



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

Análisis comparativo de bioacumulación de metales pesados en tejidos del gusano gigante *Riftia pachyptila* Jones, 1981 (Annelida: Siboglinidae) del sistema hidrotermal de la Cuenca de Guaymas, Golfo de California, en relación a otros organismos.

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**BIÓLOGO**

P R E S E N T A:

**Antonio Castañón Barrientos**



FACULTAD DE CIENCIAS  
UNAM

DIRECTOR:

Dr. Luis Arturo Soto González

México D. F.

2009



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# ÍNDICE

	<b>Página</b>
Resumen.....	1
Introducción.....	2
Descripción morfológica de <i>R. pachyptila</i> .....	7
Desarrollo embrionario.....	10
Desarrollo postembrionario.....	10
Reseña histórica taxonómica de <i>R. pachyptila</i> .....	10
Antecedentes.....	12
Hipótesis.....	15
Objetivo general.....	15
Objetivos particulares.....	16
Área de estudio.....	16
Material y métodos.....	18
Análisis estadístico.....	25
Resultados.....	26
Análisis comparativo de bioacumulación a nivel interespecífico.....	32
Discusión.....	36
Conclusiones.....	40
Referencias.....	42
Referencias de Internet.....	46

## ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

	Página
Fig. 1 Imagen de ventila hidrotermal activa.....	3
Fig. 2 Morfología de <i>R. pachyptila</i> .....	7
Fig. 3 Ubicación del área de estudio.....	18
Cuadro 1 Concentración promedio de metales ( $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco) en tejidos de especies asociadas a sistemas hidrotermales profundos en los Océanos Atlántico y Pacífico.....	22
Cuadro 2 Concentración de metales ( $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco) en tejido de <i>R. pachyptila</i> en la Cuenca de Guaymas, Golfo de California.....	26
Cuadro 3 Promedio y desviación estándar de las concentraciones de los metales ( $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) en branquia y vestimento así como los valores de las concentraciones en trofosoma de <i>R. pachyptia</i> .....	27
Fig. 4 Representación grafica de la concentración ( $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco) de nueve metales pesados en los tres tipos de tejidos analizados de <i>R. pachyptila</i> .....	28
Fig. 5 Diagrama de árbol (Biodiversity Pro) con los valores de los metales ( $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco) analizados grupalmente de acuerdo a su concentración en los tejidos de los dos individuos de <i>R. pachyptila</i> .....	29
Fig. 6 Dendrograma de la concentración de metales pesados ( $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco) de branquia, vestimento y trofosoma de <i>R. pachyptila</i> del sistema hidrotermal profundo de la Cuenca de Guaymas, Golfo de California (Cluster en BIODIVERSITY PRO).....	29
Fig. 7 Valores medios de la bioacumulación de metales pesados ( $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco) en los dos individuos de <i>R. pachyptila</i> de diferentes localidades en la Cuenca de Guaymas, Golfo de California.....	30
Fig. 8 Dendrograma con los valores de metales bioacumulados ( $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco) de ambos individuos de <i>R. pachyptila</i> (BIODIVERSITY PRO).....	31

Fig. 9 Representación de los valores de bioacumulación de metales pesados ( $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco) en macrofauna asociadas a sistemas hidrotermales situados en la Cordillera del Atlántico medio, la Dorsal del Pacífico Oriental y el Mar de Cortés (Golfo de California)..... 34

Fig. 10 Agrupación de los tres metales con mayor bioacumulación (Fe, ZN y Cu) en *R. pachyptila*, *E. complanata* y *C. magnifica*. (dendrogama realizado con SPSS v.12)..... 35

Fig. 11 Análisis de similitud de la bioacumulación de Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb y Zn en tres diferentes organismos colectados en sitios hidrotermales distintos (dendrograma realizado con SPSS v.12)..... 35

## DEDICATORIA

*A mis padres, Yolanda Barrientos Cortes y Antonio Castañón Morales por el esfuerzo, sacrificio y apoyo incondicional que me brindan todos los días.*

*A mis hermanas, Martha A. y Ana Bere por ser personas con grandes valores, por el gran cariño y apoyo que me demuestran además de ser ejemplos a seguir.*

*A la memoria de mi abuelo Guadalupe Castañón porque siempre me inculcó que el estudio y la perseverancia son aspectos imprescindibles en la formación de las personas.*

*A todos mis familiares con los que comparto momentos muy gratos, que se preocupan por mí y me alientan a seguir esforzándome para triunfar en la vida.*

*A mis compañeros y amigos del Laboratorio de Ecología del Bentos del ICMYL por su ayuda, comprensión y sugerencias brindadas para conmigo.*

*A todos mis amigos que me brindan su amistad y apoyo cuando los necesito y que además compartimos vivencias difíciles de olvidar.*

*En especial a la memoria de Miguel Ángel Blanco Becerril que lamentablemente falleció a un pequeño paso de titularse, al mismo tiempo porque siempre se mostró como una persona ejemplar y un amigo incondicional que recordamos con gran afecto quienes lo conocimos.*

Sinceramente:

Toño.

## AGRADECIMIENTOS

*Al Dr. Luis A. Soto G. por la dirección, apoyo constante y confianza para el desarrollo de esta tesis y sobre todo por ser una persona brillante, comprensiva y muy amable.*

*A los sinodales María Ana Fernández Alamo, Gabriel Núñez Nogueira, Aravid Torres Garduño por su tiempo invertido en las valiosas sugerencias para que éste estudio fuese más enriquecido, especialmente a la Dra. Andrea Raz-Guzman M. por su invaluable apoyo y confianza que me brindó, además por haberme reclutado a este agradable e interesante laboratorio.*

*Al Biól. Carlos Illescas M. técnico del laboratorio de Ecología del Bentos por las facilidades prestadas y por su valiosa amistad.*

*A mi familia entera, tíos y primos por estar siempre conmigo y brindarme su ayuda apreciable.*

*A mis amigos en general por ayudarme a no estar estresado, pero especialmente a los del laboratorio: Abril Cid, Rocío Luna, Rosa Florido, Raúl Galván y Raúl Herrera, que me acompañaron durante mi estancia en el laboratorio y ayudaron en varios aspectos de mi tesis.*

## Resumen

Se determinó la concentración de nueve metales pesados (cadmio: Cd, cromo: Cr, cobre: Cu, hierro: Fe, mercurio: Hg, manganeso: Mn, níquel: Ni, plomo: Pb y zinc: Zn) en tejido branquial, vestimento y trofosoma de dos ejemplares de *Riftia pachyptila*, un gusano de la familia Siboglinidae, colectados en el sistema hidrotermal profundo de la Cuenca de Guaymas, Golfo de California. Los ejemplares fueron obtenidos en las inmersiones 4355 y 4358 en 2007 del sumergible de investigación ALVIN en dos sitios espacialmente separados. Las determinaciones se efectuaron por medio de Espectrofotometría de Absorción Atómica.

No se detectaron diferencias en la concentración de metales pesados de los individuos analizados. Los metales con mayor concentración promedio en branquia, vestimento y trofosoma de ambos organismos fueron Fe (450.5, 310 y 302  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) y Zn (318.5, 244 y 109  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) y el metal con concentración media fue el Cu (23.69, 20.53 y 21.1  $\mu\text{g g}^{-1}$ ). El Zn alcanzó la mayor concentración (314  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) en el vestimento de uno de los individuos analizados, en tanto que el Fe mantuvo concentraciones altas en los tres tejidos.

Los índices de bioacumulación de metales pesados en *R. pachyptila* permitieron establecer tres categorías de acuerdo al nivel de concentración: alta (Fe>Zn), media (Cu) y baja (Ni>Mn>Cd>Cr>Pb>Hg). El análisis comparativo de la bioacumulación de estos metales en *R. pachyptila* con respecto a la registrada en otros organismos hidrotermales de diferentes sitios mostró de manera general el siguiente patrón de bioacumulación: las concentraciones altas corresponden a los



elementos Fe>Zn>Cu, mientras que las concentraciones medias a Ni>Mn>Cd>Cr>Pb y finalmente las concentraciones bajas a Hg.

## Introducción

Las ventilas hidrotermales profundas están asociadas con manantiales (corriente de agua que brota de la tierra) en el fondo abisal (área de profundidades mayores a 2000m) que emiten fluidos (agua magmática) a altas temperaturas (360°C) enriquecidos con metales, metano, hidrógeno, y sulfuros reducidos geotérmicos (Kádár *et al*, 2006b). El agua magmática típica de las ventilas hidrotermales, se libera con fluidos volátiles del magma ascendente por disminución de presión y temperatura. Los sistemas hidrotermales se generan en la gran mayoría de los casos por fuentes magmáticas de calor. La variación en la temperatura y la densidad de los fluidos conducen a una circulación convectiva dentro de la corteza, la cual produce una transferencia de calor y minerales a gran escala (Pantoja y Gómez, 2004).

Los precipitados químicos de las ventilas hidrotermales consisten en conjuntos mineralógicos simples donde predominan el sílice, los carbonatos, los sulfuros metálicos, los óxidos y las arcillas. Cuando el magma inicia su camino ascendente desde el manto superficial y alcanza la superficie oceánica o continental (ya sea en dorsales oceánicas, puntos calientes, sitios ubicados encima de sistemas de subducción o fracturas corticales), disminuye la presión y el calor y ocurre el proceso de diferenciación magmática que consiste en la

cristalización de minerales en una serie progresiva conforme disminuye la temperatura. Así es como se forman diversos tipos de roca a partir del magma parental y en sistemas hidrotermales se da lugar a las chimeneas hidrotermales con alturas de hasta 25m de altura y una duración promedio de 20 años (Fig. 1) (Pantoja y Gómez, 2004).

Geológicamente, las ventilas hidrotermales están asociadas a centros de expansión del fondo oceánico debido a la dinámica de la tectónica de placas, que causan que el piso oceánico se separe lentamente, son las zonas donde el basalto y el magma calientes se mezclan con el agua marina y se filtra por las grietas en estas zonas, una vez mezclada con minerales candentes es expulsada con gran presión y alta temperatura ( $> 300^{\circ}\text{C}$ ) hacia el fondo marino. Este flujo denominado hidrotermal es rico en nutrientes minerales, entre ellos compuestos de sulfuros altamente reducidos (Jannash and Mottl, 1985; Atlas y Bartha, 2002).

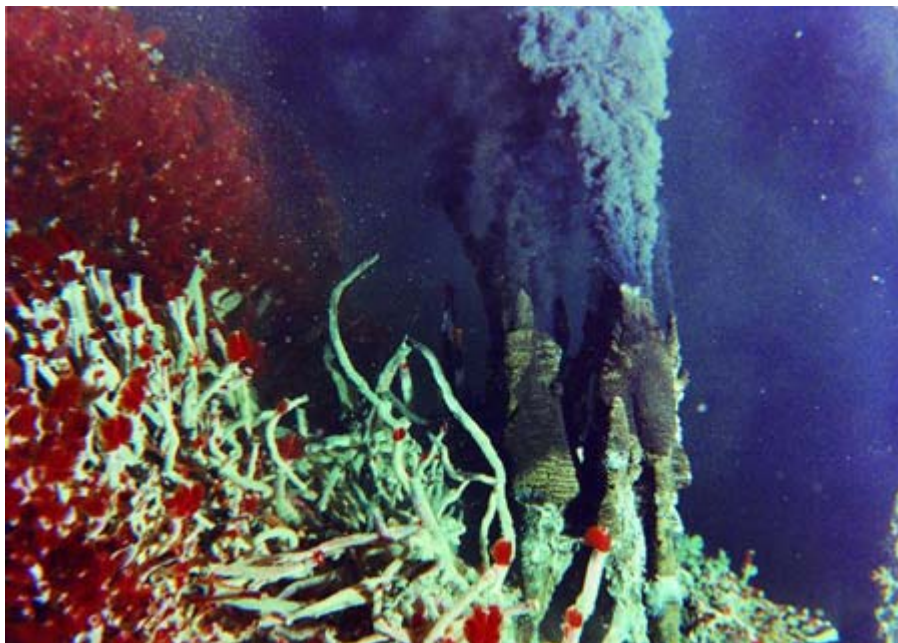


Figura 1. Ventila hidrotermal activa. (Tomado de página de Internet: cita 7)

Las comunidades animales que se establecen en torno a las ventilas hidrotermales constituyen asociaciones de macroinvertebrados poco frecuentes y muy activas, que incluyen anélidos tubícolas de hasta tres metros de longitud, y un número considerable de moluscos (mejillones y almejas) gigantes, de 20 y 25 cm de ancho, respectivamente (Madigan *et al.*, 2003). También se observan gasterópodos, cefalópodos, cangrejos, camarones, peces, equinodermos, anémonas y masas grandes de bacterias del género *Beggiatoa* (van Dover, 2000; Voight and Sigwart, 2007).

