



**Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología**

Universidad Nacional Autónoma de México



**BIOMONITOREO DE LA DISPONIBILIDAD DE METALES PESADOS  
(Cd, Cu, Hg, Pb y Zn) Y BIOTOXINAS MARINAS (AMNÉSICAS Y  
PARALIZANTES) EN EL OSTIÓN DE MANGLE *Crassostrea corteziensis*,  
EN SISTEMAS LAGUNARES DE SINALOA**

**T E S I S**

que para obtener el grado académico de

**Doctor en Ciencias**  
(Biología Marina)

p r e s e n t a

**M. en C. CARMEN CRISTINA OSUNA MARTÍNEZ**

**Co-Directores de Tesis: Dr. FEDERICO PÁEZ OSUNA  
Dra. ROSALBA ALONSO RODRÍGUEZ**

**Comité Tutorial: Dra. LUZ ELENA VERA ÁVILA  
Dr. ALFONSO VÁZQUEZ BOTELLO  
Dr. JORGE RICARDO RUELAS INZUNZA**

**Mazatlán, Sinaloa; Enero de 2012**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

© Queda prohibida la reproducción y/o uso total o parcial de la información contenida en este trabajo, sin previa autorización del autor y de los co-directores de tesis.

Puede solicitarse la autorización a cualquiera de las siguientes direcciones:

[cristinaosuna@ola.icmyl.unam.mx](mailto:cristinaosuna@ola.icmyl.unam.mx),

[paezos@servidor.unam.mx](mailto:paezos@servidor.unam.mx) y/o

[rosalba@ola.icmyl.unam.mx](mailto:rosalba@ola.icmyl.unam.mx).

Favor de expresar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente de la siguiente manera:

Osuna-Martínez, C. C., F. Páez-Osuna y R. Alonso-Rodríguez. Biomonitorio de la disponibilidad de metales pesados (Cd, Cu, Hg, Pb y Zn) y biotoxinas marinas (amnésicas y paralizantes) en el ostión de mangle *Crassostrea corteziensis*, en sistemas lagunares de Sinaloa. Tesis de doctorado, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM, 137 pp.

## AGRADECIMIENTOS

---

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México, por darme un espacio en las instalaciones del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología para realizar este estudio; así como al Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología, del cual me siento una orgullosa egresada.

Quiero también expresar mi agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), porque nuevamente depositaron su confianza en mí, al asignarme la beca para mi posgrado.

A mi alma máter y, actualmente, mi centro laboral, la Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS) y en especial a la Unidad Académica “Escuela Preparatoria Rubén Jaramillo” porque se me permitió ausentarme de las aulas y poder realizar mis estudios de doctorado.

Todo mi respeto y agradecimiento al Dr. Federico Páez Osuna, porque de nueva cuenta dirigió mi trabajo de tesis, por el espacio que me dio en su laboratorio, por proporcionarme los materiales, reactivos y la orientación necesaria para la realización de los muestreos y de los análisis. Pero, sobre todo, por la confianza que depositó en mí cuando le dije mi interés por realizar mis estudios de doctorado bajo su dirección, por sus consejos tanto académicos como a nivel personal y, finalmente, por su amistad.

A la Dra. Rosalba Alonso Rodríguez, por co-dirigir mi tesis y permitirme el uso del equipo y materiales en su laboratorio.

Mi agradecimiento también para la Dra. Luz Elena Vera Ávila y para el Dr. Alfonso Vázquez Botello, miembros de mi comité tutorial, quienes desde mi primer Examen Tutorial me hicieron las correcciones y comentarios pertinentes respecto a mi trabajo.

Así como al Dr. Jorge Ricardo Ruelas Inzunza, quien también fungió como parte de mi comité tutorial ampliado a partir de mi sexto examen tutorial.

A los miembros de mi Jurado de Examen de Candidatura: Dr. Javier Carmona Jiménez (presidente), Dr. Raúl Aguirre Gómez (1er. Vocal), Dr. Juan José Luis Carballo Cenizo (2do. Vocal), Dr. John Selvamony Armstrong (3er. Vocal), Dra. María Aurora Armienta Hernández (Suplente) y Dra. Josefina De Gyves Marciniak (Suplente); a todos ellos les agradezco su valioso tiempo que invirtieron en mi examen. De igual forma, les agradezco que me hayan conducido hacia una mejor preparación e integración de mis conocimientos.

No puedo dejar de expresar también mi agradecimiento a mis maestros: Dr. Carlos Green Ruíz, Dr. Jorge Ruelas Inzunza y Dr. Martín Soto Jiménez, quienes me orientaron y ayudaron con ciertos aspectos técnicos de los análisis de mis muestras. Pero sobretodo, por sus palabras de aliento que me brindaron durante algunos de los momentos difíciles: me hablaron como amigos que ya pasaron por la experiencia de estudiar un posgrado y es algo que no olvidaré. También agradezco a la Dra. Carolina Ruíz Fernández, quien al igual que ellos, me dio clases desde mis estudios de maestría.

Al Quím. Humberto Bojórquez, por su asesoría en el uso de los materiales de referencia y equipo de laboratorio empleados en el laboratorio, por su ayuda en los muestreos del estero de Urías, así como en la lectura de las muestras en el equipo de absorción atómica para la determinación de los cinco metales analizados. Finalmente, muchas gracias por su amistad.

A la Sra. Margarita Cordero Ruíz (auxiliar local), así como al personal de Posgrado en la ciudad de México: Dra. Gloria Vilaclara Fatjó (coordinadora), M.C. Diana Juárez Bustos (secretaria técnica), Mtra. Chantal G. Ruíz Guerrero y Sra. Guadalupe Godoy (encargadas del depto. de servicios escolares) y Sra. Gabriela Almaraz Mejía

(encargada del depto. de apoyos y becas); a todas ellas, por su apoyo en la realización de los diferentes trámites requeridos.

Le agradezco también a la Sra. María Clara Ramírez Jáuregui, encargada de la Biblioteca Regional en Ciencias del Mar “Dra. María Elena Caso Muñoz”, por su apoyo en la búsqueda y consulta del material bibliográfico necesario para el desarrollo de este trabajo de tesis y, por supuesto, por su apoyo moral, por la convivencia y las buenas pláticas.

Mi agradecimiento también para el personal encargado del centro de cómputo de la Unidad Académica Mazatlán (ICMyL): Mat. Germán Ramírez, Lic. Carlos Suárez y a la Lic. Herlinda Rojas, por el apoyo técnico que me brindaron.

Le agradezco al Dr. Ernesto García Mendoza por recibirme en su laboratorio de Biología Algal, en las instalaciones del Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California (CICESE), en la división de Oceanografía Biológica, en el cual realicé una estancia de aprendizaje del método de detección de toxinas amnésicas. También agradezco a su entonces alumna de doctorado, la Dra. Ivonne Sandra Santiago, quien me asesoró durante mi estancia en dicho laboratorio.

A la Dra. Silvia Alejandra García Gasca, responsable del laboratorio de Biología Molecular del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C. (CIAD) Unidad Mazatlán, por permitirme el uso de materiales y reactivos en su laboratorio, para poder llevar a cabo los análisis de ADN de las muestras de ostión. De igual forma, agradezco a la M.C. Rubí Hernández Cornejo por la capacitación en técnicas de biología molecular y a los alumnos Rosa María Morelos Castro y M.C. Mario Alberto Galaviz Espinoza (CIAD) por la ayuda que me brindaron al hacer los análisis de mis muestras.

Al Dr. Américo López Rivera de la Facultad de Medicina del Instituto de Ciencias Biomédicas en la Universidad de Chile, Santiago de Chile, por su disposición y apoyo brindado para el análisis de toxinas del tipo ASP de muestras compuestas, el cual se realizó con el fin de corroborar los resultados obtenidos en este trabajo.

Agradezco también a la IBT. Sonia Jeanette Delgado del Villar, a la IBT. Zinthya Bieaney Salazar Martínez y a la IBT. María Vicia Bernal Córdova, por su apoyo técnico en los análisis de biotoxinas marinas. De igual forma, a la bióloga acuicultora Ámbar Mayté Yépez Ponce, por haber analizado en el microscopio las muestras de agua que se obtuvieron durante la recolecta de los ostiones, para verificar la presencia/ausencia de organismos productores de biotoxinas.

Al biólogo Francisco Javier Ayala Cota, al M. C. Omar Alberto Hernández Tovalín, a la M. C. Adriana Pérez Escobedo y al Dr. Érick Guerrero Bautista, por su apoyo en la realización de los muestreos.

Al M.C. Rafael Hernández Guzmán, por su ayuda en la elaboración de los mapas del área de estudio.

Al biotecnólogo Israel Bobadilla Montellano, por su ayuda en la realización de trámites burocráticos dentro y fuera del posgrado. Por estas mismas razones, agradezco a la M. C. Magdalena Elizabeth Bergés Tiznado, además de su colaboración durante los muestreos, la preparación de los organismos, la ayuda con las digestiones y, sobre todo por su amistad incondicional.

A mis compañeros del Laboratorio de Biotoxinas: Gladys Martínez, Ruth Pazos y Jeanette Delgado, por su apoyo en la preparación de las muestras, así como por sus palabras de aliento y, sobre todo, por su amistad, de igual forma agradezco a Ana Noriega y Jorge Bustamante, por la convivencia que tuvimos durante este tiempo.

A mis compañeros del Laboratorio de Geoquímica y Contaminación Costera, así como a otros compañeros y amigos del posgrado: Marcela Fregoso, Manuel Arvizu, Daniel Olvera, Karen Brito, Magdalena Bergés, Yazmín Segura, Mauricio Ramos, Adriana Pérez, Julia Ochoa, Susana Osuna, Elsa Bojórquez, Perla Mellado, Siria Meraz, Sara Bojórquez, Carolina Bojórquez, Omar Rubio, Suamy Alarcón, Armando León, Juan Fierro, Bibiana Musso y Claudia Ángel. A todos ellos, por compartir conmigo y dejarme compartir con ellos tantas vivencias, momentos de triunfos y de fracasos en el paso de estos casi cuatro años: por sus felicitaciones y/o palabras de aliento, muchas gracias.

Agradezco infinitamente a mi familia, que me apoyó de manera constante e incondicional para que yo pudiera cumplir con este trabajo y lograr una meta más en mi camino. Especialmente a mis papás: Cristina Martínez y Miguel Osuna, a mis hermanos Miguel y Edgar, así como a mis cuñadas Dalila y Sarahí. De igual forma, agradezco el apoyo de mi familia de Sonora, en particular a mis suegros la Sra. Luz Elena Cota y el Profr. Fernando Armenta y a mis cuñados Fernanda, Luz y Bernardo. Finalmente, agradezco a la familia que uno escoge, a los amigos que se encuentra con uno en las buenas y en las malas: Lety, Asia, Laura, Mary, Felipe, Caro, Lulú, Cinthy, Martha, Miriam, Karen, Magda y Gladys. Saben que siempre podrán contar también conmigo.

De manera muy particular agradezco a mi familia nuclear, a mi esposo Javier Ayala y a mi hijo Lennin, porque de nueva cuenta tuvieron la paciencia que muchas veces a mí me faltó durante este tiempo y ellos me la brindaron; porque muchas veces ellos fueron la motivación por la cual logré seguir avanzando. Por todo esto, les manifiesto de todo corazón mi gratitud y, sobre todo, mi amor.



*Este trabajo va dedicado a mi familia:*

*la de Mazatlán,*

*la de Obregón,*

*la de Ensenada,*

*la familia que uno elige (mis amigos)*

*y, sobre todo, a Javier y Lennin.*





Este trabajo de doctorado se desarrolló en los laboratorios de “Geoquímica y Contaminación Costera” y “Biotoxinas Marinas” del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Unidad Académica Mazatlán, con la co-dirección del Dr. Federico Páez Osuna y de la Dra. Rosalba Alonso Rodríguez, responsables respectivamente de cada uno de los laboratorios mencionados. Se contó también con el apoyo del proyecto PAPIIT (IN 21060-9), para el desarrollo de esta tesis.

Los productos de este trabajo doctoral a la fecha, son dos artículos publicados en una revista indizada de circulación internacional (Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, ISSN 0007-4861), los cuales se presentan en los anexos de la tesis.

El jurado de examen de grado estuvo integrado por:

Dr. Federico Páez Osuna  
Dra. Rosalba Alonso Rodríguez  
Dra. Luz Elena Vera Ávila  
Dr. Alfonso Vázquez Botello  
Dr. Jorge Ricardo Ruelas Inzunza

## ÍNDICE

---

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	<i>iv</i>
LISTA DE TABLAS.....	<i>ix</i>
RESUMEN.....	<i>xi</i>
ABSTRACT.....	<i>xiv</i>
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Metales pesados.....	1
1.1.1. Cadmio.....	4
1.1.2. Cobre.....	5
1.1.3. Mercurio.....	6
1.1.4. Plomo.....	7
1.1.5. Zinc.....	8
1.2. Biotoxinas marinas.....	9
1.2.1. Toxinas del tipo ASP.....	13
1.2.2. Toxinas del tipo PSP.....	14
1.3. Sistemas lagunares costeros.....	15
1.4. El biomonitoreo.....	18
2. ANTECEDENTES.....	23
2.1. Metales pesados en organismos de las lagunas costeras del noroeste de México.....	23
2.2. Presencia de biotoxinas en las costas del Pacífico mexicano.....	25
3. PROBLEMA.....	28
4. HIPÓTESIS.....	29
5. OBJETIVOS.....	30
5.1. Objetivo general.....	30
5.2. Objetivos específicos.....	30
6. ÁREA DE ESTUDIO.....	31
6.1. El Colorado (EC).....	34

6.2. Santa María-Ohuira-Topolobampo (SMOT).....	35
6.3. San Ignacio-Navachiste-Macapule (SINM).....	36
6.4. Santa María-La Reforma (SMLR).....	37
6.5. Altata-Ensenada del Pabellón (AEP).....	38
6.6. Ceuta (CEU).....	39
6.7. Urías (URI).....	40
6.8. Sitio Testigo (ST).....	41
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	43
7.1. Muestreos.....	43
7.2. Preparación de los organismos y biometrías.....	44
7.3. Análisis de ADN.....	45
7.4. Análisis de metales pesados.....	47
7.5. Análisis de biotoxinas.....	47
7.5.1. Toxinas del tipo ASP.....	48
7.5.2. Toxinas del tipo PSP.....	50
7.6. Análisis estadístico.....	54
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	57
8.1. Parámetros físico-químicos.....	57
8.1.1. Salinidad.....	57
8.1.2. Temperatura (°C).....	58
8.2. Morfometría.....	58
8.3. Análisis de ADN.....	62
8.4. Metales pesados.....	63
8.4.1. Cadmio.....	65
8.4.2. Cobre.....	70
8.4.3. Mercurio.....	74
8.4.4. Plomo.....	77
8.4.5. Zinc.....	82
8.4.6. Metales pesados en ostiones de cultivo.....	92
8.4.7. Concentraciones de metales pesados en ostiones <i>C. corteziensis</i> y <i>S.</i>	

<i>palmula</i> .....	100
8.5. Biotoxinas marinas.....	104
8.5.1. Toxinas del tipo ASP.....	104
8.5.2. Toxinas del tipo PSP.....	110
9. CONCLUSIONES.....	113
10. RECOMENDACIONES.....	116
11. LITERATURA CITADA.....	117
12. ANEXOS.....	137

## LISTA DE FIGURAS

---

Figura	Página
1. Esquema que ilustra el traslape y la clasificación de los elementos metálicos, no metálicos y metaloides considerados como oligoelementos y/o “metales pesados” .....	2
2. Factores abióticos que afectan la producción de compuestos alelopáticos en las algas nocivas.....	9
3. Dos escenarios que muestran la forma en que la eutrofización puede afectar la producción de compuestos alelopáticos.....	11
4. Estructura química del ácido domoico.....	13
5. Estructura química de las toxinas del tipo PSP.....	14
6. Esquema de una laguna costera, fuerzas climáticas y actividades antropogénicas que la afectan.....	16
7. Representación de los elementos que componen a la cuenca hidrológica.....	17
8. Imágenes del ostión de mangle <i>Crassostrea corteziensis</i> .....	20
9. Localización de los sistemas lagunares.....	33
10. Localización de los sitios de muestreo de la laguna El Colorado.....	34
11. Localización de los sitios de muestreo del sistema lagunar Santa María-Ohuira-Topolobampo.....	35
12. Localización de los sitios de muestreo del sistema lagunar San Ignacio-Navachiste-Macapule.....	36
13. Localización de los sitios de muestreo del sistema lagunar Santa María-La Reforma.....	37
14. Localización de los sitios de muestreo del sistema lagunar Altata-Ensenada del Pabellón.....	38
15. Localización de los sitios de muestreo de la laguna de Ceuta.....	39
6. Localización de los sitios de muestreo del estero de Urías.....	40
17. Localización del sitio testigo (ST; Estero del Rey, San Blas, Nayarit)...	41
18. Lagunas costeras de Sinaloa en donde se recolectaron los ostiones	

de cultivo.....	42
19. Ostiones: (a) con el borde de sus valvas sin ondulaciones, “lisos” o <i>C. corteziensis</i> ; y (b) con el borde de sus valvas ondulado, “chinos” o <i>S. palmula</i> , recolectados de las mismas raíces de mangle.....	45
20. Diagrama de flujo para la determinación de metales pesados.....	47
21. Diagrama de flujo para la detección de toxinas del tipo ASP (Quilliam <i>et al.</i> , 2003).....	49
22. Diagrama de flujo para la detección de toxinas del tipo PSP (Hummert <i>et al.</i> , 1997 y Yu <i>et al.</i> , 1998).....	51
23. Diagrama de flujo para la detección de toxinas del tipo PSP (Lawrence <i>et al.</i> , 2005).....	53
24. Diagrama de flujo de la estrategia general de trabajo.....	56
25. Promedios de salinidades $\pm$ desviación estándar registrados en la temporada de lluvias (a) y de secas (b), en cada una de las lagunas costeras/sistemas lagunares.....	57
26. Promedios de temperatura $\pm$ desviación estándar registrados en la temporada de lluvias (a) y de secas (b), en cada una de las lagunas costeras/sistemas lagunares.....	58
27. Promedios del índice de condición $\pm$ desviación estándar obtenido para cada sitio de muestreo.....	61
28. Resultados del análisis de ADN realizado a muestras selectas (aquellas en las que se encontraban ambos tipos de ostiones en el mismo sitio de muestreo).....	63
29. Promedio $\pm$ desviación estándar de las concentraciones de cadmio con base a peso seco, encontradas en cada sistema lagunar. ....	66
30. Promedio $\pm$ desviación estándar de las concentraciones de cadmio, con base a peso seco, encontradas en cada sistema lagunar, durante las estaciones de lluvias y de secas.....	67
31. Promedios $\pm$ desviación estándar de las concentraciones de Cd determinadas para cada sitio de muestreo, durante las estaciones de	

Lluvias (a) y secas (b).....	68
32. Promedio $\pm$ desviación estándar de las concentraciones globales de cobre determinadas para cada sistema lagunar.....	71
33. Promedios $\pm$ desviación estándar de las concentraciones de cobre determinadas para cada sistema lagunar, durante la época de lluvias y de secas.....	72
34. Promedios $\pm$ desviación estándar de las concentraciones de cobre determinadas para cada sitio de muestreo, durante las estaciones de lluvias (a) y secas (b).....	73
35. Promedio $\pm$ desviación estándar de las concentraciones globales de mercurio determinadas para cada sistema lagunar.....	74
36. Promedios $\pm$ desviación estándar de las concentraciones de mercurio determinadas para cada sistema lagunar, durante la temporada de lluvias y de secas.....	75
37. Promedios $\pm$ desviación estándar de las concentraciones de mercurio determinadas para cada sitio de muestreo, durante las estaciones de lluvias (a) y secas (b).....	76
38. Promedio $\pm$ desviación estándar de las concentraciones globales de plomo determinadas para cada sistema lagunar.....	78
39. Promedios $\pm$ desviación estándar de las concentraciones de plomo determinadas para cada sistema lagunar, durante la estación de lluvias y de secas.....	80
40. Promedios $\pm$ desviación estándar de las concentraciones de plomo determinadas para cada sitio de muestreo, durante las estaciones de lluvias (a) y secas (b).....	81
41. Promedios $\pm$ desviación estándar de las concentraciones de zinc determinadas para cada sistema lagunar, durante las estaciones de lluvias y de secas.....	83
42. Promedios $\pm$ desviación estándar de las concentraciones de zinc determinadas para cada sitio de muestreo, durante las estaciones de	



lluvias (a) y secas (b).....	84
43. Concentraciones de metales pesados en ostiones de cultivo de las lagunas costeras.....	85
44. Correlación significativa ( $p < 0.05$ ) entre la salinidad y las concentraciones de mercurio.....	86
45. Correlaciones significativa ( $p < 0.05$ ) entre la temperatura y las concentraciones de cadmio (a) y mercurio (b).....	87
46. Correlaciones significativas ( $p < 0.005$ ) entre el índice de condición de los ostiones (IC) y las concentraciones de cobre (a), mercurio (b) y plomo (c).....	89
47. Correlaciones significativas ( $p < 0.05$ ) entre las concentraciones de cadmio y cobre (a), cadmio y zinc (b), mercurio y plomo (c) y entre mercurio y zinc (d).....	90
48. Concentraciones de metales pesados, con base a peso seco, en ostiones de cultivo de las lagunas costeras.....	94
49. Regresión lineal entre las concentraciones de Hg y Zn en tejido de ostiones <i>C. gigas</i> ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) y su índice de condición.....	95
50. Correlación de concentraciones de los metales Cd, Cu, Hg, Pb y Zn determinadas en ostiones <i>C. corteziensis</i> y <i>C. gigas</i> .....	97
51. Concentraciones de Cd, Cu, Hg, Pb y Zn, con base a peso seco, en ostiones <i>S. palmula</i> y <i>C. corteziensis</i> .....	100
52. Correlación de las concentraciones de Cd, Cu, Hg, Pb y Zn entre ostiones <i>C. corteziensis</i> y <i>S. palmula</i> .....	102
53. Cromatogramas de la muestra 1 de ostión (dilución 1:10) a) con detección ultravioleta; b) con detección de fluorescencia.....	105
54. Cromatogramas de tejido blando de ostión de la muestra 1 + AD a) con detección ultravioleta; b) con detección de fluorescencia.....	106
55. Cromatogramas de los estándares de ácido domoico + triptófano (Trp): Concentración del AD a) $0.75 \mu\text{g mL}^{-1}$ y b) $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ .....	107
56. Cromatograma de las cinco muestras de tejido blando de ostión, que	

eluyen a los 8.6 min y el AD eluye a los 9.3 min, aproximadamente...	108
57. Tipos branquiales en moluscos bivalvos.....	110

## LISTA DE TABLAS

---

Tabla	Página
1. Metales relacionados con los procesos industriales.....	4
2. Principales tipos de envenenamientos, su sintomatología y especies productoras.....	12
3. Análogos de las toxinas paralizantes.....	15
4. Presencia de microalgas productoras de biotoxinas en lagunas costeras de Sinaloa.....	27
5. Características generales de los sistemas lagunares.....	31
6. Localización de los sitios y fechas de muestreo.....	43
7. Límites máximos permisibles (LMP) de metales pesados ( $\mu\text{g g}^{-1}$ con base a peso fresco) en tejido de moluscos bivalvos de acuerdo a diferentes legislaciones.....	55
8. Talla (mm), peso total (g), peso del tejido blando (g) e índice de condición, IC (promedio $\pm$ desviación estándar) de los ostiones muestreados, durante la campaña de lluvias.....	59
9. Talla (mm), peso total (g), peso del tejido blando (g) e índice de condición, IC (promedio $\pm$ desviación estándar) de los ostiones muestreados, durante la campaña de secas.....	60
10. Porcentaje de humedad (%) de las muestras de ostiones obtenidas durante las temporadas de lluvias y de secas.....	62
11. Valores certificados, determinados y porcentajes de recuperación obtenidos para cada uno de los metales analizados.....	64
12. Promedios globales de las concentraciones de metales determinadas para los sistemas lagunares estudiados ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ).....	64
13. Matriz de correlación entre los diferentes parámetros analizados.....	86
14. Características morfométricas e hidrológicas de los sistemas lagunares.....	91
15. Datos morfométricos (promedio $\pm$ desviación estándar) de los	

ostiones recolectados en granjas: longitud (mm); peso total y peso del tejido blando (g) e índice de condición (IC).....	92
16. Concentración promedio de metales ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ; con base en peso seco), determinadas para <i>C. gigas</i> en las cuatro lagunas costeras.....	93
17. Tendencia de las concentraciones medias de metales determinadas en ostiones de cultivo de las lagunas, durante las temporadas de lluvias y secas.....	95
18. Matriz de correlación entre los cinco metales analizados en ostiones de cultivo <i>C. gigas</i> .....	96
19. Ecuaciones que muestran la correlación entre <i>C. corteziensis</i> y <i>C. gigas</i> respecto a sus niveles de acumulación de los cinco metales analizados.....	96
20. Intervalos de concentración de Cd, Cu, Pb y Zn ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) en especies del género <i>Crassostrea</i> determinadas para sitios de México y regiones de otros países.....	98
21. Intervalos de las concentraciones de Hg ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) en especies del género <i>Crassostrea</i> determinadas para sitios de México y regiones de otros países.....	99
22. Constantes de tasas de destoxificación de metales ( $K_e$ ; por día, promedio $\pm$ desviación estándar).....	102
23. Origen de las 5 muestras de ostiones, analizadas durante la estancia de entrenamiento en CICESE.....	104

## RESUMEN

---

En el presente estudio, se evaluó la contaminación por la presencia de cinco metales pesados (Cd, Cu, Hg, Pb y Zn) y dos tipos de biotoxinas marinas (ASP y PSP), cuyos organismos productores (diatomeas y dinoflagelados) han sido encontrados anteriormente en las zonas de estudio. Se llevó a cabo un biomonitorio, utilizando ostiones silvestres de mangle *Crassostrea corteziensis* y *Saccostrea palmula* y ostiones de cultivo *C. corteziensis* y *C. gigas* en siete sistemas lagunares de Sinaloa. Se hicieron dos campañas de muestreo: una al finalizar la época de lluvias y la otra en época de secas. Los sitios se eligieron según la disponibilidad de organismos y tamaño de los sistemas lagunares. Se muestrearon 30 sitios en cada temporada, tres correspondieron a granjas ostrícolas y uno al sitio testigo. Después de su depuración, se registraron los datos morfométricos de los ostiones y se prepararon para los análisis, de acuerdo a los requerimientos de cada técnica. Los metales pesados se analizaron por espectrofotometría de absorción atómica: Cd, Cu y Pb por detección con horno de grafito, Zn por detección con flama y Hg por generación de vapor en frío. Las biotoxinas se analizaron mediante cromatografía líquida de alta resolución, con detección ultravioleta para las toxinas del tipo ASP y con detección de fluorescencia para las del tipo PSP.

