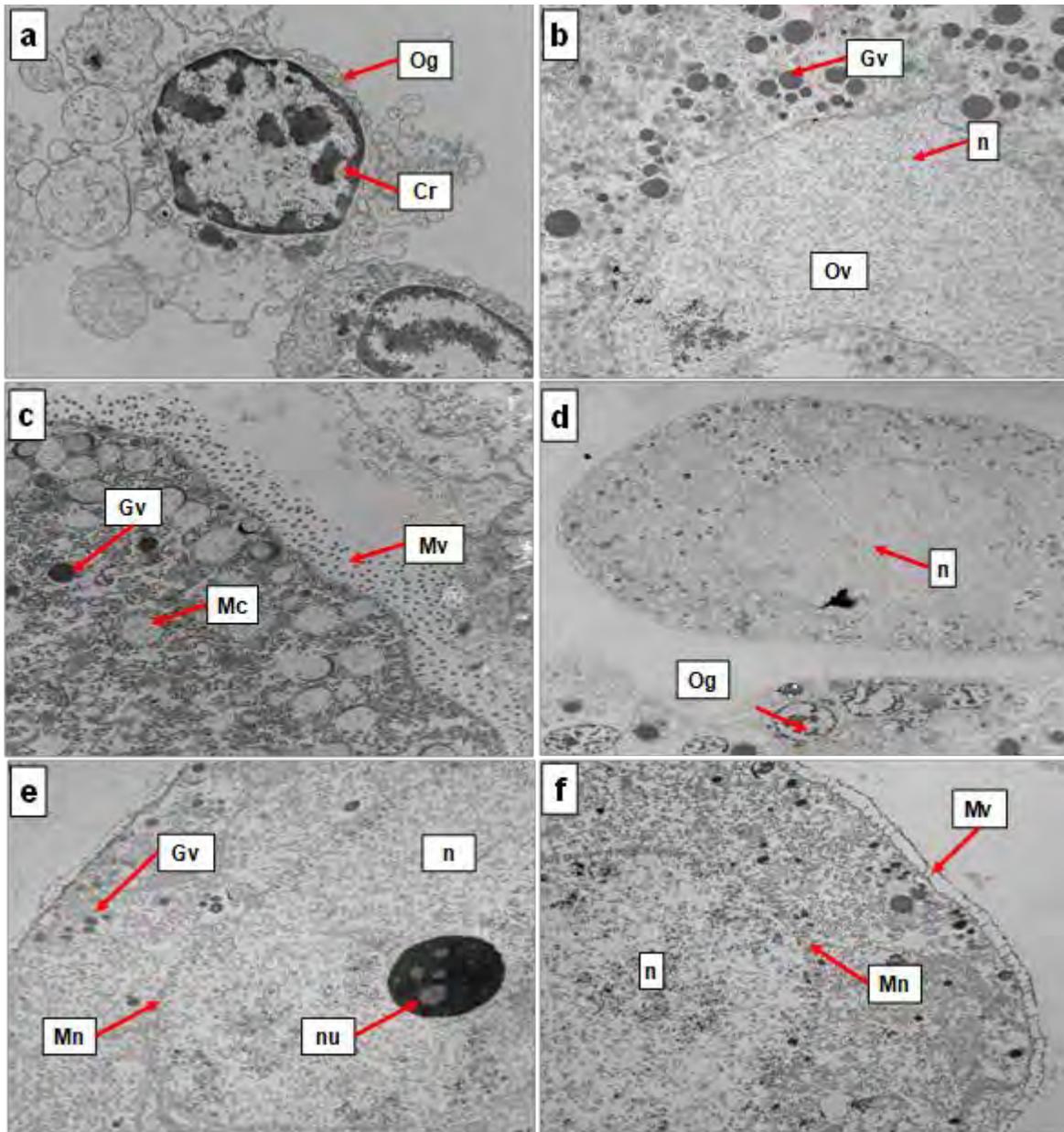


Figura 24.- Microfotografía de la ultraestructura de gónada de hembras de *Chione undatella* de Bahía Falsa (a, b y c) y de la costa de Santa Rosalía (d, e y f), BCS, México. Abreviaturas: Cr, cromatina; Gv, gránulos de vitelo; Mc, mitocondrias; Mn, membrana nuclear; Mv, microvellosidades; n, núcleo; nu, nucléolo; Og, ovogonia; Ov, ovocito.

En gónada masculina en cortes semifinos de Bahía Falsa se identificaron espermatogonias, espermatocitos y espermatozoides, en cambio en la costa de Santa Rosalía solo se pudieron identificar espermatogonias y espermatozoides. A

nivel ultraestructural se observaron espermatogonias en contacto con la membrana basal de los túbulos seminíferos, caracterizadas por presencia de cromatina esparcida por el núcleo. En espermatocitos secundarios se observa cromatina condensada en la periferia del núcleo, con mitocondrias en el citoplasma. Las espermatidas presentan un núcleo esférico, el citoplasma forma únicamente un halo alrededor de éste. En los espermatozoides se diferencian estructuras específicas como el acrosoma y el flagelo. El acrosoma es de forma piramidal, cóncavo hacia la parte apical de la célula y convexo hacia el núcleo. En la parte del cuello se encuentran cuatro mitocondrias dispuestas en forma circular. El centriolo se encuentra entre las mitocondrias y a partir de éste se forma el flagelo. En los individuos de la costa de Santa Rosalía se encontraron espermatidas y espermatozoides vacuolados, entre los túbulos seminíferos se encontraron células de Sertoli (células de forma irregular) con gránulos por todo el citoplasma (Fig. 25) y espermatozoides con 2 o 3 flagelos, así como se identificó como una característica propia de la especie, la cantidad de mitocondrias, en este caso fueron 4 (Fig. 26).

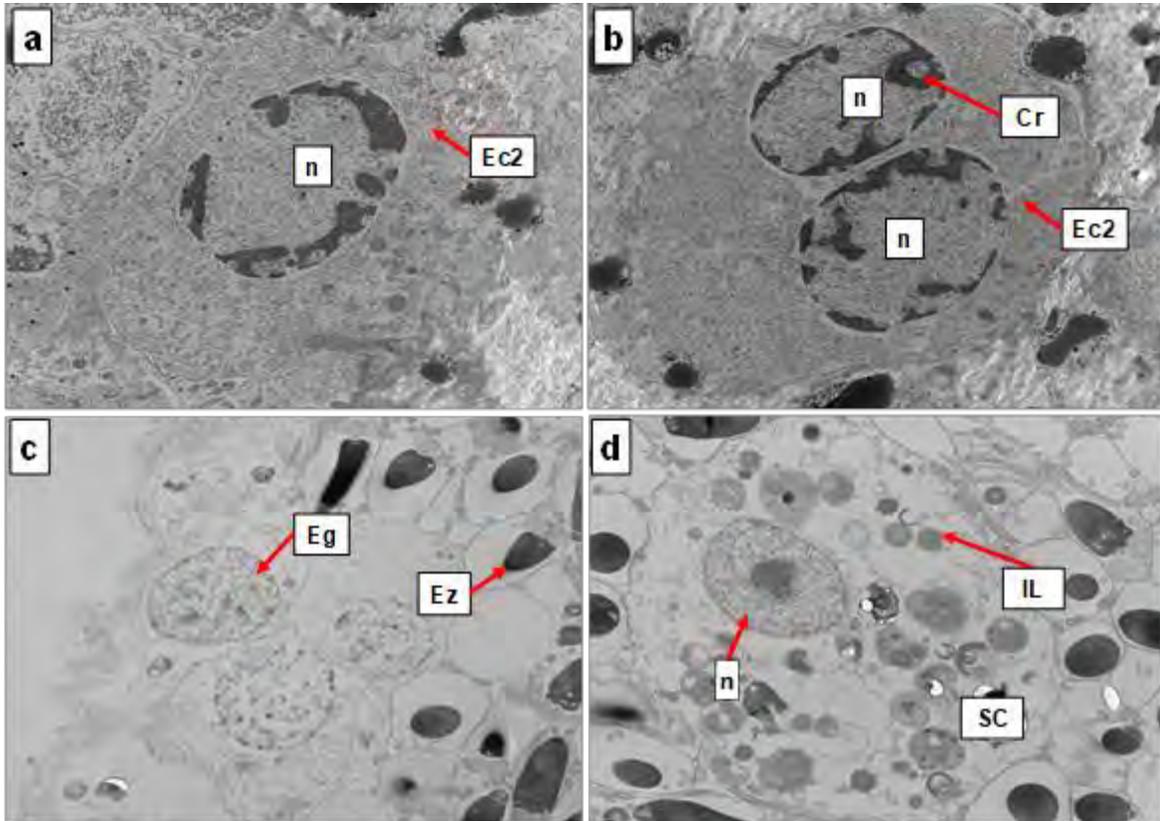


Figura 25.- Microfotografía de la ultraestructura de gónada de macho de *Chione undatella*. Espermatocitos secundarios de macho de Bahía Falsa (a y b); espermatogonia y espermatozoides de macho de la costa de Santa Rosalía (c); célula de Sertoli de macho de la costa de Santa Rosalía (d), BCS, México. Abreviaturas: Cr, cromatina; Ec2, espermatocito secundario; Eg, espermatogonia; Ez, espermatozoide; IL, inclusiones lipídicas; n, núcleo; Sc, célula de Sertoli;

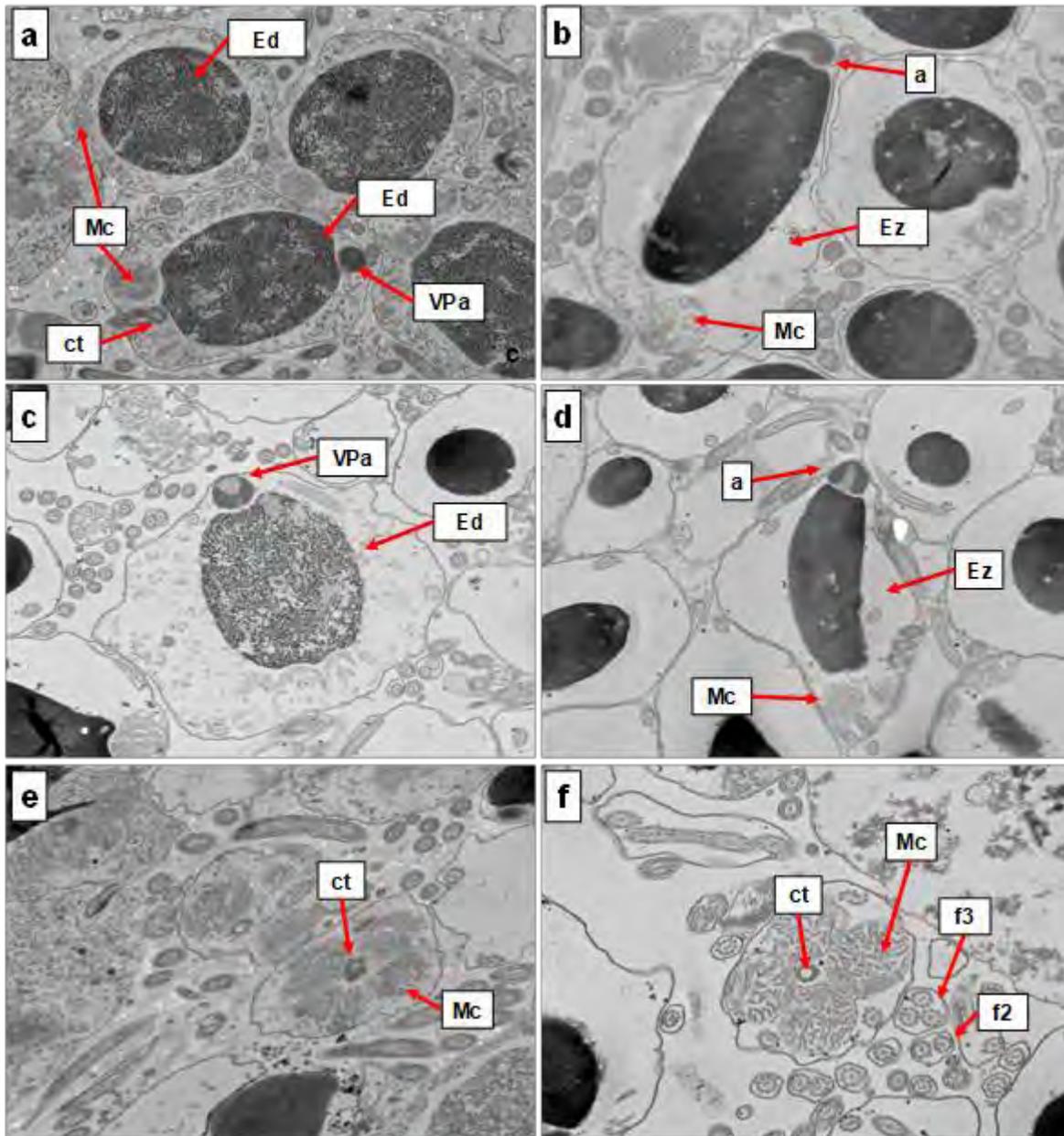


Figura 26.- Microfotografía de la ultraestructura de gónada de macho de *Chione undatella*. Macho de Bahía Falsa (a, c y e); Macho de la costa de Santa Rosalía (b, d y f), BCS, México. Abreviaturas: a, acrosoma; ct, centriolo; Ed, espermátidas; Ez, espermatozoide; f2, doble flagelo; f3, triple flagelo; Mc, mitocondrias; VPa, vesícula pro-acrosomal;

En los cortes semifinos de glándula digestiva se observan dos tipos de células, células basófilas y células digestivas columnares; en los individuos de Bahía Falsa,

se observan células densas, en cambio en los de la costa de Santa Rosalía se observan células vacuolisadas (Fig. 27).

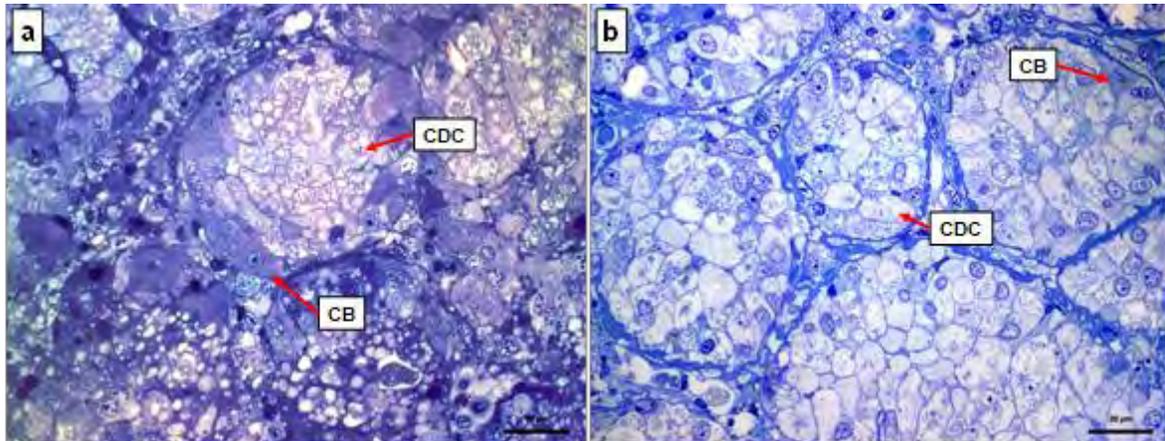


Figura 27.- Microfotografía de corte semifino de glándula digestiva de *Chione undatella* de un organismo de Bahía Falsa (a) y un organismo de la costa de Santa Rosalía (b), BCS, México. Abreviaturas: CB, célula basófila; CDC, célula digestiva columnar.

La glándula digestiva a nivel ultraestructural que se observó en individuos de Bahía Falsa consiste en una serie de túbulos digestivos, caracterizada por epitelio cubico recubierto por cilios. Estos túbulos digestivos están compuestos por células digestivas caracterizadas por numerosas vacuolas. Las células digestivas columnares presentan un núcleo definido y se observan estructuras del retículo endoplasmático en todo el citoplasma (Fig. 28), en los individuos de la costa de Santa Rosalía no se observa una gran cantidad de cilios, y en el caso de las células digestivas columnares, se observa un citoplasma sin estructuras identificables como las del retículo endoplasmático que se observaron en Bahía Falsa (Fig. 29).