Los invertebrados asociados a las ventilas exhiben adaptaciones fisiológicas, morfológicas y reproductivas para sobrevivir en condiciones extremas como la ausencia de luz, la presión hidrostática alta, el pH alto y variable, condiciones de hipoxia y niveles tóxicos de sulfuros y de metales pesados (Fisher, 1998; McMullin *et al.*, 2000; Micheli *et al.*, 2002). Esta fauna ha desarrollado adaptaciones bioquímicas, moleculares y conductuales para colonizar con éxito estos ecosistemas.

El sostén energético de las comunidades depende de la actividad de los microorganismos quimiolitótrofos que utilizan las fuentes de energía inorgánicas contenidas en los flujos hidrotermales para su metabolismo (Karl, 1995) mediante el proceso de la quimiosíntesis. Este proceso consiste en lo siguiente: el dióxido de carbono y ácido carbónico ( $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) son transformados en carbono orgánico por los organismos quimiolitótrofos, y éstos forman la base de una red alimenticia muy corta con los animales que viven junto a las fuentes hidrotermales (Jannash and Mottl, 1985; Madigan *et al.*, 2003).

Las técnicas de secuenciación de ácidos nucleicos y los análisis filogenéticos demuestran que algunos de los organismos (e. g. moluscos y anélidos) que viven en sistemas hidrotermales profundos albergan una bacteria endosimbionte principal, y que ésta varía entre los diferentes grupos de animales (Madigan *et al.*, 2003; Yakimov *et al.*, 2007). No existen pruebas de que los animales de las ventilas se alimenten de las bacterias quimiolitótrofas, sino que es la capacidad autotrófica de estos organismos la que proporciona el alimento a estos animales (Atlas y Bartha, 2002; Madigan *et al.*, 2003).

Las ventilas hidrotermales sostienen ecosistemas caracterizados por una biomasa elevada, una diversidad inusualmente baja pero rica en endemismos y una productividad alta, comparada con otros sitios observados en las profundidades marinas (como las comunidades de corales del mar profundo) (Young and Richardson, 1998; Tunnicliffe *et al.*, 1998). Los invertebrados que habitan las ventilas están expuestos a sustancias tóxicas por largos periodos en una escala de tiempo geológico, a diferencia de sus análogos costeros que habitan lugares contaminados en los que la contaminación es ocasional o temporal. Debido a estas condiciones de exposición, las especies de las ventilas hidrotermales han desarrollado alternativas y mecanismos eficaces de desintoxicación que merecen ser investigados (Kádár, 2007).

Evolutivamente, estos organismos han desarrollado estrategias adaptativas complejas, incluyendo la simbiosis con bacterias quimiolitótrofas, y *Riftia pachyptila* es uno de los mejores ejemplos de esta adaptación. Este organismo

pertenece a uno de los taxones altamente especializados de las ventilas hidrotermales y es nutricionalmente dependiente de la reducción y síntesis de sustancias (principalmente H<sub>2</sub>S) contenidas en los fluidos hidrotermales (Demina *et al.*, 2009). El sostén de muchos de los organismos que ahí habitan es dependiente de la actividad de los quimiolitótrofos que crecen a expensas de las fuentes de energía inorgánicas (S, Mn, Fe, CH<sub>4</sub>) procedentes del flujo hidrotermal a través de la quimiosíntesis (Karl, 1995).

El gran paradigma de la investigación en aguas profundas es la forma en que estas zonas interfaciales escarpadas con gradientes extremos de factores físico-químicos pueden sostener tan exuberantes comunidades de invertebrados. Su estudio plantea innumerables preguntas que aun continúan sin respuesta (¿las ventilas hidrotermales son el origen de la biosfera?, ¿presentan viabilidad como ambientes potenciales de síntesis prebióticas?, ¿es posible hacer una homologación de la evolución biológica en otros cuerpos de nuestro sistema solar?) (Kádár *et al.*, 2006a).

El presente estudio se complementa con diferentes trabajos (Roesijadi *et al.*, 1985; Ruelas-Inzunza *et al.*, 2005; Kádár *et al.*, 2006a y b) y analiza las concentraciones de metales pesados en diferentes moluscos, crustáceos y anélidos de diferente talla y sitios activos separados expuestos a diferentes condiciones de flujo hidrotermal. Con apoyo de los análisis estadísticos se reconoce aquí el patrón de la bioacumulación de los metales pesados en los organismos asociados a los sistemas de ventilas hidrotermales citados en el presente estudio.

## Descripción morfológica de *R. pachyptila*

*Riftia pachyptila* es un anélido colonial alojado en un tubo flexible de fibra de colágeno que se fija a un sustrato duro o al tubo de un gusano adyacente. A menudo se encuentra en masas densas de hasta 200 individuos por metro cuadrado (Rupert y Barnes, 1996). Su cuerpo se divide en cuatro regiones: prosoma, mesosoma, metasoma y opistosoma. El prosoma incluye un penacho tentacular anterior en un obturáculo central de apoyo. El mesosoma incluye el vestimento (repliegue tegumentario en forma de capa). El metasoma corresponde al tronco y el opistosoma es el extremo posterior segmentado (Fig. 2). Estos organismos no poseen ni boca ni tubo digestivo (Jones, 1981).

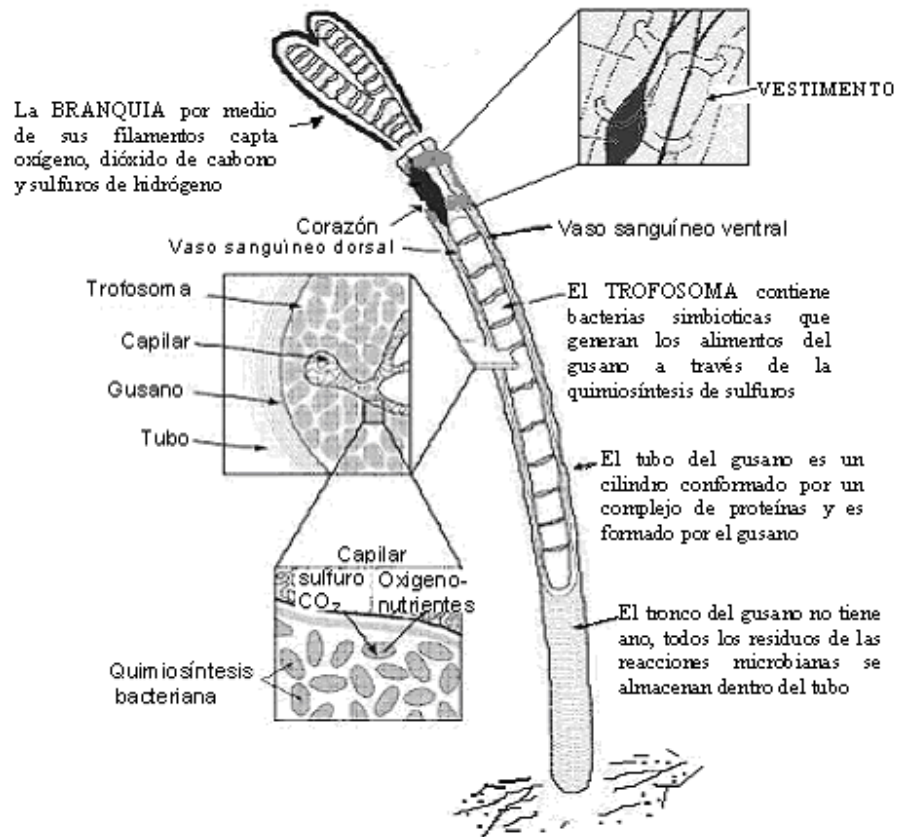


Figura 2. Morfología de *R. pachyptila* (Modificado de: cita 6).

*Riftia pachyptila* fija el oxígeno (O<sub>2</sub>) y el sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S) a través de las finas pínulas que rodean los tentáculos del penacho, que tienen en su

interior un vaso aferente y otro eferente. La sangre cuyos pigmentos transportan los gases (oxígeno y sulfuros) fluye hacia adelante en el vaso ventral que se dilata para formar un corazón en el prosoma, circula de los vasos aferentes a las pínulas y torna por los vasos eferentes que la vacían en el vaso dorsal y de ahí vuelve al ventral recorriendo todo el cuerpo. Es pues un tipo de aparato circulatorio cerrado en el que sus dos principales vasos están revestidos por una capa circular de células musculares dispuestas en anillos contráctiles (Página de Internet: Cita 1).

Debido a la ausencia de un tubo digestivo los nutrientes se obtienen a través de la endosimbiosis con arqueobacterias quimioautótrofas. El sistema excretor está formado por un par de conductos que comunican el interior de la cavidad del prosoma con el exterior. La captación de estímulos es mediante sistemas quimiotáctiles en las pínulas y una banda ciliada presente en el metasoma. Tales estímulos son transmitidos a un ganglio cerebral dorsal que se extiende lateralmente dando lugar a nervios tentaculares y a un nervio mediodorsal que se extiende hasta la banda ciliada del metasoma. Por otra parte, para su función locomotriz presentan papilas y anillos de setas en el metasoma que sirven como puntos de sujeción para asirse en el interior del tubo y para realizar movimientos con la ayuda de la musculatura circular y longitudinal de la pared del cuerpo, Las cavidades corporales presentan un protocele, cavidad del prosoma que se continua por el interior de los tentáculos, un mesocele par en el mesosoma, un metacele par en el metasoma y varias cavidades metamerizadas pares en el opistosoma. Estas cavidades están rodeadas de capas musculares,

delimitadas por un epitelio peritoneal y llenas de líquido (característica de una cavidad celómica) (Cita 1).

Por otra parte, utiliza la turgencia que consigue gracias a la presión muscular ejercida sobre las cavidades celómicas. Además una cutícula, formada por estratos de fibrillas colágenas atravesadas por microvellosidades, recubre toda la superficie del cuerpo. Glándulas epidérmicas pluricelulares segregan el tubo quitinoso (Cita 1).

*Riftia pachyptila* presenta sexos separados, los machos con un par de testículos en la mitad posterior del metacele de los que salen los canales deferentes, celomoductos transformados, que se abren al exterior en poros genitales situados por delante del septo que separa el mesosoma del metasoma. Los espermatozoides están encerrados en espermátóforos segregados por las paredes del conducto genital y provistos de un hilo que permite a los espermatozoides flotar y engancharse a los tubos de otros individuos (Cita 1).

Las hembras tienen situados en la mitad anterior del metacele un par de ovarios cuya extremidad posterior está alojada en el interior de oviductos ensanchados que se abren en dos poros genitales situados en la mitad del metasoma (Cita 1).



### **Desarrollo embrionario**

La segmentación es total y desigual originando una blástula alargada y de simetría bilateral que por separación y migración hacia el interior de las células (delaminación), da lugar a una gástrula con tres capas celulares: una externa (ectodermo), otra intermedia donde se abren las cavidades celómicas (fenómeno de esquizocelia) y otra interna o endodermo (Cita 1).

### **Desarrollo postembrionario**

La larva posee tres regiones definidas con una banda de cilios cada una, y es transportada por las corrientes hasta que se establece, completa sus celomas y forma el aparato tentacular (Cita 1).

### **Reseña histórica taxonómica de *Riftia pachyptila***

*Riftia pachyptila* ha tenido una historia taxonómica compleja. Jones (1981) lo clasificó por primera ocasión como un pogonoforo vestimentífero, ésta clasificación ha sido utilizada por diferentes autores para referirse a *R. pachyptila*. También Demina *et al*, (2009) se refieren a *R. pachyptila* como vestimentífero.

Otros autores como Ruppert y Barnes (1996) sostuvieron que el filo de los pogonoforos comprenden dos grupos: los pogonóforos perviados o frenulados (con mesosoma, un par de cavidades celómicas, sin celomoductos, con una membrana o ligamento que restringe el movimiento), y los pogonóforos obturados o vestimentíferos (región vestimental con vestimento, repliegue tegumentario), esta distinción está basada en las diferencias entre sus extremos anteriores. Sin embargo Ruppert y Barnes (1996) no reconocen a los vestimentíferos en un orden como lo hizo Jones (1981).