Respecto a los metales pesados, los niveles de las concentraciones promedio fueron  $Zn > Cu > Cd > Pb > Hg$  para ambos periodos de muestreo. En los ostiones de origen silvestre, las concentraciones más altas de Cd, Cu y Pb se registraron en la época de secas y los niveles más altos de Hg y Zn en lluvias. Los promedios globales de los cinco metales fueron:  $5.37 \pm 3.20 \mu\text{g g}^{-1}$  de Cd,  $55.1 \pm 33.9 \mu\text{g g}^{-1}$  de Cu,  $0.37 \pm 0.16 \mu\text{g g}^{-1}$  de Hg,  $1.16 \pm 0.60 \mu\text{g g}^{-1}$  de Pb y  $778 \pm 489 \mu\text{g g}^{-1}$  de Zn, con base a peso seco. De acuerdo a las normas consultadas, solo en los casos del Hg y el Pb, las concentraciones se encontraron por debajo del límite máximo permisible (LMP) en todos los sitios. Respecto al sitio testigo, éste presentó mayores concentraciones de Hg, Pb y Zn en comparación con los promedios de los demás sistemas lagunares analizados. En cuanto a los ostiones de cultivo, a excepción del

Cd, las concentraciones más altas de los otros cuatro metales se encontraron en el sitio de El Colorado. Sin embargo, sólo el nivel de Cu sobrepasó el LMP en el sitio muestreado de esta laguna. En cambio, los niveles de Cd fueron superiores al LMP en el sitio de Altata. Por época, en términos generales las mayores concentraciones de metales se registraron durante el muestreo de lluvias. Se realizó también un análisis comparativo entre las concentraciones de metales de ostiones silvestres *C. corteziensis* y *S. palmula*, recolectados de las mismas raíces de mangle, en cuyos resultados se observaron niveles de concentración de metales más altos en ostiones *S. palmula*, excepto para el Pb. Al hacer correlaciones entre las concentraciones de ambas especies, se obtuvieron altos coeficientes de correlación. Estos datos sirven para hacer comparaciones inter-específicas, esto es, si la misma especie no está presente en todos los sitios de interés, hay protocolos disponibles para comparar los datos entre diferentes especies.

Aunque se tienen registros de la presencia de organismos productores de biotoxinas de los tipos ASP y PSP en algunos de estos sistemas lagunares, en este estudio no se detectaron estos tipos de toxinas en las muestras de ostiones analizados. En cuanto a las toxinas del tipo ASP, la menor concentración inyectada del estándar fue de 1 µg/mL. Algunas muestras compuestas se enviaron para el análisis de estas toxinas a laboratorios de Ensenada, B.C. (límite de detección, LD: 0.025 µg/mL) y de Chile (LD: 0.078 µg/mL), con lo cual se corroboró la ausencia de este tipo de toxinas. El análisis de toxinas del tipo PSP se realizó por dos metodologías, pero no se encontró tampoco la presencia de este tipo de toxinas, con LD (µg STX eq /g) de las toxinas analizadas: C1,2 = 0.001, GTX5 = 0.0004, STX = 0.008, dcSTX = 0.001, GTX2,3 = 0.005, dcGTX2,3 = 0.003, dcNEO = 0.03, NEO = 0.13, GTX1,4 = 0.08. Finalmente, se analizaron las muestras de agua en el microscopio y sólo en un sitio se detectó la presencia de organismos productores de toxinas del tipo PSP, a bajas concentraciones. Si bien los organismos productores fueron escasos o ausentes, los moluscos bivalvos poseen la capacidad de concentrar este tipo de compuestos (entre otros contaminantes), sin embargo, en los ostiones se han observado altas tasas de depuración (36 h) en comparación con otros grupos como los mejillones, por lo que

el periodo de depuración previo a los análisis puede estar relacionado con la ausencia de toxinas en los ostiones del presente trabajo.

## ABSTRACT

---

In the present study, it was evaluated the pollution because of the presence of five heavy metals (Cd, Cu, Hg, Pb and Zn) and two types of marine biotoxins (ASP and PSP), whose producer organisms (diatoms and dinoflagellates) have been found previously in the study area. It was conducted a biomonitoring, using wild mangrove oysters *Crassostrea corteziensis* and *Saccostrea palmula* and cultured oysters *C. corteziensis* y *C. gigas* in seven lagoonal systems from Sinaloa. There were two sampling seasons: the first one at the end of the rainy season and the second one during the dry season. The sampling sites were selected according upon the availability of the organisms and the size of the lagoonal systems. There were sampled 30 sites during each season; three corresponded to oyster farms and one more to the control site. After a depuration time, there were registered the morphometric data of the oysters and were prepared for the corresponding analysis, according to the requirements of each technique. Heavy metals were analyzed by atomic absorption spectrophotometry: Cd, Cu and Pb by graphite furnace, Zn by flame and Hg by cold vapor. Biotoxins were analyzed through high performance liquid chromatography, with ultraviolet detection for ASP toxins and with fluorescence detection for PSP toxins.

About heavy metals, levels of average concentrations were  $Zn > Cu > Cd > Pb > Hg$  for both seasons. Highest concentrations of Cd, Cu and Pb in wild oysters were registered during dry season and highest levels of Hg and Zn during rainy season. Global averages of the five metals were:  $5.37 \pm 3.20 \mu\text{g g}^{-1}$  of Cd,  $55.1 \pm 33.9 \mu\text{g g}^{-1}$  of Cu,  $0.37 \pm 0.16 \mu\text{g g}^{-1}$  of Hg and  $1.16 \pm 0.60 \mu\text{g g}^{-1}$  of Pb and  $778 \pm 489 \mu\text{g g}^{-1}$  of Zn, on dry weight basis. The concentrations were below the maximum permissible limit (MPL) for Hg and Pb in all the sites, according to the consulted norms. About the control site, this one presented higher concentrations of Hg, Pb and Zn when compared to averages from the other analyzed lagoonal systems. About the cultured oysters, except for Cd, the highest concentrations of the other metals were found in El Colorado site. However, only the level of Cu exceeded the MPL in the sampled site from this lagoon. On the other hand, levels of Cd were above the MPL in Altata site.



By season, the highest concentrations of metals were registered during rainy sampling. Also, a comparative analysis was performed between the concentrations of metals in wild oysters *C. corteziensis* and *S. palmula* collected from the same mangrove roots, results showed higher concentration levels of metals in *S. palmula* species, except for Pb. With the concentration of both species, there were obtained correlations coefficients and their equations. These are important data for inter-specific comparisons, namely, if one species is not present at all the interest sites, there are available protocols to compare data among different species.

Although there are registers of the presence of ASP and PSP biotoxin producers in some of these lagoonal systems, it were not detected those kinds of toxins in the oyster samples analyzed in this study. About the ASP toxins, 1  $\mu\text{g/mL}$  was the least concentration injected from the standard (for the calibration curve in ICMyL-UNAM UA-Mazatlán laboratory. Some composite samples were analyzed for ASP toxins in two certified laboratories from Ensenada, B.C. (limit of detection, LOD = 0.025  $\mu\text{g/mL}$ ) and from Santiago de Chile (LOD = 0.078  $\mu\text{g/mL}$ ), confirming the absence of this kind of toxins. The analysis of PSP toxins was performed by using of two methodologies, but there was not presence of such toxins by any of the methods used (LOD ( $\mu\text{g/g}$  STX eq) from analyzed toxins: C1,2 = 0.001, GTX5 = 0.0004, STX = 0.008, dcSTX = 0.001, GTX2,3 = 0.005, dcGTX2,3 = 0.003, dcNEO = 0.03, NEO = 0.13, GTX1,4 = 0.08). Finally, water samples were observed under a microscope and only was detected the presence of producer organisms of PSP toxins in one site and at low concentrations. It is well known that even if the toxin producers are absents, bivalve mollusks accumulate these kinds of compounds (among other contaminants). Nevertheless, high depuration rates have been observed in oysters, when comparing with other bivalve groups, as mussels. Therefore, the depuration period (36 h) before the analysis could be related with the absence of the toxins ASP and PSP in the oysters from this study.

## 1. INTRODUCCION

---

Actualmente los problemas ambientales, relacionados con los impactos humanos sobre los océanos a los que debemos hacer frente de manera global, son el cambio climático, la contaminación, la pérdida de biodiversidad y la sobrepesca (Costanza *et al.*, 1997; Jhonston *et al.*, 2000). En cuanto al problema de la contaminación, se tienen identificados diferentes grupos de contaminantes que, al ser introducidos a los diversos ambientes, pueden causar impactos negativos en los ecosistemas. Entre los grupos de contaminantes más estudiados y que han llamado la atención recientemente están los metales pesados y las biotoxinas. Los primeros porque se movilizan desde hace más de 3,000 años y los segundos porque en los últimos 30 años ha habido un aumento global en la frecuencia, permanencia e intensidad de los florecimientos algales nocivos.

### 1.1. Metales Pesados

Existe un grupo de elementos conocido como “metales pesados” debido a sus densidades relativamente altas, generalmente mayores a  $5 \text{ g/cm}^3$ . Bajo este nombre genérico se agrupan elementos como cadmio (Cd), cobre (Cu), mercurio (Hg), plomo (Pb) y zinc (Zn), entre otros, los cuales se encuentran en el ambiente debido a que forman parte de la corteza terrestre de manera natural. No obstante, su concentración puede aumentar ya que nuestra sociedad está basada en varias actividades industriales, mineras y agrícolas en las que estos elementos son utilizados o involucrados. Algunos de estos elementos resultan ser siempre tóxicos (e.g. cadmio, mercurio y plomo) aún en bajas concentraciones y otros son tóxicos en altas concentraciones (e.g. cobre y zinc) (EPA, 2007). La mayoría de ellos se pueden convertir en compuestos metálicos persistentes altamente tóxicos que eventualmente son bioacumulados en los organismos, magnificados en la cadena trófica y frecuentemente causan daños a la salud humana. Entre los efectos nocivos más frecuentes en humanos por exposición a estos compuestos se incluye el desarrollo anormal de fetos, esterilidad e inmunodeficiencia; por ello, el monitoreo y prevención

de la contaminación por metales pesados es un tema recurrente e importante en las investigaciones ambientales (Zhou, 2008).

Existen otros elementos que aunque se les agrupa bajo el mismo término de “metales pesados” son también clasificados como metaloides: B, Si, Ge, As, Sb, Se, Te y Po (Greenhouse, 1982; Villanueva *et al.*, 1988; Chi *et al.*, 1993; Boening, 1997; Green-Ruiz y Páez-Osuna, 2003; Frías-Espericueta *et al.*, 2004; Otero *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2005; Zhou *et al.*, 2008; Unkiewicz *et al.*, 2009; Aslan, 2009; Fig. 1). Por otra parte, hay algunos elementos (tanto metales, como no metales y metaloides) que se consideran esenciales y son utilizados en pequeñas cantidades por los organismos, por lo que se les conoce también como “oligoelementos”: B, Br, Cr, Co, Cu, F, Fe, Mn, Mo, Ni, Se, Si, V, I y Zn (Luoma y Rainbow, 2008). Aun cuando son requeridos por los organismos, a partir de ciertas concentraciones y bajo ciertas condiciones, éstos pueden resultar tóxicos y/o letales (Fig. 1). Con base en lo anterior, al mencionar los términos “metales” o “metales pesados” en este documento, se hace referencia a este grupo de elementos que incluye también algunos metaloides.

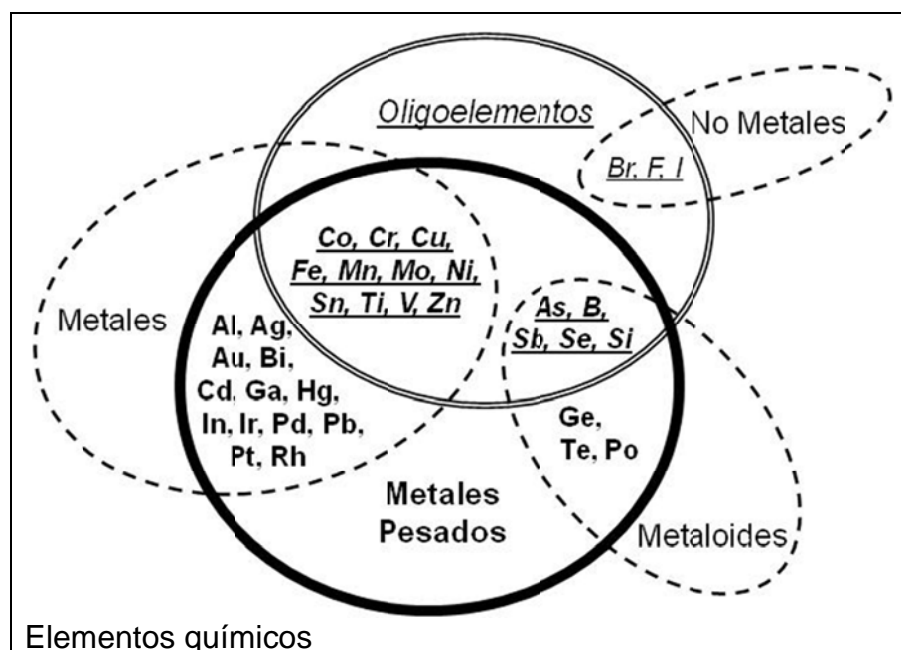


Figura 1. Esquema que ilustra el traslape y la clasificación de los elementos metálicos, no metálicos y metaloides considerados como oligoelementos y/o “metales pesados”.

De manera general, los materiales gaseosos y particulados suministrados a la atmósfera pueden ser generados de forma natural o antropogénica. Las fuentes naturales de metales a la atmósfera incluyen (Chester y Murphy, 1990): (1) la superficie terrestre, la cual suministra componentes particulados a la atmósfera a través de mecanismos de movilización de depósitos superficiales por erosión del viento; (2) la superficie oceánica, que suministra componentes particulados a la atmósfera marina a baja temperatura durante la formación de sales de mar por la acción mecánica; la superficie del mar puede también ser fuente de algunos componentes gaseosos, además de las emisiones a partir de las ventilas hidrotermales; (3) la actividad volcánica que libera material particulado, principalmente cenizas, junto con una fase gaseosa formada por procesos de volatilización a altas temperaturas; (4) la biosfera, de la cual los metales son liberados hacia la atmósfera a través de la alta temperatura de combustión de la vegetación y las emisiones de las distintas fases del material particulado y de vapor de la superficie de las plantas y los suelos.

Las fuentes antropogénicas de contaminación por metales hacia la atmósfera, incluyen: la quema de combustibles fósiles, la incineración de residuos, la minería, el procesamiento de minerales, la producción de químicos y la utilización de pesticidas, herbicidas, etc. en la agricultura (Furness y Rainbow, 1990). Los metales son utilizados para una gran cantidad de propósitos y, al hacerlo, son liberados al ambiente natural. Los restos de los procesos de extracción, la quema de combustibles y la eliminación de residuos, todo ello contribuye con la entrada de metales a los ambientes costeros a través de los ríos y corrientes, las aguas residuales y/o a través de la deposición atmosférica. En la mayoría de las regiones costeras, las fuentes atmosféricas y el transporte a través de los ríos son las dos formas principales de entrada de metales hacia las aguas costeras (Valiela, 2006).

Los seres humanos han alterado de forma significativa los ciclos de los metales en los diferentes ambientes del mundo. La minería ha excedido por mucho las tasas de intemperismo natural, y la deposición atmosférica de la mayoría de los metales en la

superficie terrestre puede ser de 3 a 350 veces mayor que la estimada para los flujos naturales (Valiela, 2006). La Tabla 1 resume la relación que tienen estos metales con diversos procesos industriales.

*Tabla 1. Metales relacionados con los procesos industriales (Páez-Osuna, 2005).*

<b>Industria</b>	<b>Cd</b>	<b>Cu</b>	<b>Hg</b>	<b>Pb</b>	<b>Zn</b>
Celulosa y papel		X	X	X	X
Petroquímica	X		X	X	X
Química	X		X	X	X
Fertilizantes	X	X	X	X	X
Refinerías del petróleo	X	X		X	X
Acero	X	X	X	X	X
Fundidora no-ferrosa	X	X	X	X	X
Motriz	X	X	X		
Cemento					X
Termoeléctrica		X			X

### 1.1.1. Cadmio

Se ha estimado que cada año se liberan al ambiente unas 30,000 toneladas de cadmio, de las cuales entre 4,000 y 13,000 provienen de actividades humanas. Tanto las fuentes naturales como antropogénicas (las emisiones industriales y la aplicación de fertilizantes) incrementan sus niveles en el ambiente (Castro-González y Méndez-Armenta, 2008). Este metal es utilizado en la producción de aleaciones, estabilizadores de plástico, galvanización, pigmentos, baterías, etc. (Newman y Unger, 2003). En los vertebrados, el cadmio se encuentra usualmente en metaloproteínas de bajo peso molecular, conocidas como metalotioneínas (MTs); las cuales se consideraba que no tenían ninguna función biológica (Thompson, 1990), sin embargo, desde su purificación a partir de la corteza renal de caballo, estas proteínas fueron identificadas como agentes desintoxicantes de metales pesados, de tal manera que su principal función en los organismos es el mantenimiento de la homeostasis del Zn y Cu durante la gestación y en edades tempranas. Cuando se expone el organismo a metales pesados no esenciales como el Cd, se produce el desplazamiento de los elementos esenciales, formando compuestos neurotóxicos (García-Rico *et al.*, 1999). Entre los efectos de la exposición de los organismos acuáticos al Cd se incluyen: la disminución de su abundancia y crecimiento, inhibición de su capacidad reproductiva, así como efectos letales (DIRECTEMAR,

2007). En los seres humanos, la principal vía de entrada o de exposición de este metal es a través de los alimentos, particularmente algunos vegetales de los cuales se consumen sus hojas, granos y cereales. Se acumula en el hígado y los riñones y tiene un tiempo de vida media de 17 a 30 años en el ser humano. La toxicidad incluye dos sistemas de órganos, el renal y el sistema esquelético y, en gran parte, es consecuencia de las interacciones entre el cadmio y los metales esenciales, especialmente el calcio (Goyer, 1997).

### **1.1.2. Cobre**

El cobre es un elemento metálico muy común en la corteza terrestre y forma parte de varios minerales (asociado a la malaquita, cuprita, azurita, prehnita, epidota, datolita, calcita y a varias zeolitas; Enciclopedia Ciencias de la Naturaleza: Geología, 1997). Este metal existe en los ambientes acuáticos en sus dos estados de oxidación más estables:  $\text{Cu}^{+1}$  y  $\text{Cu}^{+2}$ . Aunque este elemento es esencial para la vida, en concentraciones elevadas puede ser perjudicial para los organismos. Entre las fuentes antropogénicas de Cu hacia el medio acuático se encuentran: la corrosión de ductos de cobre y bronce por aguas de naturaleza ácida, el uso de compuestos de cobre como alguicidas acuáticos, los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas, las escorrentías y la contaminación de las aguas subterráneas, esto último, debido a su empleo agrícola como fungicida y pesticida en el tratamiento de suelos y la precipitación atmosférica. Las fuentes industriales más importantes son la minería, la fundición y la refinación de cobre; las industrias que queman carbón e industrias del hierro y el acero (DIRECTEMAR, 2007). En cuanto a su uso agrícola, el cobre ha sido históricamente utilizado como fungicida, herbicida y como desinfectante de semillas (He *et al.*, 2005). También es utilizado como biocida en pinturas anti-incrustantes en embarcaciones marítimas, así como conservador de maderas (Newman y Unger, 2003). El cobre es un metal esencial en vertebrados y ha sido asociado con numerosas metaloenzimas y metaloproteínas (Thompson, 1990). Sin embargo, la toxicidad de este metal puede resultar de la exposición excesiva, ya sea de forma accidental, por riesgo laboral o contaminación ambiental, etc.; afectando principalmente al hígado, ya que es el primer sitio donde se deposita después de que

se incorpora a la sangre y se manifiesta típicamente por el desarrollo de cirrosis hepática con episodios de hemorragia y daño a los túbulos renales, el cerebro y otros órganos. Los síntomas pueden progresar hasta un estado de coma, necrosis hepática, colapso vascular y la muerte (Gaetke y Chow, 2003).

### **1.1.3. Mercurio**

El mercurio se presenta de forma natural en el medio ambiente (depósitos de minerales, volcanes, incendios forestales y emisiones oceánicas) o puede ser liberado por el humano en actividades tales como los hornos de cemento, en la producción de ácido sulfúrico y de metales como el oro, cobre, hierro, plomo y zinc (Hylander y Meili, 2003). La contaminación del medio marino causada por compuestos de Hg es el resultado de fenómenos naturales en conjunto con las descargas de origen humano, especialmente cerca de la costa. Tales descargas contribuyen al aumento del flujo de Hg y la alteración de sus especies químicas presentes en la columna de agua y en los sedimentos (André *et al.*, 1990; Ruelas-Inzunza *et al.*, 2004). Las fuentes de contaminación antropogénica de mercurio más importantes son las descargas urbanas, los materiales provenientes de la agricultura, la minería, la combustión y las descargas industriales (Castro-González y Méndez-Armenta, 2008). Los compuestos de fenilmercurio y las sales de mercurio son utilizadas como fungicidas para el tratamiento de semillas y en la inhibición de crecimiento de organismos en numerosas industrias (Newman y Unger, 2003). Este metal ha sido tradicionalmente usado en químicos agrícolas como fungicida o pesticida, también se encuentra en pequeñas cantidades en la cal y en algunos fertilizantes, como estiércol aplicado a las tierras agrícolas (Dreher y Follmer, 2004; Ruíz-Fernández *et al.*, 2009). A este metal no se le ha encontrado ninguna función biológica y, por lo tanto, es clasificado como un elemento no esencial para los organismos. Dentro de la biósfera marina, el Hg está presente tanto en su forma orgánica como inorgánica, pero la proporción relativa de tales formas es variable en los diferentes grupos de organismos (Thompson, 1990). La principal vía de intoxicación en humanos es a través del consumo de agua y de alimentos marinos, los cuales acumulan monometil- y dimetil-mercurio en sus tejidos grasos (Schroeder

y Munthe, 1998). Los principales mecanismos moleculares implicados en la toxicidad del metil-mercurio son la inhibición de la síntesis de proteínas, disrupción microtubular en células (neuronales y no neuronales) e incremento de  $\text{Ca}^{+2}$  intracelular con perturbación en la función de neurotransmisores (Sanfeliu *et al.*, 2003; Castro-González y Méndez-Armenta, 2008).

#### **1.1.4. Plomo**

La atmósfera constituye la mayor fuente de transporte del plomo proveniente de fuentes industriales, de la combustión y de la minería hacia las aguas oceánicas y costeras; así como a los organismos que las habitan (Valiela, 2006). Este elemento está presente en las aguas naturales en su estado de oxidación +2 (Newman y Unger, 2003). Una de las fuentes más generalizadas son las pinturas con plomo presentes en los edificios viejos, también se puede encontrar dentro de los lugares de trabajo en los que se usan productos de plomo. Este metal puede contaminar el agua, la comida y las bebidas, en esta fase es incoloro, inodoro e insípido. Todavía hoy en día se puede encontrar plomo en algunos productos comerciales, lo contienen algunos remedios caseros y productos cosméticos. Se pueden encontrar concentraciones altas en el suelo, el aire y el agua, en lugares en donde se realizaron o actualmente se practican actividades mineras o fundidoras. Hay regiones en las que la presencia de Pb en la sangre es un serio problema de salud, particularmente en niños que viven en algunas áreas urbanas (ATSDR, 2007). No se sabe que este metal presente ninguna función o requerimiento biológico, por lo que también se le clasifica como elemento no esencial (Thompson, 1990), por el contrario, es tóxico aún en concentraciones bajas; afectando a varios órganos y sistemas (e.g. nervioso, hematopoyético, renal, endocrino y esquelético), dependiendo de la edad del sujeto y la dosis. Un efecto de gran preocupación es el deterioro en el desarrollo cognoscitivo y de comportamiento en lactantes y niños (Goyer, 1997). Los síntomas de envenenamiento agudo por este metal son dolor de cabeza, irritabilidad, dolor abdominal y varios síntomas relacionados con el sistema nervioso. La encefalopatía por plomo se caracteriza por inquietud y falta de sueño. En casos severos, la persona afectada puede sufrir de psicosis aguda, confusión y



disminución de la conciencia y las personas que han sido expuestas por largos periodos de tiempo pueden sufrir deterioro de la memoria, tiempo de reacción prolongado y capacidad reducida de entendimiento (Jarup, 2003; Castro-González y Méndez-Armenta, 2008).