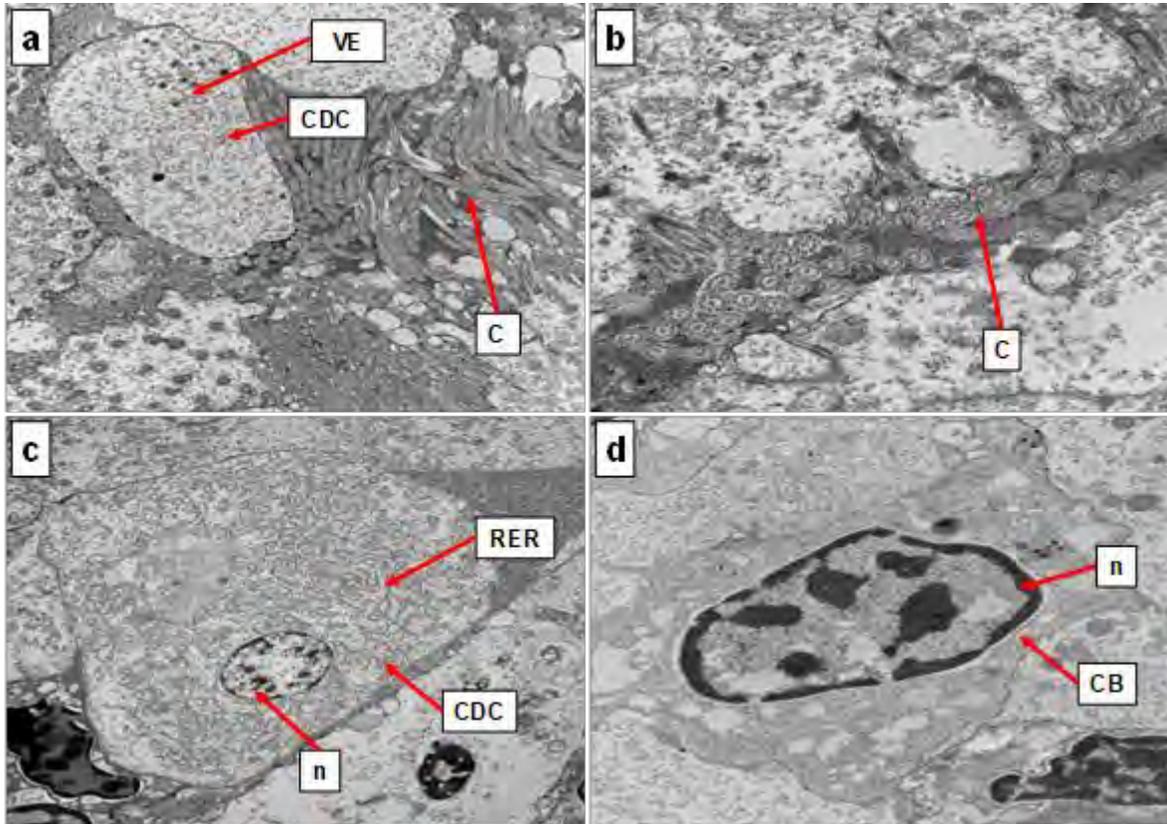


Figura 28.- Microfotografía de la ultraestructura de glándula digestiva de *Chione undatella* en Bahía Falsa, BCS, México. Célula digestiva (a); cilios (b); célula digestiva (c); célula basófila (d). Abreviaciones: C, cilio; CB, célula basófila; CDC, célula digestiva columnar; n, núcleo; RER, retículo endoplasmático rugoso; VE, vesícula endocítica

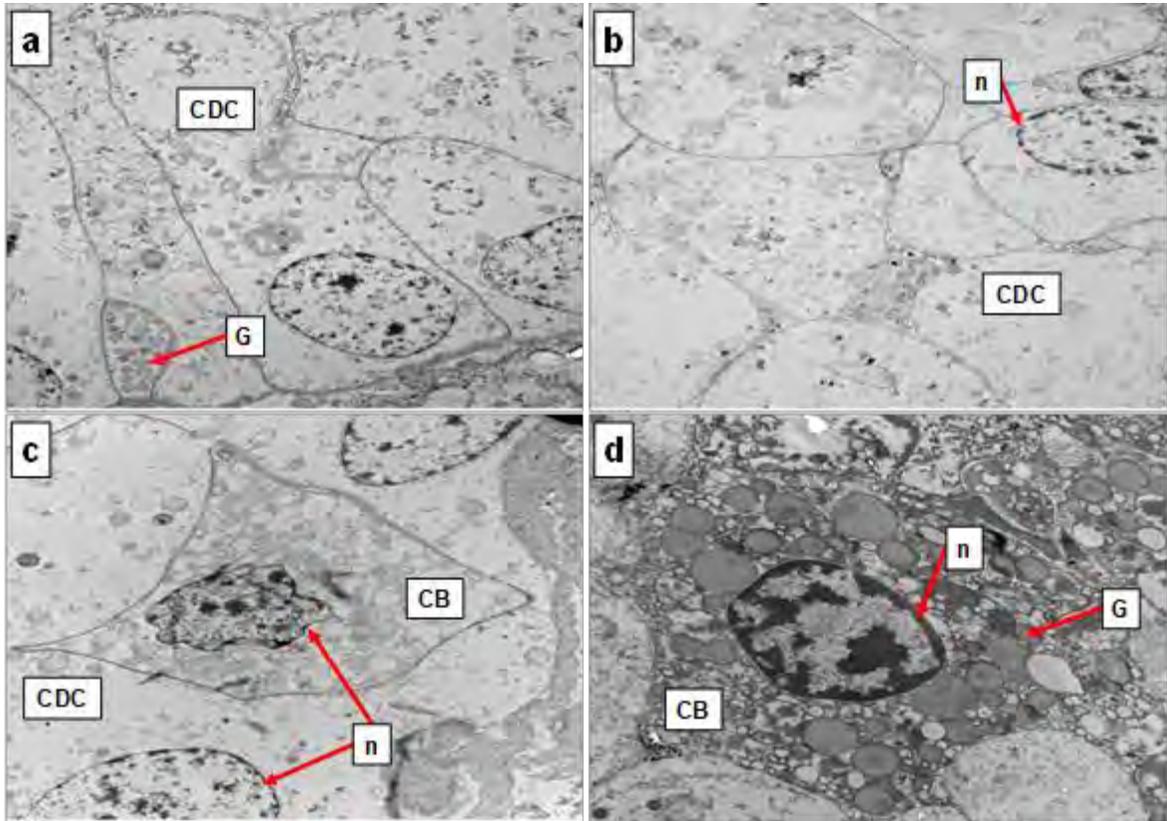


Figura 29.- Microfotografía de la ultraestructura de glándula digestiva de *Chione undatella* en la costa de Santa Rosalía, BCS, México. Célula digestiva (a y b); célula basófila (c y d). Abreviaturas: CB, célula basófila; CDC, célula digestiva columnar; G, gránulos.

En los cortes semifinos de branquia se observan fibras de colágeno cubiertas de células ciliadas en los individuos de Bahía falsa, en los individuos de la costa de Santa Rosalía no se observaron células ciliadas rodeando las fibras de colágeno, y se identificaron infiltraciones hemocíticas (Fig. 30).

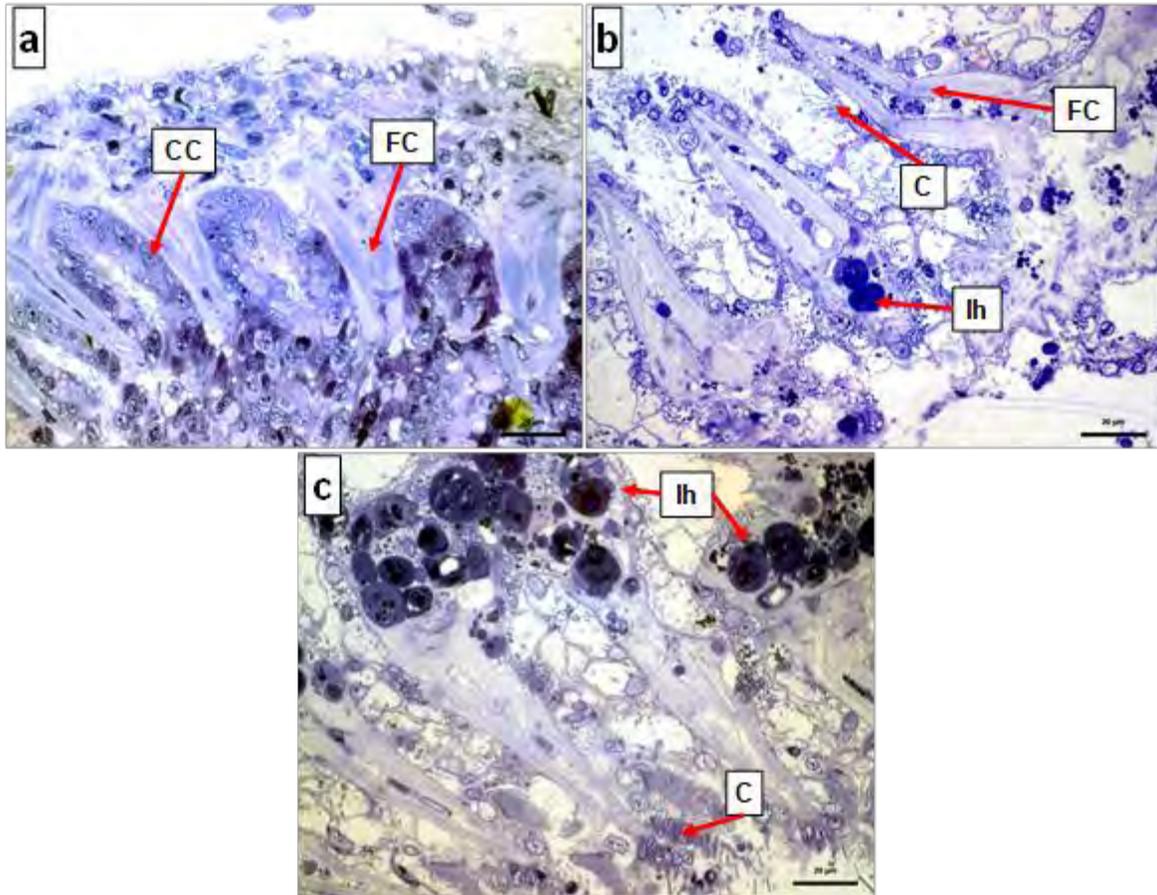


Figura 30.- Microfotografía de corte semifino de branquia de *Chione undatella*. organismo de Bahía Falsa (a); organismo de la costa de Santa Rosalía (b y c), BCS, México. Abreviaturas: C, cilios; CC, células ciliadas; Cr, cromatina; Fc, fibra de colágeno; lh, inclusión hemocítica; Mc, mitocondrias; Mu, mucus; MV, microvellosidades; n, núcleo; un, nucléolo.

A nivel ultraestructural en los individuos de Bahía Falsa se observó una gran cantidad de cilios cubriendo la mayor parte del filamento en el tejido epitelial de la branquia, así como microvellosidades en la superficie de la branquia y células de moco en epitelio. El núcleo es redondo o alargado y se localiza en posición central. Los gránulos mucosos se pueden observar entre las células ciliadas (Fig. 31), en los individuos de la costa de Santa Rosalía los cilios no fueron abundantes, al igual que las microvellosidades, Las mitocondrias que se encontraron en el citoplasma de las células no estaba bien definido como en el caso de las mitocondrias observados en Bahía Falsa (Fig. 32).

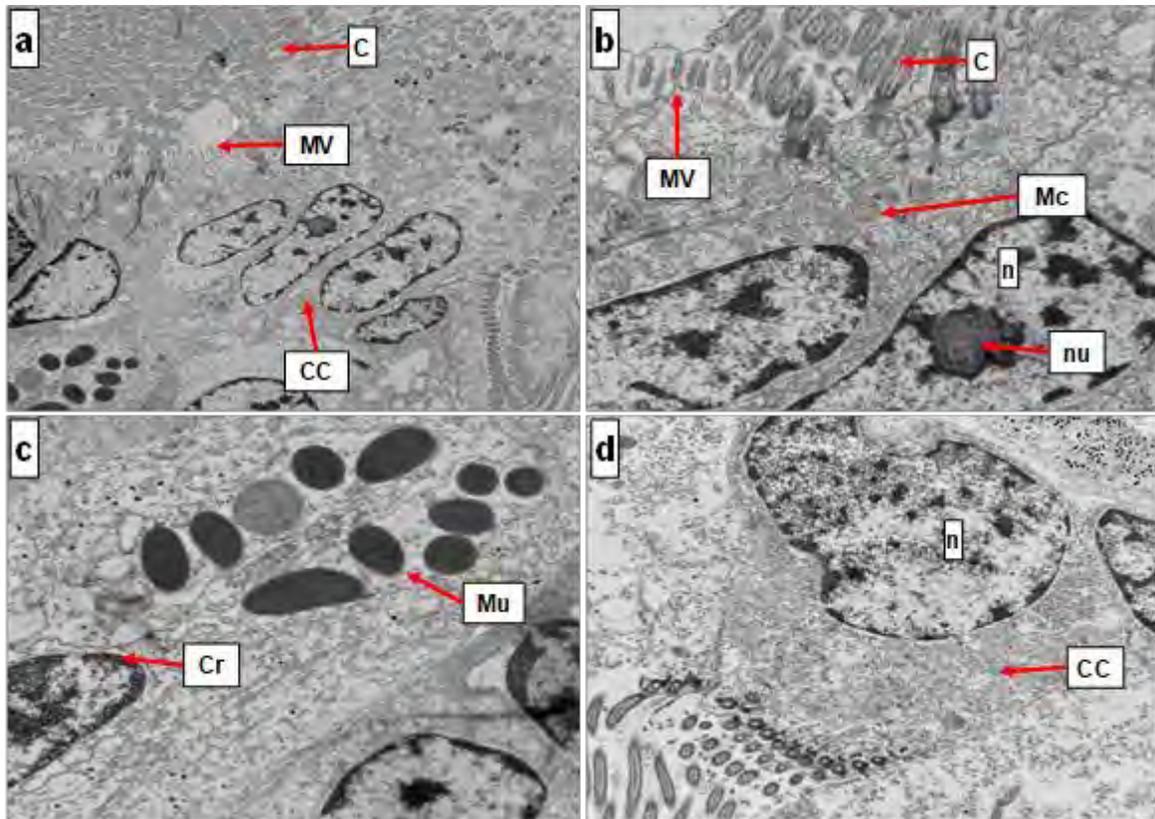


Figura 31.- Microfotografía de la ultraestructura de branquia de *Chione undatella* de Bahía Falsa, BCS, México. Células ciliadas (a, b y d); gránulos de mucus (c). Abreviaturas: C, cilios; CC, células ciliadas; Cr, cromatina; Mc, mitocondrias; Mu, mucus; MV, microvellosidades; n, núcleo; un, nucléolo.