El cuerpo de la mayor parte de los pogonóforos perviados es transparente, largo y estrecho, semejante a un cabello que alcanza una longitud de 5 a 85 cm, en contraste, los cuerpos de los vestimentíferos son más gruesos y opacos (Rupert y Barnes, 1996). La posición filogenética de los pogonóforos no está todavía clara.

*Riftia pachyptila* incluso ha cambiado del filo Pogonoforo al filo Annelida según Rouse y Fauchald (1997), en donde se incluye dentro del orden Sabellida como la familia Siboglinidae en la clase Polychaeta. De igual manera, Brusca y Brusca (2002), y Schulze (2003) sostienen que *R. pachyptila* pertenece al filo Annelida.

Clasificaciones recientes de poliquetos muestran un gran número de órdenes sin un verdadero intento de relacionar los grupos en un sentido filogenético (Rouse and Fauchald, 1997).

Una historia detallada de la clasificación de los poliquetos se puede consultar en los trabajos de Rouse y Fauchald (1997 y 1998) para visualizar su filogenia.

La monofilia de Annelida y Polychaeta se ha puesto en duda en los últimos años. Diversos autores proponen que grupos como Arthropoda, Echiura y Pogonophora muestren a Annelida y/o Polychaeta como grupo parafilético (Rouse and Fouchald, 1998). Incluso algunos expertos sostienen que los vestimentíferos constituyen un filo aparte.

Sin embargo, McHugh (1997), con base en secuenciación de ADN y la obtención reciente de opistosomas incluyó a *R. pachyptila* en la familia Pogonophoridae dentro del orden Sabellidae de la clase Polychaeta.

En este estudio se hará referencia a *Riftia pachyptila* como miembro del grupo Siboglinidae, Annelida, tal como lo proponen Rouse y Fauchald (1997).

## **Antecedentes**

En el Sistema Periódico se encuentran 92 elementos naturales registrados bajo su connotación toxicológica y 59 de ellos pueden ser considerados como metales pesados. Sin embargo, sólo 17 de éstos (As, Co, Bi, Ni, Cu, Zn, Sn, Se, Te, Pd, Ag, Cd, Pt, Hg, Tl, Pb, Sb) pueden ser considerados muy tóxicos y altamente nocivos para los organismos marinos y la salud humana; potencialmente éstos pueden alcanzar en los ecosistemas (marinos, costeros y terrestres) concentraciones que exceden los niveles de toxicidad (Novotny, 1995).

Existen muchas formas de determinar la toxicidad, y aunque los efectos bioquímicos, fisiológicos, reproductivos y de comportamiento son de gran utilidad, el indicador comúnmente más utilizado es la muerte del organismo de prueba. La mayoría de las pruebas de toxicidad suministran una estimación de la dosis (o concentración en el alimento, aire o agua) que produce una respuesta tóxica a un nivel del 50% de individuos de una población determinada. Por ejemplo, la dosis letal media es la dosis o concentración que causa el deceso del 50% de los miembros de la población estudiada. Otro indicador es la dosis o concentración más alta a la cual no se observa ningún efecto. La magnitud del estímulo o dosis puede medirse como un peso, un volumen o una concentración (Cita 2).

El potencial nocivo de una sustancia tóxica puede ser contrarrestado por el sistema biológico a través de diferentes estrategias, tales como reacciones metabólicas de detoxificación, excreción de tóxicos, endosimbiosis con bacterias, etc. Por tanto, la toxicidad aparente evaluada en un ensayo biológico es el resultado de la interacción entre la sustancia y el sistema biológico (Cita 3).

Los niveles de metales pesados bioacumulados en las ventilas hidrotermales son originados a través de procesos geológicos naturales como la tectónica de placas (Karl, 1995). Sin embargo, entre los metales pesados que están siendo movilizados hacia el medio ambiente por el hombre con una rapidez que excede la de los procesos geológicos naturales figuran los siguientes: Ag, As, Cd, Cu, Hg, Ni, Pb, Sb, Sn, Zn (Novotny, 1995).

El proceso de absorción de metales pesados en organismos acuáticos puede efectuarse a través de superficies respiratorias (como las branquias), absorción del agua por las superficies corporales, y a través del aparato digestivo (Cervantes y Moreno, 1999). La bioacumulación de los metales en organismos depende de la biodisponibilidad de la presentación química en la que se encuentren, ésta puede aumentar o disminuir dependiendo de factores ambientales como el pH, la salinidad, la temperatura y las condiciones de óxido-reducción u otros compuestos presentes en el sistema (Sparling *et al.*, 2000). En el ambiente, los metales son altamente persistentes y su toxicidad dependerá de las características del compuesto químico del que forman parte, dado que esto

determina su movilidad ambiental y su biodisponibilidad (Cervantes y Moreno, 1999).

En los ambientes hidrotermales profundos, las bacterias quimiolitotróficas e hipertermofílicas están adaptadas mediante una relación simbiótica con los organismos que ahí habitan. Estudiar tales ecosistemas demuestra la importancia del trabajo científico interdisciplinario para resolver algunas muy básicas pero fundamentales cuestiones sobre la manera en que sobrevive la vida marina en el planeta bajo condiciones extremas. Algunos autores como Roesijadi y Crecelius (1984), Roesijadi *et al.* (1985), Grassle y Macioleck (1992), Soto (2003), Ruelas-Inzunza *et al.* (2003, 2005), Kádár *et al.* (2006) y Kádár (2007) han tratado de esclarecer muchas de las incógnitas que derivan de tales ecosistemas. Demina *et al.* (2009) realizaron un estudio detallado de la bioacumulación de 15 metales pesados en fluido hidrotermal y siete taxones que forman parte de la fauna hidrotermal de la Cuenca de Guaymas, en el cual enfatizaron la importancia de *R. pachyptila* en estos ecosistemas.

Es importante examinar los metales traza y otros elementos bioacumulados por organismos que habitan en el entorno de las ventilas hidrotermales, sobre todo porque las relaciones entre los organismos de la Cuenca de Guaymas y los metales no se han estudiado a detalle hasta la fecha. Hay pocos trabajos dedicados a la composición química, así como de los organismos de la Cuenca de Guaymas (Demina *et al.*, 2009).

## Hipótesis

- 1) La bioacumulación de metales pesados analizados en tres tejidos expuestos directa e indirectamente al flujo hidrotermal (branquia, vestimento y trofosoma) de dos especímenes de *R. pachyptila* colectados en el sistema hidrotermal profundo de la Cuenca de Guaymas no presenta diferencias significativas.
- 2) El patrón de bioacumulación de metales pesados en los diferentes tejidos de los dos individuos de *R. pachyptila* mantiene una secuencia<sup>1</sup> similar intraespecífica y es independiente del sitio de exposición en la Cuenca de Guaymas.
- 3) Los niveles de concentración de metales pesados en *R. pachyptila* y en los diferentes organismos aquí revisados presentan diferencias significativas dentro de un patrón de bioacumulación.

## Objetivo general

Realizar un análisis comparativo de la bioacumulación de metales pesados entre *R. pachyptila* del sistema hidrotermal de la Cuenca de Guaymas y otros organismos de distintas ventilas hidrotermales.

<sup>1</sup> = la secuencia de metales pesados analizados que bioacumulan los organismos hidrotermales citados en este estudio forman un patrón de bioacumulación, sin embargo la secuencia de los metales puede variar de posición de uno a dos lugares de acuerdo al nivel de concentración en determinado organismo.

## Objetivos particulares

- 1) Determinar los niveles de bioacumulación de nueve metales pesados (Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb y Zn) en tres diferentes tejidos (branquia, vestimento y trofosoma) de *R. pachyptila* colectados en el sistema hidrotermal profundo (~ 2000 m de profundidad) de la Cuenca de Guaymas, Golfo de California y describir el patrón de bioacumulación.
- 2) Determinar si existen diferencias significativas en las concentraciones de metales pesados en los tejidos de *R. pachyptila* y entre localidades muy cercanas en la Cuenca de Guaymas.
- 3) Efectuar un análisis comparativo de las concentraciones de metales pesados en *R. pachyptila* en relación a otros organismos hidrotermales profundos y establecer un patrón general.

## Área de estudio

La Cuenca de Guaymas está localizada en la porción central del Golfo de California y se encuentra entre los 27°00'35"-27°00'50" N y 111°24'15"-111°24'40" W, a una profundidad de 2000 a 2030 m (Fig. 3). La cuenca tiene una tasa de sedimentación que es superior a la de muchas otras áreas en el Golfo (4-5 cm/1000 años). El sedimento es una mezcla de detrito terrígeno inmaduro y sustancias biogénicas (de la Lanza-Espino and Soto, 1999).

Los precipitados químicos del flujo hidrotermal a los que se exponen las colonias de *R. pachyptila* consisten en conjuntos mineralógicos simples donde predominan el sílice, los carbonatos, los sulfuros metálicos, los óxidos y las arcillas. La mineralogía depende de la composición de la roca, la temperatura, la concentración de iones hidrógeno (pH) y el potencial de óxido reducción (Eh) de los fluidos hidrotermales (de la Lanza-Espino and Soto, 1999).

La topografía general de la zona incluye los depósitos hidrotermales en forma de montículos, espiras, estructuras de pagoda y pilares muy altos distribuidos en un terreno cubierto por sedimentos finos a través del cual se produce la filtración de fluidos hidrotermales. Los pilares y los montículos de tierra polimetálicos depositados sirven como sustrato para un conjunto complejo de fauna dominada por gusanos gigantes como *Riftia pachyptila*, almejas como *Vesicomya gigas* y mantos de bacterias filamentosas del género *Beggiatoa*. Los sedimentos en la Cuenca de Guaymas contienen petróleo, que es una mezcla compleja de hidrocarburos alifáticos y aromáticos que se forman por la alteración hidrotermal de la materia orgánica sedimentaria (de la Lanza-Espino and Soto, 1999).

La Cuenca de Guaymas es distinguida por su tasa de descarga sedimentaria de sedimentos biogénicos esenciales derivados de detritus terrígeno (de la Lanza-Espino and Soto, 1999).



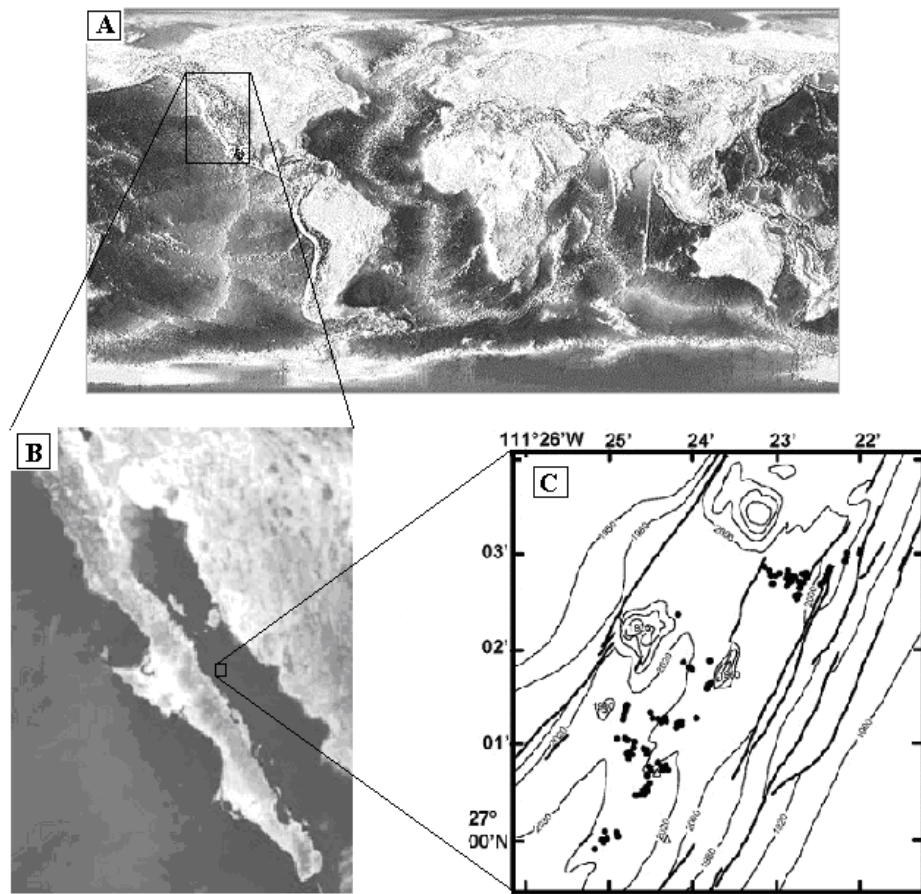


Figura 3. **A)** Ubicación del Golfo de California (modificado de: cita 4), **B)** Cuenca de Guaymas (modificado de: cita 5) y **C)** Acercamiento del área de estudio (modificado de de la Lanza-Espino and Soto, 1999). • = ventilas hidrotermales.