#### **1.1.5. Zinc**

El zinc se presenta en los ambientes acuáticos principalmente como  $Zn^{+2}$ , aunque también puede formar complejos orgánicos. A pH neutro se puede depositar en los sedimentos mediante procesos de adsorción a óxidos de hierro y manganeso, arcillas minerales y materia orgánica. Las principales fuentes incluyen las descargas de aguas residuales, las actividades de minería, fundición y refinación de este metal, la combustión de madera, la incineración de residuos, la producción de hierro y acero y emisiones atmosféricas procedentes de distintas fuentes (Thompson, 1990). Es usado de manera extensiva en recubrimientos y galvanización para prevenir la corrosión. También es utilizado en aleaciones y como catalizador para algunas reacciones de síntesis de polímeros (Newman y Unger, 2003). Los organismos acuáticos exhiben un amplio rango de sensibilidad al Zn, el cual, puede ser clasificado como un elemento esencial, ya que es requerido por varias metaloenzimas (Thompson, 1990). Su ingestión en cantidades mínimas puede causar problemas, pero también puede resultar perjudicial en grandes cantidades. Los efectos nocivos generalmente se empiezan a manifestar a niveles de 10 a 15 veces más altos que la cantidad necesaria para mantener una buena salud. La ingestión de grandes cantidades aún en periodos cortos de tiempo, puede causar calambres estomacales, náusea y vómito; la exposición durante periodos prolongados puede provocar anemia y disminución de los niveles del colesterol benéfico para la salud. Se desconoce si sus niveles altos afectan la reproducción en seres humanos, pero el suministro de grandes cantidades en ratas, les provocó esterilidad. Inhalar polvos o vapores de zinc puede producir una enfermedad de corta duración llamada "fiebre de vapores del metal", pero aún no se sabe cuáles son sus efectos al inhalarlo durante periodos de tiempo largos (ATSDR, 2008).

## 1.2. Biotoxinas marinas

La eutrofización es un proceso de enriquecimiento de las aguas dulces o marinas, que estimula la producción acuática primaria (Libes, 1992) y una de sus consecuencias ecológicas, es la presencia de florecimientos algales nocivos (FANs), durante los cuales, por el crecimiento masivo de fitoplancton se pueden producir sustancias químicas altamente tóxicas (Islam y Tanaka, 2004) que, al igual que los factores abióticos (Fig. 2), intervienen en las sucesiones fitoplanctónicas, como parte de los factores propios de los organismos (e.g. competencia, pastoreo, interacciones mediadas químicamente, etc.) (Granéli y Turner, 2008).

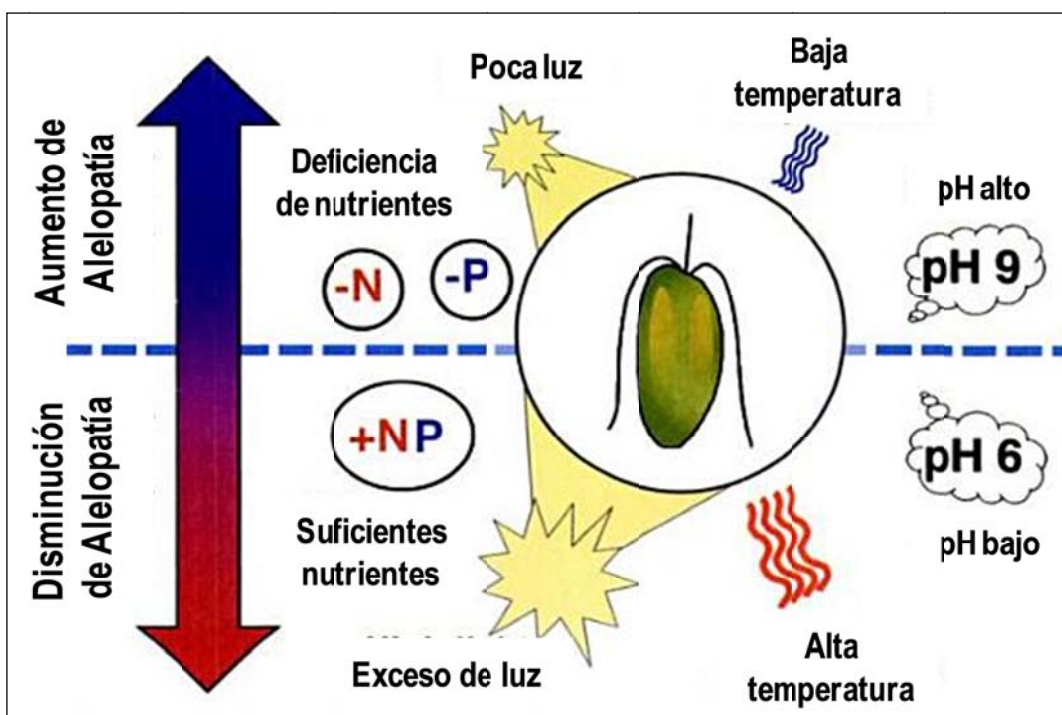


Figura 2. Factores abióticos que afectan la producción de compuestos alelopáticos en las algas nocivas (Granéli y Turner, 2008).

Si bien, las biotoxinas marinas no son contaminantes producidos por el ser humano, su producción se asocia a su crecimiento poblacional debido a las altas descargas o aportes de nutrientes y presentan también un riesgo potencial en los ecosistemas acuáticos. Los FANs (o HABs, por sus siglas en inglés, Harmful Algae Blooms) comprenden la presencia de fitoplancton que provoca daños a otros organismos, estos efectos pueden ser provocados por altas biomásas debido a daños mecánicos

o de abatimiento de oxígeno, o por bajas biomásas, cuando las microalgas producen potentes toxinas que afectan a otros organismos, incluyendo el humano. (Hallegraeff *et al.*, 2003). Tales toxinas constituyen, a su vez, a los llamados “compuestos alelopáticos”. La definición más tradicional del fenómeno de alelopatía, se describe como “cualquier efecto directo o indirecto causado por una planta (incluyendo microorganismos) sobre otras, a través de la producción de compuestos químicos que escapan al medio ambiente” (Rice, 1984). Una definición más amplia, fue desarrollada por la Sociedad Internacional de Alelopatía (1996), en la que se considera a la alelopatía como “cualquier proceso que involucre metabolitos secundarios producidos por plantas, algas, bacterias y hongos, que influyan en el crecimiento y desarrollo de sistemas biológicos y agrícolas”. Dependiendo de cada sistema y de las condiciones de trabajo, han sido introducidas otras definiciones para describir el fenómeno, como por ejemplo, en los estudios realizados por Inderjit y Dakshini (1994) en sistemas acuáticos, definiendo la alelopatía como “un fenómeno donde las alomonas generadas por las algas pueden afectar a 1) otras algas en su vecindad, 2) su propio crecimiento, 3) la asociación con los microbios, 4) plantas superiores de su vecindad y 5) acumulación y disponibilidad de iones nutrientes; los cuales influyen sobre la distribución, crecimiento y establecimiento de otras algas, microorganismos y plantas”.

Los FANs son un fenómeno natural, pero su frecuencia, cobertura geográfica e intensidad, parecen haberse incrementado desde los años 1970s y su impacto económico es mayor ahora que en el pasado (Hallegraeff *et al.*, 2003). Estos florecimientos parecen estar estimulados por las descargas de nutrientes procedentes de desechos domésticos, industriales y de la agricultura, cuyas proporciones se ven alteradas en las aguas costeras (García-Camacho *et al.*, 2007). Por lo que pueden presentarse dos escenarios (Fig. 3): (1) Cuando las entradas de N y P al ecosistema acuático están balanceadas en relación a la necesidad de las microalgas (relación molar N:P = 16:1): entonces, la biomasa algal es alta, no hay estrés fisiológico, la alelopatía es baja; y (2) Las entradas de N y P están desbalanceadas (limitación de N o de P): las microalgas se estresan y las que

pueden producir aleloquímicos incrementan su producción, compitiendo por los nutrientes con las especies que co-ocurren (Granéli y Turner, 2008).

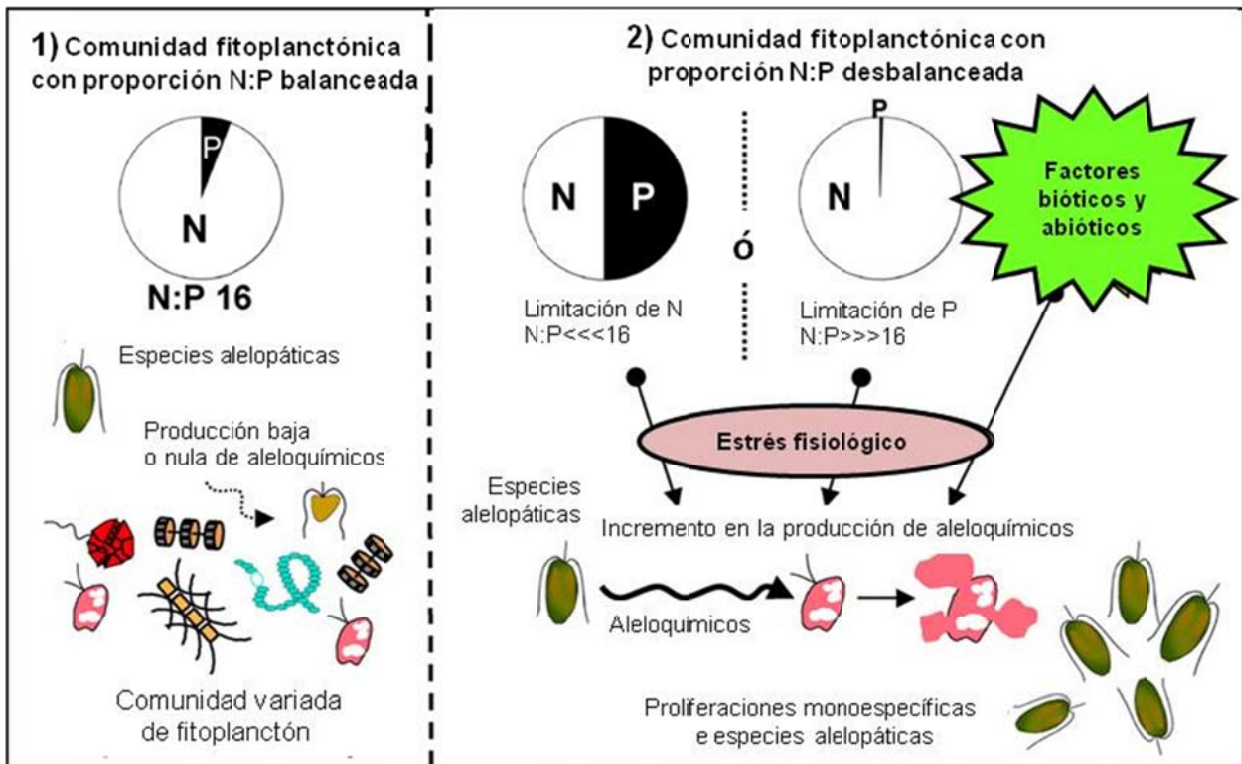


Figura 3. Dos escenarios que muestran la forma en que la eutrofización puede afectar la producción de compuestos alelopáticos (Granéli y Turner, 2008).

Las biotoxinas producidas por microalgas son compuestos de origen natural, de tipo no proteico, generalmente de bajo peso molecular, con un amplio espectro de sustancias activas y difieren en origen, composición química, estructura, solubilidad, mecanismos de acción, patogenicidad y toxicidad (Alonso-Rodríguez *et al.*, 2004b). La presencia de estos metabolitos en las microalgas eucariotas con potencial alelopático ha sido reconocida en diferentes grupos taxonómicos (Cembella, 2003) dulceacuícolas (clorofitas, diatomeas y dinoflagelados) y marinos (clorofitas, crisofitas, diatomeas, dinofitas y haptofitas); así como en cianobacterias (Hallegraeff *et al.*, 2003). De las 5,000 especies de fitoplancton conocidas, se sabe que 300 pueden causar discoloración en las aguas y algunas 80 o 90 productoras de toxinas pueden causar envenenamiento por consumo de mariscos en humanos (Tabla 2;

Granéli y Turner, 2008) y, de éstas, 70 especies son dinoflagelados (García-Camacho *et al.*, 2007).

Tabla 2. Principales tipos de envenenamientos, su sintomatología y especies productoras (Modificado de Hernández-Orozco y Gárate-Lizárraga, 2006).

<b>Tipo de toxina y envenenamiento</b>	<b>Síntomas generales</b>	<b>Especies responsables</b>
<b>Amnésicas</b> Envenenamiento Amnésico por consumo de Moluscos (EAM o ASP)	Gastrointestinales: vómito, diarrea y calambres; neurológicos: desorientación, náuseas, vértigo, confusión y pérdida temporal de memoria.	<i>Pseudo-nitzschia australis</i> (*) <i>P. pungens</i> var. <i>multiseriis</i> <i>P. seriata</i> (*, **) <i>Amphora coffaeiformis</i> <i>Nitzschia navis-varingica</i>
<b>Ciguatéricas</b> Envenenamiento Ciguatérico por consumo de Pescado (ECP o CFP)	Náuseas, entumecimiento y temblor de manos y pies, vómito y muerte por fallas respiratorias (casos extremos).	<i>Gambierdiscus toxicus</i> (*, **) <i>Ostreopsis</i> spp. (*, **) <i>Coolia</i> spp (*, **)
<b>Diarréicas</b> Envenenamiento Diarreico por consumo de Moluscos (EDM o DSP)	Diarrea, náuseas, vómito y la exposición crónica promueve la formación de tumores en el sistema digestivo.	<i>Dinophysis acuminata</i> (*) <i>D. caudata</i> (*, **) <i>D. norvegica</i> (*) <i>D. fortii</i> (*, **) <i>D. sacculus</i> (*, **) <i>D. miles</i> (*) <i>Prorocentrum lima</i> (*, **) <i>Prorocentrum</i> spp
<b>Neurotóxicas</b> Envenenamiento Neurotóxico (EN o NSP).	Escalofríos, dolor de cabeza, debilidad muscular, náuseas, vómito y muerte por paro respiratorio.	<i>Karenia brevis</i> (**) <i>K. selliformis</i> <i>K. bidigitata</i> <i>Karenia</i> spp.
<b>Paralizantes</b> Envenenamiento Paralizante por consumo de Moluscos (EPM o PSP)	Sensación de hormigueo, entumecimiento de cara cuello, manos, náuseas, vómito y muerte por paro respiratorio.	<i>Gymnodinium catenatum</i> (*) <i>Alexandrium acatenella</i> (*) <i>A. catenella</i> (*) <i>A. minutum</i> (*) <i>A. tamarensis</i> (*) <i>A. tamiyavanichii</i> (*) <i>Alexandrium</i> spp. <i>Pyrodinium bahamense</i> var. <i>compressum</i> (*) Cianobacterias

\*registros en el Pacífico mexicano; \*\*registros en las costas mexicanas del Golfo de México.

De manera particular, en este trabajo se analizó la presencia y concentraciones de toxinas de los tipos ASP y PSP en los moluscos bivalvos seleccionados, provenientes del área de estudio.

### 1.2.1. Toxinas del tipo ASP

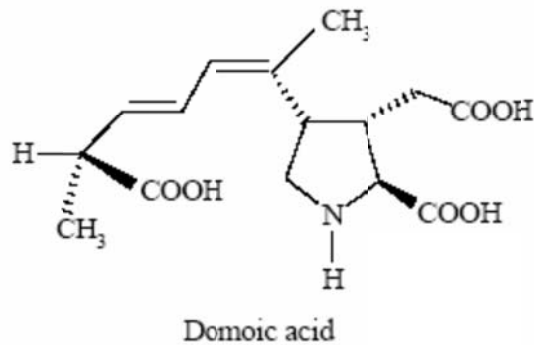


Figura 4. Estructura química del ácido domoico (Quilliam, 2003).

El ácido domoico (AD) causa la intoxicación amnésica por consumo de mariscos (Amnesic Shellfish Poisoning o ASP, por sus siglas en inglés), o intoxicación por AD. Es un compuesto natural derivado del ácido cainico, aislado de diversas fuentes marinas, incluidas las macro y microalgas. Es un aminoácido cristalino, soluble en agua, agonista del

ácido glutámico (Fig. 4). Puede purificarse por diversos métodos cromatográficos y su detección se facilita por espectroscopía UV por poseer un cromóforo fuerte. El AD es producido por las diatomeas del género *Pseudonitzschia* spp., en sus diferentes variedades *P. pungens* multiserias, *P. australis*, *P. pseudodelicatissima* y *P. seriata*, aunque también se ha encontrado en la macroalga roja, *Chondria armata*, organismo del que fue primeramente aislado en Japón, en 1958 (Moss, 2001; FAO, 2005; Pulido, 2008; COFEPRIS, 2009). El AD se une con alta afinidad a receptores de glutamato ubicados en el sistema nervioso central, los que están presentes en alta proporción en neuronas del hipocampo, en centros responsables del procesamiento de la memoria. El AD activa estos receptores, abriendo un canal iónico que deja pasar al interior de la neurona altas concentraciones del ión calcio, ocasionando la destrucción de estas células y la pérdida de la memoria de corta duración en los sujetos intoxicados; esta neuro-degeneración puede ser irreversible, provocando que los pacientes más graves queden discapacitados de por vida (Pérez-Calderón, 2002).

### 1.2.2. Toxinas del tipo PSP

Las saxitoxinas o toxinas paralizantes de los moluscos (Paralytic Shellfish Poisoning o PSP, por sus siglas en inglés), son un grupo de al menos 21 tetrahidropurinas, análogas a la saxitoxina (STX; Fig. 5), la primera tipificada y la más estudiada, divididos en cuatro subgrupos, de acuerdo a sus características estructurales que, a su vez, implican diferentes niveles de

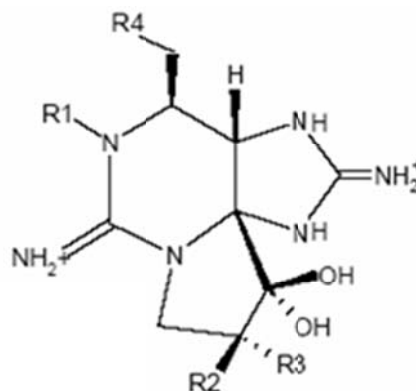


Figura 5. Estructura química de las toxinas del tipo PSP (Batoréu et al., 2005).

toxicidad (Tabla 3): (1) carbamatos (STX, NeoSTX y las gonyautoxinas GTX1-4), (2) N-sulfo-carbamatos (GTX5-6, C1-4), (3) decarbamatos (dc-: dcSTX, dcNeoSTX, dcGTX1-4) y (4) compuestos de deoxidecarbamato (doSTX, doNeoSTX y doGTX1). Las toxinas del tipo PSP son termoestables en pH ácido (excepto las N-sulfo-carbamatos), pero inestables en condiciones alcalinas. Los dinoflagelados del género *Alexandrium* (conocido anteriormente como *Gonyaulax* o *Protogonyaulax*), son los principales géneros que comprenden especies responsables de la producción de estas toxinas en zonas de clima tropical y templado. En las costas del Pacífico mexicano han ocurrido eventos tóxicos por toxinas PSP, en los que se ha identificado como responsables a las especies *Gymnodinium catenatum* y *Pyrodinium bahamense var compressum* (INP-SAGARPA, 2004). Las saxitoxinas son potentes neurotoxinas capaces de bloquear la producción de los potenciales de acción en las células neuronales. La fracción de guanidina de las saxitoxinas se une en la región del canal de sodio conocida como “sitio 1” y bloquea la apertura de los canales de sodio, por lo tanto, la transmisión neuronal, lo que causa una disfunción nerviosa generalizada. Entre los síntomas que provoca la intoxicación por saxitoxinas en mamíferos, se incluyen: parestesia (hormigueo, adormecimiento y/o ardor) de boca y extremidades, náusea, así como síntomas gastrointestinales (vómito). Otros síntomas severos incluyen además paro respiratorio, que puede provocar la muerte (Batoréu et al., 2005; Kalaitzis et al., 2009).

Tabla 3. Análogos de las toxinas paralizantes (Luckas et al., 2005).

TOXINAS	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	Factor de toxicidad	PM
STX	H	H	H		1.0	301
NeoSTX	OH	H	H		1.1	317
GTX <sub>1</sub>	OH	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Carbamatos	0.9	412
GTX <sub>2</sub>	H	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	<b>OCO-NH<sub>2</sub></b>	0.48	396
GTX <sub>3</sub>	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H		0.76	396
GTX <sub>4</sub>	OH	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H		0.9	412
<hr/>						
B <sub>1</sub>	H	H	H		0.07	380
B <sub>2</sub>	OH	H	H		0.07	396
C <sub>3</sub>	OH	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	N-Sulfocarbamatos	0.01	492
C <sub>1</sub>	H	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	<b>OCNH-SO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	0.01	476
C <sub>2</sub>	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H			476
C <sub>4</sub>	OH	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H			492
<hr/>						
dcSTX	H	H	H		0.43	258
dcNEO	OH	H	H		0.43	274
dcGTX <sub>1</sub>	OH	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Decarbamatos	0.45	369
dcGTX <sub>2</sub>	H	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	<b>OH</b>	0.18	353
dcGTX <sub>3</sub>	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H		0.18	353
dcGTX <sub>4</sub>	OH	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H		0.45	369

STX, saxitoxina; NeoSTX, neosaxitoxina; GTX, gonyautoxina; B, toxinas tipo B; C, toxinas tipo C; dcSTX, decarbamoil saxitoxina; dcNEO, decarbamoil neosaxitoxina; dcGTX, decarbamoil gonyautoxina; R<sub>1</sub> a R<sub>4</sub>, radicales libres; PM, peso molecular.

### 1.3. Sistemas lagunares costeros

La zona litoral o costera se define como la transición entre los componentes terrestres y marinos sobre la superficie de la Tierra (Crossland et al., 2005); en esta zona se localizan diferentes componentes costeros, entre los que se encuentran las lagunas costeras, definidas como una depresión localizada por debajo del nivel de pleamar medio superior, que tiene comunicación permanente o efímera con el mar, pero se encuentra protegido de éste por algún tipo de barrera (Lankford, 1977). Phleger (1969), además, hace mención del aporte de agua continental a estos cuerpos de agua, lo que les da un carácter estuarino. Así, las lagunas costeras pueden ser consideradas como estuarios, ya que estos últimos son definidos como cuerpos de agua costeros que tienen libre conexión con el mar abierto y dentro del



cual el agua de mar es significativamente diluida con agua dulce proveniente del continente (Pritchard, 1967). A este tipo de rasgos también se les ha aplicado el nombre de ensenadas, esteros o bahías, dificultando en ocasiones el establecimiento de un concepto común a quienes estudian este importante ambiente litoral (De la Lanza-Espino y Cáceres Martínez, 1994).

Las lagunas costeras ocupan el 13% de las zonas costeras de todo el mundo (Barnes, 1980) y son a menudo afectadas tanto por las influencias naturales como antropogénicas. Su tamaño es variado, con superficies de hasta 10,200 Km<sup>2</sup> (e.g. Laguna de Patos, Brasil), su profundidad es típicamente de 1 a 3 m, y casi siempre menor a 5 m, con excepción en los canales de entrada y canales aislados. En general, las lagunas costeras capturan sedimentos inorgánicos y materia orgánica y, por lo tanto, sirven como sumideros o filtros de material. Frecuentemente estos cuerpos de agua presentan altas tasas de producción primaria y secundaria, son valiosas para la pesca y la acuicultura y, en algunos casos, para la extracción de sal. En la escala de tiempo geológico tienen una corta duración, con una existencia intrínsecamente vinculada a su eficacia de filtrado y a la tasa relativa de cambio del nivel del mar, en respuesta a los cambios climáticos mundiales, la actividad tectónica local, y las actividades antropogénicas (Kjerfve, 1994; Fig. 6).

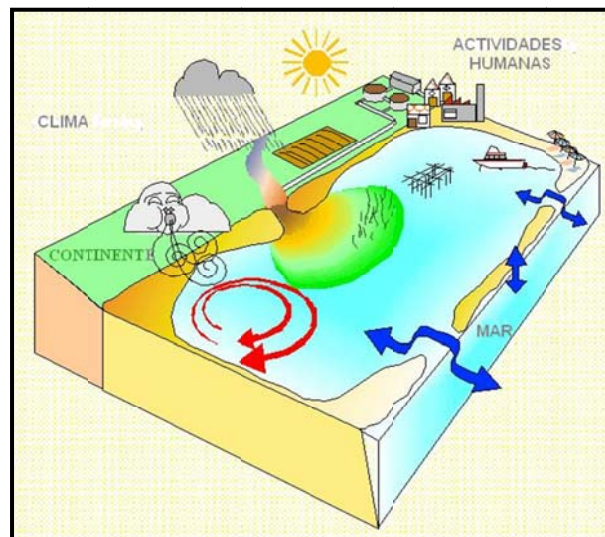


Figura 6. Esquema de una laguna costera, fuerzas climáticas y actividades antropogénicas (modificado de *The Encyclopedia of Earth*, 2007).