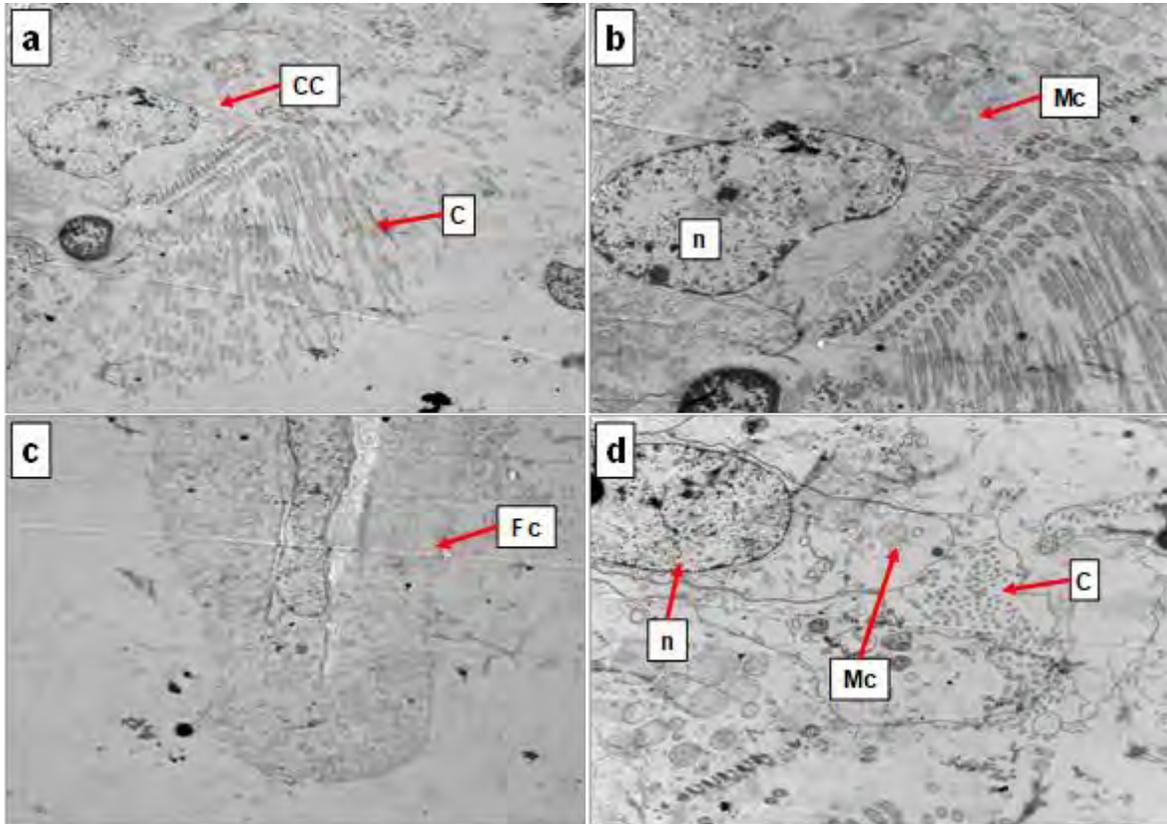


Figura 32.- Microfotografía de la ultraestructura de branquia de *Chione undatella* de la costa de Santa Rosalía, BCS, México. Células ciliadas (a, b y d); fibra de colágeno (c). Abreviaturas: C, cilios; CC, células ciliadas; Fc, fibra de colágeno; Mc, mitocondrias; n, núcleo.

7.11 Análisis histoquímico para detectar Fe y Cu

No se encontró reacción positiva en la detección de Cu en los tejidos de los organismos en ninguna de las localidades, sin embargo, si se encontro reacción positiva para Fe la mayoría de los individuos de la costa de Santa Rosalía. Se encontraron granulos de Fe en gónada, glándula digestiva, branquia, manto y sifón en los individuos de Santa Rosalía (Fig. 33) y solo en glándula digestiva en Bahía Falsa.

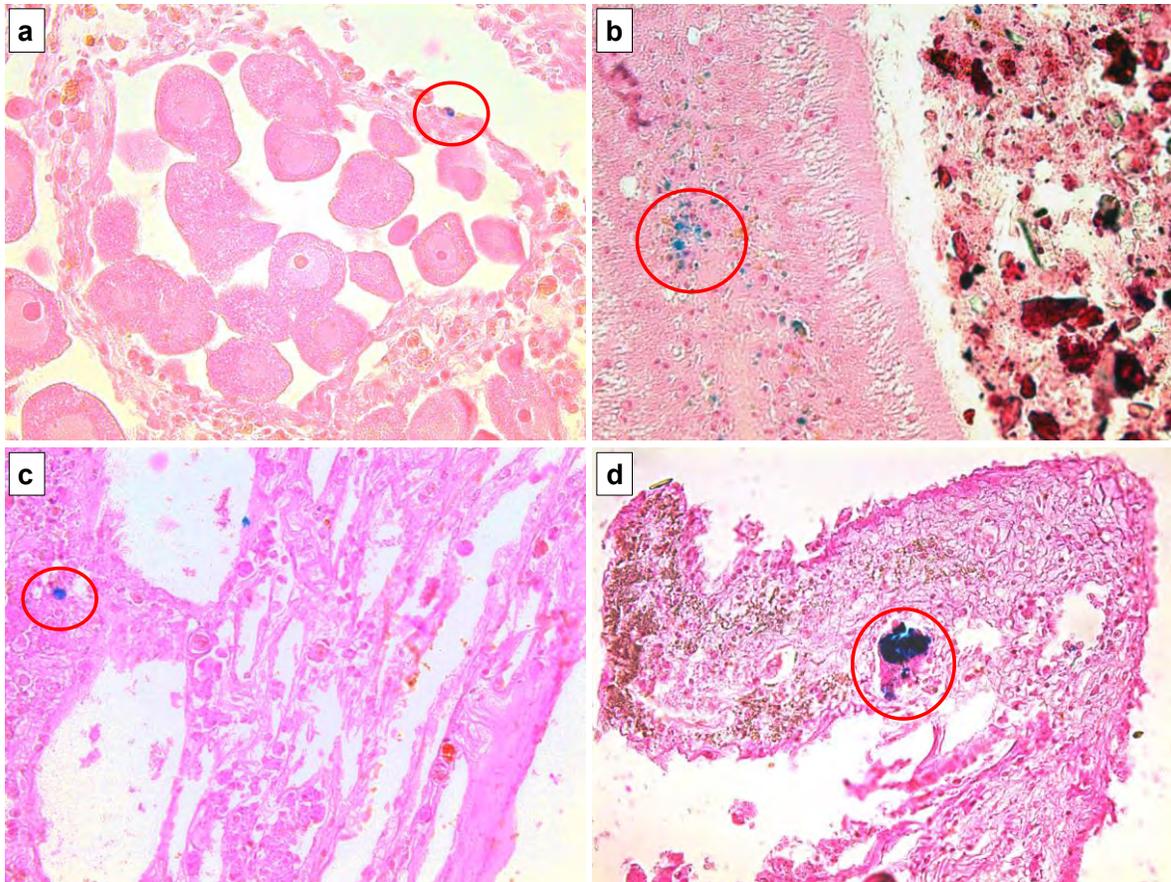


Figura 33.- Reacción positiva a Fe con azul prusia de perls en gonada (a), glándula digestiva (b), branquia (c) y manto (d) de *Chione undatella*. Reacción positiva en círculo rojo.

Los tejidos que mostraron la mayor prevalencia de granulos de Fe fueron la glándula digestiva y la branquia en la costa de Santa Rosalía y la glándula digestiva en Bahía Falsa. El 75% de los individuos de Bahía Falsa presentaron granulos de Fe en glándula digestiva, en etapa 1, en los individuos de Santa Rosalía, en gónada se observaron individuos en etapa 1 (16.67%), en glándula digestiva en etapa 1 (50%) y etapa 2 (8.33%), en branquia en etapa 1 (70%), en Manto en etapa 1 (44.44%) y en sifón se observaron en intensidades etapa 1 (10%) y etapa 2 (20%) (Fig. 34).

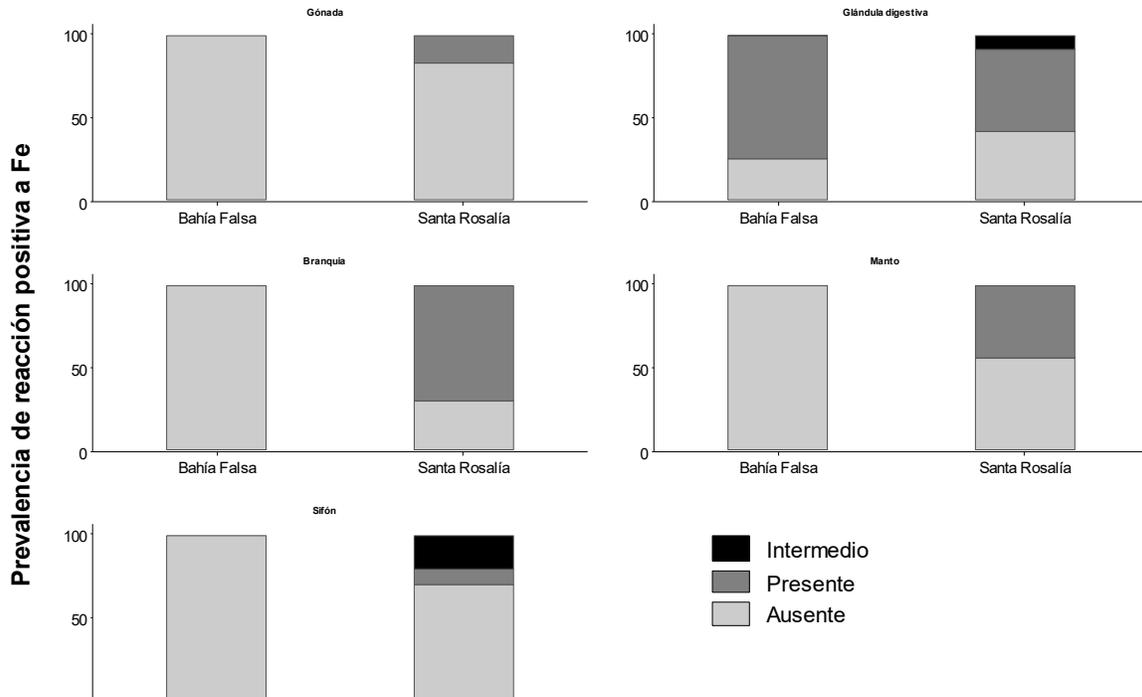


Figura 34.- Prevalencia de granulos de Fe en los tejidos de *Chione undatella* en la costa de Santa Rosalía y Bahía Falsa, BCS, México.

7.12 Análisis inmunohistoquímico para detectar la enzima CYP1A1

Se encontró una reacción positiva para la CYP1A1 en gónada, glándula digestiva, branquia, manto y sifón de *C. undatella* (Fig. 35 y Fig 36) en organismos de Santa Rosalía, en los organismos analizados de Bahía Falsa solo se encontró una reacción positiva en glándula digestiva y branquia.

En gónada y sifón se encontró esta reacción positiva en tejido conectivo (Fig. 35 y 36). En glándula digestiva, branquia y manto se observa en células epiteliales y tejido conectivo (Fig. 35 y 36).

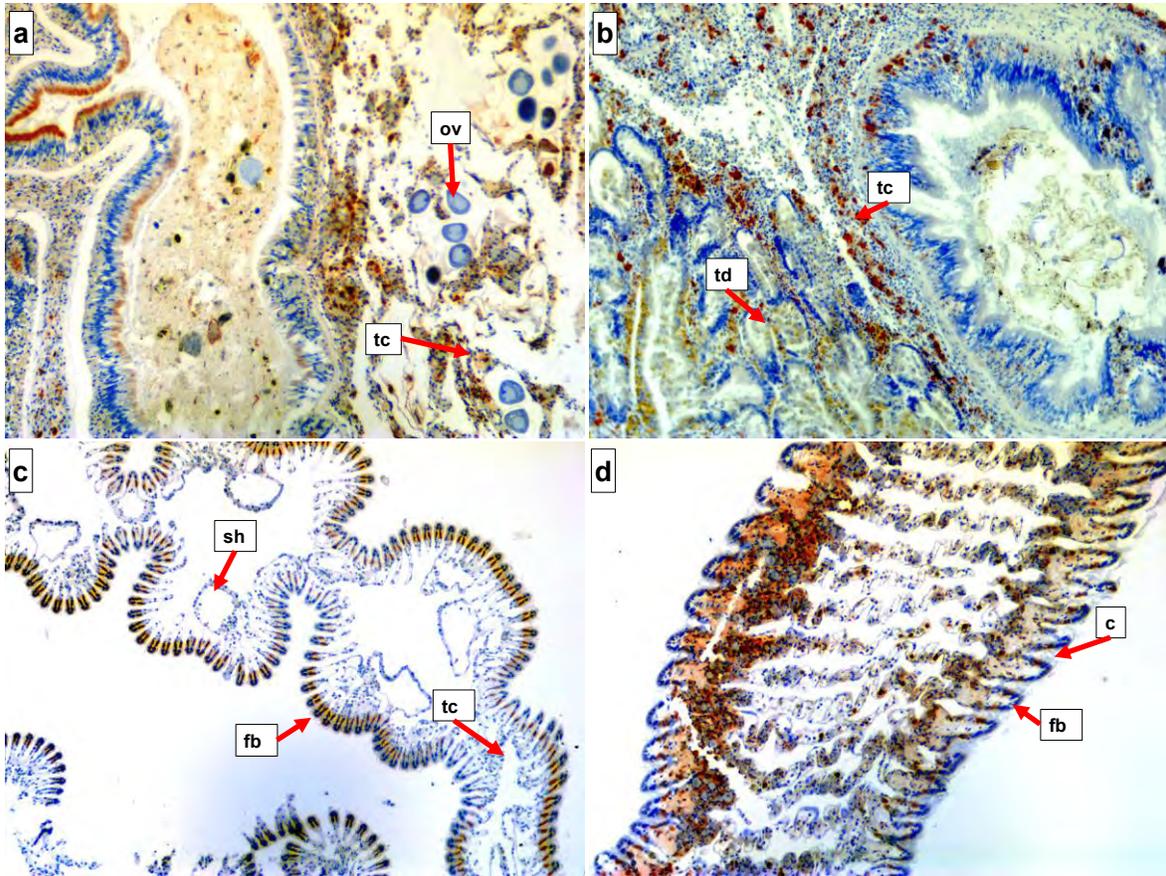


Figura 35.- Reacción positiva para CYP1A1 en gónada (a), glándula digestiva (b), branquia (c y d) de *Chione undatella*. Abreviaturas: c, cilios; fb, filamento branquial; ov, ovocitos; sh, seno hemal; tc, tejido conectivo; td, túbulo digestivo. Reacción positiva en rojo.

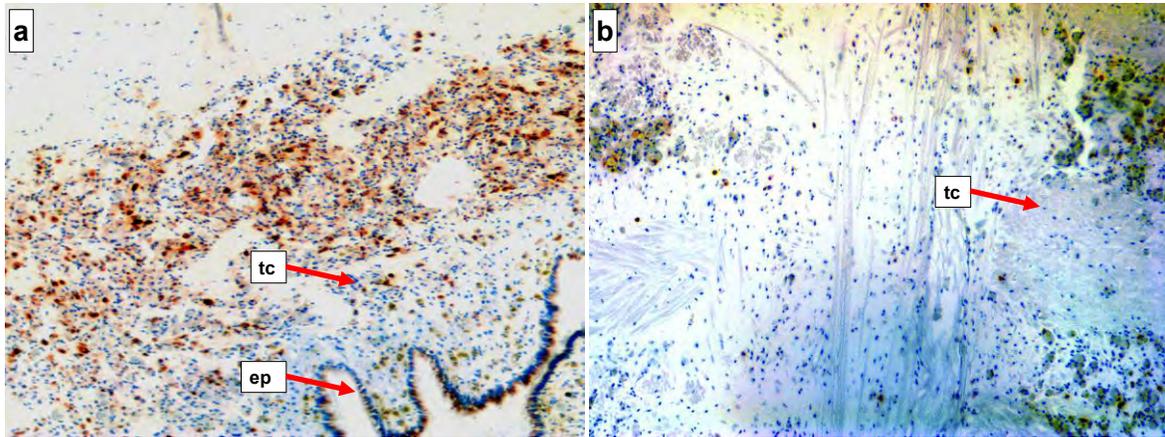


Figura 36.- Reacción positiva para CYP1A1, en manto (a) y sifón (b) de *Chione undatella*. Abreviaturas: ep, epitelio; tc, tejido conectivo. Reacción positiva en rojo.

Se observó una mayor prevalencia en la reacción positiva a CYP1A1 en los organismos de Santa Rosalía que en los de Bahía Falsa, el 33.33% presentaron una reacción positiva tanto en gónada como en glándula digestiva, 22.22% en branquia y de 11.11 y 10% manto y sifón, respectivamente. En el caso de Bahía Falsa, glándula digestiva presento una prevalencia del 37.5% y branquia del 25% (Fig. 37).