## Materiales y métodos

Las muestras del gusano siboglinidae *R. pachyptila* se obtuvieron en dos inmersiones (ALVIN-4355, 23/10/2007 y ALVIN-4358, 26/10/2007) durante las expediciones oceanográficas R/V ATLANTIS y DSRV-ALVIN en la Cuenca de Guaymas del Golfo de California. Los organismos colectados fueron seccionados a bordo y las muestras de tejido fueron preservadas a  $-65^{\circ}\text{C}$ .

Las muestras de tejido fueron conservadas en el laboratorio a una temperatura de  $-10^{\circ}\text{C}$ . Para su análisis, las muestras fueron transferidas a un

desecador Labconco (sistema de secado por congelación) y mantenidas por 48 horas para su óptima deshidratación. Posteriormente se maceraron en un mortero de porcelana que previamente se lavó con ácido clorhídrico (HCl 2M) y ácido nítrico (HNO<sub>3</sub> 2M).

Las muestras se guardaron en bolsas de plástico para su posterior análisis (Bertini *et al.*, 1976; Moody y Lindstrom 1977) de metales pesados totales de acuerdo con el método descrito por la Agencia Internacional de Energía Atómica (IAEA = International Atomic Energy Agency).

El procedimiento para la determinación de los metales pesados se hizo de acuerdo a Ruelas-Inzunza *et al.* (2005) método que ha mostrado su eficiencia en recuperación de metales pesados analizados por Ruelas-Inzunza *et al.* (2000).

La concentración de Cu, Fe, Mn y Zn en los organismos fue determinada con un espectrofotómetro de absorción atómica de flama (FAAS = Flame Atomic Absorption Spectroscopy) marca Shimadzu modelo AA6800. Así mismo, éste se acopló con un horno de grafito (GFAAS) para la determinación de Cd, Cr, Ni y Pb. Los metales se registraron para los tres tejidos (branquia, vestimento y trofosoma) del gusano tubícula *R. pachyptila*.

Para la determinación de Hg se utilizó un espectrofotómetro de absorción atómica Varian Mod. VGS 77 con generador de vapor de hidruros modelo Spectraa 110.

El sistema se limpió entre lecturas con agua destilada. Series de 10 tubos se prepararon (5 muestras por duplicado), con cuatro estándares de concentración conocida (controles analíticos con material de referencia: MA-B-3/TM y MA-A-

3/TM, IAEA, 1987) y dos blancos de reactivo, los cuales se trataron de igual manera que las muestras.

Las muestras de tejido seco y pulverizado fueron pesadas (1g c/u), se colocaron en las bombas de teflón y se dejaron digerir por ocho horas para eliminar la materia orgánica que para este procedimiento no es útil. Las muestras fueron oxidadas con ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) concentrado y después se sometieron tres horas más, con las bombas cerradas, a una temperatura de  $120^\circ\text{C}$ , con un gramo de peso seco por cada muestra de tejido y 25 ml de  $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}$  destilada.

Posteriormente a temperatura ambiente, las muestras se dejaron digerir en las mismas bombas, por lo que se obtuvo un sobrenadante color amarillo. Inmediatamente, con papel Millipore  $45\ \mu\text{m}$  las muestras se filtraron con el fin de separar las grasas residuales de la digestión, y se aforaron a 25 ml con agua bidestilada y desmineralizada.

Por cada muestra se utilizó un blanco de referencia, el cual se sometió al mismo tratamiento que las muestras. En este proceso se utilizó ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) ultrapuro con agua desmineralizada y desionizada, y por medio de estándares conocidos se elaboró una curva patrón para cada metal que se analizó.

Mediante la técnica analítica para determinación de Hg se tararon los tubos necesarios previamente identificados para las cinco diferentes muestras (dos de branquia, dos de vestimento y una de trofosoma) y de cada una se pesaron 600 mg. Las muestras se acidificaron con 1 ml de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) y 4 ml de ácido

sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) ambos concentrados. Las muestras se colocaron en baño termostático a  $60^\circ\text{C}$  durante dos horas y se agitaron periódicamente. Posteriormente a cada tubo se agregaron 15 ml de permanganato de potasio ( $\text{KMnO}_4$ , 50 g/l de agua destilada calidad analítica) de la siguiente manera:

- 2 ml y se colocaron en baño de hielo durante 15 minutos,
- 3 ml y se colocaron en el baño termostático a  $60^\circ\text{C}$ , se obtuvo una espuma, una vez eliminada se retiraron del baño y se les agregaron los 10 ml restantes de solución de permanganato de potasio al 10% para completar los 15 ml.

Los tubos se guardaron sellados aproximadamente 20 horas. Posteriormente los tubos se agitaron y se agregó una solución de cloruro de sodio-clorhidrato de hidroxilamina gota a gota hasta aclarar. Esta solución se preparó disolviendo 120 g de cloruro de sodio y 100 g de clorhidrato de hidroxilamina en 1 litro de agua destilada calidad analítica. Una vez concluido este procedimiento se trasvasó el sobrenadante en su totalidad a matraces erlenmeyer especiales y se agregaron 60 ml de agua destilada. Inmediatamente antes de incorporar la solución al dispositivo de aireación, se agregaron 5 ml de la solución reductora (100 g de cloruro estanoso con 200 ml de ácido clorhídrico concentrado y se aforó a 1 litro con agua destilada). Finalmente se realizó la lectura del Hg en el espectrofotómetro de absorción atómica con generador de vapor de hidruros. La velocidad del flujo del aire fue de 2 l/min (6 seg = 200 ml).

Estos valores de bioacumulación de metales pesados se compararon con los registrados en la literatura para otros especímenes provenientes de diferentes

ventilas hidrotermales (Cuadro 1) que se ubican en localidades que incluyen la Cordillera del Atlántico medio (e. g. Rainbow, Lucky Strike, Zona urbana de Viena), Dorsal del Pacífico Oriental (East Pacific Rise) y Golfo de California (Cuenca de Guaymas).

En la Cuenca de Guaymas existen datos de concentración de metales traza de los fluidos hidrotermales registrados por von Damm *et al.* (1985) y utilizados en el presente trabajo.

Cuadro1. Concentración promedio de metales ( $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco) en tejidos de especies asociadas a sistemas hidrotermales profundos en los océanos Atlántico (East Pacific Rise, Rainbow, Lucky Strike, Zona urbana de Viena, Aveiro Portugal, Estuario contaminado Portugal, Contaminación minera Australia) y Pacífico (East Pacific Rise y Cuenca de Guaymas).

Molusca, Bivalvia
Crustacea, Caridea
Annelida, Polychaeta

Organismos	Tejidos	Sistema hidrotermal	Autor y año	Cd	Cr	Cu	Fe	Hg	Mn	Ni	Pb	Zn
<i>Calyptogena magnifica</i>	branquia	East Pacific Rise	Roesijadi <i>et al.</i> , 1984	46	55.50	219	1931	6	7	1.60	1.60	1560
<i>Calyptogena magnifica</i>	riñón	East Pacific Rise	Roesijadi <i>et al.</i> , 1984	1.81	21.20	601	1131	10	5	1.40	1.40	443
<i>Calyptogena magnifica</i>	pericardio	East Pacific Rise	Roesijadi <i>et al.</i> , 1984	2.27	101	347	773	8	7	1.80	1.80	1433
<i>Calyptogena magnifica</i>	manto	East Pacific Rise	Roesijadi <i>et al.</i> , 1984	1.20	10	150	302	3.70	13.30	2.10	2.10	1772
<i>Calyptogena magnifica</i>	músculo	East Pacific Rise	Roesijadi <i>et al.</i> , 1984	0.41	7	46.90	118	2.20	5	1.20	1.20	343
<i>Calyptogena magnifica</i>	gónadas	East Pacific Rise	Roesijadi <i>et al.</i> , 1984	0.59	19	122	626	7.50	10.60	1.20	1.20	222
<i>Calyptogena magnifica</i>	branquia	East Pacific Rise	Roesijadi <i>et al.</i> , 1985	46	55.50	219	1931				23.20	1560
<i>Calyptogena magnifica</i>	riñón	East Pacific Rise	Roesijadi <i>et al.</i> , 1985	1.81	21.20	601	1131				114.50	443
<i>Calyptogena magnifica</i>	pericardio	East Pacific Rise	Roesijadi <i>et al.</i> , 1985	2.27	101	247	773				6.10	1433
<i>Calyptogena magnifica</i>	manto	East Pacific Rise	Roesijadi <i>et al.</i> , 1985	1.20	10	150	302				3.30	1772

<b>Organismos</b>	<b>Tejidos</b>	<b>Sistema hidrotermal</b>	<b>Autor y año</b>	<b>Cd</b>	<b>Cr</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Hg</b>	<b>Mn</b>	<b>Ni</b>	<b>Pb</b>	<b>Zn</b>
<i>Calyptogena magnifica</i>	músculo	East Pacific Rise	Roesijadi et al., 1985	0.41	7	46.90	118				1.880	343
<i>Calyptogena magnifica</i>	gónadas	East Pacific Rise	Roesijadi et al., 1985	0.59	19	122	626				1.750	322
<i>Calyptogena magnifica</i>	tejido suave	East Pacific Rise	Roesijadi et al., 1985	9.80	16.60	0.13	760	0.41			6	2152
<i>Calyptogena magnifica</i>	concha	East Pacific Rise	Roesijadi et al., 1985	6.90	0.60	0.01	17.40	5.50			3.10	3.40
<i>Mytilus edulis</i>	tejido suave	East Pacific Rise	Roesijadi et al., 1985	5	0.60	0.47	270	0.05			0.40	122
<i>Mytilus edulis</i>	concha	East Pacific Rise	Roesijadi et al., 1985	6.80	0.04	0.03	32.40	5.70			2.90	3.80
<i>Vesicomya gigas</i>	gónada	Cuenca de Guaymas	Ruelas-Inzunza et al., 2003	10.10		22	195.90	1.16	7.31		2.14	192.30
<i>Vesicomya gigas</i>	manto	Cuenca de Guaymas	Ruelas-Inzunza et al., 2003	12.30		29.70	277.50	1.10	10.60		3.67	419.10
<i>Vesicomya gigas</i>	branquia	Cuenca de Guaymas	Ruelas-Inzunza et al., 2003	115.20		8.26	403.20	4.96	18		2.89	844.80
<i>Rimicaris exoculata</i>	cuerpo	Rainbow	Kádar et al., 2005			0.80	35.60	0.07				1.80
<i>Rimicaris exoculata</i>	cutícula	Rainbow	Kádar et al., 2005			0.30	3.26	0.03				0.50
<i>Rimicaris exoculata</i>	branquia	Rainbow	Kádar et al., 2005			1.06	90.46	0.20				2.90
<i>Rimicaris exoculata</i>	antena	Rainbow	Kádar et al., 2005				0.92	0.90				0.20
<i>Rimicaris exoculata</i>	músculo	Rainbow	Kádar et al., 2005			0.30	0.61	0.01				0.30
<i>Rimicaris exoculata</i>	glándula digestiva	Rainbow	Kádar et al., 2005			0.70	6.64	0.40				0.80
<i>Rimicaris exoculata</i>	píloros	Rainbow	Kádar et al., 2005			22.90	138.99	2.80				25.90
<i>Mirocaris fortunata</i>	cuerpo	Rainbow	Kádar et al., 2005			1	6.60	0.05				2.50
<i>Mirocaris fortunata</i>	cutícula	Rainbow	Kádar et al., 2005			0.08	6.96	0.07				0.30
<i>Mirocaris fortunata</i>	branquia	Rainbow	Kádar et al., 2005			1.70	122.97	0.50				4.30
<i>Mirocaris fortunata</i>	antena	Rainbow	Kádar et al., 2005				12.36	0.60				0.90
<i>Mirocaris fortunata</i>	músculo	Rainbow	Kádar et al., 2005			0.20	0.94	0.02				0.20
<i>Mirocaris fortunata</i>	glándula digestiva	Rainbow	Kádar et al., 2005			0.40	3.01	0.09				0.60
<i>Mirocaris fortunata</i>	píloros	Rainbow	Kádar et al., 2005			26.30	179.72	2.20				40.90
<i>Mirocaris fortunata</i>	cuerpo	Lucky Strike	Kádar et al., 2005									