Estos cuerpos de agua se ven afectados por las fuerzas climáticas (viento, sol y lluvia); los efectos de las descargas fluviales, cambios del nivel del mar; así como las actividades antropogénicas de las zonas urbanas, industriales, agrícolas, portuarias y otras actividades relacionadas con los vertidos, la acuicultura, la pesca y actividades recreativas (Kjerfve, 1994).

En México, aproximadamente 125 ecosistemas costeros han sido clasificados como lagunas costeras respecto a sus características geológicas (Lankford, 1977). Muchas de las cuencas de drenaje de esos ecosistemas presentan los efectos de las actividades industriales, agrícolas y acuícolas (Fig. 7); así como un acelerado crecimiento de la población (Soto-Jiménez *et al.*, 2001).

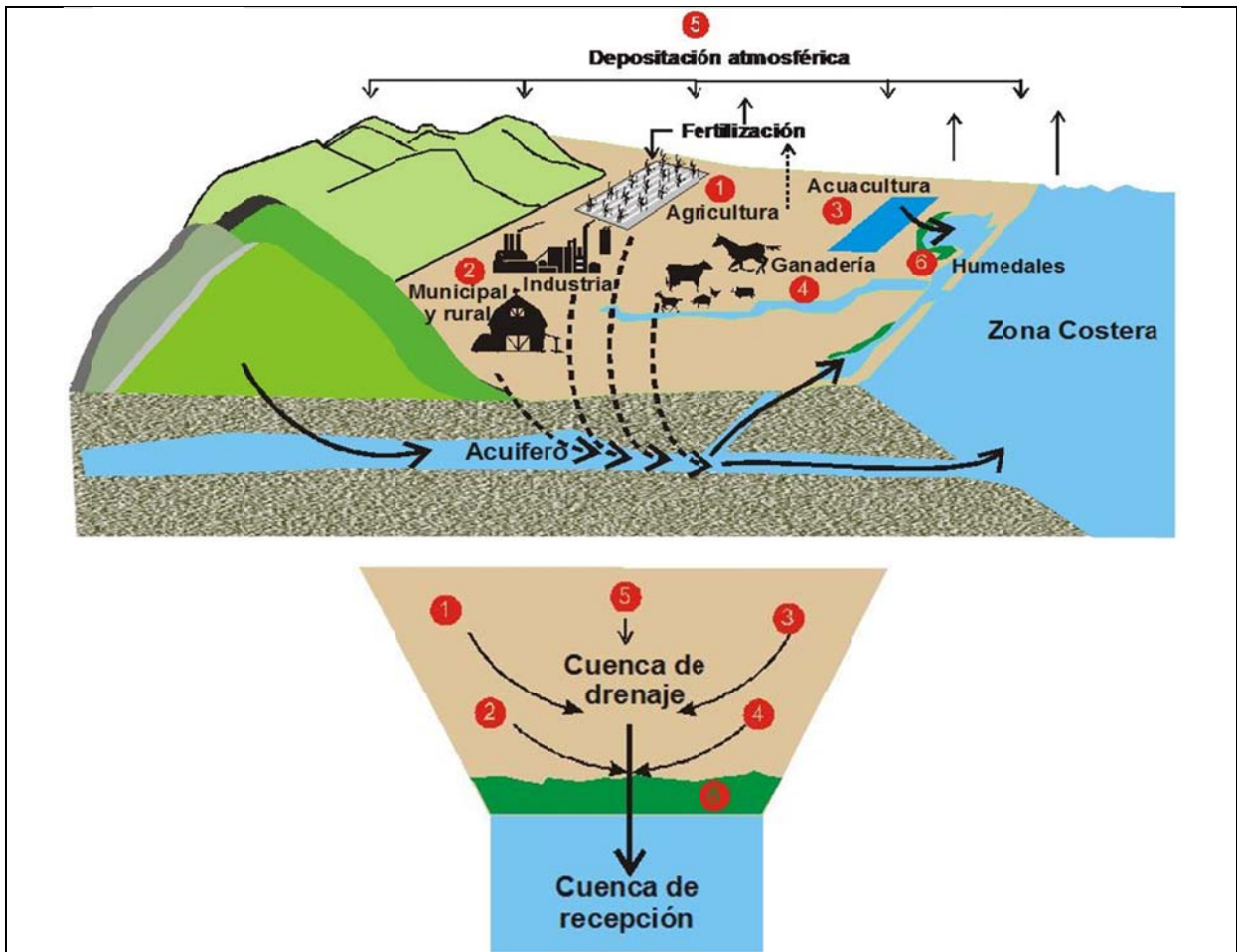


Figura 7. Representación de los elementos que componen a la cuenca hidrológica (Páez-Osuna *et al.*, 2007).

En México los puertos más importantes se han desarrollado cerca de lagunas costeras o alrededor de ellas. Sinaloa cuenta al menos con 10 sistemas o complejos lagunares que corresponden aproximadamente a 221,600 ha de área total y a 169,190 ha de espejo de agua. Tales sistemas son de gran importancia comercial y ecológica, debido a que soportan las principales pesquerías, sirven como sitios de asentamiento para puertos y proporcionan numerosos y valiosos servicios y funciones ecológicas, entre las que se encuentran el ser refugio y hábitat clave para mamíferos y miles de aves. Varios de sus ecosistemas son también áreas de crianza para numerosas especies de peces y crustáceos tanto de importancia ecológica como comercial (Páez-Osuna *et al.*, 2007); por lo que también ha sido necesaria la realización de estudios enfocados a conocer el nivel o grado de contaminación que presentan estos cuerpos de agua.

#### **1.4. El biomonitoreo**

El biomonitoreo es una estrategia científica utilizada para evaluar el medio ambiente, basada en muestreos y análisis del tejido y/o fluidos de organismos. Debido a la correlación entre el organismo seleccionado y su correspondiente espacio en que habita, esta técnica puede ofrecer directamente datos sobre los efectos potenciales y el nivel integrado de toxicidad de los contaminantes, reflejando el correspondiente grado de deterioro en el ambiente (Zhou *et al.*, 2008). Las estrategias de monitoreo pueden ser tan diversas como los problemas o necesidades a las que se dirigen los programas (NAS, 1980).

Existen tres compartimentos generales en los cuales se pueden medir los niveles de contaminantes en los hábitats costeros: el agua, los sedimentos y la biota (Phillips y Rainbow, 1994; Rainbow, 1995). Las mediciones de la mayoría de los contaminantes en la columna de agua presentan problemas analíticos y de muestreo, ya que las concentraciones son frecuentemente más bajas que los límites de detección analítica y varían a lo largo del tiempo y con el ciclo de marea, entrada de agua dulce, estación del año, etc. Los análisis en sedimentos superan algunas de esas desventajas: los contaminantes, incluidos los metales pesados, se acumulan

particularmente en sedimentos finos ricos en materia orgánica y sus concentraciones son altas, fácilmente medibles y mucho menos susceptibles a la contaminación accidental, incluso, los sedimentos ofrecen cierto grado de integración en el tiempo. Esta acumulación es afectada por las características propias de los sedimentos (textura y mineralogía) que varían geográfica y, a veces, temporalmente. La mayor desventaja de los sedimentos tiene que ver con el hecho de que al medir las concentraciones y especies de los contaminantes, no necesariamente se evalúa la disponibilidad biológica de éstos. Finalmente, los contaminantes también son acumulados por muchos organismos marinos. Sus concentraciones son fácilmente medibles y proveen una medida de integración en el tiempo que puede ser de semanas, meses o incluso años, de acuerdo a las especies analizadas; siendo una medida directa del contaminante biodisponible y así, se puede medir sin ambigüedad la fracción de relevancia directamente ecotoxicológica. Tales organismos son llamados biomonitores y se utilizan ampliamente para establecer variaciones geográficas o temporales en las concentraciones biodisponibles de contaminantes en aguas costeras y estuarinas. En cuanto a los organismos utilizados, un biomonitor ideal deberá presentar ciertas características como: ser sedentario, fácil de identificar, abundante, de vida larga, disponible para muestrear a lo largo del año, con tamaño suficiente para proveer el tejido necesario en los análisis, resistente al manejo en estudios de laboratorio o de campo, tolerante a la variación de parámetros físico-químicos y buen acumulador del contaminante en cuestión. Además, es importante tomar en cuenta aspectos como conocer la biología del organismo: su forma de alimentación, historia de vida, época de reproducción, estructura poblacional, etc. Otro aspecto importante en el biomonitoreo, es el uso de especies cosmopolitas en su distribución geográfica (Rainbow, 1995). De hecho, no es que haya un organismo correcto o incorrecto que pueda ser usado como biomonitor; sino que, la selección de tales especies debe hacerse de acuerdo al contaminante y sitio en particular que se requiere monitorear (Phillips, 2000).

Entre los grupos de organismos que destacan como biomonitores en ambientes costeros y marinos, se encuentran las macroalgas, pastos marinos, mejillones, ostiones, poliquetos y crustáceos (Rainbow y Phillips, 1993). Los moluscos bivalvos han sido utilizados para evaluar los niveles de contaminación en ecosistemas marinos, y ciertos géneros y especies, notablemente mejillones y ostiones, han sido extensamente estudiados en aguas templadas (Páez-Osuna *et al.*, 1993). Los mejillones han jugado un papel importante en el desarrollo de programas de monitoreo de metales pesados, principalmente las especies del género *Mytilus* (Rainbow, 1995), por lo que, a nivel internacional, entre 1991 y 1992 se inició el programa “Mussel Watch” (Sericano *et al.*, 1995). Aunque los mejillones son eficientes acumuladores de muchos metales, no muestran grandes cambios en las concentraciones de Zn (y en menor grado de Cu) acumuladas en sus tejidos, por lo que son considerados como reguladores parciales de estos metales. Además, no son fáciles de identificar a nivel de especie, lo que puede demeritar los resultados del monitoreo. Los ostiones representan el segundo grupo de moluscos bivalvos más ampliamente utilizado como biomonitores. Al igual que los mejillones, se alimentan del material en suspensión y están distribuidos en las aguas costeras. Pero a diferencia de los mejillones, tienen la ventaja de ser acumuladores de Zn. Las especies de ostiones comúnmente usadas para el biomonitoreo incluyen a aquellas del género *Crassostrea*, que son relativamente fáciles de identificar (Rainbow, 1995).



Figura 8. Imágenes del ostión de mangle *C. corteziensis*.

El ostión de mangle *Crassostrea corteziensis* habita en manglares pantanosos y en la zona intermareal de área bajo influencia estuarina y presenta una amplia

distribución desde el Golfo de California hasta Perú, su talla común es de 15 cm pero pueden encontrarse hasta en un máximo de 25 cm (Fig. 8; FAO, 1995). De acuerdo a la última revisión realizada en junio de 1996 (Integrated Taxonomic Information System (ITIS, 2009), la clasificación taxonómica de esta especie es la siguiente:

Reino: Animal

Filo: Mollusca

Clase: Bivalvia (Lineo, 1758)

Subclase: Pteriomorpha (Beurlen, 1944)

Orden: Ostreoida (Férussac, 1822)

Superfamilia: Ostreacea (Rafinesque, 1815)

Familia: Ostreidae (Rafinesque, 1815)

Subfamilia: Ostreinae (Rafinesque, 1815)

Género: *Crassostrea* (Sacco, 1897)

Especie: *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951)

El ostión del Pacífico o Japonés *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) es la especie de ostión más cultivada en todo el mundo, por lo que ha sido introducido en varios países, lo cual ocurrió en México en 1973. Desde entonces, el cultivo de ostiones se ha desarrollado a escala comercial (Páez-Osuna *et al.* 1995). Esta especie se cultiva también en algunas lagunas costeras que constituyen el área de estudio del presente trabajo y su clasificación taxonómica (ITIS, 2011) es:

Reino: Animal

Filo: Mollusca

Clase: Bivalvia (Lineo, 1758)

Subclase: Pteriomorpha (Beurlen, 1944)

Orden: Ostreoida (Férussac, 1822)

Superfamilia: Ostreacea (Rafinesque, 1815)

Familia: Ostreidae (Rafinesque, 1815)

Subfamilia: Ostreinae (Rafinesque, 1815)

Género: *Crassostrea* (Sacco, 1897)

Especie: *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793)

En estos sistemas, adheridos también a las raíces de los mangles, coexisten con *C. corteziensis* ostiones de la especie *Saccostrea palmula* (Carpenter, 1857), mismos que han sido incluidos en los géneros *Ostrea* y *Crassostrea* (Carriker y Gaffney, 1996). Este bivalvo presenta una de las formas más variables de la Provincia Panámica (Keen, 1971) y su clasificación taxonómica (World Register of Marine species, 2011) es la siguiente:

Reino: Animal

Filo: Mollusca

Clase: Bivalvia (Lineo, 1758)

Subclase: Pteriomorpha (Beurlen, 1944)

Orden: Ostreoida (Férussac, 1822)

Superfamilia: Ostreacea (Rafinesque, 1815)

Familia: Ostreidae (Rafinesque, 1815)

Subfamilia: Ostreinae (Rafinesque, 1815)

Género: *Saccostrea* (Dolfuss y Dautzenberg, 1920)

Especie: *Saccostrea palmula* (Carpenter, 1857)

Como se mencionó, debido a las diversas actividades realizadas en las cuencas de los sistemas lagunares, los contaminantes llegan a éstos y afectan a un gran número de organismos. Además, se han tenido pérdidas económicas en cuanto a organismos de pesca comercial, así como enfermedades en humanos. Por ello, es importante conocer la situación que prevalece en dichos ecosistemas, por lo que en el presente estudio se evaluó la contaminación causada por la presencia de cinco metales pesados (Cd, Cu, Hg, Pb y Zn), cuya selección se hizo considerando que son los metales que más frecuentemente se utilizan y, por lo tanto, los que más se desechan; además de que están entre los más tóxicos (Cd, Cu, Pb y Zn) o extremadamente tóxicos como Hg. También se evaluó la presencia de dos tipos de biotoxinas marinas (PSP y ASP), cuyos organismos productores han sido encontrados en las zonas de estudio. Tal evaluación se llevó a cabo mediante el biomonitoreo, utilizando ostiones de mangle *C. corteziensis*, en siete sistemas lagunares de Sinaloa.

## 2. ANTECEDENTES

---

### 2.1. Metales pesados en organismos de las lagunas costeras del noroeste de México

Se han realizado varios estudios en diferentes complejos lagunares de México y específicamente, en las lagunas costeras del litoral sinaloense. Reynoso-Nuno (1985) analizó las concentraciones de metales pesados (Ag, Cd, Cu, Cr, Zn, Pb, Al y Mn) en mejillones *Mytilus californianus* de la costa occidental de la península de Baja California. Los datos que obtuvieron fueron comparados con los del programa “Mussel Watch” y mostraron que las poblaciones de mejillones de Baja California presentaban, entonces, condiciones altamente prístinas, con influencia antropogénica prácticamente nula.

Páez-Osuna *et al.* (1988) investigaron el efecto de la composición de la mezcla ácida y la cantidad de muestra digerida sobre la eficiencia de la extracción de metales pesados (Cu, Cr, Co, Cd, Ni, Mn, Fe, Pb y Zn) en cuatro organismos marinos de Mazatlán, entre ellos el ostión de mangle *Crassostrea corteziensis* y encontraron un efecto importante de la mezcla ácida sobre las concentraciones de los metales analizados, las cuales correspondieron a niveles básicos naturales.

Páez-Osuna y Marmolejo-Rivas (1990) registraron la acumulación de nueve metales pesados (Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn) en *C. corteziensis* provenientes de Mazatlán y encontraron relaciones significativas entre la presencia de algunos de los metales analizados en el tejido de ostión (Cu, Cr, Ni, Pb) y sus concentraciones en el agua. Posteriormente, hicieron un estudio similar en Navachiste, en el cual, encontraron concentraciones relativamente altas de Cd y Fe. Por el contrario, los resultados de los otros metales fueron concentraciones bajas o comparables con las encontradas en análisis de ostiones de otras especies (Páez-Osuna *et al.*, 1991).

Osuna-López *et al.* (1990) analizaron metales en ostiones de mangle *C. corteziensis* en el estero de Urías y encontraron niveles bajos, comparados con sitios de la costa



Este de Estados Unidos. También encontraron diferencias estacionales en cuanto a la presencia de los diferentes metales. Frías-Espericueta *et al.* (1999) estudiaron la relación entre la presencia de metales y la madurez gonadal en ostiones de esta especie, provenientes de un estuario de Nayarit. Las concentraciones de metales también exhibieron variaciones estacionales significativas, pero sólo el manganeso mostró una correlación positiva respecto a la maduración de los organismos, lo que sugiere que este metal tiene alguna función durante la maduración gonadal. Posteriormente, Ruelas-Inzunza y Páez-Osuna (2000) compararon la biodisponibilidad de metales en 3 organismos filtroalimentadores del mismo sitio: ostiones (*C. corteziensis*), mejillones y balanos, y encontraron variaciones estacionales e inter-específicas en las concentraciones de Cd, Cu, Zn y Fe.

Olmos-Aguilera (1992) estudió la variabilidad temporal de las concentraciones de metales pesados (Cd, Cu, Zn, Mn y Al) en ostiones de cultivo *C. gigas*; encontrando bajas concentraciones y poca fluctuación en intervalos de tiempo largos (muestreos mensuales), pero altas variaciones en las concentraciones comparadas en periodos de tiempo corto (días). Debido a sus resultados, en sus conclusiones cuestiona la utilidad de estos organismos como bioindicadores.

Páez-Osuna *et al.* (2002) en un estudio extenso que abarcó varios de los sistemas lagunares del estado de Sinaloa, centro y sur de Sonora, Nayarit y Jalisco; encontraron altos niveles de plomo (de 3.6 a 7.6  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) en comparación con otras especies del mismo género en otras regiones.

Ruelas-Inzunza *et al.* (2004) determinaron los niveles de mercurio en los principales tejidos de 5 especies de camarones peneidos del sistema lagunar Altata-Ensenada del Pabellón, con el propósito de conocer su distribución y concentraciones relativas. De manera general, encontraron que en el hepatopáncreas fue donde se acumuló la mayor parte del metal, seguido del músculo y del exoesqueleto. Registraron también la secuencia de concentraciones de mercurio en las especies estudiadas.

Frías-Espéricueta *et al.* (2005) determinaron la concentración de metales pesados (Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn) en ostiones provenientes del estero de Urías, y sugieren el incremento en sus concentraciones debido a la actividad antropogénica. En Altata-Ensenada del Pabellón, Frías-Espéricueta *et al.* (2007) presentan resultados en los cuales el ostión de mangle muestra una mayor acumulación de Cd, Cu y Zn respecto a otros organismos estudiados. Posteriormente, realizaron estudios similares en un mayor número de sistemas lagunares de Sinaloa, en los cuales, encontraron que las concentraciones de Cd y Pb eran mayores a los valores indicativos de áreas contaminadas, pero concluyen, según sus datos, que sólo en el caso del Cd se podría presentar riesgos para la salud en seis de los sistemas lagunares, debido al consumo local (Frías-Espéricueta *et al.*, 2009).

## **2.2. Presencia de biotoxinas en las costas del Pacífico mexicano**

En la región del Golfo de California se cuenta con datos históricos desde 1539. Actualmente se sabe que los florecimientos algales son muy comunes en ambas costas, detectándose siete zonas de mayor frecuencia debido a su coincidencia con las zonas de surgencias: Mazatlán, Los Mochis, Topolobampo, Yavaros, Guaymas, Kino y la zona norte de la isla Ángel de la Guarda (Cortés-Altamirano, 1998, Alonso-Rodríguez y Ochoa, 2004).

En 1997 la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA) convocó a un amplio grupo de instituciones gubernamentales y de educación superior, con el fin de determinar las causas de muertes masivas de aves y mamíferos marinos que se presentaron durante el primer trimestre de ese año. Una vez realizados una serie de análisis, el grupo concluyó que dichas mortandades fueron causadas por la biotoxina marina ácido domoico que los organismos habían ingerido al alimentarse de cardúmenes de peces pelágicos menores, alimentados a su vez por plancton, donde se encontraba la diatomea *Pseudonitzschia* spp. (SEMARNAP, 1997).

Durante 2003 se realizó un estudio de un ciclo anual de toxinas paralizantes en ostiones *Crassostrea iridescens* = *Striostrea prismatica*, en el que se encontraron en

la bahía de Mazatlán niveles arriba del límite permisible (80 µg STX eq/100 g tejido) en varias fechas del año, por lo que se estableció un programa permanente de monitoreo de toxinas (Acevedo-Medina, 2006; Acevedo-Medina *et al.*, 2006).

Las saxitoxinas pueden ser transferidas al humano a través del consumo de moluscos como el ostión y la almeja. En casos extremos, producen la muerte en humanos por paro respiratorio. En 1979, en Mazatlán se presentó este tipo de envenenamiento, lo que provocó la muerte de 3 personas (Mee *et al.*, 1986) y actualmente se han detectado niveles arriba del límite permisible para consumo humano (Alonso-Rodríguez *et al.*, 2004b).

Debido a su importancia, es necesario determinar la composición de toxinas tanto en los organismos productores, como en aquellos que las bioacumulan. Por ello, Gárate-Lizárraga *et al.* (2004) describieron, por primera vez, el perfil tóxico en muestras de *G. catenatum* y de dos especies de bivalvos (ostión de piedra *Crassostrea iridescens*, y almeja catarina *Argopecten ventricosus*) de Bahía Concepción y Mazatlán; encontrando diferencias en las poblaciones del dinoflagelado en ambas localidades. Además, encontraron mayor cantidad de toxinas en los bivalvos analizados que en *G. catenatum*.

En un estudio similar, Gárate-Lizárraga *et al.* (2005) compararon los perfiles de PSP en poblaciones de tres localidades del Golfo de California y encontraron que los perfiles determinados en las bahías de Mazatlán y La Paz eran más cercanos entre sí, en comparación con los provenientes de Bahía Concepción, lo que podría ser explicado debido a que, las dos primeras son bahías abiertas; mientras que Bahía Concepción es una laguna somera y protegida. Posteriormente, en 2006 se hicieron experimentos *in vitro* con poblaciones provenientes de esas tres localidades. En este caso, se analizaron las variaciones de los perfiles de PSP durante las diferentes fases de crecimiento de *G. catenatum*. Observaron diferencias en la composición de toxinas con respecto a la edad del cultivo solamente en las muestras de Mazatlán y La Paz (Band-Schmidt *et al.*, 2006).

En las lagunas costeras, se han realizado algunos trabajos sobre la presencia de microalgas en estos cuerpos de agua. Ibargüen-Zamudio (2006), estudió la composición, variación y abundancia del fitoplancton en tres sistemas lagunares de Sinaloa. Encontró organismos formadores de mareas rojas, tales como *Prorocentrum mexicanum*, *Polykrikos kodofoidii* y *Chattonella* sp., asociados a la presencia de drenes acuícolas y descargas de aguas residuales urbanas.

Alonso-Rodríguez *et al.* (2008), hicieron un catálogo de microalgas de las lagunas costeras de Sinaloa, en el cual, enumeran a los organismos de este tipo que se han encontrado en diferentes sistemas lagunares del estado y entre ellos se encuentran especies productoras de toxinas (Tabla 4).

Tabla 4. Presencia de microalgas productoras de biotoxinas en lagunas costeras de Sinaloa (modif. de Alonso-Rodríguez *et al.*, 2008).

<b>Especie</b>	<b>Toxina</b>	<b>Laguna</b>
<i>Pseudonitzschia</i> sp.	ASP	EC, SMOT, SINM, SMLR, AEP, CEU (LI, SF)
<i>Pseudonitzschia pungens</i>	ASP	EC, SMOT, SINM, SMLR, AEP, CEU (S, LI)
<i>Gymnodinium catenatum</i>	PSP	SINM, URI (SF)
<i>Alexandrium</i> sp.	PSP	EC, SMOT, SMLR (LI, SF)
<i>Pyrodinium bahamense</i> var. <i>bahamense</i>	PSP	EC, SMOT (S)

*El Colorado, EC; Santa María-Ohuira-Topolobampo, SMOT; San Ignacio-Navachiste-Macapule, SINM; Santa María-La Reforma, SMLR; Altata-Ensenada del Pabellón, AEP; Ceuta, CEU; Urías, URI S, secas; LI, lluvias; SF, secas frías.*

García-Mendoza *et al.* (2009), analizaron una proliferación de diatomeas tóxicas del género *Pseudo-nitzschia* spp. en la bahía Todos Santos, lo cual constituyó el primer registro de la distribución de especies tóxicas de *Pseudonitzschia* y de ácido domoico (AD) en las costas orientales de Baja California.

Actualmente, no se han encontrado estudios publicados de biotoxinas realizados en las lagunas costeras de Sinaloa, aún cuando se conoce la presencia y florecimientos de microorganismos productores de toxinas del tipo PSP en estos ecosistemas. De igual forma, hay un vacío en el conocimiento acerca de la presencia de especies del género *Pseudonitzschia*, productoras de ácido domoico (toxinas tipo ASP) en las lagunas costeras que constituyen el área de estudio.

### 3. PROBLEMA

---

En Sinaloa existen diez sistemas lagunares costeros, en los que el desarrollo de diversas actividades y la urbanización de zonas aledañas están asociados a la contaminación. Un tipo de contaminantes que se presenta con mayor frecuencia son los metales pesados; además de la presencia de microalgas potencialmente tóxicas productoras de biotoxinas marinas. Sin embargo, no existe un trabajo comparativo reciente sobre estos contaminantes que incluya a los complejos lagunares y que permita diagnosticar el estado actual de los mismos. Por lo que este trabajo pretende evaluar los niveles de metales pesados (Cd, Cu, Hg, Pb y Zn) y biotoxinas marinas (amnésicas y paralizantes), mediante el biomonitoreo de ostiones recolectados en siete sistemas lagunares.