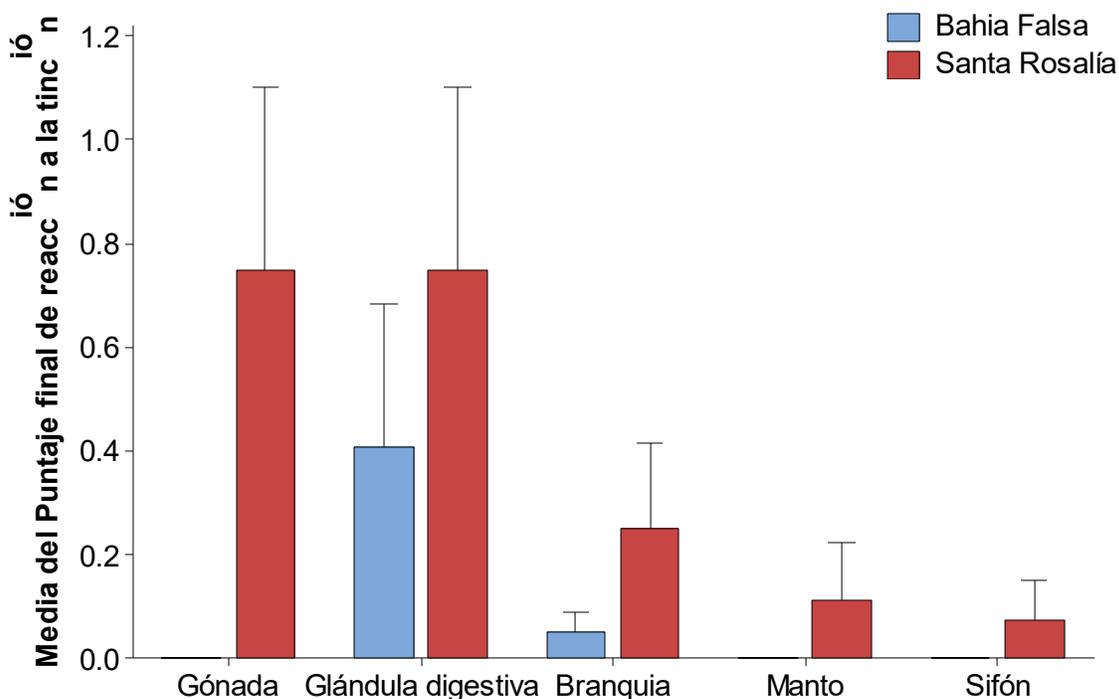


Figura 37.- Reacción promedio a CYP1A1 en diferentes tejidos de *Chione undatella* en la costa de Santa Rosalía y Bahía Falsa, BCS, México.

A pesar de que se encontraron prevalencias relativamente mayores en los organismos de Santa Rosalía, no se encontraron diferencias significativas entre localidades en los valores finales de las reacciones positivas en los diferentes tejidos (Tabla XIV).

Tabla XIV.- Análisis Kruskal-Wallis de los puntajes finales de la expresión de CYP1A1 en diferentes tejidos de *Chione undatella* entre las localidades la costa de Santa Rosalía y Bahía Falsa, BCS, México.

	Prueba de normalidad (Kolmogorov-Smirnov)		Kruskal-Wallis g.l. = 1
	Bahía Falsa	Santa Rosalía	
Gónada	-	KS = 0.396 $p = 0.010$	-
Glándula digestiva	KS = 0.328 $p = 0.014$	KS = 0.396 $p > 0.010$	H' = 0.02 $p = 0.892$
Branquia	KS = 0.921 $p = 0.010$	KS = 0.469 $p < 0.010$	H' = 0 $p = 1$
Manto	-	KS = 0.519 $p < 0.010$	-
Sifón	-	KS = 0.524 $p > 0.010$	-

8. Discusión

Los resultados mostraron que *C. undatella* de ambas localidades estudiadas presentan actividad reproductiva durante todo el año con una producción continua de gametos (evidenciada por la presencia de gametos en diferentes fases de desarrollo en un solo individuo) y desoves parciales. En el caso de los machos es más marcada la actividad reproductiva continua (madurez y/o espermiación durante todo el año). Baqueiro-Cárdenas & Massó-Rojas (1988), reportaron actividad reproductiva continua en dos poblaciones de *C. undatella* dentro de Bahía de La Paz, lo cual indica que es parte de la estrategia reproductiva de la especie.

Sin embargo, se detectan diferencias temporales en los picos de desove entre las poblaciones estudiadas. En la costa de Santa Rosalía, la mayor proporción de hembras en desove se presenta en julio (50%) y septiembre (100%) en cambio en Bahía Falsa se encontró un máximo de hembras desovantes en octubre (62%) seguido de enero (54%); lo cual coincide con lo reportado para la localidad de El Cardonal (octubre (45%) (Baqueiro-Cárdenas & Massó-Rojas, 1988). Sin embargo, Baqueiro-Cárdenas & Massó-Rojas (1988) reportaron que en Bahía Falsa las mayores proporciones de hembras desovantes fueron en abril (30%), junio (45%) y enero – febrero (37%), los cuales son porcentajes relativamente bajos comparados con los obtenidos en este estudio

En bivalvos la temperatura y la disponibilidad de alimento son los factores más importantes que afectan el ciclo reproductivo (Cardoso *et al.*, 2007; de Freitas *et al.*, 2010) y por lo tanto, dichas diferencias en la temporalidad de los desoves pueden ser atribuidas a las diferentes condiciones ambientales que presenta cada zona (Laudien *et al.*, 2001; Rodríguez-Jaramillo *et al.*, 2001) o a diferencias interanuales en las condiciones ambientales. En bivalvos es común que el desove se lleve a cabo en concordancia con temperaturas cálidas y se dispare cuando excede de un nivel crítico característico (Maeda-Martínez, 2001). En *C. fluctifraga* (Sowerby, 1853) de la Bahía de San Jorge, en el Golfo de California se detectó el desove principal durante julio-agosto cuando la temperatura alcanzó sus máximos valores (29 y 30°C, respectivamente) (Castillo-Durán *et al.*, 2013); mientras que en *C.*

californiensis (Broderip, 1835) en Bahía Magdalena el desove se presentó cuando la temperatura fue mayor a 24°C (García-Domínguez *et al.*, 1993). En este estudio se detectaron dos picos de desove en la costa de Santa Rosalía, en septiembre en el 100% de las hembras estaba desovando y se encontró una temperatura promedio de 28.6 °C y en Bahía Falsa el desove se observa en octubre cuando la temperatura promedio es de 29.6 °C; sin embargo, de acuerdo a lo que se encontró en este estudio y a lo reportado por Baqueiro-Cárdenas & Massó-Rojas (1988), *C. undatella* en BCS se reproduce continuamente sin un efecto aparente proveniente de la variación estacional de la temperatura del agua o de la concentración de clorofila *a*; esto también se ha reportado para *C. cancellata* (Linnaeus, 1767) en Florida, que presentó una reproducción continua independientemente de la variación de la temperatura (Moore & López, 1969).

En condiciones naturales, la temperatura y la disponibilidad de alimento son los principales factores que regulan la reproducción de los bivalvos marinos (Sastry, 1979; Barber & Blake, 2006); sin embargo, este proceso puede ser modulado por condiciones de contaminación (Bacchetta & Mantecca, 2009; Tlili *et al.*, 2011).

En la región costera del Golfo de California, el ambiente sedimentario del Puerto minero de Santa Rosalía es receptor y fuente de contaminantes inorgánicos. En este sentido, se han reportado anomalías de concentración de elementos no esenciales en los sedimentos, evidenciando una potencial toxicidad y su bioconcentración en la macroalga *Padina durvillaei* (Rodríguez-Figueroa *et al.*, 2009). La almeja roñosa *C. undatella*, al ser un organismo filtrador, es propenso a bioacumular metales pesados, como se ha documentado para otros organismos filtradores que viven en esta zona como *Modiolus capax* y *Mytilus edulis* (Gutiérrez-Galindo *et al.*, 1999; Cadena-Cárdenas *et al.*, 2009) y esto podría traer consecuencias adversas para el metabolismo.

Long *et al.* (1995) encontraron que una vez que las concentraciones en sedimento marino superan (en peso seco) 1.2 mg Kg⁻¹ de Cd, 46.7 mg Kg⁻¹ de Pd, 34 mg Kg⁻¹ de Cu y 150 mg Kg⁻¹ de Zn, empiezan a presentarse efectos biológicos adversos. Por esta relación, los valores mencionados son tomados como referentes y suelen

citarse junto con la denominación ERL, siglas de la frase “effects rang-low” (intervalo de efectos de rango bajo). El Fe no es considerado en este parámetro, pero datos experimentales asocian concentraciones cercanas a 6000 mg Kg⁻¹ en sedimento marino, con efectos negativos en el desarrollo y supervivencia del camarón *Litopenaeus stylirostris* (Méndez *et al.* 2004).

Shumilin *et al.* (2011; 2013) detectaron niveles anormalmente elevadas en sedimento de la costa de Santa Rosalía de Pb (226 mg Kg⁻¹), Cu (3390 mg Kg⁻¹), Zn (1916 mg Kg⁻¹), Fe (102400 mg Kg⁻¹), Co (166), Mn (6770 mg Kg⁻¹), concentraciones que superan por mucho los ERL.

En este estudio se encontraron concentraciones relativamente altas de Fe, Cu, Mn, Pb, Zn, Ni y Co en tejidos de *C. undatella*, comparadas con los que se ha reportado en otros estudios en otras especies del género Chione y otros bivalvos en diferentes localidades del Golfo de California, como *C. californiensis* en el Golfo de Santa Clara (Gutiérrez-Galindo *et al.*, 1990; Cadena-Cárdenas *et al.*, 2009) en Altata (Páez-Osuna *et al.*, 1993) y Bahía Magdalena (Méndez-Rodríguez *et al.*, 2007), *C. subrugosa* en Ensenada del Pabellón (Páez-Osuna *et al.*, 1993), *C. gnidia* en Guaymas (Méndez *et al.*, 2002) y en *Megapitaria squalida* en Santa Rosalía, Bahía de La Paz (Roldán-Wong *et al.*, 2018) y Loreto (Cadena-Cárdenas *et al.*, 2009); Además, se encontraron concentraciones mayores a los límites máximos permisibles para consumo humano de Zn, As, Pb, Cd y Cr en los organismos de la costa de Santa Rosalía y de Zn, As, Ni, Pb, Cd y Cr en Bahía Falsa.

Los metales esenciales fueron acumulados en mayor proporción (Fe>Zn>Mn>Cu) que los no esenciales (Pb>Cd>Cr). Esta tendencia ha sido reportada en otras especies de moluscos (Rajkumar *et al.*, 1992; Jaffé *et al.*, 1995; Gutiérrez-Galindo *et al.*, 1999). Los altos niveles de Cu y el Zn se deben a que estos actúan como componentes estructurales o catalíticos indispensables para el crecimiento, sin embargo, a pesar de ser esencial en el metabolismo de todos los organismos marinos, a elevados niveles puede ser uno de los metales pesados más tóxicos (Parry & Pipe, 2004) y tienden a incrementarse con el tiempo de exposición y la talla del cuerpo (Usero *et al.*, 1996), aunado a que temperaturas cálidas como las que

se presentan en ambas localidades generalmente favorecen la tasa metabólica de los organismos, ayudando así al proceso de acumulación de metales presentes en el medio (Rajkumar *et al.*, 1992).

El análisis de la relación peso – longitud de *C. undatella* mostró un crecimiento alométrico negativo en ambas localidades; Este tipo de crecimiento se traduce en un bajo incremento en peso con relación al incremento en talla y normalmente se le atribuye a una cantidad elevada de contaminantes en el medio (Malathi & Thippeswamy, 2011) como se ha reportado en *M. squalida* en la costa de Santa Rosalía (Yee-Duarte *et al.*, 2017), así como de *M. galloprovincialis* en España y *Donax trunculus* en el Golfo de Túnez (Peteiro *et al.*, 2006; Tlili *et al.*, 2011). Sin embargo, Bahía Falsa está catalogada como de impacto bajo por contaminación química y sólida (López-López, 2013); lo que podría indicar que este tipo de crecimiento es propio de *C. undatella*.

Se ha reportado que los moluscos bivalvos que viven en zonas contaminadas o que están expuestas a concentraciones elevadas de contaminantes muestran tasas de crecimiento menores y por lo tanto tallas menores, además de un mal estado de salud, ya que las reservas energéticas se asignan para la depuración de los contaminantes y no para crecimiento (Leung & Fumess, 2001; Nicholson & Lam, 2005; Peteiro *et al.*, 2006). Sin embargo, las almejas de la costa de Santa Rosalía presentaron tallas promedio mayores a las de Bahía Falsa. Esto se podría explicar por la pesca de autoconsumo de bivalvos que se realiza en Bahía Falsa; lo cual provoca una disminución de los organismos de tallas grandes, por el contrario, los organismos de la zona costera de Santa Rosalía no son explotados de ninguna forma en la zona de muestreo (López-Rocha *et al.*, 2010). Por otro lado, aunque la almeja chocolate *M. squalida* de la costa de Santa Rosalía mostró una salud deteriorada (menor tamaño y una baja condición) (Yee-Duarte *et al.*, 2017) el ICG de *C. undatella* fue mayor en la costa de Santa Rosalía. Lo anterior corrobora que a los organismos de esta zona (Bahía Falsa) le afecta más la baja cantidad de alimento disponible (Boscolo-Papo *et al.*, 2003; Nicholson & Lam, 2005).

En el 93.75% de los organismos de *C. undatella* de la costa de Santa Rosalía se observó una infiltración de células eosinófilas anormal en los diferentes tejidos; los hemocitos son las células inmuno-efectoras en la inflamación de los moluscos (Ottaviani *et al.*, 2010; Ottaviani, 2011); estas células circulantes son capaces de salir e infiltrarse a otros tejidos del animal donde pueden agregarse para restringir una infección o alguna lesión tisular (Bachère *et al.*, 2004); se sugiere que cuando un contaminante entra al organismo, uno de los principales mecanismos de defensa de los moluscos incluye la participación de hemocitos (Boscolo-Papo *et al.*, 2014).

En los bivalvos, los hematocitos se producen directamente en el tejido conectivo adyacente al tejido inflamado (Hanselmann *et al.*, 2000; Ottaviani, 2006). No existe un sistema común para clasificar hematocitos (Ottaviani, 2006; 2011); sin embargo, en los moluscos se describen comúnmente dos tipos: hialinocitos (o agranulocitos) y granulocitos (Tiscar & Mosca, 2004; Martin *et al.*, 2007; Ottaviani, 2011). Los granulocitos contienen gránulos citoplásmicos, tienen una baja relación nuclear a citoplásmica y son efectivos para fagocitar materiales extraños; por el contrario, los hialinocitos son células más pequeñas, tienen una alta relación núcleo-citoplasma, pocos gránulos citoplásmicos y una escasa capacidad para fagocitar materiales extraños (Tiscar & Mosca, 2004; Martin *et al.*, 2007) y se describe un tercer tipo de células hemocíticas en *Cerastoderma edule* (Linnaeus, 1758), el cual se caracteriza por su forma esférica o discoidal con un núcleo excéntrico junto a la membrana celular y una vacuola ocupando la mayor parte del citoplasma de la célula (Russell-Pinto *et al.*, 1994); características que se asemejan a las células eosinófilas que se encontraron infiltradas en el tejido gonadal de *C. undatella*. Este tipo III de células hemocíticas podrían estar relacionadas con la excreción de material extraño.

Estos hematocitos están involucrados en la desintoxicación a través de la acumulación de xenobióticos metálicos y orgánicos en su sistema lisosómico (Marigómez *et al.*, 2002; Koutsogiannaki & Kaloyianni, 2010); ahora bien, considerando que el tejido gonadal de *C. undatella* muestra una infiltración de células eosinófilas que tuvo una prevalencia alta (intermedia y abundante) en todos los meses y fases de desarrollo gonádico podemos descartar dos causas: presencia

de alguna infección por parásitos (no se encontró evidencia) y que se deba al proceso de recuperación natural de la gónada. Sin embargo, se podría hipotetizar que estas células están relacionadas con la reacción celular a infecciones/estrés abiótico como un proceso de inflamación el cual es un proceso inmune innato (Bouallegui *et al.*, 2017).

Estas infiltraciones son acompañadas de alteraciones morfológicas a nivel celular, como un decremento en el volumen de una célula o un órgano, y pérdida de grosor del epitelio o atrofia (Bouallegui *et al.*, 2017); esta pérdida de la arquitectura normal de los diferentes tejidos analizados en *C. undatella* fue evidente con la reducción y desaparición del tejido conectivo. Este fenómeno ha sido descrito previamente como gran infiltración hemocítica en *C. edule* en las costas de España por Villalba *et al.* (2001).