<b>Organismos</b>	<b>Tejidos</b>	<b>Sistema hidrotermal</b>	<b>Autor y año</b>	<b>Cd</b>	<b>Cr</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Hg</b>	<b>Mn</b>	<b>Ni</b>	<b>Pb</b>	<b>Zn</b>
<i>Mirocaris fortunata</i>	cutícula	Lucky Strike	Kádar <i>et al.</i> , 2005			0.06	1.09	0.09				0.15
<i>Mirocaris fortunata</i>	branquia	Lucky Strike	Kádar <i>et al.</i> , 2005			1.40	44.17	5.50				1.90
<i>Mirocaris fortunata</i>	antena	Lucky Strike	Kádar <i>et al.</i> , 2005				1.52	0.10				0.50
<i>Mirocaris fortunata</i>	músculo	Lucky Strike	Kádar <i>et al.</i> , 2005			0.04	0.19	0.05				0.06
<i>Mirocaris fortunata</i>	glándula digestiva	Lucky Strike	Kádar <i>et al.</i> , 2005			0.50	1.87	0.70				0.90
<i>Mirocaris fortunata</i>	píloros	Lucky Strike	Kádar <i>et al.</i> , 2005			7.50	13.46	6				5.10
<i>Riftia pachyptila</i>	trofosoma	Cuenca de Guaymas	Ruelas-Inzunza <i>et al.</i> , 2005	1.70	3.40	26.40	521	0.10	4.10	5.30	1.90	245
<i>Riftia pachyptila</i>	vestimento	Cuenca de Guaymas	Ruelas-Inzunza <i>et al.</i> , 2005	3.70	3.40	11.60	297	0.10	6	8.30	2	599
<i>Eurythoe complanata</i>	ND	N.D.	Ruelas-Inzunza <i>et al.</i> , 2005 (Méndez y Páez O, 1998)	4.90	1.80	3.95			23.55	3.90	15.30	213
<i>Bathymodiulus azoricus</i>	periostraco	Lucky Strike	Kádar <i>et al.</i> , 2006									40.70
<i>Bathymodiulus azoricus</i>	concha completa	Lucky Strike	Kádar <i>et al.</i> , 2006			80	280					
<i>Anodonta</i>	concha completa	Zona urbana de Viena	Kádar <i>et al.</i> , 2006			9.70						14.90
<i>Anodonta</i>	nacar	aveiro, Portugal	Kádar <i>et al.</i> , 2006			9	13					0.25
<i>Crassostrea gigas</i>	concha completa	Estuario contaminado, Portugal	Kádar <i>et al.</i> , 2006			8.60	145.70					5.80
<i>Velesunio angasi</i>	Concha	Sitio de referencia	Kádar <i>et al.</i> , 2006			4.90	350					3.30
<i>Velesunio angasi</i>	Concha	Contaminación minera, Australia	Kádar <i>et al.</i> , 2006			16	500					10
<i>Patella aspera</i>	Concha	Estuario contaminado, Portugal	Kádar <i>et al.</i> , 2006				48.20					6.80
<i>Riftia pachyptila</i>	branquia	Cuenca de Guaymas	Este estudio	3.68	2.70	23.70	450.50	0.15	4.58	6.41	1.84	318.50
<i>Riftia pachyptila</i>	vestimento	Cuenca de Guaymas	Este estudio	1.62	2.15	20.50	310	0.09	4.15	3.79	0.91	244
<i>Riftia pachyptila</i>	trofosoma	Cuenca de Guaymas	Este estudio	4.71	1.70	21.10	302	0.19	4.01	2.11	0.62	109

### **Análisis estadístico**

Los programas STATISTICA v.5, SPSS v.12 y BIODIVERSITY PRO se utilizaron con el fin de determinar si hay diferencias entre las concentraciones de los metales en los tejidos (cinco muestras) de los dos individuos de *R. pachyptila*. La prueba no-paramétrica de Kolmogorov-Smirnov de una muestra (K-S) también fue utilizada para comprobar si las muestras siguen una distribución normal. Posteriormente, las pruebas de ANDEVA y Kruskal-Wallis se aplicaron en conjunto. Esta última es similar al ANDEVA pero no asume normalidad de los datos. Debido a que se reconocieron diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de los metales y entre los tejidos ( $p < 0.001$ ), las pruebas Newman-Keuls y Tukey HSD fueron aplicadas, las cuales, al ser pruebas de comparación múltiple entre medias, determinaron las concentraciones que presentaron diferencias significativas para branquia y vestimento en *R. pachyptila*.

Con los programas BIODIVERSITY PRO y SPSS v.12, se obtuvo un dendrograma (Bray-Curtis Cluster Analysis) que muestra la agrupación de los metales pesados en los tejidos analizados de *R. pachyptila*. Asimismo, se elaboró un dendrograma por separado para identificar la similitud de las concentraciones de metales pesados en *R. pachyptila*, *Eurythoe complanata* y *Calyptogena magnifica* por ser las especies concurrentes en cuanto a los elementos que fueron analizados como se registra en la bibliografía. Por otra parte, los datos de concentración de metales pesados fueron transformados a valores log base 10 para obtener una mejor apreciación en su ilustración (Fig. 4).



## Resultados

De un total de cinco muestras de *R. pachyptila* que se les determinó la concentración de nueve elementos de la tabla periódica (Cuadro 2), se estableció un patrón de bioacumulación tanto a nivel intraespecífico con la especie antes mencionada como a nivel interespecífico con las especies reportadas en otros estudios. Los valores promedio y la desviación estándar de la bioacumulación de Fe y Zn en *R. pachyptila* contrastan por su elevada concentración con los valores de los demás metales (Cuadro 3).

Cuadro 2. Concentración de metales ( $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco) en tejido de *R. pachyptila* en la Cuenca de Guaymas, Golfo de California (A y B = individuos, 4355 y 4358 = inmersiones del Alvin).

Tejido	Cd	Cr	Cu	Fe	Hg	Mn	Ni	Pb	Zn
Branquia (A, 4355)	3.380	4.010	35.830	422	0.221	4.040	6.540	1.740	282
Vestimento (A, 4355)	1.170	1.040	13.970	239	0.106	5.330	2.980	0.830	314
Branquia (B, 4358)	3.970	1.400	11.550	479	0.156	5.130	6.290	1.950	355
Trofosoma (B, 4358)	4.710	1.700	21.090	302	0.190	4.010	2.110	0.620	109
Vestimento (B, 4358)	2.06	3.310	27.900	381	0.099	2.970	4.610	0.990	174

Cuadro 3. Promedio ( $\bar{x}$ ) y desviación estándar (S) de las concentraciones de los metales ( $\mu\text{g g}^{-1}$  peso seco) en branquia, vestimento y trofosoma de *R. pachyptila*.

Metal	Branquia (n=2)		Vestimento (n=2)		Trofosoma (n=1)
	$\bar{x}$	$\pm S$	$\bar{x}$	$\pm S$	
Cadmio	3.675	$\pm 0.417$	1.615	$\pm 0.629$	4.710
Cromo	2.705	$\pm 1.845$	2.175	$\pm 1.605$	1.700
Cobre	23.69	$\pm 17.168$	20.53	$\pm 9.277$	21.100
Hierro	450.5	$\pm 40.305^*$	310	$\pm 100.409^*$	302.0
Mercurio	0.188	$\pm 0.045$	0.1025	$\pm 0.004$	0.190
Manganeso	4.585	$\pm 0.77$	4.15	$\pm 1.668$	4.010
Níquel	6.415	$\pm 0.176$	3.795	$\pm 1.152$	2.110
Plomo	1.845	$\pm 0.148$	0.91	$\pm 0.113$	0.620
Zinc	318.5	$\pm 51.618$	244	$\pm 98.994$	109.0

\*  $F=29.42$   $p<0.001$ .

En los tres tejidos de los dos individuos analizados, los dos metales pesados que presentaron mayor concentración con respecto a los demás fueron el Fe y el Zn (branquia: 450.5, 318.5; vestimento: 310, 244; trofosoma: 302, 109  $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco respectivamente), así mismo, mostraron diferencias significativas intraespecíficas con respecto a los demás metales ( $F=29.42$   $p<0.001$ ) (Fig. 4); ambos metales mostraron un patrón de bioacumulación similar pero mayor que el de los demás elementos como se puede apreciar a continuación:

Tejido/individuo	Patrón de bioacumulación de metales pesados
Branquia/A	Fe>Zn>Cu>Ni>Mn>Cr>Cd>Pb>Hg
Branquia/B	Fe>Zn>Cu>Ni>Mn>Cd>Pb>Cr>Hg
Vestimento/A	Zn>Fe>Cu>Mn>Ni>Cd>Cr>Pb>Hg
Vestimento/B	Fe>Zn>Cu>Ni>Cr>Mn>Cd>Pb>Hg
Trofosoma/B	Fe>Zn>Cu>Cd>Mn>Ni>Cr>Hg>Pb

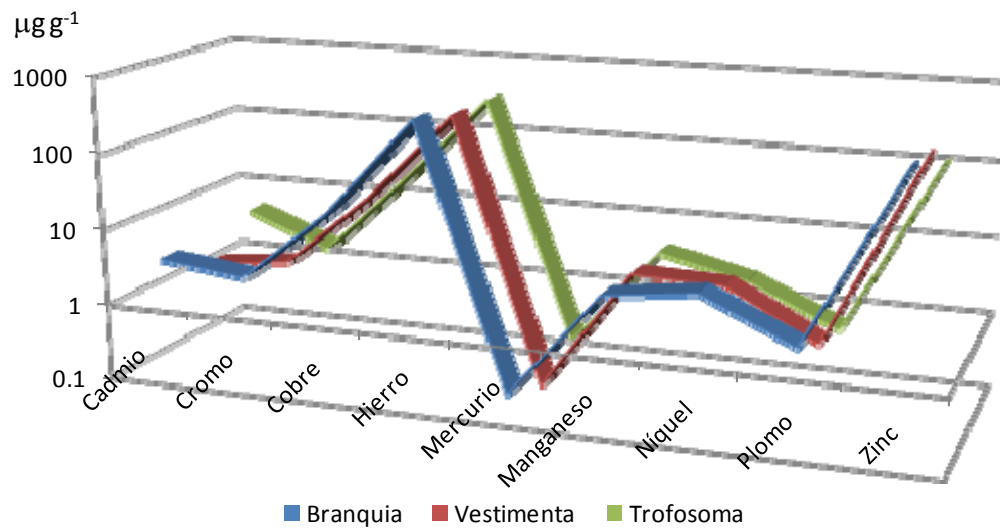


Figura 4. Representación grafica de la concentración ( $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco) de nueve metales pesados en los tres tipos de tejidos analizados de *R. pachyptila*.

En otra prueba realizada (Cluster, análisis Bray-Curtis) se distinguió otro grupo que destaca por sus valores de menor concentración: Cd, Mn, Ni, Cr, Pb y Hg, éste último con la más baja concentración; por encima de este grupo se sitúa el grupo de mayor concentración con sólo dos metales (Fe y Zn). Finalmente el Cu mostró valores de bioacumulación intermedios entre los dos grupos anteriores (Fig. 5). Se puede señalar que el Fe y el Zn en definitiva representaron los metales de altas concentraciones, en contraste con el Hg que resultó ser el metal de menor concentración; por tal motivo, el Fe, el Zn y el Hg constituyeron los grupos extremos y ocupan una posición contigua en el dendrograma generado (Fig. 6).