#### 4. HIPÓTESIS

---

(1) Considerando las descargas fluviales y los efluentes pluviales, se espera encontrar diferencias en las concentraciones de metales pesados en los ostiones de los sistemas lagunares de Sinaloa, determinándose las mayores concentraciones durante la temporada de lluvias, debido a los aportes desde la cuenca de drenaje.

(2) Dadas las diversas actividades que se realizan en las zonas aledañas a las lagunas costeras de Sinaloa (e.g. pesquerías, agricultura, ganadería, acuacultura y turismo), se espera encontrar diferencias en las concentraciones de metales pesados en los ostiones de los sistemas lagunares, determinándose las mayores concentraciones en los sistemas donde se presentan un mayor número e intensidad de tales actividades.

(3) Además de estos dos factores, la concentración de metales pesados en los ostiones depende también de las concentraciones de estos metales en las aguas a las que se exponen, que a su vez, va a depender de la tasa de dilución y tasa de renovación de las aguas de cada sistema lagunar.

(4) Dado que en las cuencas de drenaje y zonas aledañas a las lagunas costeras de Sinaloa se realizan actividades como la agricultura, ganadería y acuacultura, las cuales generan grandes cantidades de nutrientes, se tienen condiciones que favorecen la presencia de organismos productores de biotoxinas. Estos compuestos al ser filtrados, son acumulados por los ostiones de los sistemas lagunares, por lo que se espera detectar toxinas paralizantes y amnésicas en la época de mayor abundancia de las microalgas productoras (invierno-primavera), la cual corresponde a los muestreos de la temporada de secas.

## 5. OBJETIVOS

---

### 5.1. Objetivo general

Evaluar la contaminación por metales pesados y biotoxinas marinas mediante el análisis del tejido blando de ostiones de mangle *Crassostrea corteziensis*, recolectados en treinta estaciones selectas de siete sistemas lagunares de Sinaloa para las épocas de secas y de lluvias.

### 5.2. Objetivos específicos

- (1) Determinar las concentraciones de cadmio, cobre, mercurio, plomo y zinc, mediante espectrofotometría de absorción atómica (horno de grafito, flama y generación de vapor en frío) en tejido blando de ostiones recolectados en treinta estaciones selectas de siete sistemas lagunares de Sinaloa para las épocas de secas y lluvias.
- (2) Detectar la presencia y analizar las concentraciones así como los perfiles de toxinas paralizantes mediante cromatografía líquida de alta resolución, con detección de fluorescencia (HPLC-FD).
- (3) Detectar la presencia y analizar las concentraciones de toxinas amnésicas mediante cromatografía líquida de alta resolución, con detección ultravioleta (HPLC-UV).
- (4) Comparar los niveles encontrados de los grupos de contaminantes con los límites que señalan las normas nacionales e internacionales.
- (5) Realizar un análisis comparativo de los resultados por época climática y por estación de muestreo en cada sistema lagunar con objeto de categorizar los diferentes sistemas lagunares, así como para identificar sitios críticos y sitios con baja o nula contaminación.

## 6. AREA DE ESTUDIO

Sinaloa se ubica entre los 27°02' – 22°29' N y 105°23' – 109°28' O, cuenta con una superficie de 58, 092 Km<sup>2</sup> y 640 Km de línea de costa (INE-SEMARNAT, 2000), así como 221,600 ha de lagunas costeras. En su planicie costera se presentan 11 ríos y 242 arroyos de flujo temporal que en conjunto transportan un promedio de 15,200,000 m<sup>3</sup> anuales. Entre las actividades antropogénicas que se desarrollan en el estado de Sinaloa y que aportan contaminantes e impactan a los ecosistemas terrestres y acuáticos, sobresalen la agricultura, ganadería, acuicultura, pesca, minería, turismo y asentamientos humanos (Tabla 5).

*Tabla 5. Características generales de algunos sistemas lagunares de Sinaloa (modif. de Páez-Osuna et al., 2000; 2007).*

<b>Sistema Lagunar</b>	<b>Localización</b>	<b>Descripción del sitio y sus alrededores</b>
EC	25°39' - 25°47' N; 109°16' - 109°24' O	Pesquerías, agricultura intensiva, drenaje urbano, descargas del río Fuerte
SMOT	25°32' - 25°36' N; 108°50' - 109°15' O	Pesquerías, agricultura intensiva, industria, drenaje urbano
SINM	25°22' - 25°35' N; 109°05' - 108°45' O	Pesquerías, granjas de camarón, agricultura
SMLR	25°20' - 24°40' N; 107°27' - 108°00' O	Pesquerías, granjas de camarón, agricultura
AEP	24°18' - 24°40' N; 107°27' - 108°00' O	Pesquerías, granjas de camarón, agricultura intensiva, drenaje urbano, descargas del río Culiacán
CEU	24°00' - 24°15' N; 107°05' - 107°27' O	Pesquerías, granjas de camarón, agricultura, comunidades rurales
URI	23°09' - 23°12' N; 106°18' - 106°25' O	Pesquerías, granjas de camarón, industrias, drenaje urbano, planta termoeléctrica
ST	21°33'53.3"N; 105°19'57.1"O	Reducida actividad antropogénica, huertos de frutas tropicales y comunidades rurales

*El Colorado (EC), Santa María-Ohuira-Topolobampo (SMOT), San Ignacio-Navachiste-El Macapule (SINM), Santa María-La Reforma (SMLR), Altata-Ensenada del Pabellón (AEP), Ceuta (CEU), Urías (URI), Sitio Testigo (ST; Estero del Rey, San Blas, Nayarit).*

La agricultura en los últimos años representa una producción de alrededor de 9.4 millones de toneladas que se cosechan de la siembra de cerca de 1.25 millones de ha; los principales productos de acuerdo a la superficie dedicada al cultivo, son: maíz, sorgo, frijol, garbanzo, trigo, cártamo, algodón, tomate, chile verde, papa,



pastos y caña de azúcar. En cuanto a la ganadería, en sus diversas modalidades está representada aproximadamente -por ejemplo para el 2006- por una existencia entre las diferentes especies de 1'600,000 bovinos, 166,900 porcinos, 227,700 ovinos, 58,700 caballos, 62,800 mulas y asnos, 83'837,500 pollos de engorda, 73,300 guajolotes, patos y gansos, y 2'981,500 aves de pastura. La acuicultura es predominantemente de cultivo de camarón, por ejemplo en 2007, se sembraron cerca de 41,000 ha y se cosecharon 33,400 ton de camarón. En este estado, la pesca es una de las más desarrolladas del país, la flota pesquera camaronera está integrada por alrededor de 670 embarcaciones mayores. Sinaloa posee el primer lugar en ingreso de divisas por productos pesqueros y contribuye con el 33 % de camarón, 32 % del atún, y 9 % de la sardina de la producción nacional. La minería en el estado de Sinaloa se remonta hacia mediados del siglo XVI. Durante más de 200 años, la técnica de beneficio empleada fue el amalgamamiento con mercurio y a partir de 1902 se cambió por el método de cianuración. La producción anual del estado en el año 2005 fue de 740 Kg de oro, 6,600 Kg de plata y 41 ton de plomo. La red hotelera de Sinaloa en 2005 estaba constituida por 329 establecimientos con 15,500 habitaciones y dicha infraestructura sigue en crecimiento. Más de la mitad de los hoteles son clasificados de 4 y 5 estrellas. El principal centro turístico es Mazatlán con 1'500,000 visitantes hospedados en 2009 (Green-Ruíz *et al.*, 2009).

En el presente estudio, se incluyen siete de los diez sistemas lagunares del litoral sinaloense (Fig. 9).

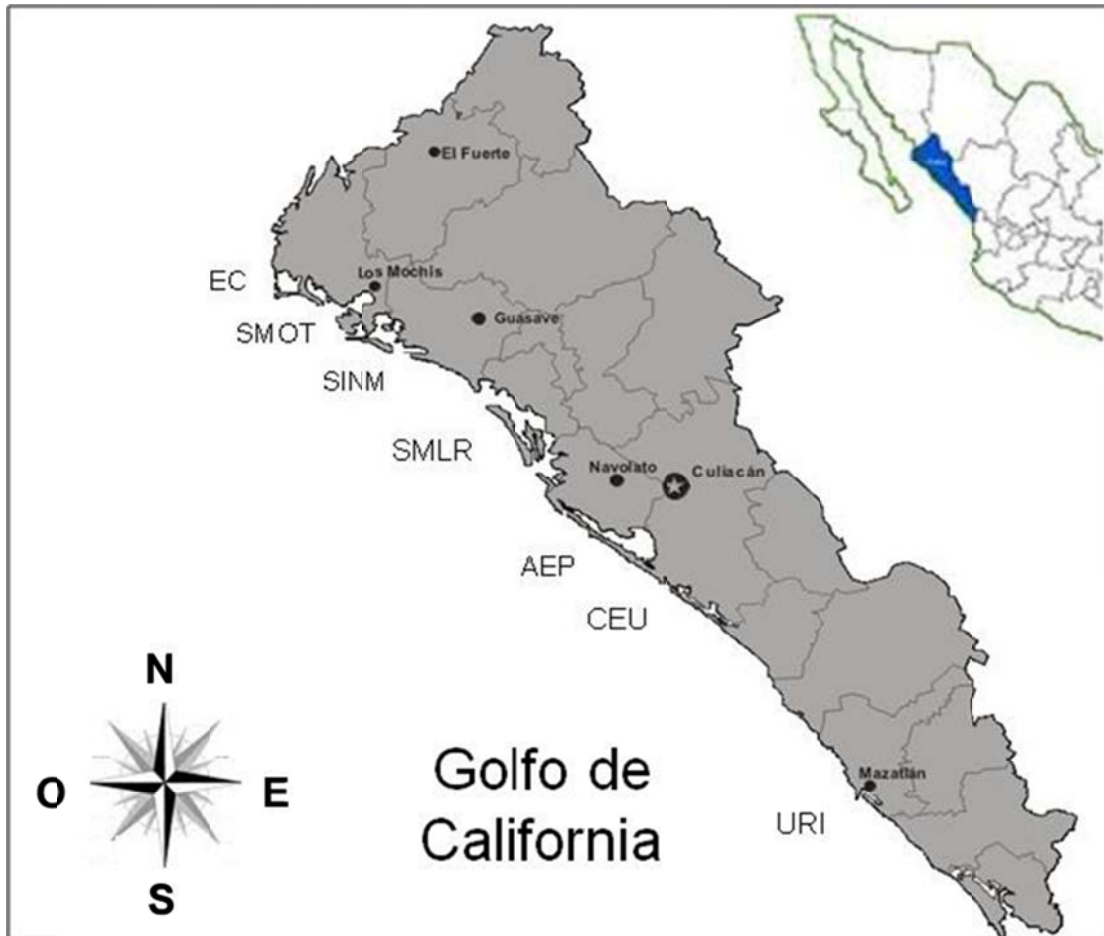


Figura 9. Localización de los sistemas lagunares. El Colorado (EC), Santa María-Ohuira-Topolobampo (SMOT), San Ignacio-Navachiste-Macapule (SINM), Santa María-La Reforma (SMLR), Altata-Ensenada del Pabellón (AEP), Ceuta (CEU) y Urías (URI). También se recolectaron muestras de un sitio testigo (ST) localizado en el Estero del Rey, San Blas, Nayarit.

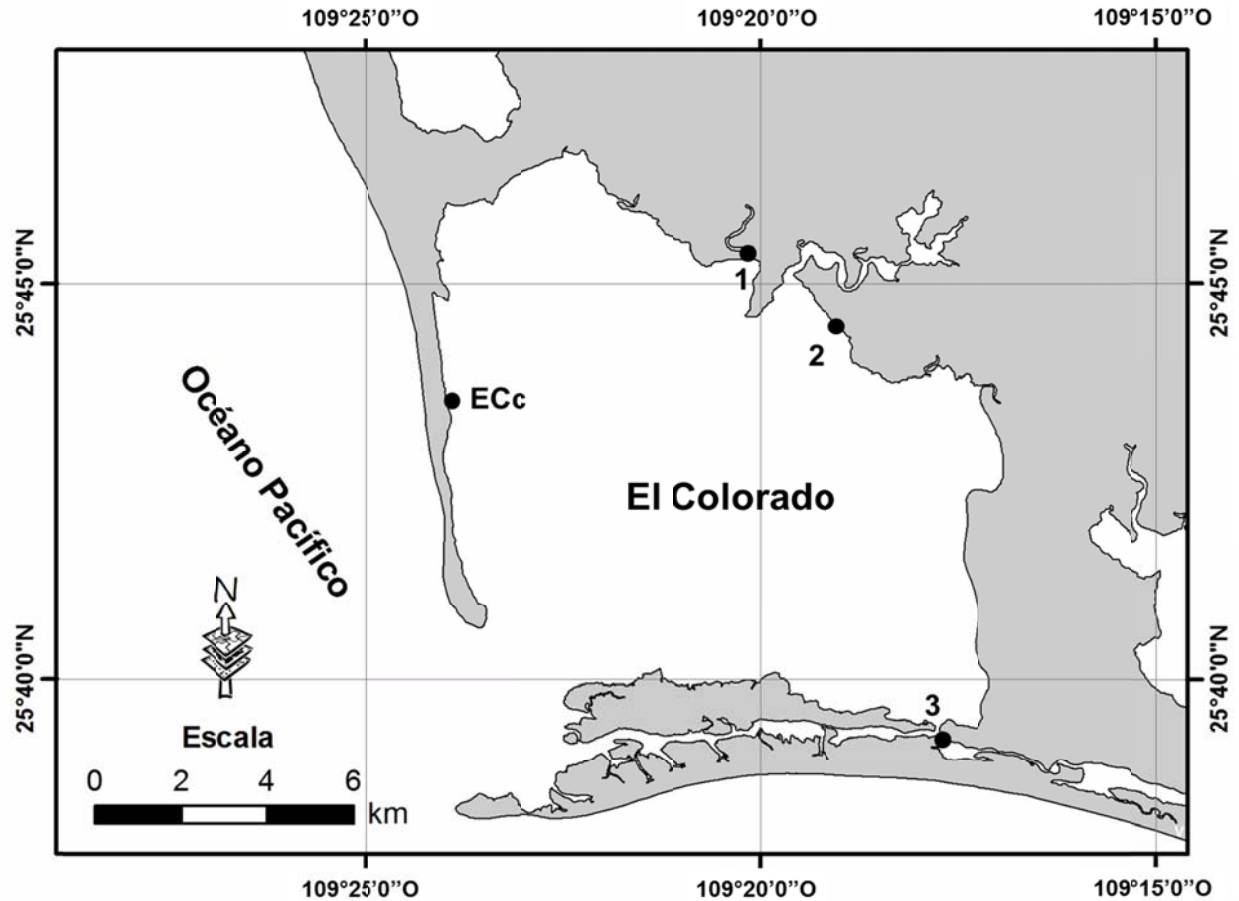


Figura 10. Localización de los sitios de muestreo de ostiones silvestres (1, 2, 3) y de cultivo (ECc), en la laguna El Colorado.

### 6.1. El Colorado (EC)

La laguna EC (Fig. 10) es un sistema lagunar de tipo II-A de sedimentación terrígena diferencial, constituido por depresiones marginales e intra-deltáicas con barreras arenosas que sufren rápidas modificaciones en su forma y batimetría (Lankford, 1977). Es un sistema somero con profundidades de 1 a 2 m, solamente en la boca o cerca de esta se tienen profundidades de 10 y hasta 15 m por donde corren los canales de marea. El espejo de agua ocupa un área aproximada de 14,000 ha. En dicha sub-cuenca se desarrolla uno de los sistemas de agricultura de riego más desarrollados del país (Páez-Osuna *et al.*, 2007).

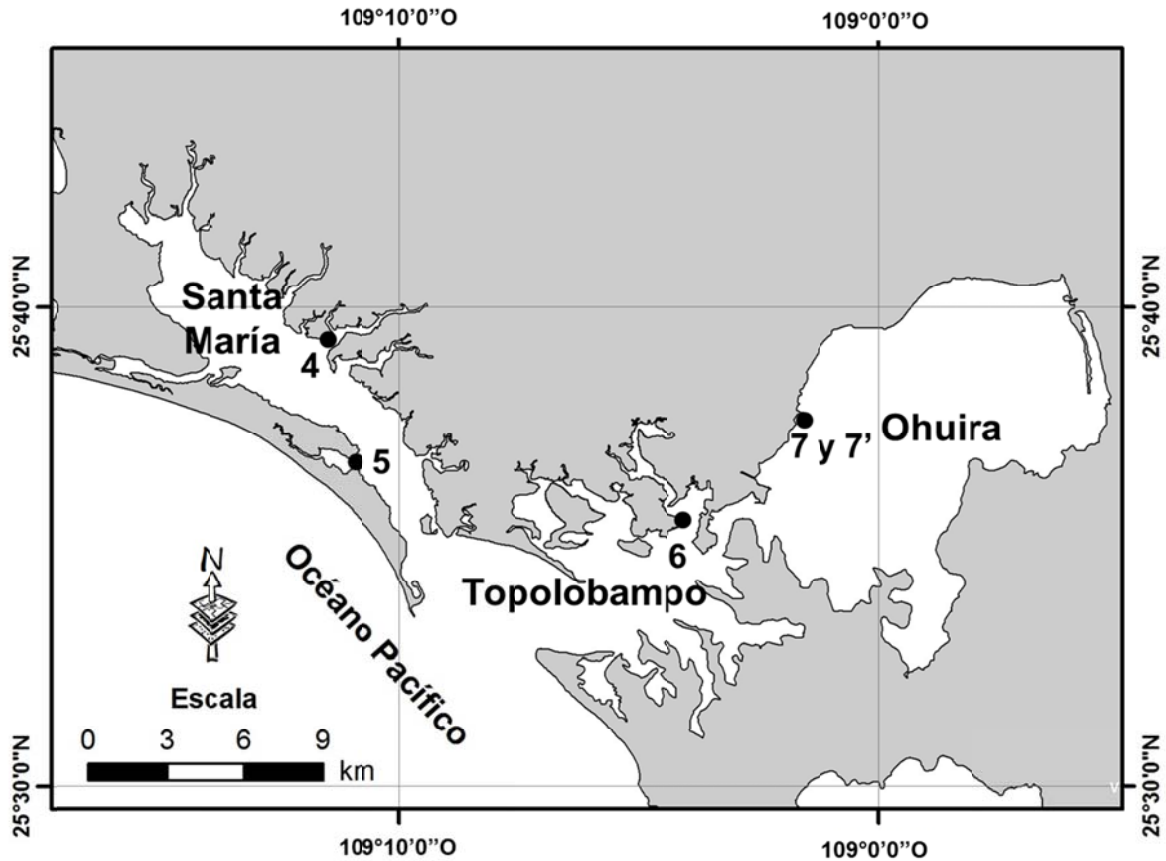


Figura 11. Localización de los sitios de muestreo de ostiones silvestres (4, 5, 6, 7, 7'), en el sistema lagunar Santa María-Ohuira-Topolobampo.

## 6.2. Santa María-Ohuira-Topolobampo (SMOT)

El sistema lagunar SMOT (Fig. 11) se clasifica como del tipo I-C y II-A o de erosión diferencial/ valle inundado con barrera y sedimentación terrígena diferencial/ depresión intra-deltáica y marginal, respectivamente (Lankford, 1977). La superficie que cubre este complejo es de 6,000 ha para la bahía de Topolobampo y 9,000 ha para la bahía de Ohuira y un total aproximado de 20,000 ha, incluidos los esteros asociados (Páez-Osuna *et al.*, 2007).

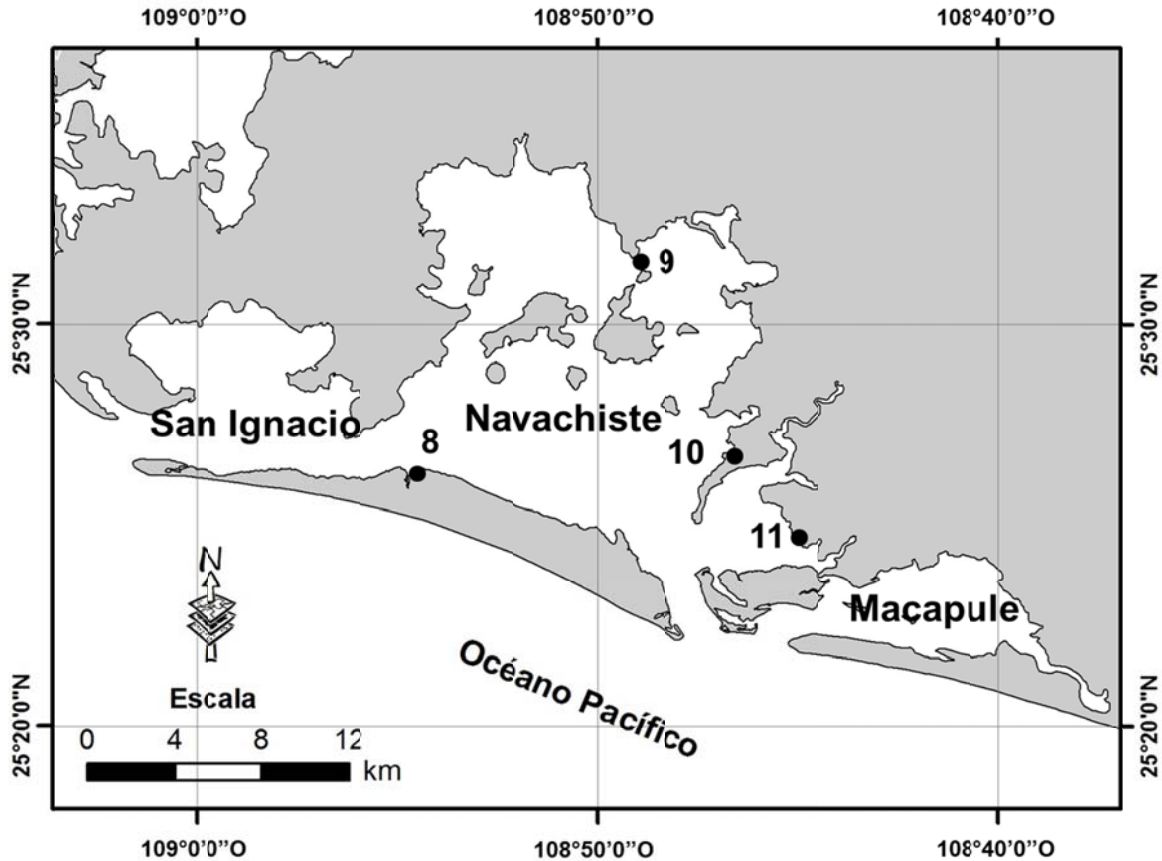


Figura 12. Localización de los sitios de muestreo de ostiones silvestres (8, 9, 10, 11), en el sistema lagunar San Ignacio-Navachiste-Macapule.

### 6.3. San Ignacio-Navachiste-Macapule (SINM)

El sistema SINM (Fig. 12) se ubica entre los 25°22' y 25°35' latitud norte y 109°05' y 108°45' longitud oeste, entre los municipios de Ahome y Guasave y comprende principalmente la bahía de Navachiste. El área de este sistema es de aproximadamente 26,000 ha y está clasificado por Lankford (1977) como plataforma de barrera interna (tipo III-A) con boca permanente y con orientación semi-paralela a la costa. Está separado del mar por la isla de San Ignacio y tiene dos bocas de comunicación con mar denominadas Macapule y Vinorama, que permiten que en el sistema prevalezca el ambiente marino durante casi todo el año (Meza-Guerrero, 2007). Es un cuerpo receptor de las aguas residuales provenientes de la zona agrícola adyacente, de los aportes del río Sinaloa, así como de los efluentes urbanos e industriales. En sus zonas aledañas se han construido alrededor del 40 % de las granjas camaroneras del estado (Páez-Osuna *et al.*, 2007).

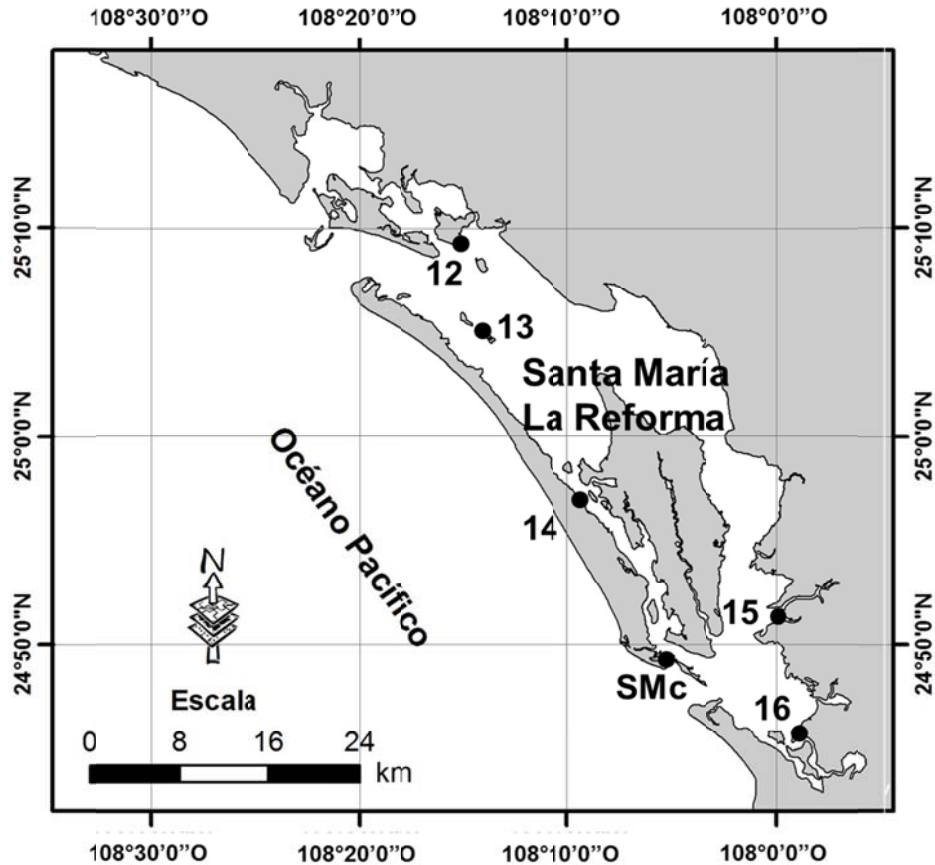


Figura 13. Localización de los sitios de muestreo de ostiones silvestres (12, 13, 14, 15, 16) y de cultivo (SMc), en el sistema lagunar Santa María-La Reforma.