La naturaleza sedentaria y la alimentación por filtración de *C. undatella*, se combinan para asegurar la exposición a distintos contaminantes. Diferentes contaminantes e incluso diferentes concentraciones del mismo contaminante pueden provocar diversas respuestas hemocíticas, que pueden a su vez ser modificadas por factores ambientales o por la presencia de otros contaminantes químicos (Parry & Pipe, 2004).

Se ha demostrado una correlación positiva entre el número de hemocitos con los niveles de estrés; también puede variar durante el ciclo reproductivo, como resultado de cambios en la salinidad, temperatura o disponibilidad de alimento (Cajaraville *et al.*, 1996; Parry & Pipe, 2004).

El cambio en el número de células sanguíneas en bivalvos es la respuesta más común en moluscos bivalvos expuestos a tóxicos ambientales. Este cambio se ha observado en mejillones en la laguna de Venecia, donde se observó un número elevado de células sanguíneas por posible exposición a metales pesados (Pipe *et al.*, 1995). Una investigación inicial de Pipe & coles (1995) reportó que una exposición previa a cobre, seguida de una exposición a *Vibrio tubiashii* produjo un

incremento en el número de hemocitos comparado con organismos que no fueron expuestos a *Vibrio*.

Los hemocitos constituyen el componente celular de la hemolinfa, pero también son residentes en otros sitios como el tejido conectivo y vascular. Se han reportado infiltraciones hemocíticas en tejido conectivo de la glándula digestiva de *Mya arenaria*, *Littorina littorea* y *Mytilus galloprovincialis* bajo condiciones de estrés (Seiler & Morse, 1988; Marigómez *et al.*, 1990; Cajaraville *et al.*, 1996). Uno de los principales roles de los hemocitos en el sistema inmune es la fagocitosis, encapsulación y producción de moléculas citotóxicas (óxido nítrico y peróxido de hidrógeno). Normalmente estas funciones agotan el número de hemocitos circulantes y deben remplazarse a través de la hematopoyesis (Pila *et al.*, 2016).

El lugar donde se realiza la hematopoyesis en moluscos varía, en gasterópodos la producción de hemocitos se da en la región pericárdica, en cefalópodos se da en los cuerpos blancos (sistema neuroendocrino), en bivalvo, se ha propuesto a las branquias, vasos sanguíneos y células endoteliales arteriales (Matozzo *et al.*, 2008; Jemaà *et al.*, 2014; Pila *et al.*, 2016); en *Chione undatella* se encontró infiltración hemocítica en el 93.75% de los individuos analizados; sin embargo, es posible que exista más de un sitio donde se realice este proceso puesto que se encontraron infiltraciones hemocíticas en branquia en el 96% de los individuos, así como en el 87 y 86% en gónada y glándula digestiva, respectivamente, por lo que se sugiere que estos órganos participen en el proceso de hematopoyesis (Pila *et al.*, 2016).

Como se ha reportado en otras especies de moluscos bivalvos, *Chione undatella* muestra una variación estacional e interindividual de células hemocíticas. Diversos factores, tanto exógenos (temperatura del agua, salinidad y contaminantes) como endógenos (edad, sexo, periodo reproductivo) se relacionan en la intensidad de infiltraciones hemocíticas en bivalvos (Matozzo *et al.*, 2007). En *Cerastoderma glaucum*, se reportó una variación en individuos de diferentes edades de células hemocíticas (Matozzo *et al.*, 2007), como se observó en este estudio en el que organismos de tallas mayores, hipotéticamente con una mayor edad, las prevalencias e intensidades de las infiltraciones hemocíticas fueron mayores. En

tejido gonadal de *Megapitaria squalida*, Yee-Duarte *et al.* (2018) reportaron en organismos de Santa Rosalía una prevalencia de 35.1% y en San Lucas de 10.7% de infiltraciones hemocíticas, valores relativamente bajos comparados con *C. undatella* que presentó una prevalencia de 87% en este estudio.

Los bivalvos son hospedadores obligatorios en los ciclos de vida de los trematodos digéneos, actúan como hospedadores intermediarios, aunque en muy pocos casos pueden actuar como hospedadores definitivos de estos parásitos. En los últimos años el interés por los estudios ecológicos referidos a la interacción digéneo-molusco se ha incrementado, debido a que los digéneos pueden afectar la supervivencia y la tasa reproductiva de los moluscos o inducir cambios de comportamiento en sus hospederos que los tornan más vulnerables a la depredación por los vertebrados hospedadores definitivos (Etchegoin *et al.*, 2013; Yee-Duarte *et al.*, 2017b).

La especificidad en las interacciones digéneo-molusco es modulada por factores inmunológicos, bioquímicos y moleculares, por lo que se restringe el rango de moluscos utilizados por los digéneos, por lo que generalmente, a nivel de especie, las larvas de digéneos son capaces de desarrollarse sólo en un grupo circunscripto de moluscos, sin embargo, no se logró identificar a nivel de especie en el caso de este estudio (Etchegoin *et al.*, 2013).

Se ha reportado que los diferentes tipos de ambientes costeros influyen en la presencia y distribución de digéneos. En general, los ambientes estuarinos, como Bahía Falsa, presentan mayor diversidad y abundancia de digéneos larvales; en este estudio se encontró en Bahía Falsa parásitos en glándula digestiva en el 44% de los individuos, en cambio en los organismos de la costa de Santa Rosalía no se encontró presencia de parásitos. Los valores más altos de riqueza específica de digéneos en ambientes estuarinos podrían deberse a la diversidad y abundancia de hospedadores definitivos y también, a mayores posibilidades de contacto entre los distintos hospederos de los ciclos de vida de los parásitos y no a los niveles de contaminación de las zonas (Etchegoin *et al.*, 2013).

Dentro de las alteraciones encontradas en los organismos de Bahía Falsa, el 48% de los organismos presentaron lipofuscinas en glándula digestiva, estas son de las alteraciones más comunes en bivalvos; estas se involucran en procesos de digestión y participan en la desintoxicación ante la exposición a agentes contaminantes (Gómez *et al.*, 2005). La presencia y alta frecuencia de esta respuesta biológica puede deberse a agentes tóxicos, ya que recientemente se han reportado niveles altos de toxicidad en sedimentos, y pudieran ser un indicador de una posible contaminación en niveles bajos dentro de Bahía Falsa (Kühnel, 2005; González *et al.*, 2011).

Las respuestas o alteraciones a nivel ultraestructural representan un nivel intermedio de organización biológica entre efectos de bajo nivel bioquímico y un alto nivel en el efecto poblacional (Adams *et al.*, 1989; 2000). Este tipo de respuesta ocurre normalmente antes de los cambios reproductivos y tienen mayor sensibilidad que los parámetros de crecimiento y reproducción, proveyendo una mejor evaluación de la salud de los organismos que una respuesta bioquímica (Segner & Braunbeck, 1988; Triebkorn *et al.*, 1997).

En contraste con los trabajos sobre histopatología que permiten una verificación de síntomas patológicos, los trabajos sobre ultraestructura reflejan alteraciones de procesos metabólicos resultando en cambios estructurales de los organelos como vacuolización de las células sexuales y digestivas, pérdida de cilios y microvellosidades en las células (Hinton & Lauren, 1990; Stebbing, 1985), daños que se encontraron en machos y hembras de la costa de Santa Rosalía y ocurren antes que los efectos histopatológicos (Gernhöfer *et al.*, 2001).

El cobre y el hierro son cofactores esenciales para numerosas enzimas, sin embargo, pueden ser tóxicos en niveles superiores a los requeridos para la función metabólica normal (Soto *et al.*, 1990; Gomes *et al.*, 2011). Por otra parte, se ha reportado una condición deteriorada de salud de las gónadas de *M. squalida* en la costa de Santa Rosalía donde se observan gránulos de Fe y Cu con una cobertura promedio del 45% y 30% respectivamente (Yee-Duarte *et al.*, 2018); en este estudio no se realizó un análisis de cobertura, debido a que en los tejidos de los individuos

donde se observó en etapa 1, donde solo se detectó la presencia de algunos gránulos de Fe, sin embargo se encontraron prevalencias del 75% de los individuos de Bahía Falsa en glándula digestiva, en etapa 1, en los individuos de Santa Rosalía, en gónada se observaron individuos en etapa 1 (16.67%), en glándula digestiva en etapa 1 (50%) y etapa 2 (8.33%), en branquia en etapa 1 (70%), en Manto en etapa 1 (44.44%) y en sifón se observaron en intensidades etapa 1 (10%) y etapa 2 (20%). La elevada exposición al Fe puede causar lesiones oxidativas y anomalías en su metabolismo, extendiéndose a diversas actividades biológicas, como el crecimiento, la morfología (anomalías tisulares), el comportamiento y la reproducción (González *et al.*, 2010; Chandia *et al.*, 2012) y la toxicidad puede ser aparente a través de manifestaciones degenerativas de tejido (Chandia *et al.*, 2012).

La enzima CYP1A1 es utilizada como biomarcador de la exposición de vertebrados a hidrocarburos polinucleados aromáticos (PAH). Sin embargo, en bivalvos marinos los resultados han sido inconclusos (de Freitas *et al.*, 2003); la interpretación en los resultados ha sido complicada por la baja actividad catalítica de las enzimas, y a la falta de anticuerpos específicos para CYP1A (Chaty *et al.*, 2004; Jonsson *et al.*, 2006a, b). La actividad enzimática de CYP1A1 en *C. undatella* fue baja comparada con la actividad que se puede observar en mamíferos marinos ya que en este estudio los valores promedio no pasan de 0.75, en Bahía Falsa la branquia mostró un valor promedio de 0.05, en la costa de Santa Rosalía, los valores promedio fueron más altos, con apenas de 0.75 para gónada y glándula digestiva, en cambio en Cachalote se encontraron promedios de hasta 14.0 (Godard *et al.*, 2004). Esto muestra la gran diferencia que hay en la actividad enzimática entre vertebrados e invertebrados, sin embargo, a través de diferentes métodos indirectos se puede detectar la actividad de la enzima CYP1A1, como en el caso de *Dreissena polymorpha*, en el que se observa una inducción de 7-ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) al exponerse a diversos contaminantes (Sarkar *et al.*, 2006). Sin embargo, a pesar de que la actividad de la enzima CYP1A1 fue menor en *C. undatella* comparado con otros grupos de organismos, es notorio que en los organismos de la costa de Santa Rosalía la actividad enzimática fue mayor que en los organismos

de Bahía Falsa, lo cual indica el efecto de la contaminación por metales pesados que existe en Santa Rosalía.

Los metales son los mayores contaminantes inorgánicos en el medio marino, debido a su alta toxicidad, bioacumulación y su baja biodegradabilidad, estos representan no solo un riesgo para los organismos marinos, sino también para los humanos que los consumimos (Newman 2014). Se encontraron niveles por encima de los límites permisibles para consumo humano en los organismos de ambas localidades: en la costa de Santa Rosalía rebasaron los límites el Zn>As>Pb>Cd>Cr y en Bahía Falsa Zn>As>Ni>Pb>Cd>Cr.

La acumulación de metales pesados en bivalvos tiene consecuencias directas en el ecosistema y en los humanos. Los síntomas de toxicidad del Zn en humanos son reflejos lentos, anemia, desorden metabólico, y mortalidad (Klaassen, 1996). El Zn es de gran importancia durante el embarazo y en el desarrollo neuroconductual (Hotz *et al.*, 2003). Los síntomas de la toxicidad del Mn, debilitamiento muscular, dolor de cabeza e insomnio. Altas concentraciones de Fe afectan órganos vitales, como el hígado, el sistema cardiovascular y los riñones (Alabaster & Lloyd, 1980). Cr es mutagénico y cancerígeno, produce úlceras y cáncer de pulmón, bajo un efecto a largo plazo. Cd puede llevar a diferentes enfermedades como disfunción renal y osteoporosis. El Pb tiene efectos mutagénicos y teratogénicos (Eisler 2000; Wright & Welbourn 2002). El As se ha relacionado con cáncer de piel, pulmones y vejiga. El Ni puede causar reacciones alérgicas, y la exposición a largo plazo puede resultar en enfermedades reproductivas, además, es genotóxico, hepatotóxico y neurotóxico (Das *et al.*, 2008; EFSA, 2015).

9. Conclusiones

- El ciclo reproductivo de *Chione undatella* es continuo en ambos ambientes mafinos, la costa de Santa Rosalía y en Bahía Falsa, sin embargo, en el puerto minero de Santa Rosalía a nivel ultraestructural se observa un efecto adverso en la gametogénesis.
- La intensidad de las infiltraciones hemocíticas, así como su prevalencia, nos hacen inferir de una disminución en el potencial reproductivo de *Chione undatella* y un estado de salud disminuido en la zona costera de Santa Rosalía.
- El tiempo de exposición es un factor determinante en la infiltración de células hemocíticas en los diferentes tejidos, posiblemente por el mayor tiempo de exposición a los diferentes contaminantes que hay en la costa de Santa Rosalía.
- Los indicadores morfológicos no se deben utilizar de forma unilateral, deben complementarse con indicadores histopatológicos y/o fisiológicos.
- A pesar de que Bahía Falsa se cataloga con un nivel bajo de contaminación química, se encontró actividad enzimática relacionada con contaminantes, confirmando la rápida reacción a nivel fisiológico de *Chione undatella*.

10. Referencias

- Abbott, R. T. (1974). *American Seashells; The Marine Molluska of the Atlantic and Pacific Coasts of North America* (No. Edn 2). Van Nostrand Reinhold. New York. 459 p.
- Acosta y Asociados. (2001). *Inventario preliminar de emisiones atmosféricas de mercurio en México*. Informe Final, México. 43 pp.
- Adams, S. M., K. L. Shepard, M. S. Greeley, B. D. Jimenez, M. G. Ryon, L. R. Shugart & J. F. McCarthy. (1989). The use of bioindicators for assessing the effects of pollutant stress on fish. *Mar. Environ. Res.* 28: 459–464.
- Adams, S. M., M. S. Greeley & M. G. Ryon. (2000). Evaluating effects of contaminants on fish health at multiple levels of biological organization: Extrapolating from lower to higher levels. *Human Ecol. Risk Ass.* 6(1): 15–27.
- Ahumada, R., Gerli L., Sánchez I. & Fernández E. (2006). Metales trazas en aguas costeras y organismos de canales y fiordos australes. Pp. 45-49. En: N. Silva y S. Palma (eds.) *Avances en el Conocimiento Oceanográfico de las Aguas Interiores Chilenas, Puerto Montt a Cabo de Hornos*. Comité Oceanográfico Nacional - Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.
- Alabaster JS, Lloyd R (1980) *Water quality criteria for fish*, 2nd edn. Butterworths, London. 546 pp
- Albert, L. A. (1998) *Curso básico de toxicología ambiental*, Segunda edición, UTHEHA, Noriega Editores, México DF
- Álvarez Arellano, A. D. y Murillo Jiménez, J. M., 1989. Cuerpos de agua inferidos a partir del registro micropaleontológico (Radiolario), en sedimentos superficiales del fondo marino de la Bahía de La Paz, B. C. S., México. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología*. Universidad Autónoma de México, 16 (1) 135-146 pp.
- Álvarez-Borrego, S. (2012). New phytoplankton production as a tool to estimate the vertical component of water exchange between the Gulf of California and the Pacific. *Ciencias Marinas*. 38, 89–99.
- Álvarez-Borrego, S. & Schwartzlose, R. A. (1979). Water masses of the Gulf of California. *Ciencias Marinas*, 6(1), 43-63.