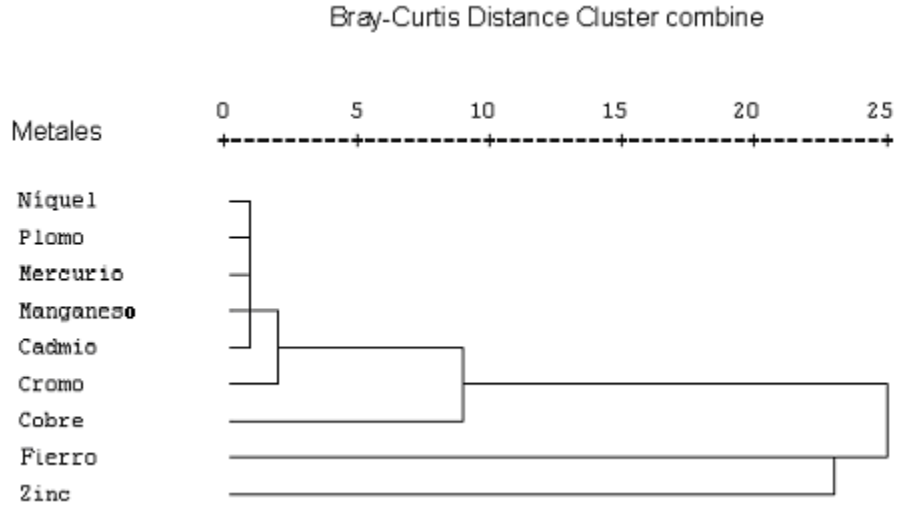


Figura 5. Diagrama de árbol (Biodiversity Pro) con los valores de los metales ( $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco) analizados grupalmente (cluster analysis, distancia euclidiana) de acuerdo con su concentración en los tejidos de los dos individuos de *R. pachyptila*.

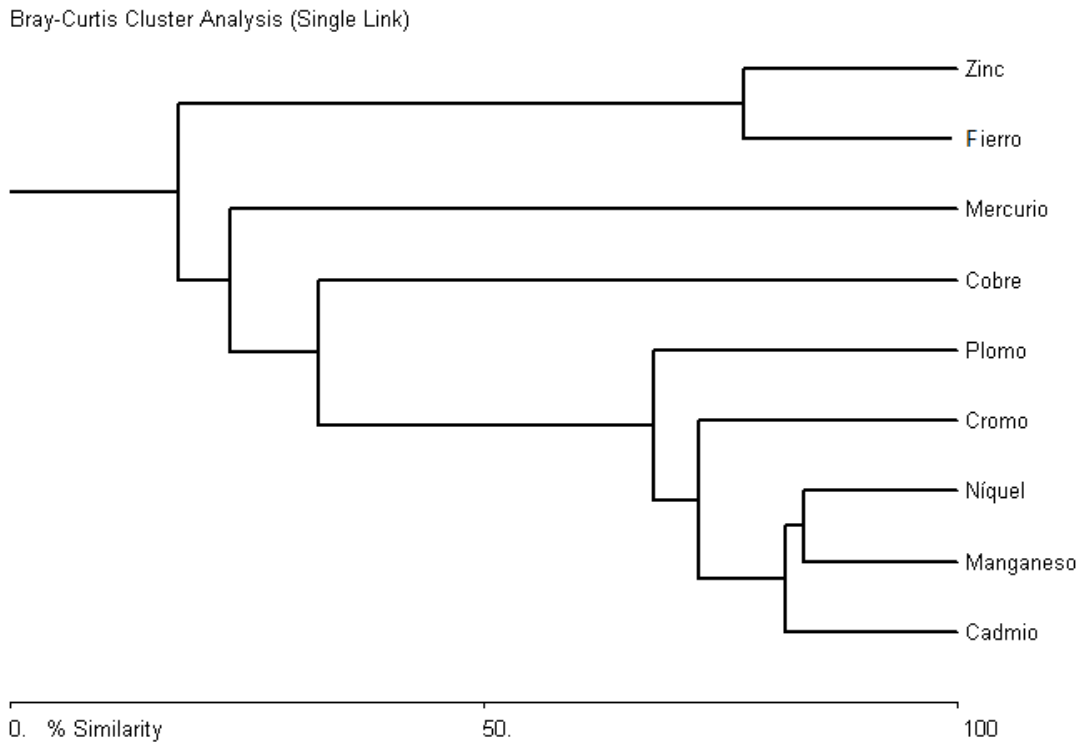


Figura 6. Dendrograma de la concentración de metales pesados ( $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco) de los tres tipos de tejidos (branquia, vestimento y trofosoma) del sistema hidrotermal profundo de la Cuenca de Guaymas, Golfo de California (Cluster en BIODIVERSITY PRO, Análisis Bray-Curtis).

Los valores promedio de las concentraciones de metales pesados en branquia (n = 2) y vestimento (n = 2), así como los valores de trofosoma (n=1) de *R. pachyptila* se compararon mediante un gráfico por lo que se puede confirmar una marcada tendencia de alta bioacumulación de dos metales (Fe y Zn) en los cinco tejidos (Fig. 7).

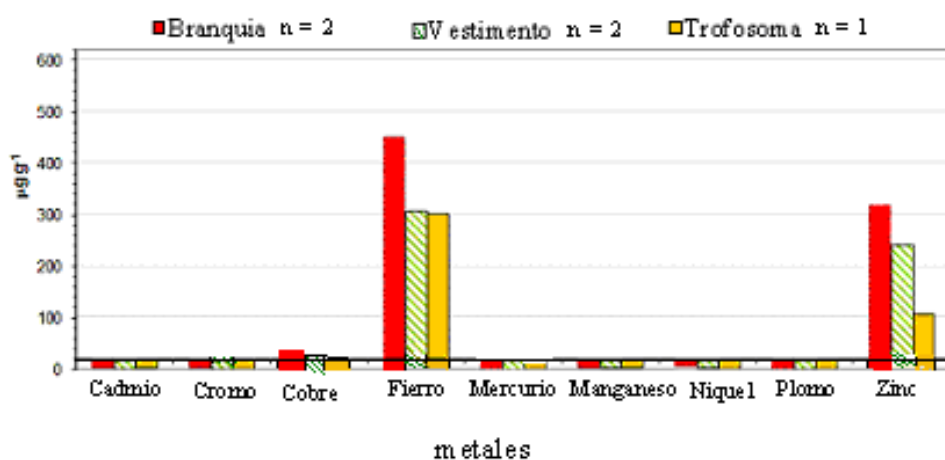


Figura 7. Valores medios de la bioacumulación de metales pesados ( $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco) en los dos individuos de *R. pachyptila* de diferentes localidades en la Cuenca de Guaymas, Golfo de California.

En el primer grupo formado en el dendrograma en el que se incluyen los valores promedio de los nueve metales analizados de *R. pachyptila*, el Fe y el Zn representan los valores más altos (branquia: Fe=450.5, Zn=318.5; vestimento: Fe=310, Zn=244 y trofosoma: Fe=302, Zn=109  $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco). El segundo grupo lo forma el Hg con las concentraciones más bajas (branquia: 0.156, vestimento: 0.099 y trofosoma: 0.190  $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco) y el tercer grupo pertenece a los valores intermedios (de 0.62 a 23.7  $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco), donde el

Cu por representar la tercera concentración más alta se separa un poco pero sin salirse del tercer grupo como se muestra en el respectivo dendrograma. Hay que destacar que los grupos se forman con respecto al grado de similitud, por consiguiente, las concentraciones de Zn en branquia y Fe en vestimento, se agrupan y a su vez este grupo se une al Fe de trofosoma. Este primer grupo en donde predominan las concentraciones altas de Fe y Zn se une al grupo de las concentraciones más bajas correspondientes al Hg, ya que ambos grupos convergen por representar las concentraciones de los valores extremos (las más altas y las más bajas concentraciones promedio) (Fig. 8).

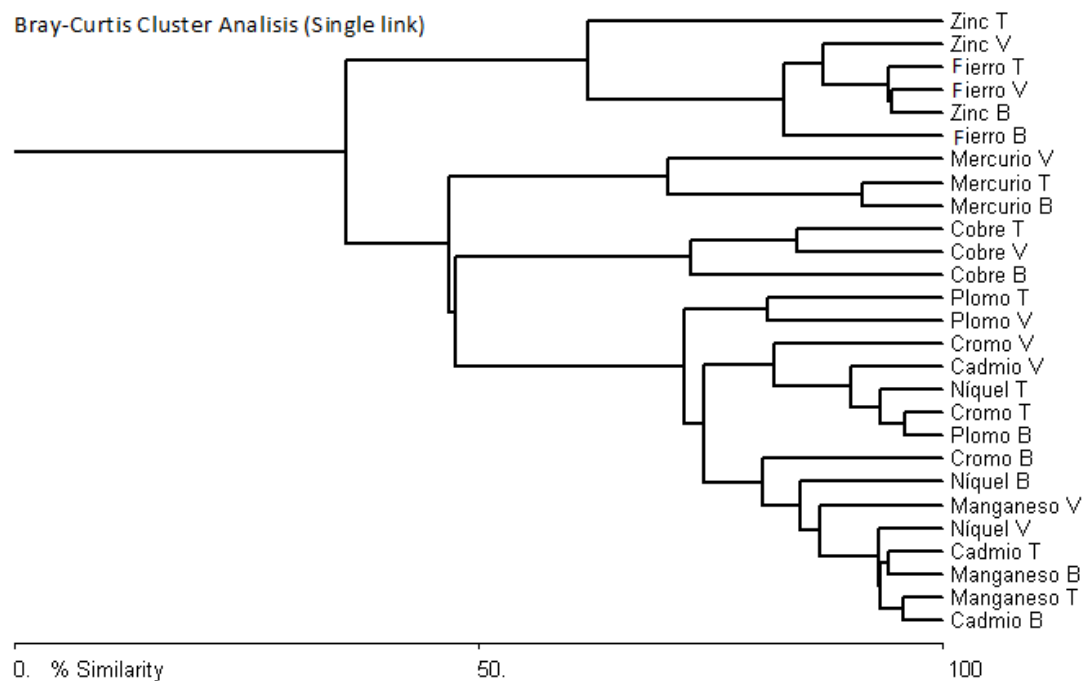


Figura 8. Dendrograma realizado con los valores promedio de metales bioacumulados ( $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco) en *R. pachyptila* (BIODIVERSITY PRO) (B = branquia, V = vestimento y T = trofosoma).

### **Análisis comparativo de bioacumulación a nivel interespecífico**

El análisis comparativo de los valores de metales pesados en organismos asociados a ventilas hidrotermales situados en la Cordillera del Atlántico medio, la Dorsal del Pacífico Oriental y el Golfo de California, indicó que, al igual que en *R. pachyptila*, el Fe y el Zn son los metales que alcanzan las mayores concentraciones en las especies comparadas.

Es posible separar a los organismos en tres grupos de acuerdo con los niveles de concentración de metales pesados (altos: <2152, intermedios: <844.8 y bajos: <48.2  $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco) tal como se presentan a continuación: El molusco bivalvo *Calyptogena magnifica* es la especie que presenta los valores más altos de biocumulación (de 0.13 a 2152  $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco) de todos los metales. En las concentraciones intermedias se encuentran los moluscos bivalvos *Velesunio angasi* (de 3.3 a 500  $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco), *Mytilus edulis* (de 0.03 a 270  $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco), *Vesicomya gigas* (de 1.1 a 844.8  $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco), *Crassostrea gigas* (de 5.8 a 145.7  $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco), *Bathymodiolus azoricus* (de 40.7 a 288  $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco), así como también a los crustáceos carídeos *Rimicaris exoculata* (de 0.03 a 138.99  $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco) y *Mirocaris fortunata* (de 0.02 a 179.72  $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco), además de los anélidos poliquetos *Eurythoe complanata* (de 1.8 a 213  $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco) y evidentemente a *Riftia pachyptila* (de 0.099 a 599  $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco).

También se pueden señalar a los moluscos bivalvos *Anodonta cvgnea* (de 0.25 a 14.9  $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco) y *Patella aspera* (de 6.8 a 48.2  $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco), como los organismos que presentan las concentraciones más bajas. Finalmente

se evidencia que el Fe, Zn y Cu son los metales que presentan las concentraciones más altas (Fe: de 0.19 a 1931, Zn: de 0.3 a 2152 y Cu: de 0.01 a 601  $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco) en la mayoría de los tejidos analizados en los diferentes organismos y registrados por diferentes autores (Fig. 9).