#### 6.4. Santa María-La Reforma (SMLR)

El Sistema lagunar SMLR (Fig. 13) se encuentra ubicada en la parte central del Sinaloa, entre los 25°15' y 24°42' de latitud norte y los 107°53' y 108°26' de longitud oeste, es el más grande del estado, cuyo espejo de agua cubre una extensión aproximada de 51,000 ha y es uno de los más importantes sistemas por su gran diversidad de flora y fauna silvestre (Meza-Guerrero, 2007). Su clasificación, de acuerdo a Lankford (1977), es del tipo III-A y III-C o plataforma de barrera interna con boca permanente y con orientación semi-paralela a la costa. Las principales actividades económicas registradas para este sistema y sus inmediaciones son la pesca, la agricultura, la camaronicultura y actividades cinegéticas. A partir del año 2004, recibe los escurrimientos de la planta de tratamiento de aguas residuales del municipio de Culiacán (Páez-Osuna *et al.*, 2007).

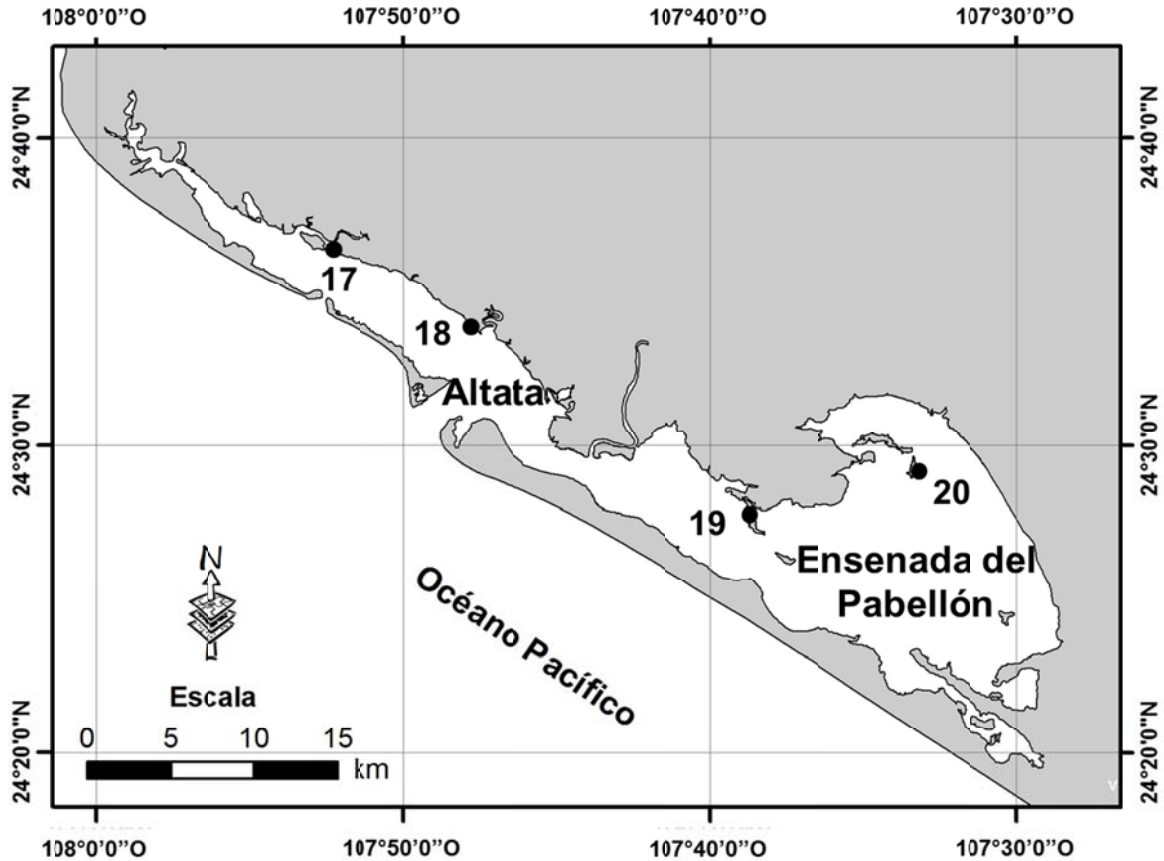


Figura 14. Localización de los sitios de muestreo de ostiones silvestres (17, 18, 19, 20), en el sistema lagunar Altata-Ensenada del Pabellón.

### 6.5. Altata-Ensenada del Pabellón (AEP)

El sistema lagunar AEP (Fig. 14) tiene una superficie aproximada total de 23,000 ha y se clasifica como tipo III A o plataforma de barrera interna (Lankford, 1977). Se localiza en la región central del litoral sinaloense, a 45 km al suroeste de Culiacán, entre los 24°19' y 24°40' de latitud norte y los 107°58' a 107°28' de longitud oeste. Administrativamente, se encuentra bajo la jurisdicción de los municipios de Culiacán y Navolato. La laguna de Ensenada del Pabellón (EP) cubre una superficie de 13,400 ha y la bahía de Altata cuenta con 8,800 ha. En EP desemboca el río Culiacán, cuyo estuario constituye una separación efectiva entre los dos subsistemas. En AEP se encuentran varias islas de baja altura, constituidas por depósitos de limo y de arena y en las áreas someras es frecuente la presencia de bosques de manglar. Las principales actividades que se practican en esta región son la agricultura, la pesca y la acuicultura (Páez-Osuna *et al.*, 2007).

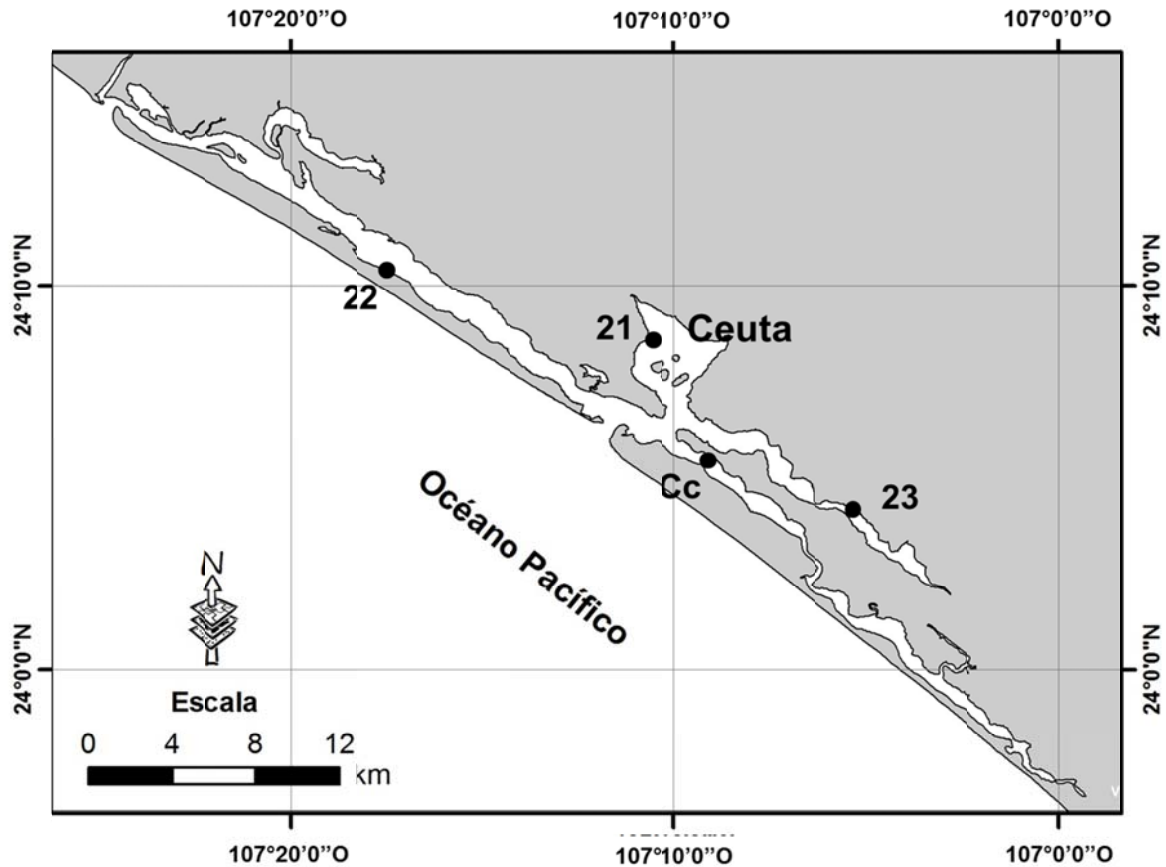


Figura 15. Localización de los sitios de muestreo de ostiones silvestres (21, 22, 23) y de cultivo (Cc), en la laguna de Ceuta.

## 6.6. Ceuta (CEU)

La Bahía de Ceuta (Fig. 15) o Ensenada de Quevedo, se ubica entre los 24° 00' y 24° 15' latitud Norte y los 107° 05' y 107° 27' longitud Oeste (INP, 2000), cuya forma y batimetría son modificadas por la acción de las mareas y presenta una energía relativamente baja. Tiene una extensión de 7,000 ha aproximadamente y está clasificada, de acuerdo a Lankford (1977), como una laguna del tipo III A o plataforma de barrera interna. En los alrededores de este sistema se desarrollan principalmente actividades de tipo agrícola, pecuario y acuícola (Páez-Osuna *et al.*, 2007). Se comunica con el Océano Pacífico por la boca del río San Lorenzo en la parte norte del sistema, que en su parte sur está delimitado por el río Elota. El sistema presenta una segunda boca llamada La Ensenada de 500 m de ancho y de origen artificial (Bañuelos-Vargas, 2007).



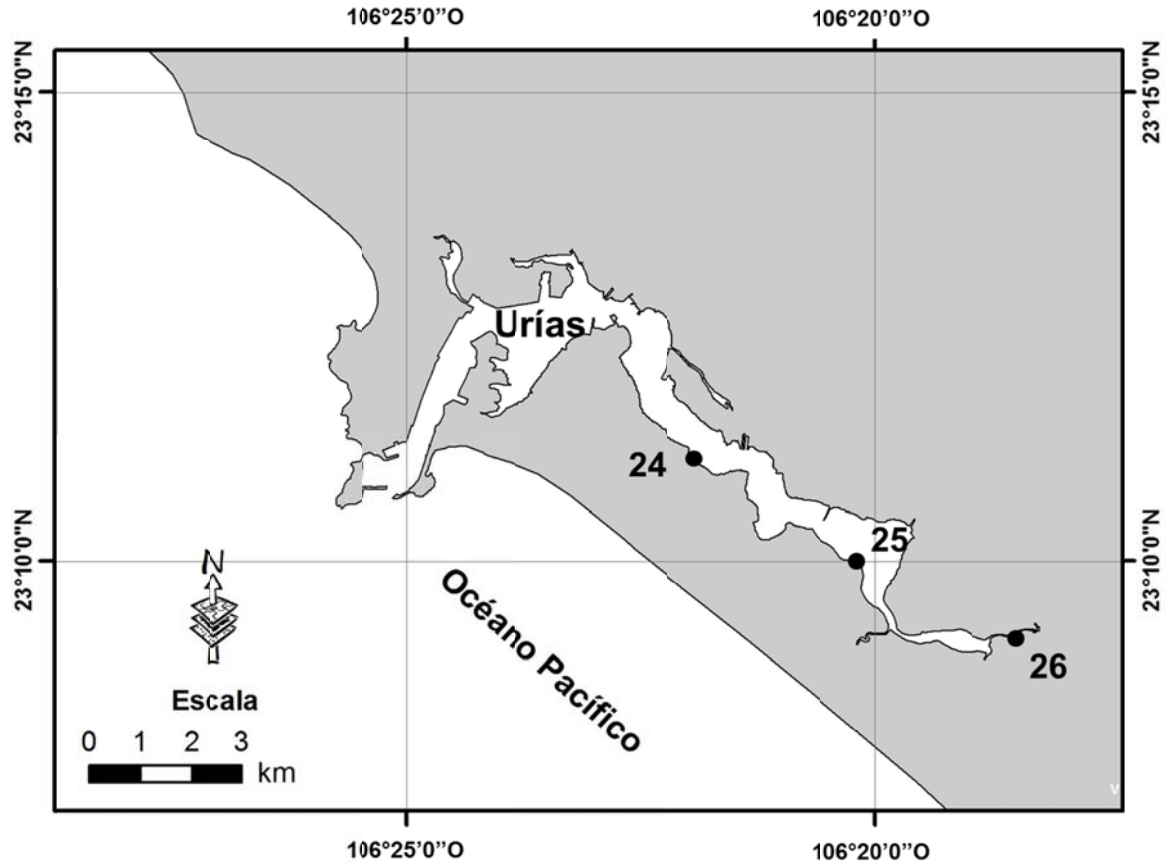


Figura 16. Localización de los sitios de muestreo de ostiones silvestres (24, 25, 26), en el estero de Uriás.

### 6.7. Uriás (URI)

El estero de URI (Fig. 16) se ubica entre los 23°10'36" y 23°13'00" latitud Norte y los 106°20' 00" y 106°25'35" de longitud Oeste, su superficie aproximada es de 1,800 ha, cuyo espejo de agua es de 1280 ha y presenta características de una laguna costera, ya que la boca está permanentemente abierta y orientada casi paralelamente a la costa (Phleger 1969). Lankford (1977) clasifica a este cuerpo de agua como laguna costera Tipo III B de plataforma interna con barrera. Es el sistema más urbanizado de Sinaloa y uno de los más impactados. Sobre su extremo norte-occidental se localiza la ciudad y puerto de Mazatlán, que cuenta con desarrollos industriales, las flotas camaronera y atunera más importantes del país, la termoeléctrica José A. Pozos y tres granjas de camarón (Páez-Osuna *et al.*, 2007).

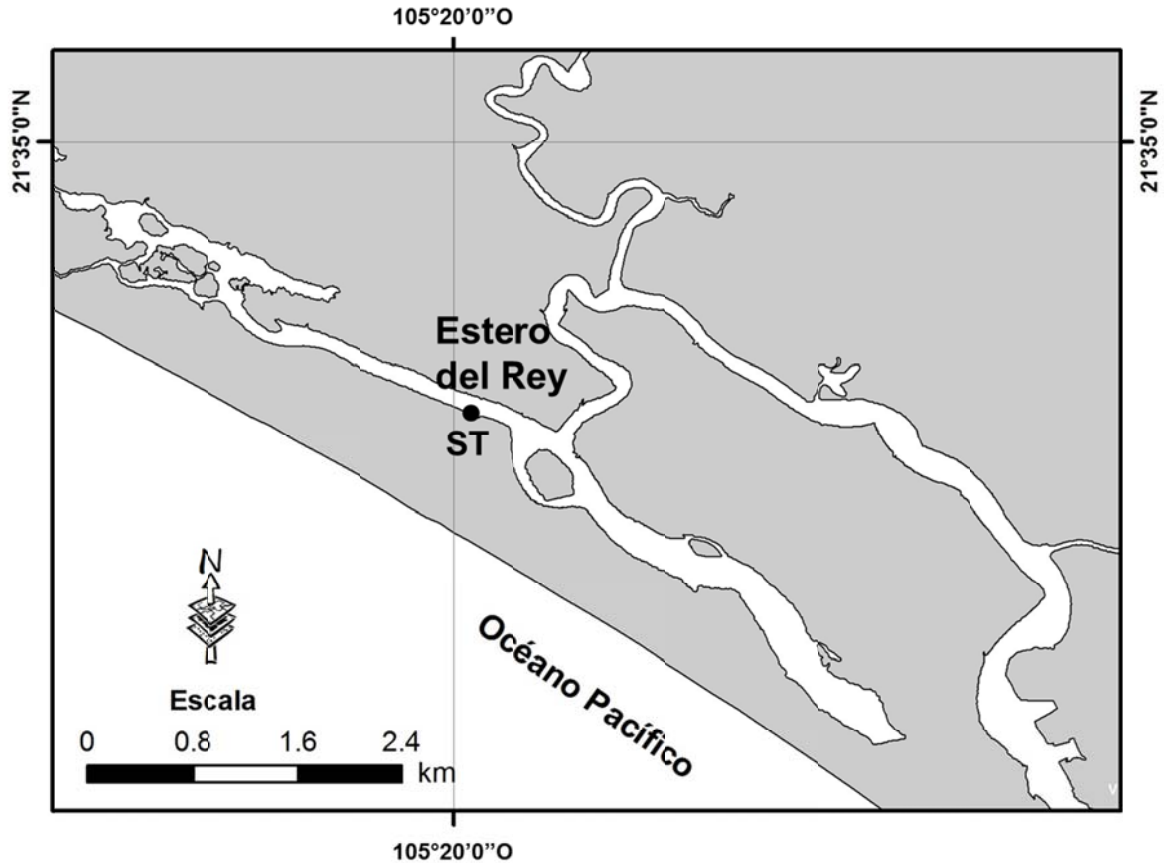


Figura 17. Localización del sitio testigo (ST), en el Estero del Rey, San Blas, Nayarit.

### 6.8. Sitio testigo (ST)

El ST está ubicado en el Estero del Rey (Fig. 17), en el sistema estuarino de San Blas, Nayarit, el cual se sitúa dentro de las regiones hidrológicas Lerma-Santiago y Huicicila, en la provincia fisiográfica de la Llanura Costera del Pacífico, en la subprovincia del delta del Río Grande Santiago. El sistema está constituido por los esteros Boca Cegada, del Pozo, Rey (ST) y San Cristóbal, así como por los cuerpos de agua dulce La Tobara, La Aguada y la Atascada, además de incluir las marismas La Tigra, Zoquipa y la Chayota. Entre sus principales tipos de vegetación se encuentran manglares, selva baja caducifolia, selva mediana sub-caducifolia, vegetación halófila y popal. La mayoría de los asentamientos humanos en el área corresponden a comunidades rurales que se caracterizan por una reducida actividad antropogénica, con excepción de San Blás, con alrededor de 50,000 habitantes (Frías-Espéricueta *et al.*, 1999; Berlanga-Robles y Ruíz-Luna, 2006). El clima es cálido-húmedo con régimen de lluvias de junio a octubre que reporta una

precipitación promedio anual de 1,316 mm. La temperatura promedio anual es de 25.6°C y la dirección de los vientos es moderada del sureste al noroeste (Enciclopedia de los municipios de México, 2009).

El número de estaciones de muestreo en cada uno de estos sistemas, se eligió de acuerdo al área de cada laguna o sistema lagunar (espejo de agua), así como a su forma y las actividades que se realizan en la correspondiente cuenca aledaña. Además se consideró la distribución de las zonas de manglar y la disponibilidad de ostiones en tales zonas. Adicionalmente, se obtuvieron seis muestras de ostiones de cultivo de la especie *C. gigas* y dos muestras de *C. corteziensis* (duplicados de 25 organismos) recolectadas de cuatro de las lagunas costeras que comprenden el área de estudio: EC, SMLR, ALT y CEU (Fig. 18).

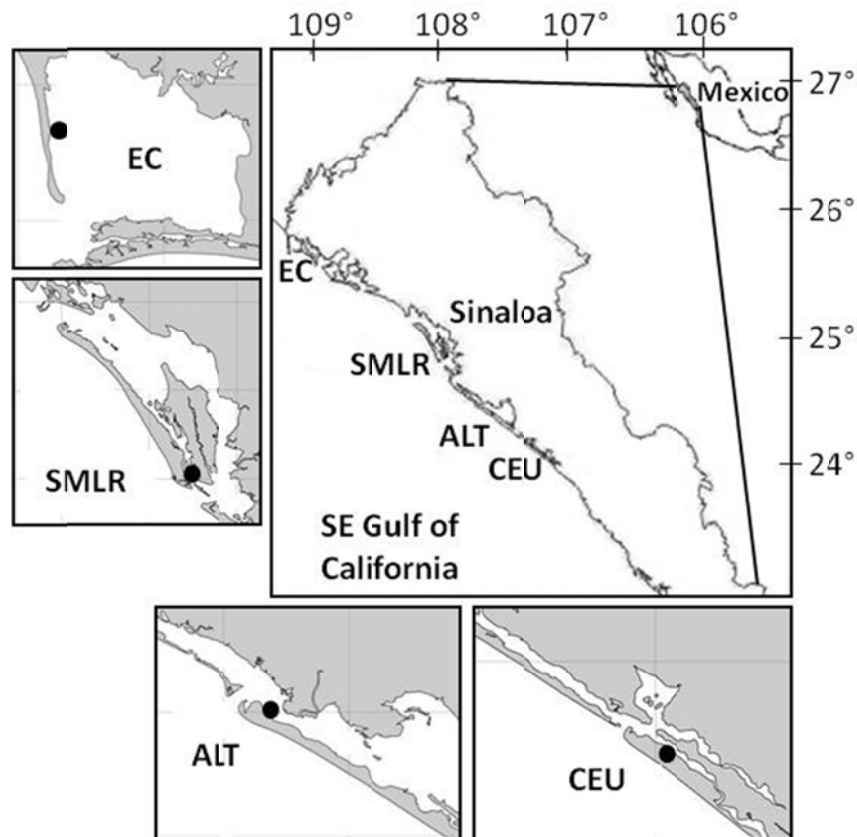


Figura 18. Lagunas costeras de Sinaloa en donde se recolectaron los ostiones de cultivo. El punto (círculo relleno) indica la posición aproximada de las granjas.

## 7. MATERIALES Y METODOS

### 7.1. Muestreos

Se llevaron a cabo dos campañas de muestreo, la primera en el mes de octubre (temporada de lluvias, 2008) y la segunda en los meses de abril y mayo (temporada de secas o estiaje, 2009; Tabla 6).

*Tabla 6. Localización de los sitios y fechas de muestreo.*

Sistema lagunar	Fechas de muestreo		Clave de estación	Localización (Coordenadas)
	Lluvias	Secas		
EC	9-oct-2008	16-abr-2009	EC1	25°45'25.1"N; 109°20'12.6"O
			EC2	25°44'29.2"N; 109°19'00.8"O
			EC3	25°39'16.7"N; 109°17'45.1"O
			ECc	25°43'37.9"N; 109°23'53.4"O
SMOT	9-oct-2008	16-abr-2009	SMOT4	25°39'33.2"N; 109°11'20.5"O
			SMOT5	25°36'50.2"N; 109°11'00.8"O
			SMOT6	25°35'37.1"N; 109°04'14.3"O
			SMOT7, 7'	25°37'38.7"N; 109°01'45.8"O
SINM	10-oct-2008	17-abr-2009	SINM8	25°26'23.6"N; 108°54'35.9"O
			SINM9	25°31'36.7"N; 108°49'06.7"O
			SINM10	25°26'31.6"N; 108°46'49.3"O
			SINM11	25°24'43.8"N; 108°45'01.4"O
			SMLR12	25°09'22.4"N; 108°15'12.9"O
SMLR	16-oct-2008	23-abr-2009	SMLR13	25°05'13.5"N; 108°14'09.5"O
			SMLR14	24°49'33.6"N; 108°05'27.0"O
			SMLR15	24°51'26.7"N; 108°00'12.5"O
			SMLR16	24°45'54.7"N; 107°59'04.5"O
			SMLRc	24°49'33.6"N; 108°05'27.0"O
AEP	17-oct-2008	24-abr-2009	AEP17	24°36'31.2"N; 107°52'31.8"O
			AEP18	24°34'17.2"N; 107°48'11.0"O
			AEP19	24°27'56.2"N; 107°38'55.4"O
			AEP20	24°28'32.9"N; 107°32'09.2"O
CEU	23-oct-2008	30-abr-2009	AEPc	24°28'29.3"N; 107°48'20.0"O
			CEU21	24°08'39.0"N; 107°10'43.0"O
			CEU22	24°10'15.9"N; 107°17'14.1"O
			CEU23	24°04'11.6"N; 107°05'25.7"O
URI	28-oct-2008	8-may-2009	CCg, CCc	24°05'31.9"N; 107°09'13.7"O
			URI24	23°11'05.3"N; 106°21'58.5"O
			URI25	23°09'57.0"N; 106°20'09.3"O
ST	2-oct-2008	16-may-2009	URI26	23°09'11.9"N; 106°18'37.7"O
			ST	21°33'53.3"N; 105°19'57.1"O

c, ostiones de cultivo *C. corteziensis*; g, ostiones de cultivo *C. gigas*.