- Arellano, A. D. & Murillo-Jiménez, J. M. (1989). Cuerpos de agua inferidos a partir del registro micropaleontológico (Radiolario), en sedimentos superficiales del fondo marino de la Bahía de La Paz, B. C. S., México. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología*. Universidad Autónoma de México, 16 (1) 135-146 pp.
- Arellano-Peralta, V. A., & Medrano-González, L. (2013). Mamíferos marinos en el Golfo de California: macroecología, impacto humano y su perspectiva hacia la conservación. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Arizpe-Covarrubias, O. (1992). Los moluscos y su importancia comercial en el Pacífico mexicano. Libros universitarios 1, Serie Didáctica. Universidad Autónoma de Baja California Sur. 219 pp.
- Arreola-Lizárraga, J.A., Padilla-Arredondo, G., Medina-Galván, J., Mendoza-Salgado, R., & Cordoba-Matson, M.V., 2016. Analysis of hydrobiological responses to anthropogenic and natural influences in a lagoon system in the Gulf of California. *Oceanol. Hydrobiol. Studies* 45, 112–120.
- Au, D. W. T. (2004). The application of histo-cytopathological biomarkers in marine pollution monitoring: a review. *Marine pollution bulletin*, 48(9-10), 817-834.
- Bacchetta, R. & P. Mantecca. (2009). DDT polluted meltwater affects reproduction in the mussel *Dreissena polymorpha*. *Chemosphere*. 76: 1380-1385.
- Bachère, E., Gueguen, Y., Gonzalez, M., de Lorgeril, J., Garnier, J., & Romestand, B., (2004). Insights into the anti-microbial defense of marine invertebrates: the penaeid shrimps and the oyster *Crassostrea gigas*. *Immunol. Rev.* 198, 149–168.
- Baqueiro-Cárdenas, E. (1989). Clam Culture in México: Past, Present and Future. En: J.J. Manzi & M. Castagna (Eds.). *Clam Mariculture in North America*. Elsevier Sci. Pub., Amsterdam. 383-394.
- Baqueiro-Cárdenas, E., Borabe, L., Goldaracena-Islas, C. G., & Rodríguez-Navarro, J. (2007). Los moluscos y la contaminación: Una revisión. *Revista mexicana de biodiversidad*, 78, 1-7.
- Baqueiro-Cárdenas, E., & Massó-Rojas, J. A. (1988). Variaciones poblacionales y reproducción de dos poblaciones de *Chione undatella* (Sowerby, 1835) bajo diferentes regímenes de pesca en la Bahía de La Paz, BCS México. *Ciencia Pesquera*, 6, 51-67.

- Baqueiro-Cárdenas E.C., Massó, J. E. & Guajardo, H. (1982) Distribución y abundancia de los moluscos de importancia comercial en Baja California Sur. Ser Divul CRIP-La Paz. 11: 7-32
- Baqueiro, E., Peña, I., & Massó, J. A. (1981). Análisis de una población sobreexplotada de *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835) en la Ensenada de La Paz, BCS México. *Ciencia. Pesquera. 1*, 57-65.
- Bánfalvi, G. (2011). Heavy metals, trace elements and their cellular effects. Pp. 3-28. In: Bánfalvi G. (ed.) Cellular Effects of Heavy Metals. Springer. New York.
- Barber, B.J. & N.J. Blake. (2006). Reproductive physiology, 357-416. In: Shumway, S.E. & G.J. Parsons (Eds.) *Scallops: Biology, Ecology, Aquaculture, and Fisheries*. Elsevier, Amsterdam, 1500 pp.
- Barton, B. A., Morgan, J. D., & Vijayan, M. M. (2002). Physiological and condition-related indicators of environmental stress in fish. *Biological indicators of aquatic ecosystem stress*, 111-148.
- Bautista-Zúñiga, F. (1999). Introducción al Estudio de la Contaminación del Suelo por Metales Pesados. Ediciones de la Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yucatán, México. 109 pp.
- Bayne, B. L., Brown, D. A., Burns, K., Dixon, D. R., Ivanovici, A., Livingstone, D. R., Lowe, D. M., Moore, M. N., Stebbing, A. & Widdows, J. (1985). *The Effects of Stress and Pollution on Marine Animals*. Praeger, Greenwood Press. 384p.
- Bayne, B. L., Livingstone, D. R., Moore, M. N., & Widdows, J. (1976). A cytochemical and a biochemical index of stress in *Mytilus edulis* L. *Marine Pollution Bulletin*, 7(12), 221-224.
- Bignell, J. P., Stentiford, G. D., Taylor, N. G. H., & Lyons, B. P. (2011). Histopathology of mussels (*Mytilus* sp.) from the Tamar estuary, UK. *Marine environmental research*, 72(1-2), 25-32.
- Boening, D.W. 1999. An evaluation of bivalves as biomonitors of heavy metals pollution in marine waters. *Environmental Monitoring and Assessment* 55: 459-470.
- Bodin, N., Burgeot, T., Stanisière, J. Y., Bocquené, G., Menard, D., Minier, C., & Budzinski, H. (2004). Seasonal variations of a battery of biomarkers and physiological indices for the mussel *Mytilus galloprovincialis* transplanted into the

- northwest Mediterranean Sea. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 138(4), 411-427.
- Boscolo-Papo, R., Cornello, M., & Giovanardi, O. (2003). Condition index and air survival time to compare three kinds of Manila clam *Tapes philippinarum* (Adams & Reeve) farming systems. *Aquaculture International*, 11(3), 243-254.
- Boscolo-Papo, M., D. Bertotto, F. Pascoli, L. Locatello, M. Vascellari, C. Poltronieri, F. Quaglio & G. Radelli. (2014). Induction of brown cells in *Venerupis philippinarum* exposed to benzo(a)pyrene. *Fish and Shellfish Immunology*. 40: 233–238
- Botello, A.V., & Páez-Osuna F. (1986). El problema crucial de la contaminación En: Serie Medioambiente Coatzacoalcos. Vol. 1 (Editado por el Centro de Ecodesarrollo) México, D.F., pp 82-85.
- Bouallegui, Y., Ben Younes, R., Bellamine, H., & Oueslati, R. (2017). Histopathology and analyses of inflammation intensity in the gills of mussels exposed to silver nanoparticles: role of nanoparticle size, exposure time, and uptake pathways. *Toxicology mechanisms and methods*, 27(8), 582-591.
- Branco, S. (1984). *Limnología sanitaria, estudio de la polución de aguas continentales*. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Washington, D.C. 115p.
- Bryan, G. W., Gibbs, P. E., Hummerstone, L. G., & Burt, G. R. (1986). The decline of the gastropod *Nucella lapillus* around south-west England: evidence for the effect of tributyltin from antifouling paints. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 66(3), 611-640.
- Cadena-Cárdenas, L., Méndez-Rodríguez, L., Zenteno-Savín, T., García-Hernández, J., & Acosta-Vargas, B. (2009). Heavy metal levels in marine mollusks from areas with, or without, mining activities along the Gulf of California, Mexico. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 57(1), 96-102.
- Cajaraville, M.P., Olabarrieta, I., & Marigomez, I. (1996). In Vitro activities in mussel hemocytes as biomarkers of environmental quality: a case study in the Abra Estuary (Biscay Bay). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 35(3), 253-260.

- CAM, Corporación Ambiental de México. (2011). Manifestación de impacto ambiental. Modalidad particular. Proyecto: Terminal Marítima "El Boleo". Minera Metalúrgica del Boleo. Proyecto CAM 11052. 293 pp.
- Castillo-Durán, A., Castro-Acedo, A., Arreola-Lizárraga, J. A., Hoyos-Chairez, F., Cáceres-Martínez, C., Mendoza-Salgado, R., Martínez-Córdova, L., & Chávez-Villalba, J. (2013). Ciclo gametogénico e índice de condición de la almeja *Chione fluctifraga* en Bahía San Jorge, Golfo de California, México. *Revista de biología marina y oceanografía*, 48(1), 59-72.
- Cardoso, J. F., Langlet, D., Loff, J. F., Martins, A. R., Witte, J. I., Santos, P. T., & van der Veer, H. W. (2007). Spatial variability in growth and reproduction of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) along the west European coast. *Journal of Sea Research*, 57(4), 303-315.
- Carella, F., Feist, S. W., Bignell, J. P., & De Vico, G. (2015). Comparative pathology in bivalves: Aetiological agents and disease processes. *Journal of invertebrate pathology*, 131, 107-120.
- Chambers, J. E., Boone, J. S., Carr, R. L., Chambers, H. W., & Straus, D. L. (2002). Biomarkers as predictors in health and ecological risk assessment. *Human and Ecological Risk Assessment*, 8(1), 165-176.
- Chandia, L.A.P., A.C. Alfaro, R. Flores-Aguilar, M. Godoy & A. Gutiérrez-Venegas. (2012). Histological evidence of accumulation of iron in postlarvae of red abalone, *Haliotis rufescens*. *Aquaculture Research*. 43: 1635-1642.
- Chaty, S., Rodius, F., & Vasseur, P. (2004). A comparative study of the expression of CYP1A and CYP4 genes in aquatic invertebrate (freshwater mussel, *Unio tumidus*) and vertebrate (rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology* 69, 81–94.
- Cheung, C.; Siu, W.; Richardson, B.; De Luca-Abbott, S. & Lam, P. (2004). Antioxidant responses to benzo[a]pyrene and Aroclor 1254 exposure in the green lipped mussel, *Perna viridis*. *Environmental Pollution*, 128: 393-403.
- Costa, P. M., Carreira, S., Costa, M. H., & Caeiro, S. (2013). Development of histopathological indices in a commercial marine bivalve (*Ruditapes decussatus*) to determine environmental quality. *Aquatic toxicology*, 126, 442-454.

- Cuevas, N., Zorita, I., Costa, P. M., Franco, J., & Larreta, J. (2015). Development of histopathological indices in the digestive gland and gonad of mussels: Integration with contamination levels and effects of confounding factors. *Aquatic toxicology*, 162, 152-164.
- Das, K.K., Das, N.N., Dhundasi, S.A., 2008. Nickel, its adverse health effects & oxidative stress. *Indian journal of medical research*. 128, 412e425.
- de Freitas, L., Cordova, C., Arrieche, D., Montero, L., García, N., & Himmelman, J. H. (2010). Reproductive cycle of the penshell *Atrina seminuda* (Mollusca: Bivalvia) in northern waters of Venezuela. *Bulletin of Marine Science*, 86(4), 785-801.
- de Freitas, M., Moreira, J. C., Moraes, M. O., Coutinho, D., & Torres, J. P. M. (2003). Is There a CYP1A1 in Marine Bivalves? Expressed Sequences Related to Cytochrome P450 in Crassostrea Rhizophorae. *Comments on Toxicology*, 9, 279-287.
- DeFur P.L., D. Crane, C. Ingersoll & L. Tattersfield. (1999). Endocrine disruption in invertebrates: endocrinology, testing and assessment, 12-15 *In: Proceedings of the Workshops on Endocrine Disruption in Invertebrates*, December 1998, Noordwijkerhout, Netherlands, SETAC Press, Pensacola.
- Depledge, M. H. (1994). The rational basis for the use of biomarkers as ecotoxicological tools. *Nondestructive biomarkers in vertebrates*, 271-295.
- Díaz-Báez M., Bustos-López M. C. & Espinosa-Ramírez A. J. (2004). Pruebas de toxicidad acuática: fundamentos y métodos. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. 118 pp.
- Drahushuk, A., McGarrigle, B., Larsen, K., Stegeman, J., & Olson, J. (1998). Detection of CYP1A1 protein in human liver and induction by TCDD in precision-cut liver slices incubated in dynamic organ culture. *Carcinogenesis*. 19, 1361–1368.
- Dyrynda, E.; Law, R.; Dyrynda, P.; Kelly, C.; Pipe, R. & Ratcliffe, N. (2000). Changes in immune parameter of natural mussel *Mytilus edulis* populations following a major oil spill ('sea Empress', Wales, UK). *Marine Ecology Progress Series*. 200: 155-170.

- EFSA (European Food Safety Authority), (2015). Scientific opinion on the risks to public health related to the presence of nickel in food and drinking water. *EFSA J.* 13, 4002e4203.
- Eisler R (2000) Handbook of chemical risk assessment: health hazards to humans, plants and animals. Lewis Publishers, Florida
- Ellis, D. V., & Pattisina, L. A. (1990). Widespread neogastropod imposex: a biological indicator of global TBT contamination? *Marine Pollution Bulletin.* 21(5), 248-253.
- Etchegoin, J. A., Merlo, M. J., Gilardoni, C. M., & Cremonte, F. (2013). Digeneos larvales que parasitan a moluscos de ambientes marinos y estuariales de Argentina: relevamiento y perspectivas de estudio.
- FAO. 2001. Estadísticas Mundiales de Pesca. Roma FAO.
- Filloux, J. H. (1973). Tidal patterns and energy balance in the Gulf of California. *Nature.* 243: 217-221.
- García-Domínguez, F. A. (1991). Distribución, abundancia, reproducción y fauna asociada de la almeja roñosa, *Chione californiensis*, en la Ensenada de La Paz, BCS, México. Tesis de Doctorado. CICIMAR-IPN. La Paz
- García-Domínguez, F., González-Ramírez, P., & García-Melgar, G. (1993). Ciclo reproductivo de la almeja roñosa, *Chione californiensis* (broderip, 1835), en bahía Magdalena, Baja California sur, México. *Ciencias Marinas*, 19(1).
- Gaspar, M. B., Santos, M. N., & Vasconcelos, P. (2001). Weight-length relationships of 25 bivalve species (Mollusca: Bivalvia) from the Algarve coast (southern Portugal). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 81(5), 805-807.
- Gernhöfer, M., Pawert, M., Schramm, M., Müller, E., & Triebkorn, R. (2001). Ultrastructural biomarkers as tools to characterize the health status of fish in contaminated streams. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*, 8(3-4), 241-260.
- Godard, C. A., Smolowitz, R. M., Wilson, J. Y., Payne, R. S., & Stegeman, J. J. (2004). Induction of cetacean cytochrome P4501A1 by β -naphthoflavone exposure of skin biopsy slices. *Toxicological Sciences*, 80(2), 268-275.

- Gold-Bouchot, G., Sima-Alvarez, R., Zapata-Perez, O., & Güemez-Ricalde, J. (1995). Histopathological effects of petroleum hydrocarbons and heavy metals on the American oyster (*Crassostrea virginica*) from Tabasco, Mexico. *Marine Pollution Bulletin*, 31(4-12), 439-445.
- Goldberg, E.D. (1975). The mussel watch — A first step in global marine monitoring. *Marine Pollution Bulletin*. 7: 91-103.
- Gomes, T., J.P. Pinheiro, I. Cancio, C.G. Pereira, C. Cardoso & M.J. Bebianno. (2011). Effects of copper nanoparticles exposure in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Environmental Science & Technology*. 45: 9356-9362.
- Gómez, M.A., M. Elizondo, P. Venier, & M.P. Cajaraville. (2005). Characterization of mussel gills cell in vivo and in vitro. *Cell Tissue Research* 321: 131-140.
- Gongora-Gomez, A., Garcia-Ulloa, M., Arellano-Martínez, M., Abad, S., Dominguez, A., & Ponce-Palafox, J. (2016). Annual reproductive cycle and growth of the pen shell *Atrina maura* (Pterioidea: Pinnidae) on sand-bottom culture in the Ensenada Pabellones lagoon system, Gulf of California, Mexico. *Invertebrate Reproduction & Development*, 60(1), 28-38.
- González, P.M., D. Abele & S. Puntarulo. (2010). Exposure to excess dissolved iron in vivo affects oxidative status in the bivalve *Mya arenaria*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*. 152: 167-174.
- González, R.S., X. Guzmán-García, P. Ramírez-Romero & I. Matadamas-Guzmán. (2011). Toxicological analysis of water and sediment of Tecolutla, Ver., Mexico. SETAC. Merida, Yucatan.
- Gutiérrez-Galindo, E. A., Flores-Muñoz, G., & Villaescusa-Celaya, J. A. (1988). Hidrocarburos clorados en moluscos del valle de Mexicali y alto Golfo de California. *Ciencias Marinas*. 14(3), 91-113.
- Gutierrez-Galindo, E., Flores, G., Olguin, G., & Villaescusa, J. (1990). Biodisponibilidad de metales trazas en almejas y mejillón del valle agrícola de Mexicali y Alto Golfo de California. *Ciencias Marinas*, 16(4), 1-28.
- Gutiérrez-Galindo, E. A., Villaescusa-Celaya, J. A., & Arreola-Chimal, A. (1999). Bioaccumulation of metals in mussels from four sites of the coastal region of Baja California. *Ciencias Marinas*, 25(4), 557-578.