Por otra parte, las especies *C. magnifica* (altas concentraciones) y *E. complanata* (bajas concentraciones) bioacumulan los nueve metales determinados en *R. pachyptila* (intermedias concentraciones). Casualmente cada una de estas especies son representantes de los tres grupos formados de acuerdo a los índices de bioacumulación (altos, intermedios y bajos); por tal motivo, estos organismos se analizaron por separado, no obstante los resultados se mantuvieron similares a los obtenidos con las concentraciones de metales de todas las especies, en donde el Fe y Zn formaron el grupo que representa las concentraciones altas. De la misma forma los metales Ni, Pb, Hg, Mn, Cd y Cr por sus valores de bioacumulación, formaron el grupo de concentración baja, por lo que el cobre se manifestó entre estos dos grupos, siendo el grupo de valores intermedios (Fig. 10). Al efectuar la comparación de los tejidos de tales especies también se reconoció al bivalvo *C. magnifica* como la especie que bioacumuló una mayor concentración de todos los metales analizados en branquia, manto, pericardio y riñón (Fig. 11).





### Análisis de agrupación jerárquica

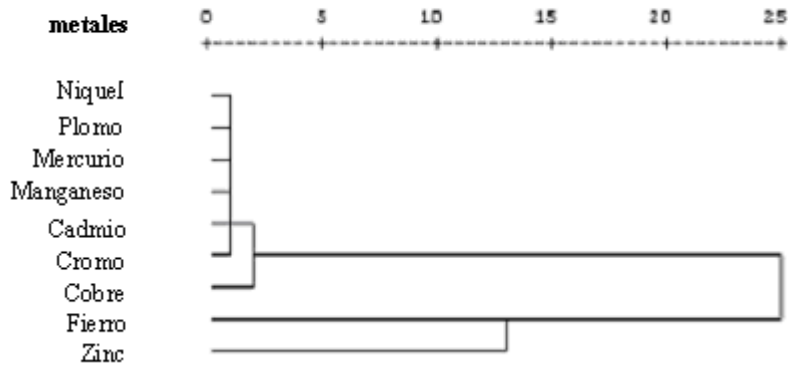


Figura 10. Agrupación de los tres metales con mayor bioacumulación (Fe, ZN y Cu) en *R. pachyptila*, *E. complanata* y *C. magnifica* (dendrograma realizado con SPSS v.12)

### Análisis de agrupación jerárquica

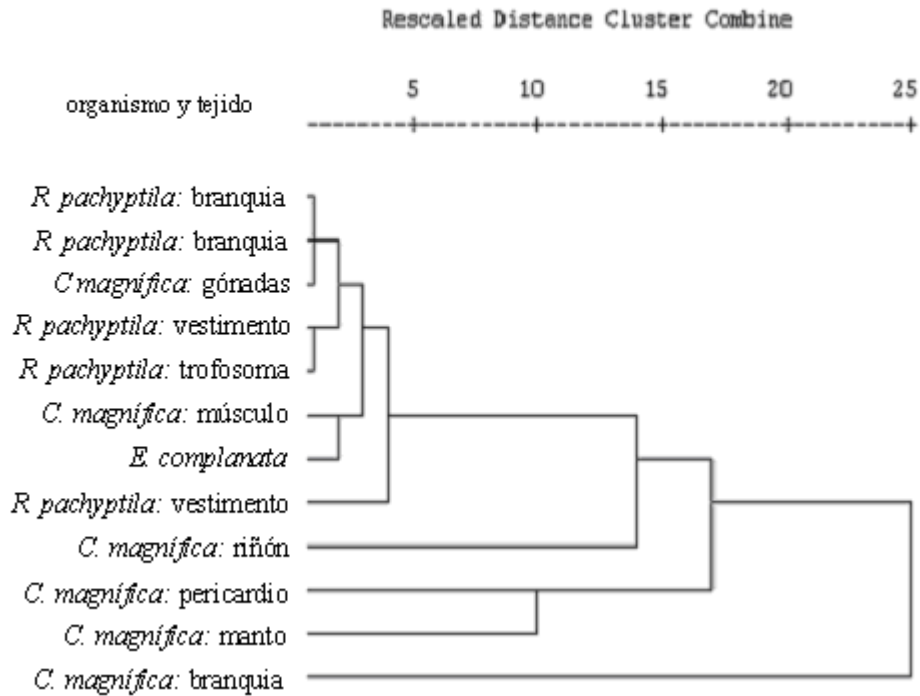


Figura 11. Diferencias de bioacumulación de Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb y Zn en tres diferentes organismos colectados en sitios hidrotermales distintos (dendrograma realizado con SPSS v.12).

## Discusión

Durante mucho tiempo se pensó que el mar profundo era un lugar inhóspito con un número reducido de especies, debido a los parámetros ambientales extremos que lo caracterizan (ausencia de luz, presión alta, escasez de alimento, temperatura baja, pH bajo, entre otros). Por el contrario, actualmente se sabe que el mar profundo es un ecosistema con diversidad biológica comparable a la existente en las selvas húmedas tropicales (Grassle *et al.*, 1992). En el presente estudio se muestra la bioacumulación de metales pesados en dos individuos de *R. pachyptila* y se comparó con la bioacumulación de 13 especies habitantes de las ventilas hidrotermales. También, este estudio es afín a otros realizados a nivel mundial, registra los valores de bioacumulación de metales pesados en organismos de ventilas hidrotermales y específicamente de la zona de colecta en la Cuenca de Guaymas.

A diferencia de otros estudios en donde sólo se presentó la bioacumulación de metales pesados de los organismos examinados (e. g. Roesijadi *et al.*, 1985), el presente estudio muestra las concentraciones de metales pesados de diferentes organismos, estableciendo un punto de comparación entre individuos de *R. pachyptila*, así como a nivel interespecífico en base a las concentraciones de metales bioacumuladas por organismos provenientes de diferentes sitios hidrotermales. Hay que señalar que Kadar *et al.* (2006) mostraron de igual manera sus resultados, con 22 especies incluyendo bacterias endosimbióticas. Así mismo, Ruelas-Inzunza *et al.* (2005) aunque en esa ocasión sólo con una especie de referencia (*R. pachyptila* vs *E. complanata*).

El flujo hidrotermal incrementa la concentración de metales pesados en el agua circundante a las ventilas hidrotermales, por su biodisponibilidad se esperaría que una condición similar pueda producirse si los niveles de ciertos elementos en los tejidos se comparan con los niveles de fluido hidrotermal al que están expuestos los individuos de la comunidad hidrotermal (Ruelas-Inzunza *et al.*, 2005). Sin embargo, las muestras de agua, sedimento o biota que se logran obtener de las inmersiones son insuficientes para caracterizar un entorno dinámico como lo son las ventilas hidrotermales (Kadar *et al.*, 2006).

El patrón de los metales bioacumulados que surgió del análisis comparativo de todas las especies, y específicamente de *R. pachyptila*, es evidente, pero existe variación en el orden de entre una y dos posiciones tratándose del mismo elemento, incluso en el mismo tejido de diferentes individuos pero de la misma especie, y no habiendo diferencias significativas en este caso específico, muy probablemente porque se tiene un tamaño de muestra pequeño, entonces se acepta la hipótesis número uno. Sin embargo, con un tamaño de muestra mayor es posible que se pueda confirmar si estos cambios persisten o tal vez se refute este supuesto. Otra posible causa de la variabilidad es que las concentraciones de algunos elementos expulsados de las ventilas hidrotermales no sean siempre constantes; por lo tanto, la disponibilidad de los elementos puede cambiar en intervalos de tiempo y sea en los organismos donde se reflejen estas variables, como en el caso de *R. pachyptila* (Kadar *et al.*, 2006). Posiblemente, lo anterior sugiere que las muestras de agua y de sedimento que se han logrado analizar en otras ocasiones (e. g. von Damm *et al.*, 1985; Demina *et al.*, 2009), son insuficientes para poder determinar posibles

variaciones en las concentraciones de algunos elementos disponibles en el medio, en intervalos de tiempo y espacio específicos (von Damm *et al.*, 1985).

Las concentraciones de los nueve metales analizados en los tejidos de *R. pachyptila* se agruparon en tres categorías: altas (Fe>Zn de 109 a 450.5  $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco), intermedias (Cu de 20.5 a 23.7  $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco) y bajas (Ni>Mn>Cd>Cr>Pb>Hg de 0.099 a 6.415  $\mu\text{g g}^{-1}$ , peso seco). Los tejidos presentaron en mayor concentración el Fe, con excepción del vestimento del organismo A el cual exhibe el Zn en mayor concentración; no obstante, los tejidos de ambos individuos muestran el Hg en menor bioacumulación.

En otro estudio similar, Ruelas-Inzunza *et al.* (2005) indicaron en acorde con estudios previos (Cosson, 1996; Truchet *et al.*, 1998) que el trofosoma acumula cantidades altas de Co, Cu y Fe quizá como consecuencia del transporte sanguíneo, ya que existe la hipótesis de la presencia de un metal en la sangre, responsable de su transporte de la branquia hacia el trofosoma. Incluso se considera que los niveles altos de metales en el trofosoma son el resultado de los procesos fisiológicos involucrados en la depuración del medio interno. Sin embargo, en este estudio es evidente que en los tres tejidos (branquia, vestimento y trofosoma) tanto el Cu como el Fe se presentan en concentraciones similares. El patrón de bioacumulación de los metales pesados mantiene una secuencia similar en los tres tejidos analizados de *R. pachyptila* colectados en 2007, incluyendo colectas anteriores incluso de diferentes sitios de exposición en la Cuenca de Guaymas, por tal motivo es aceptada la hipótesis número dos.

Estudios concernientes a mecanismos de bioacumulación de metales traza en *R. pachyptila* son necesarios para conseguir una perspectiva precisa y más completa sobre la movilidad de los metales en los ecosistemas de las ventilas hidrotermales, así como de las especies que aquí se presentan en forma comparativa, particularmente en cuanto a la capacidad de estos organismos a tolerar niveles elevados de elementos esenciales y no esenciales (Ruelas *et al*, 2005). Así mismo, el Zn que se presenta con altos niveles de bioacumulación para la mayoría de las especies registradas en la bibliografía, excepto para los crustáceos decápodos ya que se reporta en niveles traza comparado con *R. exaculata* y *M. fortunata*, quizás por ser sustituido por otro metal o bien por no presentar ciertas bacterias quimiolitótrofas en su interior con alta afinidad por el Zn.

Por otra parte, los niveles de bioacumulación de todas las especies registradas en la bibliografía han mostrado cierta similitud con los metales bioacumulados por *R. pachyptila* en este estudio y en otros anteriores. Es posible reconocer una tendencia general de bioacumulación de metales pesados en las diferentes especies que han sido analizadas por diferentes autores (Roesijadi *et al*; 1984, 1985; Ruelas *et al*; 2003, 2005; Kádár *et al*; 2006, 2007). Desde los elementos que se mostraron en mayor concentración (Fe, Zn y Cu), hasta los que se presentaron en menor concentración (Hg, Cd, Ni, Cr, Pb y Mn). Por lo anterior, las concentraciones de metales pesados a nivel interespecífico y de diferentes sitios de colecta, presentan un patrón de bioacumulación similar pero con diferencias en los niveles de concentración por tratarse de especies diferentes. De esta manera es aceptada la hipótesis número tres. Esto resultó consistente con los resultados presentados en orden descendiente por Ruelas-Inzunza *et al*. (2003, 2005).

Es evidente que los metales analizados en las distintas especies por diferentes investigadores no coinciden, por otra parte las técnicas analíticas utilizadas presentan variabilidad; por tal motivo, se dificulta comparar los niveles de concentración de metales bioacumulados en todas las especies. Sin embargo, fue posible comparar por separado las concentraciones de los metales pesados bioacumulados en *R. pachyptila*, *E. complanata* y *C. magnifica* por ser coincidentes en cuanto a los elementos que fueron analizados, como se registra en la bibliografía. Su respectivo dendrograma mostró un mayor grado de concentración de metales para *C. magnifica*, posiblemente por tratarse de un bivalvo distribuido primordialmente entre las grietas de sustratos basálticos y entre los demás moluscos bivalvos, en donde se precipitan los elementos disueltos en el agua que son también absorbidos por los organismos que los captan del flujo hidrotermal.

## Conclusiones

Los metales Fe y Zn se mostraron en mayor concentración en branquia, vestimento y trofosoma de *R. pachyptila* (colectados en 2007), por lo cual presentan diferencias significativas con respecto al resto de los elementos analizados. Sin embargo, a nivel intraespecífico de tejido no mostraron diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.001$ ) y por tanto poseer las mismas bacterias quimiolitótrofas, las cuales presentan afinidad por determinados elementos que los colocan en condiciones equivalentes. Cabe destacar que los individuos, si bien son de la misma especie, pueden presentar diferencias en los parámetros biométricos (talla, peso y edad). No obstante, fue posible establecer un patrón descendente de las

concentraciones de los metales pesados a nivel intraespecífico:  
Fe>Zn>Cu>Ni>Mn>Cd>Cr>Pb>Hg.