Se recolectaron de forma manual muestras representativas de ostiones de mangle *Crassostrea corteziensis* (dos réplicas de 25 individuos c/u) de tallas dentro del intervalo de 4 a 6 cm de longitud en las estaciones de las lagunas costeras elegidas (Permiso de Pesca de Fomento No. DGOPA. 11686.291008.3083). Cada localidad, dependiendo del tamaño, fue representada por un total de entre 3 a 6 estaciones. Los organismos se lavaron con agua de la boca de la misma laguna donde fueron recolectados y se dejaron en depuración durante un tiempo de entre 24 y 36 horas, para eliminar la contaminación potencial proveniente de sus branquias y tracto intestinal. Por otra parte, además de los ostiones recolectados en las raíces de mangle, también se recolectaron ostiones de cultivo *C. gigas* y *C. corteziensis* (esta especie sólo se encontró en cultivo en la laguna de Ceuta) en las lagunas donde había granjas de estos organismos, que presentaron tallas y pesos mayores y se analizan por separado en la sección correspondiente. En cada sitio de muestreo se registraron la salinidad (refractómetro portátil Shimadzu 2000C) y la temperatura (termómetro de inmersión Brannan). Además, se registraron las coordenadas de cada sitio, mediante un equipo GPS portátil (Magellan Explorist 200).

## **7.2. Preparación de los organismos y biometrías**

En el laboratorio, los ostiones se separaron y se lavaron con agua corriente y cepillo para eliminar el sedimento, conchas adheridas, epifauna y restos de mangle. Se seleccionaron y separaron los organismos con base a su talla, incluyendo siempre que fue posible individuos de entre 40 y 60 mm de longitud. Posteriormente, se registraron la talla (mm) y peso total (g), así como el peso del tejido blando (g) de cada organismo. Además, a partir de estos datos se obtuvo el índice de condición (IC) de los ostiones muestreados, el cual fue determinado de acuerdo a Walne y Mann (1975):  $IC = (\text{peso seco del tejido blando (g)} \times 1000) / \text{peso seco de la concha (g)}$ . Los datos procedentes de estas biometrías, así como los datos de campo (salinidad, temperatura), fueron analizados a fin de integrar de una mejor forma la información sobre las concentraciones de metales pesados y biotoxinas marinas y relacionarla con tales factores bióticos y abióticos. Las muestras compuestas por el tejido blando de cada grupo de 25 ostiones fueron homogenizadas, congeladas y

posteriormente, liofilizadas durante 72 horas (Labconco, -43 °C y 200x10<sup>-3</sup>mBar). Después de la liofilización, se molió el tejido en un mortero de ágata. Una alícuota del tejido homogenizado de cada muestra se mantuvo en congelación sin liofilizar. Estas alícuotas se utilizaron para el análisis de toxinas amnésicas. También se calculó el porcentaje de humedad del tejido blando de los ostiones, mediante la comparación del peso fresco de las muestras compuestas por los 25 organismos antes y después de liofilizarlas.

### 7.3. Análisis de ADN

Durante la recolección de los ostiones, se seleccionaron organismos de tallas similares de las raíces de mangle, pero se encontraron ostiones con ciertas diferencias en la forma de sus valvas adheridos a las mismas raíces: algunos de estos organismos presentaban el borde de sus valvas liso y otros con rugosidades. En el laboratorio, al momento de separar por grupos (25 organismos), se tomó en consideración tal diferencia (Fig. 19).

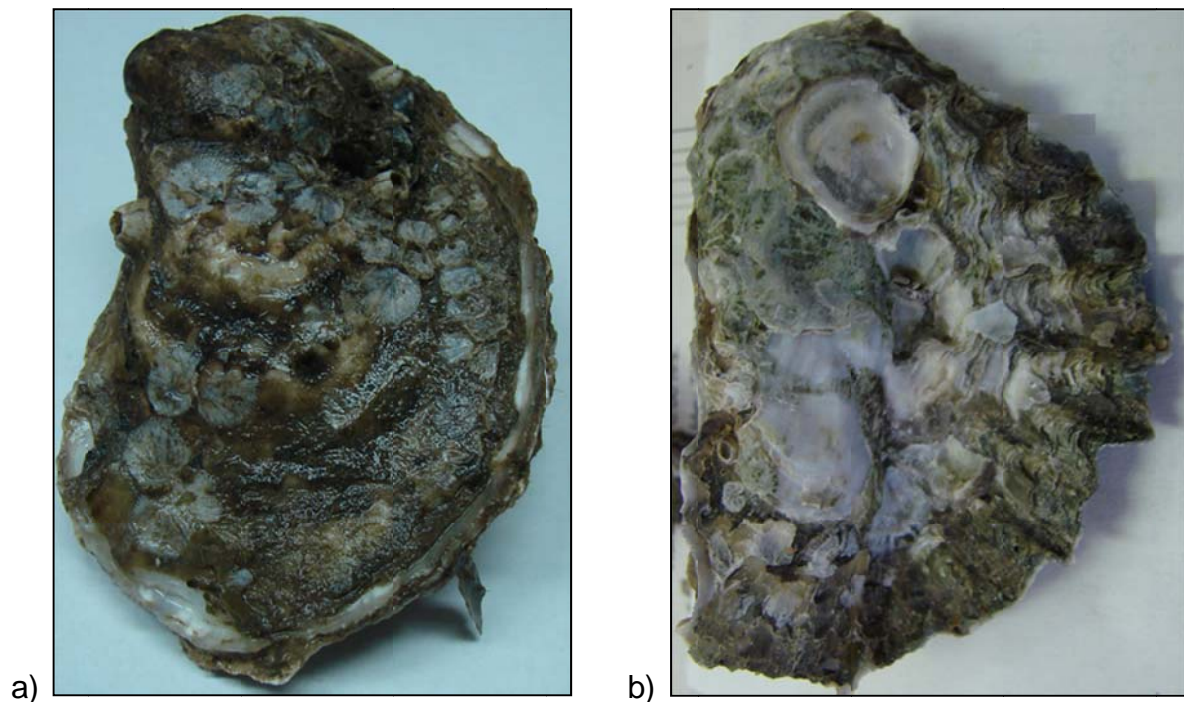


Figura 19. Ostiones: (a) con el borde de sus valvas sin ondulaciones, “lisos” o *C. corteziensis*; y (b) con el borde de sus valvas ondulado, “chinos” o *S. palmula* recolectados de las mismas raíces de mangle.

Por ello, durante el muestreo, adicionalmente se tomó un organismo de cada tipo morfológico de aquellos sitios en donde así se presentaban, con el fin de realizar un análisis de ADN (ácido desoxirribonucleico) para poder corroborar la especie a la que pertenecían. De tales ostiones se obtuvieron cortes de sus láminas branquiales y del manto, los cuales fueron conservados en frascos de vidrio con etanol puro y se mantuvieron en refrigeración (4 °C). Este análisis se realizó en el laboratorio de Biología Molecular en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CIAD) de Mazatlán, con la asesoría de la Dra. Silvia Alejandra García Gasca y el apoyo del personal técnico del laboratorio, M. en C. Rubí Hernández Cornejo.

Para hacer la extracción de ADN, se incubó el tejido de la branquia y el manto en 400 µL de buffer de lisis y 20 µL de proteinasa K a 65 °C durante 30 min (incubándose 20 min, macerando e incubando 10 min más). Posteriormente, se añadieron 200 µL de cloruro de sodio saturado y se agitó vigorosamente. Posteriormente, se incubó en hielo (10 min) y se centrifugó (10,000 rpm, 10 min). Se transfirió el sobrenadante (500-600 µL) a un tubo Eppendorf con 1 mL de etanol absoluto y se invirtió el tubo varias veces para precipitar el ADN. Finalmente, el ADN es transferido a otro tubo con 100 µL de solución TE y es re-suspendido lentamente (Miller *et al.*, 1988).

Una vez hecha la extracción de ADN, se amplificó por PCR (reacción en cadena de la polimerasa) un fragmento de aproximadamente 550 pares de bases, utilizando los iniciadores universales 16Sar-L, R. Una vez obtenidos los productos de PCR, se realizó la electroforesis para verificar la extracción con la presencia de una única banda intensa. Posteriormente, se enviaron las muestras de ADN al laboratorio Macrogen Inc. en Corea, para su purificación y secuenciación, en algunos casos en los que había duda se solicitó una re-secuenciación. Una vez recibidos los resultados, se llevó a cabo el análisis de las secuencias, se compararon con las secuencias de especies del género *Crassostrea* del banco de datos GenBank. Las secuencias se editaron con el software Bioedit, se generó el árbol filogenético con MEGA 4 (Tamura *et al.*, 2007), se utilizó el algoritmo de Neighbor-Joining (Saitou y Nei, 1987) y la prueba de filogenia con el método de re-muestreo (bootstrapping).

#### 7.4. Análisis de metales pesados

Todo el material usado para este análisis se lavó en baños con ácido clorhídrico 2M durante 72 horas, seguido de un segundo baño con ácido nítrico 2M también durante 72 horas y enjuagados finalmente con agua Milli-Q (Moody y Lindstrom, 1977).

Para el análisis de metales, las muestras fueron digeridas (por duplicados formados por 25 organismos) en un horno de microondas (CEM, MARS 5), usando vasos de digestión (CEM, HP-500). Se pesaron  $0.25 \pm 0.003$  g del tejido seco en un vaso de digestión y se adicionaron 5 mL de ácido nítrico concentrado ( $\text{HNO}_3$ , grado metales “traza”). Posteriormente, las muestras se dejaron con el ácido durante un tiempo de pre-digestión de entre 12 y 20 horas, después del cual, fueron completamente digeridas en el horno microondas en un programa de tres etapas: (1) a 100 % de poder, durante 5 min a 100 °C, (2) a 100 % de poder, durante 5 min a 120 °C y (3) a 100 % de poder, durante 10 min a 140 °C (Fig. 20).

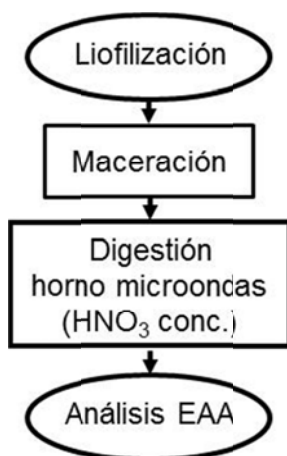


Figura 20. Diagrama de flujo de la preparación de muestras para la determinación de metales pesados.

Previo al análisis de las muestras se establecieron las curvas correspondientes para cada uno de los metales, se leyó el material de referencia (tejido de mejillón Standard Reference Material® 2976, procedente del National Institute of Standard & Technology, 1998) y se obtuvieron los porcentajes de recuperación. En todos los casos, las muestras digeridas, los materiales de referencia y los blancos se aforaron a 25 ml con agua Milli-Q en frascos de polietileno y se analizaron por espectrofotometría de absorción atómica (EAA, equipo VARIAN modelo SpectrAA-



220) para determinar las concentraciones de cada uno de los metales: Cd, Cu y Pb por detección con horno de grafito (HG, VARIAN modelo GTA-110), Zn por detección con flama y Hg por generación de vapor en frío (GVF, VARIAN modelo VGA-110).

## **7.5. Análisis de biotoxinas**

Ambos tipos de análisis se llevaron a cabo en un equipo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC; Varian Prostar) provisto con dos bombas isocráticas (Prostar 210), una bomba cuaternaria (Prostar 220) y un auto-muestreador (Prostar 410). Se utilizaron los materiales de referencia correspondientes, según el tipo de análisis. En el caso de las toxinas del tipo PSP se utilizaron los estándares CRM-C1y2, CRM-dcGTX2y3-b, CRM-dcNEO-b, CRM-dcSTX, CRM-GTX1y4-c, CRM-GTX2y3-c, CRM-GTX5-b, CRM-NEO-c, CRM-STX-e; los cuales se adquirieron en National Research Council (NRC). Para el análisis de toxinas del tipo ASP se utilizó un estándar de ácido domoico (AD; NRC, 2005) del cual se hicieron las diluciones correspondientes para establecer la curva de calibración (concentraciones de 1, 2.5, 5, 10 y 15  $\mu\text{g/mL}$ ).

### **7.5.1. Toxinas del tipo ASP**

Para el estudio de las toxinas amnésicas (ASP), el análisis se realizó en tejido congelado homogeneizado. Se pesaron 4 g del tejido y se colocaron en tubos Falcon con capacidad de 50 mL. Posteriormente, se añadieron 16 mL del solvente de extracción, el cual consiste, en este caso, de una mezcla de metanol-agua (1:1, v/v). Se llevó a cabo una homogenización (3 min en vortex), una posterior centrifugación (3,000 g, 10 min) y finalmente, se filtró el sobrenadante (acrodisco 0.45  $\mu\text{m}$ ).

El límite de detección por cromatografía líquida de alta resolución con detección ultravioleta (HPLC-UV) para el ácido domoico (AD) es de 10 a 80  $\mu\text{g Kg}^{-1}$ , dependiendo de la sensibilidad del detector de radiación UV. En el tejido, este límite depende también del método de extracción y limpieza. Si los extractos crudos (metanol- agua, en este estudio) se analizan sin limpieza, el límite práctico de cuantificación es de 1  $\mu\text{g g}^{-1}$  (ppm). Esto es conveniente para la mayoría de los laboratorios de reglamentación relacionados con la detección de los niveles de

contaminación superiores a  $20 \mu\text{g g}^{-1}$  (Quilliam, 2003). En el presente estudio, la menor concentración inyectada y detectada fue de  $1\mu\text{g mL}^{-1}$ , la cual se utilizó como el punto más bajo de la curva de calibración.

Los extractos fueron inyectados ( $20 \mu\text{L}$ ) en el equipo HPLC con detección de arreglo de diodos (DAD; Prostar 335) a una longitud de onda de  $242 \text{ nm}$  (ultravioleta), para conocer la concentración de AD presente en cada muestra (Fig. 21). Como fase estacionaria se utilizó una columna C18,  $250 \times 4.6 \text{ mm}$ ,  $5 \mu\text{m}$  (tamaño de partícula) y la fase móvil consiste en una mezcla de acetonitrilo:agua:TFA ( $10:89.9:0.1$ , v:v).

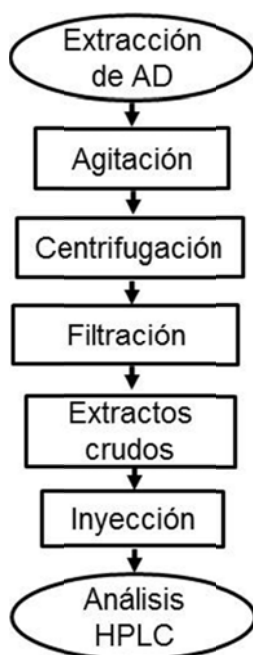


Figura 21. Diagrama de flujo de la preparación de muestras para la detección de toxinas del tipo ASP (Quilliam, 2003).

Para hacer los cálculos de AD se sigue la siguiente fórmula (Quilliam, 2003):

$$\text{AD } (\mu\text{g/g}) = (A_S/A_C) \times (C_C/W_T) \times F$$

Donde:  $A_S$  = Área del pico de la muestra,  $A_C$  = Área del pico del estándar,  $C_C$  = Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ ) de AD en el estándar,  $W_T$  = Peso (g) del tejido homogenizado para el extracto ( $4 \text{ g}$ ),  $F$  = Factor de dilución.

Además de la implementación de los métodos analíticos para la detección de toxinas, se hicieron observaciones al microscopio de las muestras de agua que se recolectaron en los sitios de muestreo, con el fin de determinar la presencia/ausencia de organismos productores de los dos tipos de toxinas analizadas.

### **7.5.2. Toxinas del tipo PSP**

Para el análisis de toxinas paralizantes (PSP) de las muestras de la temporada de lluvias, se empleó el método de HPLC ión-par con oxidación post columna (Hummer *et al.*, 1997; Yu *et al.*, 1998). Las toxinas PSP, mediante un proceso de oxidación, desarrollan fluorescencia, por lo que para su detección se utilizó un detector de fluorescencia (FD; Prostar 363), el cual está integrado a una estación de trabajo con el software Galaxie v. 1.9 multi-instrumentos. Se utilizó un reactor que consiste en un termo-baño (Precisión) con termómetro de inmersión. La fase estacionaria es una columna C18 Pursuit Varian de 250 mm x 4.6 mm, con temperatura de  $25 \pm 3$  °C. Para la fase móvil se utilizaron las soluciones: (A) 98.5 % [Ac. Octanesulfónico (sal sódica) 11 mM + ácido fosfórico 40 mM, pH ajustado a 6.9 con  $\text{NH}_3$ ] + 1.5 % de tetrahidrofurano, (B) 83.5 % [Ac. Octanesulfónico (sal sódica) 11 mM + ácido fosfórico 40 mM, pH ajustado a 6.9 con  $\text{NH}_3$ ] + 15 % de acetonitrilo + 1.5 % de tetrahidrofurano y (C) 98.5 % [ácido fosfórico 40 mM, pH ajustado a 6.9 con  $\text{NH}_3$ ] + 1.5 % tetrahidrofurano. Tanto las soluciones de la fase móvil, como las soluciones utilizadas para la derivatización y los extractos de las muestras fueron previamente filtradas en membranas GF/F (0.45 y 0.22  $\mu\text{m}$ ) y de-gasificadas mediante ultrasonificación durante 20 minutos previo al análisis.

Se pesaron 0.2 g de muestra de tejido de ostión liofilizado y molido y se llevó a cabo la extracción añadiendo el solvente, en este caso, ácido acético 0.03 N (4 mL). Se agitó la muestra con el solvente (1 min en vortex), seguida de una primera homogenización (10 min en baño ultrasónico), con un reposo de 30 min, y una segunda homogenización (10 min en baño ultrasónico). Posteriormente, la muestra se centrifugó (10 min, 3,000 rpm) y finalmente, se filtró el sobrenadante en acrodiscos (0.2  $\mu\text{m}$ ), obteniéndose de esta manera los extractos sin hidrolizar.

Enseguida, se llevó a cabo la hidrólisis para convertir las toxinas N-sulfocarbamato en sus respectivas toxinas decarbamato. Para ello, se tomaron 150  $\mu\text{L}$  del extracto sin hidrolizar, se le agregaron 150  $\mu\text{L}$  de ácido acético 0.03 N, así como 37  $\mu\text{L}$  de HCl 1M, y se agitó (30 s en vortex). Posteriormente, las muestras se incubaron (15 min a 90 °C), se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se homogenizaron nuevamente (30 s en vortex). Finalmente, se añadieron 75  $\mu\text{L}$  de solución de acetato y se realizó una última agitación (30 s en vortex). Con esto, se obtuvieron los extractos hidrolizados que, al igual que los extractos sin hidrolizar, se vertieron en los viales correspondientes, previamente etiquetados y se colocaron en el auto-muestreador para el análisis en HPLC (Fig. 22).

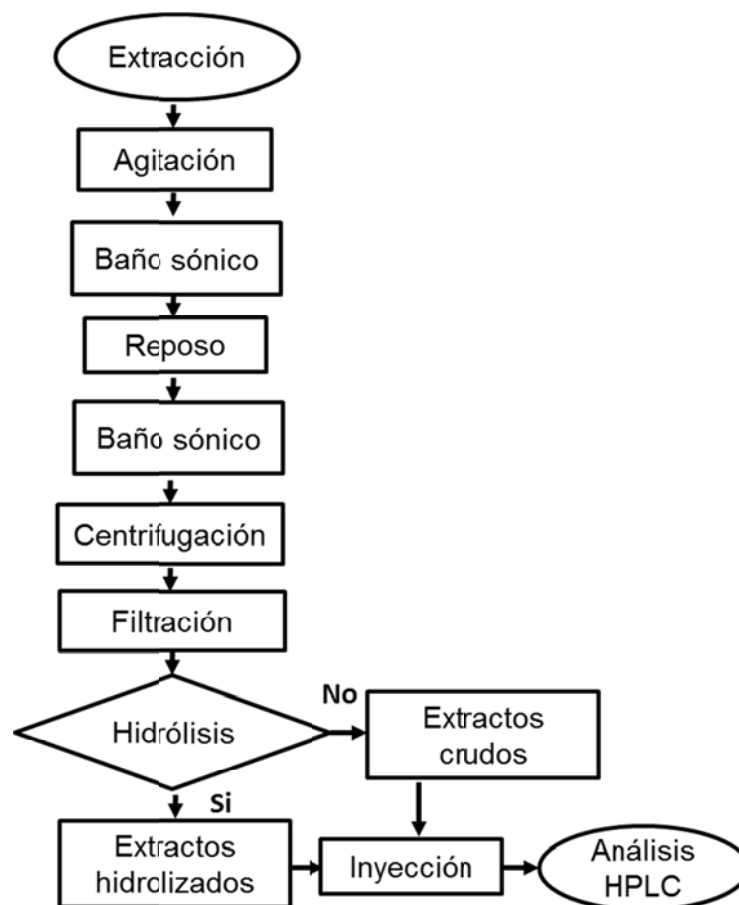


Figura 22. Diagrama de flujo de la preparación de las muestras para la detección de toxinas del tipo PSP (Hummert et al., 1997 y Yu et al., 1998).

Simultáneamente, se prepararon blancos de reactivos de extracción y de hidrólisis siguiendo el mismo procedimiento que se realizó con las muestras. Se procedió a la inyección de blancos, estándares y muestras, utilizando un volumen de 20  $\mu\text{L}$ . La derivatización post-columna por oxidación se llevó a cabo con una disolución de ácido periódico 10 mM e hidróxido de amonio 550 mM acidificada con  $\text{HNO}_3$  1 M hasta obtener un pH entre 2 y 3, utilizando como reactor un tubo de teflón de 0.5 mm de diámetro interno y 10 m de longitud, llevando a cabo la reacción a 50°C. La detección de fluorescencia se realizó fijando una longitud de onda de 330 nm en excitación y 395 nm en emisión.

Para el análisis de las muestras de la temporada de secas, se trabajó con el método oficial, de acuerdo a la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC, por sus siglas en inglés; AOAC, 2005; Lawrence *et al.*, 2005) y con este mismo método, se hizo un análisis de muestras compuestas de la temporada de lluvias, para corroborar los resultados por este método y con fines comparativos entre ambas temporadas. Para la implementación de este método se requiere la preparación de la fase móvil, la cual consta de las soluciones: (A) formato de amonio ( $\text{CH}_5\text{NO}_2$ ) 0.1 M y (B) formato de amonio ( $\text{CH}_5\text{NO}_2$ ) 0.1M + acetonitrilo 5 % ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ); así como una solución de ácido peryódico ( $\text{H}_5\text{IO}_6$ ) para la oxidación pre-columna. Para obtener el primer extracto, se colocaron 0.5 g ( $\pm 0.1$  g) de tejido de molusco homogenizado en tubos de polipropileno para centrífuga de 50 mL, se añadió ácido acético 1% (1a. limpieza) y esta muestra se llevó a un baño maría (100 °C, 5 min). Posteriormente, se le aplicó un shock térmico (baño frío, 5 min), se agitó (vortex, 1 min) y se centrifugó (4,500 rpm, 10 min). Finalmente, se separó el sobrenadante en un tubo de 15 mL. Para obtener el segundo extracto, al residuo sólido del extracto 1 se le agregaron 3 mL de ácido acético al 1%, se transfirió a un tubo de centrífuga y se agitó (vortex, 1 min). En seguida, se centrifugó (4500 rpm, 10 min), se recuperó el sobrenadante en el tubo que contiene el primer extracto, se ajustó el pH a 6.5 y se aforó a 4 mL con agua Milli-Q.

Posteriormente se realiza la limpieza con cartuchos C18 SPE, para lo cual, se acondicionan los cartuchos con 6 mL de metanol, seguidos de un lavado con 6 mL de agua Milli-Q, se permite que salga la mayor cantidad del eluyente sin dejar que se seque el cartucho. Se añade 1 mL del extracto crudo (primera limpieza) y 2 mL de agua Milli-Q, el flujo debe mantenerse a 2-3 mL/min. Se colecta el efluente en un tubo (sin dejar que el cartucho se seque), se ajusta el pH a 6.5 con hidróxido de sodio 1 M (NaOH) y se afora a 4 mL con agua HPLC. Se realiza una primera inyección para el análisis cualitativo. Una vez obtenidos los cromatogramas, se preparan las muestras que dieron resultados positivos, para seguir con el análisis cuantitativo (Fig. 23).