- Hamza-Chaffai, A.; Pellerin, J. & Amiard, J. (2003). Health assessment of a marine bivalve *Ruditapes decussates* from the Gulf of Gabes (Tunisia). *Environment International*. 28: 609-617.
- Hanselmann, R., R. Smolowitz & D. Gibson. (2000). Identification of proliferating cells in hard clams. *The Biological Bulletin* 199: 199-200.
- Hart Jr., C. W. & S. L. Fuller. (1974). *Pollution Ecology of Freshwater Invertebrates*. Academic Press, New York. 389p
- Hinton, D. E. & D. J. Lauren, (1990). Liver structural alterations accompanying chronic toxicity in fishes: potential biomarkers of exposure. In: McCarthy, J. F. (ed.), *Biomarkers of Environmental Contamination*, Vol. 2. Lewis, Boca Raton: 17–57.
- Hodson, P. V. (2002). Biomarkers and bioindicators in monitoring and assessment: the state of the art. *Biological indicators of aquatic ecosystem stress*, 591-619.
- Holguín-Quiñones, O.E. (1976). Catálogo de especies marinas de importancia comercial en Baja California Sur. S.I.C., Subsecretaría de Pesca, Instituto Nacional de la Pesca y Estación de Investigación Pesquera en La Paz, B.C.S. (Ed.), 117p.
- Hotz C, Lowe NM, Araya M, Brown KH (2003) Assessment of the trace element status of individuals and populations: The example of zinc and copper. *American society for nutritional sciences* 133(5):1563–1560
- Howard, D.W., E.J. Lewis, B.J. Keller & C.S. Smith. (2004). Histological techniques for marine bivalve mollusks and crustaceans. NOAA Technical Memorandum.
- Humason, G.L. (1979). *Animal tissue techniques*, 4ta ed. W. H. Freeman and Company, San Francisco, 111-129 p.
- Islam, M. S., & Tanaka, M. (2004). Impacts of pollution on coastal and marine ecosystems including coastal and marine fisheries and approach for management: a review and synthesis. *Marine pollution bulletin*, 48(7-8), 624-649.
- Izaguirre, U., Garmendia, L., Soto, M., Etxebarria, N. & I. Marigómez. (2014). Health status assessment through an integrative biomarker approach in mussels of different ages with a different history of exposure to the Prestige oil spill. *Science of the Total Environment*. 493: 65-78.

- Jaffé, R., Leal, I., Alvarado, J., Gardinali, P. & Sericanos, J. (1995). Pollution effects of the Tuy River on the central Venezuelan coast: anthropogenic organic compounds and heavy metals in *Tivela mactroides*. *Marine Pollution Bulletin.*, 30(12): 820–825.
- Jakimska, A., Konieczka, P., Skóra, K. & Namiesnik, J. (2011a). Bioaccumulation of metals in tissues of marine animals, Part I: the role and impact of heavy metals on organisms. *Polish Journal of Environmental Studies.* 20 (5): 1117-1125.
- Jakimska, A., Konieczka, P., Skóra, K. & Namiesnik, J. (2011b). Bioaccumulation of metals in tissues of marine animals, Part I: metal concentrations in animal tissues. *Polish Journal of Environmental Studies.* 20 (5): 1127-1146.
- Jemaà, M., Morin, N., Cavelier, P., Cau, J., Strub, J. M., & Delsert, C. (2014). Adult somatic progenitor cells and hematopoiesis in oysters. *Journal of Experimental Biology*, 217(17), 3067-3077.
- Jonsson, H., Schiedek, D., Goksoyr, A., & Grosvik, B.E. (2006a). Expression of cytoskeletal proteins, cross-reacting with anti-CYP1A, in *Mytilus* sp. exposed to organic contaminants. *Aquatic Toxicology* 78 (Suppl. 1), S42–S48.
- Jonsson, H., Schiedek, D., Grosvik, B.E., & Goksoyr, A. (2006b). Protein responses in blue mussels (*Mytilus edulis*) exposed to organic pollutants: a combined CYPantibody/
- Jørgensen, S. E. (1998). Ecotoxicological Research-Historical Development and Perspectives. *Ecotoxicology-Ecological Fundamentals, Chemical Exposure and Biological Effects*. Ed. G. Schuurmann and B. Markert. Wiley-Spectrum. New York-Heidelberg.
- Karam-Quiñones, C., (2002). Los Agroquímicos: una Perspectiva Jurídica-Ambiental. Análisis del Caso Sinaloa. El Colegio de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa, México.
- Keen, A. M. (1971). Sea shells of tropical West América. Marine molluscs from Baja California to Peru. California, Stanford. *Univ. Press. Stanford*, 1025 p.
- Klaassen CD (1996) Casarett & Doull's toxicology—the basic science of Poisons, 5th edn. McGraw-Hill, New York
- Koutsogiannaki, S. & M. Kaloyianni. (2010). Signaling molecules involved in immune responses in mussels. *Invertebrate Survival Journal* 7: 11-21.

- Kot, F., Shumilin, E., Rodríguez-Figueroa, G. M., & Mirlean, N. (2009). Mercury dispersal to arroyo and coastal sediments from abandoned copper mine operations, El Boléo, Baja California. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 82(1), 20-25.
- Kühnel, W. (2005). Atlas a color de citología e histología. Editorial Médica Panamericana. 11va edición. España, pp. 66-67
- Lagadic, L. (2002). Biomarkers: useful tools for the monitoring of aquatic environments. *Revue De Medecine Veterinaire*, 153(8/9), 581-588.
- Lau, P. S., Wong, H. L., & Garrigues, P. (2004). Seasonal variation in antioxidative responses and acetylcholinesterase activity in *Perna viridis* in eastern oceanic and western estuarine waters of Hong Kong. *Continental shelf research*, 24(16), 1969-1987.
- Laudien, J., Brey, T., & Arntz, W. E. (2001). Reproduction and recruitment patterns of the surf clam *Donax serra* (Bivalvia, Donacidae) on two Namibian sandy beaches. *African Journal of Marine Science*, 23, 53-60.
- Leung, K. & R. Furness. (2001). Metallothionein induction and condition index of dogwhelks *Nucella lapillus* (L.) exposed to cadmium and hydrogen peroxide. *Chemosphere*. 44: 321-325.
- Long, E.R.D., MacDonald, D., Smith, S.L. & Calder, F.D. (1995). Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. *Environmental Management*. 19: 81-97
- López-López, S. G. (2013). Caracterización física y evaluación del impacto antropogénico en los principales humedales de manglar en la Bahía de La Paz, Baja California Sur. Tesis de licenciatura. UABCS. La Paz. 141 p.
- López-Rocha, J.A., B.P. Ceballos-Vázquez, F.A. García-Domínguez, M. Arellano-Martínez, M.T. Villalejo-Fuerte & A.K. Romo-Piñera. (2010). La pesquería de la almeja chocolata *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835) (Bivalvia: Veneridae) en Baja California Sur, México. *Hidrobiológica*. 20: 230-237.
- Lucas, A., & Beninger, P. G. (1985). The use of physiological condition indices in marine bivalve aquaculture. *Aquaculture*, 44(3), 187-200.

- Maeda-Martínez, A. N. (2001). Los moluscos pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y acuicultura, editorial Limusa.
- Malathi, S., & Thippeswamy, S. (2011). Morphometry, lengthweight and condition in *Parreysia corrugata* (Mullar 1774) (Bivalvia: Unionidae) from river Malthi in the Western Ghats, India. *Int. J. Biol. Sci*, 2(1), 43-52.
- Marigómez, I., Cajaraville, M., & Angulo, E. (1990). Histopathology of the digestive gland-gonad complex of the marine prosobranch *Littorina littorea* exposed to cadmium. *Diseases of aquatic organisms*, 9(3), 229-238.
- Marigómez, I., M. Soto, M. P. Cajaraville, E. Angulo & L. Giamberini. (2002). Cellular and subcellular distribution of metals in molluscs. *Microscopy Research and Technique* 56:358–392.
- Martin, G. G., Oakes, C. T., Tousignant, H. R., Crabtree, H., & Yamakawa, R. (2007). Structure and function of haemocytes in two marine gastropods, *Megathura crenulata* and *Aplysia californica*. *Journal of Molluscan Studies*, 73(4), 355-365.
- Matozzo, V., Marin, M.G., Cima, F., & Ballarin, L., (2008). First evidence of cell division in circulating haemocytes from the Manila clam *Tapes philippinarum*. *Cell Biol. Int.* 32, 865-868.
- Matozzo, V., Rova, G., & Marin, M. G. (2007). Haemocytes of the cockle *Cerastoderma glaucum*: morphological characterisation and involvement in immune responses. *Fish & shellfish immunology*, 23(4), 732-746.
- McNulty, J. K. (1961). Ecological effects of sewage pollution in Biscayne Bay, Florida: Sediments and the distribution of benthic and fouling macro-organisms. *Bulletin of Marine Science*.11(1), 394-447.
- Méndez, L., L.M. Salas-Flores, A. Arreola-Lizarraga, S.T. Alvarez-Castañeda & B. Acosta. (2002). Heavy metals in clams from Guaymas Bay, Mexico. *Bulletin of Environment Contamination and Toxicology*. 68: 217-223.
- Méndez, L.C., Racotta, I.S., Acosta, B., & Portillo-Clark, G. (2004). Effect of sediment on growth and survival of post-larval *Litopenaeus stylirostris* (Boone, 1931). *Aquaculture research*, 35(7), 652-658.
- Méndez-Rodríguez L, Gardner SC, Acosta-Vargas B, López-Esquerr N, & Álvarez-Castañeda ST (2007). Concentración de metales pesados en almeja roñosa

- Chione californiensis* (Broderip) en la porción norte de Bahía Magdalena. En: Funes-Rodríguez R, Gómez-Gutiérrez J, Palomares-García R (eds) Estudios ecológicos en Bahía Magdalena. CICIMAR-IPN, La Paz, Baja California Sur, México, p 83-90
- Mendoza-Arroyo J. M. 2003. Reseña de "La compañía El Boleo: su impacto en la municipalidad de Mulegé 1885-1918" de Edith González Cruz Tzintzun. *Revista de Estudios Históricos*. #37: 272-276.
- Mercado-Silva, N. (2005). Condition index of the eastern oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791) in Sapelo Island Georgia—effects of site, position on bed and pea crab parasitism. *Journal of Shellfish Research*, 24(1), 121-126.
- Mills, W. B., Dean, J. D., Porcella, D. B., Gherini, S. A., & Hudson, R. J. M. (1982). Water quality assessment: a screening procedure for toxic and conventional pollutants, part 1. Environmental Research Laboratory. Athens. 570p.
- Moore, H. B., & Lopez, N. N. (1969). The ecology of *Chione cancellata*. *Bulletin of Marine Science*, 19(1), 131-148.
- Moore, M. (1985). Cellular responses to pollutants. *Marine Pollution Bulletin*. 16: 134-139.
- Morris, H. R., Abbott, D. P., & Haderlie, E. C. (1980). Intertidal Invertebrates of California. Stanford Univ. Press, Stanford Ca. 690 pp.
- Mouneyrac, C., S. Linot, J. Amiard, C. Amiard-Triquet, I. Métrais, C. Durou, C. Minie & J. Pellerin. (2008). Biological indices, energy reserves, steroid hormones and sexual maturity in the infaunal bivalve *Scrobicularia plana* from three sites differing by their level of contamination. *General and Comparative Endocrinology*. 157: 133-141.
- Muñoz-Barbosa, A., & Huerta-Díaz, M. A. (2013). Trace metal enrichments in nearshore sediments and accumulation in mussels (*Modiolus capax*) along the eastern coast of Baja California, Mexico: Environmental status in 1995. *Marine pollution bulletin*, 77(1-2), 71-81.
- Nasci, C., Da Ros, L., Campesan, G., Van Vleet, E. S., Salizzato, M., Sperti, L., & Pavoni, B. (1999). Clam transplantation and stress-related biomarkers as useful tools for assessing water quality in coastal environments. *Marine Pollution Bulletin*, 39(1-12), 255-260.

- Neff, J. M., Hillman, R. E., Carr, R. S., Buhl, R. L., & Lahey, J. I. (1987). Histopathologic and biochemical responses in arctic marine bivalve molluscs exposed to experimentally spilled oil. *Arctic*, 220-229.
- Neveeskaja, L.A. 2009. Principles of Systematics and the System of Bivalves. *Journal of Paleontology*. 43: 1-11.
- Newman, M.C. 2014. *Fundamentals of Ecotoxicology: The Science of Pollution*. Fourth Edition. CRC Press. New York. 633 pp.
- Nicholson, S. (2003). Lysosomal membrane, phagocytosis and tolerance to emersion in the mussel *Perna viridis* (Bivalvia: Mytilidae) following exposure to acute, sublethal, copper. *Chemosphere*, 52: 1147-1151.
- Nicholson, S., & Lam, P. K. S. (2005). Pollution monitoring in Southeast Asia using biomarkers in the mytilid mussel *Perna viridis* (Mytilidae: Bivalvia). *Environment International*, 31(1), 121-132.
- Núñez-Esquer, O. (1975). Concentración de DDT en *Chione californiensis* de la parte norte del Golfo de California. *Ciencias Marinas*. 2(1), 6-13.
- Oehlmann, J., Fioroni, P., Stroben, E., & Markert, B. (1996). Tributyltin (TBT) effects on *Ocenebrina aciculata* (Gastropoda: Muricidae): imposex development, sterilization, sex change and population decline. *Science of the Total Environment*, 188(2-3), 205-223.
- Ottaviani, E. (2006). Molluscan immunorecognition. *Invertebrate Survival Journal* 3: 50-63.
- Ottaviani, E. (2011). Immunocyte: the invertebrate counterpart of the vertebrate macrophage. *Invertebrate Survival Journal* 8: 1-4.
- Ottaviani, E., A. Franchini & D. Malagoli. (2010). Inflammatory Response in Molluscs: Cross-Taxa and Evolutionary Considerations. *Current Pharmaceutical Design* 16: 4160 – 4165.
- Páez-Osuna, F., Álvarez-Borrego, S., Ruiz-Fernández, A. C., Garcia-Hernandez, J., Jaramarini, M. E., Bergés-Tiznado, M. E., Piñón-Gimate, A., Alonso-Rodríguez, R., Soto-Jiménez M. F., Frías-Espiricueta, M. G., Ruelas-Inzunza, J. R., Green-Ruiz, C. R., Osuna-Martínez, C. C., & Sanchez-Cabeza, J. (2017). Environmental status of the Gulf of California: a pollution review. *Earth-Science Reviews*, 166, 181-205.

- Páez-Osuna, F., Gracia, A., Flores-Verdugo, F., Lyle-Fritch, L.P., Alonso-Rodríguez, R., Roque, A., & Ruiz-Fernández, A.C. (2003). Shrimp aquaculture development and the environment in the Gulf of California ecoregion. *Marine Pollution Bulletin*. 46, 806–815
- Páez-Osuna, F. & C. Osuna-Martínez. (2011). Biomonitores de la contaminación costera con referencia a las costas mexicanas: una revisión sobre los organismos utilizados. *Hidrobiológica*. 21: 229-238.
- Páez-Osuna, F., J.I. Osuna-López, G. Izaguirre-Fierro & H.M. Zazueta-Padilla. (1993). Heavy metals in clams from a subtropical coastal lagoon associated with an agricultural drainage basin. *Bulletin of Environment Contamination and Toxicology*. 50: 915-921.
- Páez-Osuna, F., G. Ramírez-Reséndiz, C. Ruiz-Fernández & M. F. Soto-Jiménez. 2007. *La contaminación por nitrógeno y fósforo en Sinaloa: Flujos, fuentes, efectos y opciones de manejo*. Serie Lagunas costeras de Sinaloa. Páez-Osuna, F. Ed. ICMYL-UNAM, México. 303 p.
- Palace V. P., K. G. Wautier, R. E. Evans, P.J. Blanchfield, K.H. Mills, S. M. Chalanchuk, D. Godard, M. E. McMaster, G.R. Tetreault, L. E. Peters, L. Vandenbyllaardt, & K. A. Kidd. (2006). Biochemical and histopathological effects in pearl dace (*Margariscus margarita*) chronically exposed to a synthetic estrogen in a whole lake experiment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 25 (4):1114–1125
- Palacio, J. A. (2007). *Ecotoxicología acuática*. Medellín: Ed. Universidad de Antioquia. 437p.
- Park, J. & J. Lee. (2010). Ultrastructural changes in digestive gland and lipofuscin accumulation of the equilateral Venus, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae) on Tributyltin chloride (TBTCI) toxicity. *Korean Journal of Malacology*. 26: 63-78.
- Parry, H.E., & Pipe, R.K. (2004). Interactive effects of temperature and copper on immunocompetence and disease susceptibility in mussels (*Mytilus edulis*). *Aquatic toxicology*, 69(4), 311-325.