Con respecto a la bioacumulación de los metales analizados en *R. pachyptila* en el sistema hidrotermal de la Cuenca de Guaymas, con mínimas diferencias espaciales (~m) de colecta, no se registraron diferencias significativas atribuibles a las condiciones ambientales que los rodean.

Las concentraciones de bioacumulación de metales pesados a nivel interespecífico, perceptiblemente presentan diferencias significativas ( $p < 0.001$ ). Se refiere a especies que viven fijas al sustrato (e. g. *R. pachyptila*), hasta las que se desplazan en la columna de agua (e. g. *M. fortunata*) y/o se encuentran en el sedimento con poca movilidad (e. g. *C. magnifica*). A pesar de dichas diferencias, fue posible revelar una tendencia de los metales pesados en el orden de acuerdo a su concentración en los organismos, aunque no a todas las especies les fueron analizados los mismos metales. Empero tres de ellas si coincidieron (*R. pachyptila*, *C. magnifica* y *E. complanata*), y mostraron el mismo patrón en los elementos bioacumulados.

Trabajos afines son excelentes complementos para ayudar a descifrar las interrogantes que aún permanecen en estos ambientes extremos únicos en nuestro planeta, no sólo a nivel de especie sino a nivel de ecosistema.



## Referencias

- Atlas, R. N. y R. Bartha. 2002. Ecología microbiana y microbiología ambiental. Pearson Educación. Madrid, España, 696 pp.
- Bertini, K. K., J. H. Martin and J. M. Teal. 1976. Aids to analysis of seawater. 217-253. *In*: Strategies for marine pollution monitoring. Eds Goldberg, J. Wiley and Sons:
- Brusca, R. C. y G. J. Brusca. 2002. Invertebrados, 2da ed. Sinauer Associates, Sunderland, 936 pp.
- Cervantes, C. y S., Moreno. 1999. Contaminación ambiental por metales pesados: Impacto en los seres vivos. México D.F. AGT. Editor, SA. 157 pp.
- Cosson, R. P., 1996. La bioaccumulation des éléments minéraux chez le vestimentifère *Riftia pachyptila* (Jones): bilan des connaissances. *Oceanologica* 19: 167–176.
- De la Lanza-Espino, G. and L. A. Soto. 1999. Sedimentary geochemistry of hydrothermal vents in Guaymas Basin, Gulf of California, Mexico. *Applied Geochemistry*, 14: 499-510.
- Demina, L. L., S. V. Galkin and E. N. Shumilin. 2009. Bioaccumulation of some trace elements in the biota of hydrothermal fields of the Guaymas Basin (Gulf of California). *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 61 (1): 31-45.
- Fisher, C. 1998. Temperature and sulphide tolerance of hydrothermal vent fauna. *Cahiers de Biologie Marine*, 39: 283-286.
- Grassle, J. F. and N. J., Macioleck. 1992. Deep-sea species richness: Regional and local diversity estimates from quantitative bottom samples. *American Naturalist* 139: 313-341.

- Jannash, H. W. and M. Mottl. 1985. Geomicrobiology of deep-sea hydrothermal vents. *Science*, 229: 717-725.
- Jones, M. L. 1981. *Riftia pachyptila* Jones: Observations on the vestimentiferan worm from the Galápagos Rift. *Science*, 213: 333-336.
- IAEA, 1987. Intercalibration of analytical methods on marine environmental samples. Trace element measurements on homogenate. Results of the Worldwide Intercomparison Run MA-B-3/TM. Report No. 36, International Atomic Energy Agency, Monaco.
- IAEA/UNEP/FAO/IOC. 1984. Determination of total cadmium, zinc, lead and copper in selected marine organisms by flameless atomic spectrophotometry. Reference methods for marine pollution studies. N° 11, Rev. 1. UNEP.
- Kádár, E., Costa V. and Santos R. 2006a. Distribution of micro-essential (Fe, Cu, Zn) and toxic (Hg) metals in tissues of two nutritionally distinct hydrothermal shrimps. *Science of the Total Environment*, 358 (11): 143-150.
- Kádár, E., Costa, V. and Segonzac, M. 2006b. Trophic influences of metal accumulation in natural pollution laboratories at deep sea hydrothermal vents of the Mid-Atlantic Ridge. *Science of the Total Environment*, 373 (2007): 464–472.
- Kádár, E. and Costa, V. 2006. First report on the micro-essential metal concentrations in bivalve shells from deep-sea hydrothermal vents. *Journal of Sea Research*, 56: 37-44.
- Kádár, E., 2007. Postcapture depuration of essential metals in the deep sea hydrothermal mussel *Bathymodiolus azoricus*. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 78: 99–106.
- Karl, D. M., 1995. *The microbiology of deep-sea hydrothermal vents*. CRC Press. Florida, E.U. 299 pp.
- Madigan, M., J. Martinko, and J. Parker. 2003. *Brock Biology of Microorganisms*. 10th Edition. Prentice Hall. New Jersey. 1019 pp.

- McHugh, D., 1997. Molecular evidence that echiurans and pogonophorans are derived annelids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94: 8006–8009.
- McMullin, E., D. C. Bergquist, and C. Fisher. 2000. Metazoans in extreme environments: adaptations of hydrothermal vent and hydrocarbon seep fauna. *Gravitational and Space Biology Bulletin*, 13 (2): 13-23.
- Micheli, F., C. Peterson, L. Mullineaux, C. Fisher, S. Mills, G. Sancho, G. Johnson and H. Lenihan. 2002. Predation structures communities at deep-sea hydrothermal vents. *Ecological Monographs*, 72 (3): 365-382.
- Moody, J. R. and R. M. Linstrom. 1977. Selection and cleaning of plastic containers for storage of trace elements samples. *Analytical Chemistry*, 49: 2264-2267.
- Novotny, V. 1995. Diffuse sources or pollution by toxic metals and impact on receiving waters. *In: W. Salomons, U. Förstner and P. Mader, Eds, Heavy Metals. Problems and Solutions*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. 33-52.
- Pantoja, A. J. y J. A. Gómez. 2004. Los sistemas hidrotermales y el origen de la vida. *Ciencias*. Universidad Nacional Autónoma de México, 075: 14-22.
- Roesijadi, G. and E. A. Crecelius. 1984. Elemental composition of the hydrothermal vent clam *Calypptogena magnifica* from the East Pacific rise. *Marine Biology*, 83: 155-161.
- Roesijadi, G., Yung, J. S., Crecelius, E. A. and L. E. Thomas. 1985. Distribution of trace metals in the hydrothermal vent clam, *Caliptogena magnifica*. *Bulletin of the Society Biological of Washington*, 6: 311-324.
- Rouse, G. W., and K. Fauchald. 1997. Cladistics and Polychaetes. *Zoologica Scripta*, 26 (2): 139-204.
- Rouse, G. W., and K. Fauchald. 1998. Recent views on the status, delineation, and classification of the Annelida. *American Zoologist*, 38: 953-964.

- Ruelas-Inzunza, J. R. and F. Páez-Osuna. 2000. Comparative bioavailability of trace metals using three filter-feeder organisms in a subtropical coastal environment (Southeast Gulf of California). *Environmental Pollution* 107: 437–444.
- Ruelas-Inzunza, J. R., F. Páez-Osuna, and H. Pérez Cortés. 2000. Distribution of mercury in muscle, liver and kidney of the spinner dolphin (*Stenella longirostris*) stranded in the southern Gulf of California. *Marine Pollution Bulletin* 11: 1063–1066.
- Ruelas-Inzunza, J. R., L. A. Soto and F. Páez-Osuna. 2003. Heavy-metal accumulation in the hydrothermal vent clam *Vesicoma gigas* from Guaymas basin, Gulf of California. *Deep-sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 50 (6): 757-761.
- Ruelas-Inzunza, J. R., F. Páez-Osuna. and L. A. Soto. 2005. Bioaccumulation of Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb and Zn in trophosome and vestimentum of the tube worm *Riftia pachyptila* from Guaymas basin, Gulf of California. *Deep Sea Research Part 1 Oceanographic Research Papers*, 52: 1319-1323.
- Ruppert, E. E. y R. D. Barnes. 1996. *Zoología de los Invertebrados*. 6ta ed. McGraw-Hill Interamericana. México, 585-591.
- Schulze, A. 2003. Phylogeny of Vestimentifera (Siboglinidae, Annelida) inferred from morphology. *Zoologica Scripta*, 32 (4): 321-342.
- Soto L. A. 2003. Research of extreme environments in the deep-sea. *En Agustín Ayala-Castañares: universitario, impulsor de la investigación científica* (L.A. Soto, Ed.) Inst. de Ciencias del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México, 311-318.
- Sparling, D. W., G., Linder and C. A. Bishop 2000. *Ecotoxicology of amphibians and reptiles*. SETAC press. Columbia, Mo, USA. 877 pp.
- Truchet, M., Ch. Ballan-Dufrançais, A. Y. Jeantet, J. P. Lechère et R. Cosson. 1998. Le trophosome de *Riftia pachyptila* et *Tevnia jerichonana* (Vestimentifera): bioaccumulations métalliques et métabolisme du soufre. *Cahiers de Biologie Marine* 39 :129–141.

- Tunnicliffe, V., A. McArthur and D. McHugh. 1998. A biogeographical perspective of the deep-sea hydrothermal vent fauna. *Advances in Marine Biology*, 34: 353-442.
- van Dover, C. 2000. *The ecology of deep-sea hydrothermal vents*. Princeton University Press. New Jersey, 424 pp.
- Voigt, J. R. and J. D. Sigwart. 2007. Scarred limpets at hydrothermal vents: evidence of predation by deep-sea whelks. *Marine Biology*, 152: 129-133.
- von Damm, K. L., J. M. Edmond, C. I. Measures, and B. Grant. 1985. Chemistry of submarine hydrothermal solutions at Guaymas Basin, Gulf of California, *Geochimica et Cosmochimica acta*. 49: 2221-2237.
- Yakimov, M. M., L. Giuliano, S. Capello, R. Denaro and P. N. Golyshin. 2007. Microbial community of a hydrothermal mud vent underneath the deep-sea anoxic brine lake urania (Eastern Mediterranean). *Origins of Life and Evolution of Biospheres*, 37: 177-188.
- Young, D. K. and M. D. Richardson. 1998. Effects of waste disposal on benthic faunal succession on the abyssal seafloor. *Journal of Marine Systems*, 14: 319-336.

### ***Referencias de Internet***

- (1) <http://64.233.167.104/search?q=cache:4iowNxemtywJ:anatolab.uvigo.es/Teoria/BASES/bases002.htm+P&hl=es&ct=clnk&cd=1&gl=mx> (12/05/08)
- (2) [http://209.85.173.104/search?q=cache:acFJiVjucUkJ:www.crdi.ca/prma/ev-84468-201-1-DO\\_TOPIC.html+valores+criticos+de+toxicidad+en+organismos&hl=es&ct=clnk&cd=7](http://209.85.173.104/search?q=cache:acFJiVjucUkJ:www.crdi.ca/prma/ev-84468-201-1-DO_TOPIC.html+valores+criticos+de+toxicidad+en+organismos&hl=es&ct=clnk&cd=7) (13/10/08)
- (3) [http://www.idrc.ca/es/ev-84460-201-1-DO\\_TOPIC.html](http://www.idrc.ca/es/ev-84460-201-1-DO_TOPIC.html) (20/10/08)
- (4) <http://4dgeo.who.edu/alvin> (11/11/08)

- (5) <http://www.noticiasdot.com/viajar/wp-content/uploads/2008/05/mardecortes.jpg>  
(22/05/08)
  
- (6) [http://www.antoranz.net/CURIOSA/ZBIOR8/C0808/20080813-QZE04014\\_QEP50303-Riftia.jpg](http://www.antoranz.net/CURIOSA/ZBIOR8/C0808/20080813-QZE04014_QEP50303-Riftia.jpg) (13/08/08)
  
- (7) <http://images.google.com.mx/images?gbv=2&hl=es&q=chimenea+hidrotermal&sa=N&start=0&ndsp=20>).