- Pérez-Olvera, M.A., Navarro-Garza, H., Miranda-Cruz, E., (2011). Use of pesticides for vegetable crops in Mexico. In: Stoytcheva, M. (Ed.), *Pesticides in the Modern World — Pesticides Use and Management*. IntechOpen. pp. 97–118
- Peteiro, L. G., Babarro, J. M., Labarta, U., & Fernández-Reiriz, M. J. (2006). Growth of *Mytilus galloprovincialis* after the Prestige oil spill. *Ices Journal of Marine Science*, 63(6), 1005-1013.
- Petrović, S., Ozretić, B., Krajnović-Ozretić, M., & Bobinac, D. (2001). Lysosomal membrane stability and metallothioneins in digestive gland of mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) as biomarkers in a field study. *Marine Pollution Bulletin*, 42(12), 1373-1378.
- Pila, E.A., Sullivan, J.T., Wu, X.Z., Fang, J., Rudko, S.P., Gordy, M.A., & Hanington, P.C. (2016). Haematopoiesis in molluscs: a review of haemocyte development and function in gastropods, cephalopods and bivalves. *Developmental & Comparative Immunology*, 58, 119-128.
- Pipe, R.K., & Coles, J.A. (1995). Environmental contaminants influencing immunefunction in marine bivalve molluscs. *Fish & Shellfish Immunology*, 5(8), 581-595.
- Pipe, R. K., Coles, J. A., Thomas, M. E., Fossato, V. U., & Pulsford, A. L. (1995). Evidence for environmentally derived immunomodulation in mussels from the Venice Lagoon. *Aquatic toxicology*, 32(1), 59-73.
- PNUMA, (2005). Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. Evaluación mundial sobre el mercurio, Ginebra, pp. 1–289.
- Porte, C., Janer, G., Lorusso, L. C., Ortiz-Zarragoitia, M., Cajaraville, M. P., Fossi, M. C., & Canesi, L. (2006). Endocrine disruptors in marine organisms: approaches and perspectives. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 143(3), 303-315.
- Rainbow, P.S. (1995). Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*. 31: 183-192.
- Rajkumar, W., Mungal, R. and Bahadoorsingh, E. (1992). Heavy metal concentration in sea water, sediment, and biota (*Donax striatus*) along the east coast of Trinidad. *Caribbean Marine Studies*., 3: 26–32

- Regoli, L., H.M. Chan, Y. de Lafontaine, & I. Mikaelian. (2001). Organotins in zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) and sediments of the Quebec City Harbour area of the St. Lawrence River. *Aquat. Toxicol.* 53, 115–126.
- Regoli, F.; Frenzilli, G.; Bochetti, R.; Annarumma, F.; Scarcelli, V.; Fattorini, D. & Nigro, M. (2004). Time-course variations of oxyradical metabolism, DNA integrity and lysosomal stability in mussels, *Mytilus galloprovincialis*, during a field translocation experiment. *Aquatic Toxicology*. 68: 167-178
- Rhee, J. S., Lee, Y. M., Hwang, D. S., Won, E. J., Raisuddin, S., Shin, K. H., & Lee, J. S. (2007). Molecular cloning, expression, biochemical characteristics, and biomarker potential of theta class glutathione S-transferase (GST-T) from the polychaete *Neanthes succinea*. *Aquatic toxicology*, 83(2), 104-115.
- Rodríguez-Castañeda, A.P., Sánchez-Rodríguez, I., Shumilin, E.N., & Sapozhnikov, D., (2006). Element concentrations in some species of seaweeds from La Paz Bay and La Paz Lagoon, south-western Baja California, Mexico. *Journal of Applied Phycology*. 18, 399–408.
- Rodríguez-Figueroa, G. M. (2004). Geoquímica de los oligoelementos, elementos mayores y elementos de las tierras raras, en los sedimentos marinos del distrito minero de Santa Rosalía, B.C.S, México. Tesis de maestría. CICIMAR-IPN. La Paz, B. C. S., 137 p.
- Rodríguez-Figueroa, G. M., Shumilin, E., & Sánchez-Rodríguez, I. (2009). Heavy metal pollution monitoring using the brown seaweed *Padina durvillaei* in the coastal zone of the Santa Rosalía mining region, Baja California Peninsula, Mexico. *Journal of Applied Phycology*, 21(1), 19-26.
- Rodríguez-Jaramillo, C., Maeda-Martínez, A. N., Valdez, M. E., Reynoso-Granados, T., Monsalvo-Spencer, P., Prado-Ancona, D., Cardoza-Velasco, F., Robles-Mungaray, M., & Sicard, M. T. (2001). The effect of temperature on the reproductive maturity of the penshell *Atrina maura* (Sowerby, 1835) (Bivalvia: Pinnidae). *Journal of Shellfish Research*, 20(1), 39-47.
- Roldán-Wong, N. T. (2017). Bioacumulación y biomagnificación de elementos potencialmente tóxicos en el pulpo *Octopus hubbsorum* del puerto minero de

- Sanata Rosalía, Golfo de California. Tesis de maestría. CICIMAR-IPN. La Paz, BCS. 91 p.
- Roldán-Wong, N. T., Kidd, K. A., Marmolejo-Rodríguez, A. J., Ceballos-Vázquez, B. P., Shumilin, E., & Arellano-Martínez, M. (2018). Bioaccumulation and biomagnification of potentially toxic elements in the octopus *Octopus hubbsorum* from the Gulf of California. *Marine pollution bulletin*, 129(2), 458-468.
- Romero-Gil, J. M. (1991). El Boleo, Santa Rosalía, Baja California Sur: un pueblo que se negó a morir, 1885-1954. Universidad de Sonora. México. 434 pp.
- Roopnarine, P. D. (1996). Systematics, biogeography and extinction of chionine bivalves (Bivalvia: Veneridae) in tropical America: Early Oligocene-Recent. *Malacologia*. 38(1-2), 103-142.
- Ross, K., Cooper, N., Bidwell, J. R., & Elder, J. (2002). Genetic diversity and metal tolerance of two marine species: a comparison between populations from contaminated and reference sites. *Marine Pollution Bulletin*, 44(7), 671-679.
- Ruelas-Inzunza, J., Delgado-Alvarez, C., Frías-Espericueta, M., & Páez-Osuna, F., (2013). Mercury in the atmospheric and coastal environments of Mexico. *Rev. Environ. Contam Toxicol.* 226, 65–99
- Ruiz, Y., P. Suarez, A. Alonso, E. Longo, A. Villaverde, & F. San Juan. (2011). Environmental quality of mussel farms in the Vigo estuary: Pollution by PAHs, origin and effects on reproduction. *Environmental Pollution*. 159: 250-265.
- Russell-Pinto, F., Reimão, R., & de Sousa, M. (1994). Haemocytes in *Cerastoderma edule* (Mollusca, Bivalvia): distinct cell types engage in different responses to sheep erythrocytes. *Fish & Shellfish Immunology*, 4(5), 383-397.
- Sarkar, A., Ray, D., Shrivastava, A. N., & Sarker, S. (2006). Molecular biomarkers: their significance and application in marine pollution monitoring. *Ecotoxicology*, 15(4), 333-340.
- Sastry, A. (1979). Pelecypoda (Excluding Ostreidae), 113-292. *In*: Giese, A. & J. Pearse (Eds.) *Reproduction of marine invertebrates*. Academic Press, Nueva York.
- Sauvé, S.; Hendawi, M.; Brousseau, P. & Fournier, M. (2002). Phagocytic response of terrestrial and aquatic invertebrates following *in vitro* exposure to trace elements. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 52: 21-29.

- Segner, H. & T. Braunbeck, (1988). Hepatocellular adaptation to extreme nutritional conditions in the, *Leuciscus idus melanotus* L. (Cyprinidae). A morphofunctional analysis. *Fish Physiol. Biochem.* 5: 79–97.
- Seiler, G.R., & Morse, M.P. (1988). Kidney and hemocytes of *Mya arenaria* (Bivalvia): normal and pollution-related ultrastructural morphologies. *Journal of invertebrate pathology*, 52(2), 201-214.
- Shumilin, E., Gordeev, V., Figueroa, G. R., Demina, L., & Choumilina, K. (2011). Assessment of geochemical mobility of metals in surface sediments of the Santa Rosalia mining region, western gulf of California. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 60(1), 8-25.
- Shumilin, E. N., Rodríguez-Figueroa, G., Bermea, O. M., Baturina, E. L., Hernández, E., & Meza, G. D. R. (2000). Anomalous trace element composition of coastal sediments near the copper mining district of Santa Rosalia, Peninsula of Baja California, Mexico. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 65(2), 261-268.
- Shumilin, E., Jiménez-Illescas, Á. R., & López-López, S. (2013). Anthropogenic contamination of metals in sediments of the Santa Rosalia Harbor, Baja California peninsula. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 90(3), 333-337.
- Smith, B. S. (1971). Sexuality in the American mud snail, *Nassarius obsoletus* Say. *Proceedings of the Malacological Society of London*. 39(5), 377-378.
- Smolowitz, R., Hahn, M., & Stegeman, J. (1991). Immunohistochemical localization of cytochrome P-450IA1 induced by 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl and by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-a-furan in liver and extrahepatic tissues of the teleost *Stenotomus chrysops* (scup). *Drug Metabolism & Disposition*. 19, 113–123.
- Soto, M., J.M. Gil, I. Marigomez & E. Angulo. (1990). Histochemistry and elemental composition of the stomach cells in *Littorina littorea* (L.). *Folia Histochemica et Cytobiologica*. 28: 239-248.
- Southward, A. J. (1982). An ecologist's view of the implications of the observed physiological and biochemical effects of petroleum compounds on marine organisms and ecosystems. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 297(1087), 241-255.

- Stebbing, A. R. D., (1985). A possible synthesis. In: Bayne, B. L. (ed.), *The Effect of Stress and Pollution on Marine Animals*. Praeger, New York.
- Thain, J. E., Vethaak, A. D., & Hylland, K. (2008). Contaminants in marine ecosystems: developing an integrated indicator framework using biological-effect techniques. *ICES Journal of Marine Science*, 65(8), 1508-1514.
- Theodorakis, C. W., & Wirgin, I. I. (2002). Genetic responses as population-level biomarkers of stress in aquatic ecosystems. En S. M. Adams, (Ed.), *Biological indicators of aquatic ecosystems stress*. Maryland, USA: American Fisheries Society. pp. 149-186
- Tiscar, P. G., & Mosca, F. (2004). Defense mechanisms in farmed marine molluscs. *Veterinary research communications*, 28, 57-62.
- Tlili, S., Métais, I., Ayache, N., Boussetta, H., & Mouneyrac, C. (2011). Is the reproduction of *Donax trunculus* affected by their sites of origin contrasted by their level of contamination? *Chemosphere*, 84(10), 1362-1370.
- Toro-Restrepo, B. (2011). Uso de los biomarcadores en la evaluación de la contaminación. *Revista Luna Azul*, (32).
- Torres, M.A., M.P. Barros, S. Campos, E. Pinto, S. Rajami, T. Sayre & P. Colepicolo. (2008). Biochemical biomarkers in algae and marine pollution: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 71: 1-15.
- Tosti, E., & Gallo, A. (2012). Best biomarker and bioindicator for marine environmental pollution. *J Mar Sci Res Dev*, 2(2).
- Triebkorn, R., H.-R. Köhler, W. Honnen, M. Schramm, S. M. Adams & E. F. Müller, (1997). Induction of heat shock proteins, changes in liver ultrastructure, and alterations of fish behaviour: Are these biomarkers related and are they useful to reflect the state of pollution in the field? *J. Aquat. Ecosyst. Stress Recov.* 6: 57–73.
- Usero, J., González-Regalado, E. and García, I. (1996). Trace metals in the bivalve mollusc *Chamelea gallina* from the Atlantic coast of southern Spain. *Marine Pollution Bulletin.*, 32(3): 305–310.
- Velasco-García, J. A. (2009). Ambientes geológicos costeros del litoral de la Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. Tesis de Licenciatura. CICIMAR, IPN. México. 82 pp.

- Villalba, A., Carballal, M. J., & López, C. (2001). Disseminated neoplasia and large foci indicating heavy haemocytic infiltration in cockles *Cerastoderma edule* from Galicia (NW Spain). *Diseases of aquatic organisms*, 46(3), 213-216.
- Villaseñor-Casales, A. (1979). Distribución vertical de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto en la Bahía de La Paz, Baja California Sur, durante la primavera de 1976. *California Cooperative Oceanic Fisheries Investigations Reports*. 20: 146-149.
- Volke-Sepúlveda, T., Solórzano, G., Rosas A., Izumikawa C., Aguilar G., Velasco J. & Flores, S. (2003). Remediación de sitios contaminados por metales provenientes de jales mineros en los distritos de El Triunfo-San Antonio y Santa Rosalía, Baja California, Sur. CENICA. INE. México, D. F., 37 pp.
- Volke-Sepúlveda, T., Velasco-Trejo J. A. & Rosa-Pérez D. A. (2005). Suelos contaminados por metales y metaloides: muestreo y alternativas para su remediación. INE-SEMARNAT. México, D. F. 141 pp.
- Wedderburn, J., McFadzen, I., Sanger, R. C., Beesley, A., Heath, C., Hornsby, M., & Lowe, D. (2000). The field application of cellular and physiological biomarkers, in the mussel *Mytilus edulis*, in conjunction with early life stage bioassays and adult histopathology. *Marine Pollution Bulletin*, 40(3), 257-267.
- Widdows, J. (1985). Physiological responses to pollution. *Marine Pollution Bulletin*, 16(4), 129-134.
- Widdows, J., & Donkin, P. (1991). Role of physiological energetics in ecotoxicology. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 100(1-2), 69-75.
- WHO. World Health Organization. (1993). Biomarkers and risk assessment: concepts and principles.
- Wright DA, Welbourn P (2002) Environmental toxicology. Cambridge environmental chemistry series / 11. Cambridge University Press, New York
- Yee-Duarte, J. A. (2017). Salud reproductiva de la almeja chocolata *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835) (Mollusca:Bivalvia) en el puerto minero de Santa Rosalía, BCS, México. Tesis de Doctorado. CICIMAR-IPN. La Paz. 177 p.
- Yee-Duarte, J. A., Ceballos-Vázquez, B. P., Arellano-Martínez, M., Camacho-Mondragón, M. A., & Uría-Galicia, E. (2018). Histopathological Alterations in the

- Gonad of *Megapitaria squalida* (Mollusca: Bivalvia) Inhabiting a Heavy Metals Polluted Environment. *Journal of aquatic animal health*, 30(2), 144-154.
- Yee-Duarte, J. A., Ceballos-Vázquez, B. P., Shumilin, E., Kidd, K., & Arellano-Martínez, M. (2017). Evidence of health impairment of *Megapitaria squalida* (Bivalvia: Veneridae) near the “hot spot” of a mining port, Gulf of California. *Hidrobiológica*, 27(3), 391-398.
- Yee-Duarte, J. A., Ceballos-Vázquez, B. P., Shumilin, E., Kidd, K. A., & Arellano-Martínez, M. (2017b). Parasitic castration of chocolate clam *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835) caused by trematode larvae. *Journal of shellfish research*, 36(3), 593-599.
- Yurchenko, O. & M. Vaschenko. (2010). Morphology of spermatogenic and accesory cells in the mussel *Modiolus kurilensis* under environmental pollution. *Marine Environmental Research*. 70: 171-180
- Zanette, J., Jenny, M. J., Goldstone, J. V., Parente, T., Woodin, B. R., Bainy, A. C., & Stegeman, J. J. (2013). Identification and expression of multiple CYP1-like and CYP3-like genes in the bivalve mollusk *Mytilus edulis*. *Aquatic toxicology*, 128, 101-112.
- Zar, J.H. (1996). Biostatistical análisis. 3rd edition. Prentice Hall, Inc. New Jersey. EUA, 365 p.
- Zevenhoven, R., & Kilpinen, P. (2001). Control of pollutants in flue gases and fuel gases. Espoo, Finland: Helsinki University of Technology.
- Zhou, Q., J. Zhang, J. Fu, J. Shi & G. Jiang. (2008). Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analytica Chimica Acta*. 606: 135-150.