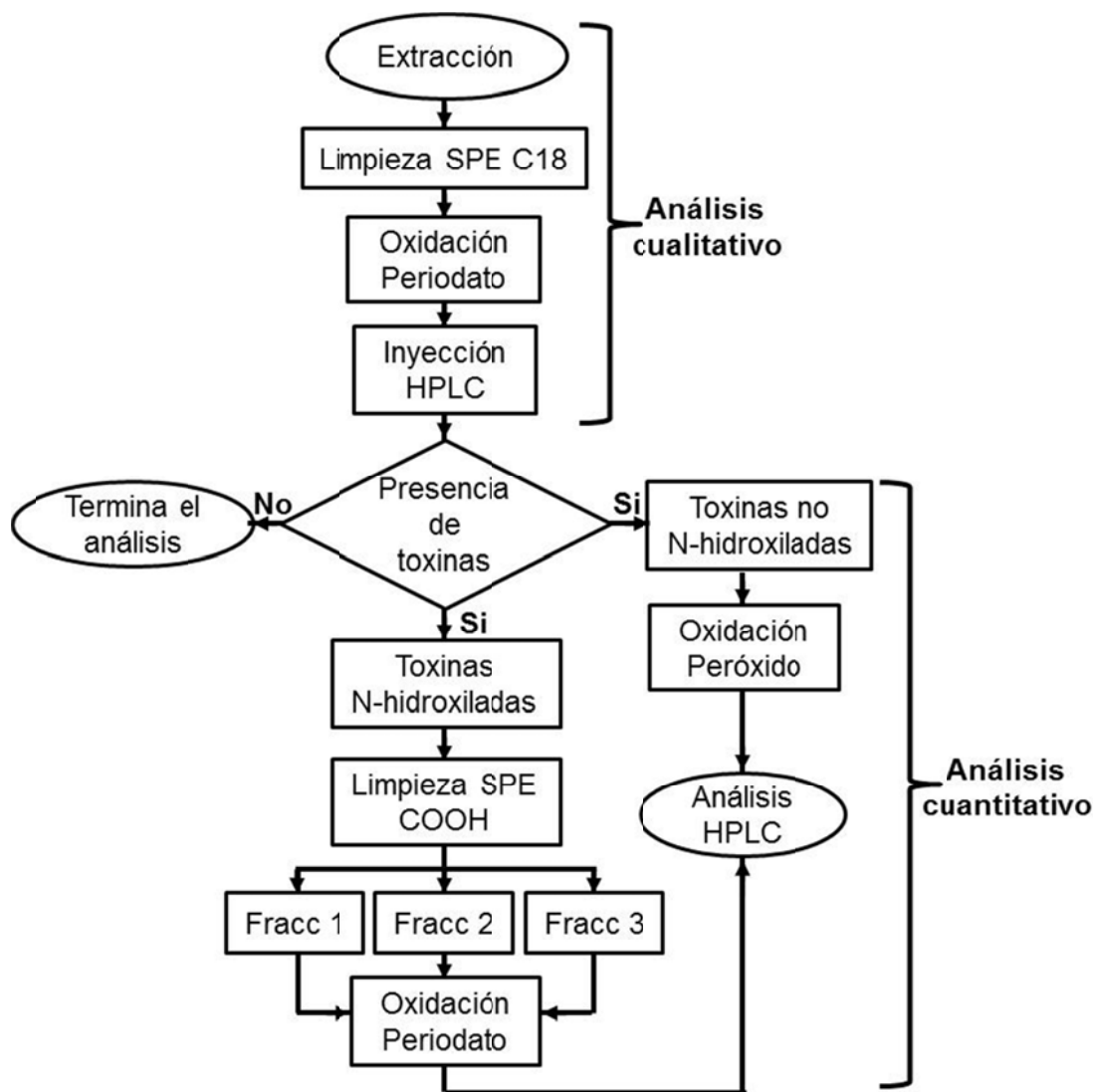


Figura 23. Diagrama de flujo de la preparación de muestras para la detección de toxinas del tipo PSP (Lawrence et al., 2005).

Una vez obtenidos los cromatogramas, los cálculos de toxinas se realizan referenciados a la respuesta de fluorescencia de las concentraciones conocidas de las diluciones del estándar (NRC), con las cuales se estableció la curva de calibración (0.1, 0.25, 0.5 y 0.75 µg/mL). Estas diluciones fueron también sometidas a los procesos de oxidación, según el método utilizado en cada temporada de muestreo, esto es, oxidación post-columna (método de Hummert *et al.*, 1997 y Yu *et al.*, 1998) para los estándares utilizados en el análisis de las muestras de lluvias y oxidación pre-columna (método de Lawrence *et al.*, 2005) para los estándares utilizados en el análisis de las muestras de la temporada de secas. Para estos cálculos se utiliza la fórmula:

$$\text{Concentración de toxinas PSP } (\mu\text{g/Kg}) = (A_x * C_s * V_x * D * 1000) / (A_s * M)$$

Donde:  $A_x$  = Área del pico de la toxina en el extracto analizado,  $C_s$  = Concentración del estándar (µg/ml),  $V_x$  = Volumen final del extracto analizado (mL),  $D$  = Factor de dilución,  $A_s$  = Área del pico del estándar,  $M$  = Cantidad de muestra (g), 1000 = Factor de conversión de µg/g a µg/Kg.

## 7.6. Análisis estadístico

Se realizó primeramente un análisis exploratorio de los datos en el programa Excel a fin de identificar datos extremos y/o anómalos. Posteriormente, los datos se exportaron al programa GraphPad Prism (versión 5.0, San Diego, California, EUA) para hacer los análisis correspondientes. Se hicieron pruebas de normalidad a los datos morfométricos de los ostiones, a los parámetros de salinidad y temperatura y a los datos de los análisis de metales pesados y biotoxinas. Finalmente, se procedió a las comparaciones de medias entre los diferentes puntos dentro de cada laguna/sistema lagunar, entre los resultados de ambas temporadas de muestreo; así como los promedios entre las diferentes lagunas. Tales análisis se hicieron mediante pruebas paramétricas y no paramétricas, dependiendo de los resultados de las pruebas de normalidad, en cada laguna. Para hacer las comparaciones entre los sistemas lagunares, se hicieron pruebas paramétricas, debido a que en la mayoría de los casos se evidenció normalidad.

Una vez obtenidos los resultados de los cinco metales se compararon con las normas correspondientes en cada caso (Tabla 7), con el fin de corroborar que los niveles de contaminantes estén dentro de los límites permitidos. También se hicieron los cálculos de acuerdo a la ingesta máxima recomendada, para saber la cantidad que se podía ingerir de ostiones provenientes de estas lagunas, sin que se presenten efectos adversos en la salud humana, debidos a la intoxicación por tales contaminantes.

*Tabla 7. Límites máximos permisibles (LMP) de metales pesados ( $\mu\text{g g}^{-1}$  en base a peso fresco), en tejido de moluscos bivalvos, de acuerdo a diferentes legislaciones.*

<b>País</b>	<b>Legislación</b>	<b>Cd</b>	<b>Cu</b>	<b>Hg</b>	<b>Pb</b>	<b>Zn</b>
México	NOM-03 (1993), NOM-242 (2009)	2	NE	1	1	NE
OMS	WHO (1982)	2	10	1	1	100
USA	FDA (1993)	10	NE	0.5	1	NE
USA	NAS*	2	NE	0.5	NE	NE
EEC	Codex Alimentarius (1995)	2	NE	1	3	NE
España	NCMBD (1985)	1	20	0.5	3	NE
Australia	TPHR	5.5	30	1	NE	40
Canadá	NE*	NE	100	0.5	NE	NE
Japón	NE*	1	NE	1	NE	NE
UK	FSC*	NE	NE	0.3	NE	50

*NOM, Norma Oficial Mexicana; OMS, Organización Mundial de Salud (WHO, por sus siglas en inglés); USA, Estados Unidos de América; FDA, Food and Drug Administration; NAS, National Academy of Sciences; EEC, European Economic Community; NCMBD, Norma de Calidad para Moluscos Bivalvos Depurados;TPHR, Tasmanian Public Health Regulation; UK, Reino Unido; FSC, Food Science Council, NE, No Especificado; \* = información obtenida de Chen et al. (2003).*

Finalmente, se hicieron comparaciones con los resultados de estudios similares realizados para este tipo de contaminantes tanto en otras regiones de México, como de otros países, con el fin de saber, comparativamente, como es el estado de salud que prevalece en esta área de estudio, respecto a los cinco metales estudiados y los dos tipos de biotoxinas (Fig. 24).



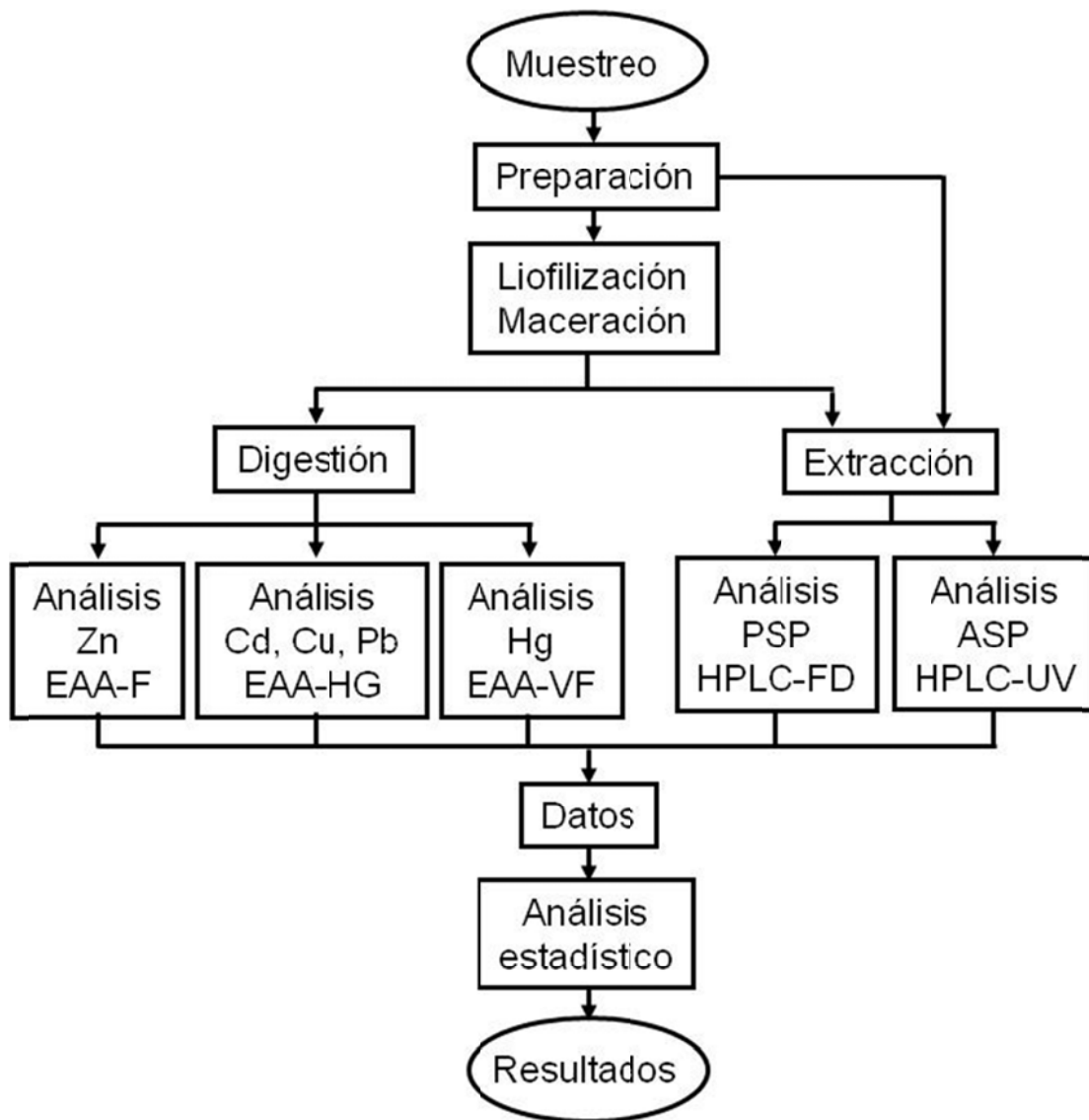


Figura 24. Diagrama de flujo de la estrategia general de trabajo (EAA, Espectrofotometría de Absorción Atómica; F, Flama; HG, Horno de Grafito; VF, Vapor en Frío; HPLC, Cromatografía Líquida de Alta Resolución; FD, Detección de Fluorescencia; UV, Detección Ultravioleta).

## 8. RESULTADOS Y DISCUSION

### 8.1. Parámetros físico-químicos

Como se mencionó en la metodología, durante las campañas de muestreo se registraron los parámetros de salinidad y temperatura de las aguas en las cuales habitaban los ostiones, en las diferentes estaciones de cada una de las lagunas muestreadas.

#### 8.1.1. Salinidad

Se promediaron los datos de salinidad para cada laguna o sistema lagunar, de acuerdo al número de estaciones de muestreo. Se realizó en análisis de normalidad mediante la prueba Kolmogorov-Smirnov para los datos de salinidad obtenidos ( $p = 0.086$ ). El promedio de salinidad más bajo (29.2 ‰) correspondió al sistema SMOT, durante el muestreo de la época de lluvias y el más alto (40.0 ‰) se presentó en la laguna de URI, durante la época de secas, que coincide con el dato de salinidad registrado durante la misma temporada en el sitio testigo. Se encontró que tales promedios fueron mayores durante la temporada de secas, excepto en el caso de CEU, donde a diferencia de lo esperado, se registraron mayores salinidades en el muestreo de lluvias (Fig. 25).

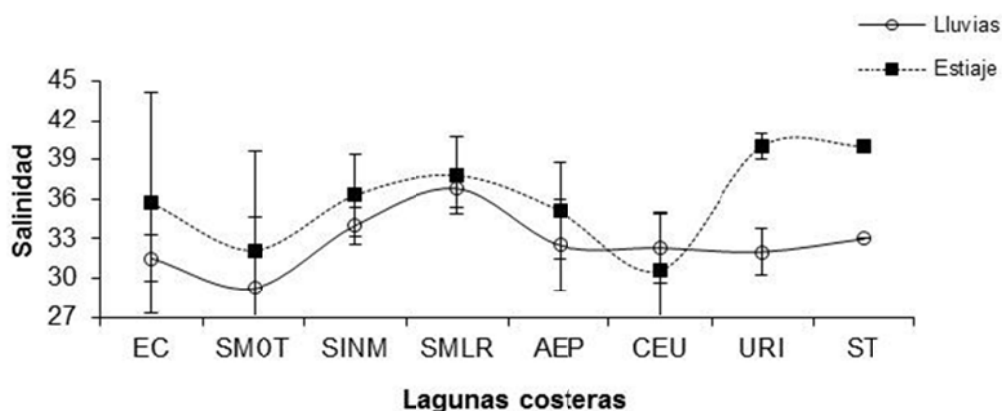


Figura 25. Promedios de salinidades  $\pm$  desviación estándar registrados en la temporada de lluvias y de secas, en cada una de las lagunas costeras/sistemas lagunares.

### 8.1.2. Temperatura

De igual forma, se promediaron los registros de temperatura para cada laguna o sistema lagunar, según el número de estaciones de muestreo. Estos datos también pasaron la prueba de normalidad (Kolmogorov-Smirnov,  $p > 0.10$ , *i.e.*, resultaron normales). El menor promedio de temperaturas ( $25.6\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) se encontró en el sistema lagunar SINM, correspondiente a la época de secas y el mayor ( $32.2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) se registró en el sistema SMOT, durante la época de lluvias. Sin embargo, el registro de temperatura en el sitio testigo ( $33.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) durante la época de secas, fue superior a los promedios de todos los sistemas. Se encontró que tales promedios fueron mayores durante la época de lluvias, excepto en el caso del sitio testigo, donde se registró una mayor temperatura durante la época de secas (Fig. 26).

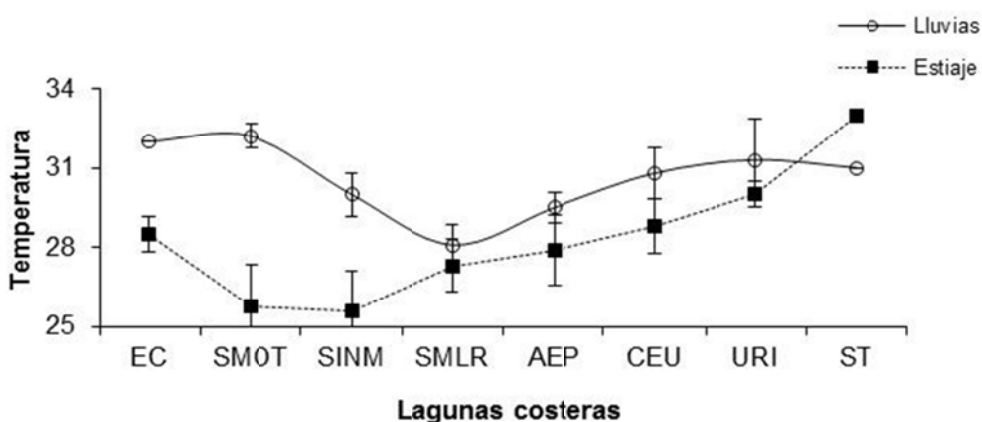


Figura 26. Promedios de temperatura  $\pm$  desviación estándar registrados en la temporada de lluvias y de secas, en cada una de las lagunas costeras/sistemas lagunares

### 8.2. Morfometría

Todos los datos morfométricos de los ostiones (talla, peso, peso blando e índice de condición) de ambas temporadas pasaron la prueba de normalidad (Kolmogorov-Smirnov,  $p > 0.10$ , *i.e.*, resultaron normales). Durante la temporada de lluvias, la talla promedio de los ostiones recolectados fue de  $45.3 \pm 2.6$  mm, su peso total promedio fue de  $13.5 \pm 3.2$  g y el peso promedio del tejido blando fue de  $1.7 \pm 0.3$  g (Tabla 8). Al seleccionar los organismos para hacer los grupos, se procuró incluir aquellos que midieron entre 40 y 60 mm, aunque, en algunos casos, los organismos no alcanzaban la

talla mínima, esto sólo se reflejó en el promedio de los organismos del sitio 7, correspondiente a la laguna de Ohuira ( $37\pm 6$  mm).

Tabla 8. Talla (mm), peso total (g), peso del tejido blando (g) e índice de condición, IC (promedio  $\pm$  desviación estándar) de los ostiones muestreados, durante la campaña de lluvias.

Sitio	Grupos	Especie	Talla	Peso total	Peso blando	IC
EC1	2	<i>C. corteziensis</i>	46 $\pm$ 5	14.8 $\pm$ 3.7	1.8 $\pm$ 0.5	20.7 $\pm$ 3.1
EC2	2	<i>C. corteziensis</i>	47 $\pm$ 6	15.2 $\pm$ 4.9	1.6 $\pm$ 0.5	17.7 $\pm$ 1.4
EC3	2	<i>C. corteziensis</i>	42 $\pm$ 5	11.4 $\pm$ 3.6	1.4 $\pm$ 0.4	22.8 $\pm$ 1.7
SMOT4	2	<i>C. corteziensis</i>	46 $\pm$ 6	14.9 $\pm$ 5.1	1.9 $\pm$ 0.7	25.6 $\pm$ 2.0
SMOT5	2	<i>C. corteziensis</i>	45 $\pm$ 7	11.8 $\pm$ 5.1	1.6 $\pm$ 0.6	28.9 $\pm$ 0.3
SMOT6	2	<i>C. corteziensis</i>	43 $\pm$ 7	10.9 $\pm$ 4.3	1.6 $\pm$ 0.7	29.3 $\pm$ 2.4
SMOT7	2	<i>C. corteziensis</i>	37 $\pm$ 6	8.4 $\pm$ 4.2	1.2 $\pm$ 0.5	29.1 $\pm$ 0.4
SMOT7'	2	<i>S. palmula</i>	47 $\pm$ 8	15.9 $\pm$ 6.3	2.3 $\pm$ 0.7	27.6 $\pm$ 2.4
SINM8	2	<i>S. palmula</i>	47 $\pm$ 5	19.7 $\pm$ 5.4	2.0 $\pm$ 0.7	18.6 $\pm$ 3.9
SINM9	2	<i>C. corteziensis</i>	47 $\pm$ 6	15.2 $\pm$ 5.0	1.8 $\pm$ 0.6	23.1 $\pm$ 2.3
SINM10	1	<i>C. corteziensis</i>	46 $\pm$ 6	12.8 $\pm$ 4.0	1.9 $\pm$ 0.7	31.0*
	1	<i>S. palmula</i>	47 $\pm$ 4	19 $\pm$ 5.1.0	2.3 $\pm$ 0.7	28.1*
SMLR11	1	<i>C. corteziensis</i>	42 $\pm$ 5	10.7 $\pm$ 3.4	1.1 $\pm$ 0.3	19.3*
	1	<i>S. palmula</i>	48 $\pm$ 6	22.4 $\pm$ 6.1	2.1 $\pm$ 0.6	16.1*
SMLR12	2	<i>C. corteziensis</i>	44 $\pm$ 6	10.8 $\pm$ 3.7	1.5 $\pm$ 0.6	22.4 $\pm$ 1.9
	1	<i>S. palmula</i>	46 $\pm$ 7	15.0 $\pm$ 7.3	1.9 $\pm$ 1.0	22.7*
SMLR13	2	<i>S. palmula</i>	46 $\pm$ 7	17.7 $\pm$ 4.7	2.2 $\pm$ 0.8	23.7 $\pm$ 0.2
SMLR14	2	<i>C. corteziensis</i>	47 $\pm$ 6	11.0 $\pm$ 2.7	1.2 $\pm$ 0.3	20.2 $\pm$ 2.2
SMLR15	2	<i>S. palmula</i>	49 $\pm$ 7	21.6 $\pm$ 11.3	2.0 $\pm$ 1.2	19.0 $\pm$ 1.4
AEP16	2	<i>C. corteziensis</i>	45 $\pm$ 7	13.0 $\pm$ 7.3	1.7 $\pm$ 1.1	25.8 $\pm$ 0.6
	2	<i>S. palmula</i>	46 $\pm$ 6	16.8 $\pm$ 6.2	2.0 $\pm$ 1.0	25.8 $\pm$ 3.1
AEP17	2	<i>S. palmula</i>	46 $\pm$ 4	13.2 $\pm$ 4.8	1.2 $\pm$ 0.5	24.3*
	1	<i>C. corteziensis</i>	47 $\pm$ 7	10.0 $\pm$ 7.7	1.1 $\pm$ 0.8	12.4 $\pm$ 4.4
AEP18	2	<i>C. corteziensis</i>	40 $\pm$ 4	9.4 $\pm$ 3.1	1.2 $\pm$ 0.5	25.0 $\pm$ 0.5
AEP19	2	<i>C. corteziensis</i>	43 $\pm$ 6	12.2 $\pm$ 5.3	1.4 $\pm$ 0.7	24.7 $\pm$ 2.8
AEP20	2	<i>C. corteziensis</i>	46 $\pm$ 5	16.1 $\pm$ 5.2	1.5 $\pm$ 0.6	19.5 $\pm$ 0.8
CEU21	2	<i>C. corteziensis</i>	47 $\pm$ 6	12.1 $\pm$ 6.9	1.4 $\pm$ 0.7	20.4 $\pm$ 2.1
CEU22	2	<i>C. corteziensis</i>	46 $\pm$ 6	14.2 $\pm$ 3.9	2.0 $\pm$ 0.6	25.9 $\pm$ 3.7
CEU23	2	<i>C. corteziensis</i>	45 $\pm$ 6	12.4 $\pm$ 4.2	1.7 $\pm$ 0.7	29.8 $\pm$ 0.8
URI24	1	<i>C. corteziensis</i>	44 $\pm$ 6	10.5 $\pm$ 5.0	1.6 $\pm$ 0.8	25.3*
	1	<i>S. palmula</i>	44 $\pm$ 5	12.5 $\pm$ 4.2	1.7 $\pm$ 0.6	21.9*
URI25	2	<i>C. corteziensis</i>	47 $\pm$ 4	11.2 $\pm$ 2.8	1.6 $\pm$ 0.4	24.7 $\pm$ 2.1
URI26	2	<i>C. corteziensis</i>	48 $\pm$ 4	10.7 $\pm$ 2.4	1.8 $\pm$ 0.6	25.3 $\pm$ 0.7
ST	2	<i>C. corteziensis</i>	41 $\pm$ 7	7.7 $\pm$ 4.2	0.9 $\pm$ 0.5	32.3 $\pm$ 13.3

\*Un solo valor.

En la temporada de secas la talla promedio fue de  $48.5 \pm 2.8$  mm, su peso total promedio fue de  $15.6 \pm 4.0$  g y su peso del tejido blando fue de  $2.2 \pm 0.5$  g. Nuevamente, hubo estaciones en las que uno o ambos grupos de ostiones fueron de la especie *S. palmula* (Tabla 9).

Tabla 9. Talla (mm), peso total (g), peso del tejido blando (g) e índice de condición, IC (promedio  $\pm$  desviación estándar) de los ostiones muestreados, durante la campaña de secas.

Sitio	Grupos	Especie	Talla	Peso total	Peso blando	IC
ST	2	<i>C. corteziensis</i>	43 $\pm$ 3	7.2 $\pm$ 1.6	1.2 $\pm$ 0.3	26.7 $\pm$ 4.9
EC1	2	<i>C. corteziensis</i>	50 $\pm$ 6	21.0 $\pm$ 6.6	2.2 $\pm$ 0.8	15.7 $\pm$ 1.0
EC2	2	<i>C. corteziensis</i>	51 $\pm$ 6	21.3 $\pm$ 6.8	2.6 $\pm$ 1.2	22.4 $\pm$ 5.0
EC3	2	<i>C. corteziensis</i>	50 $\pm$ 5	16.3 $\pm$ 4.4	2.8 $\pm$ 0.9	33.6 $\pm$ 4.8
SMOT4	2	<i>C. corteziensis</i>	47 $\pm$ 7	14.5 $\pm$ 5.8	2.6 $\pm$ 1.0	33.0 $\pm$ 3.2
SMOT5	2	<i>C. corteziensis</i>	48 $\pm$ 5	15.1 $\pm$ 3.7	2.7 $\pm$ 0.8	39.7 $\pm$ 6.5
SMOT6	2	<i>C. corteziensis</i>	51 $\pm$ 6	17.1 $\pm$ 4.9	3.0 $\pm$ 1.2	38.8 $\pm$ 1.1
SMOT7	2	<i>C. corteziensis</i>	46 $\pm$ 6	15.2 $\pm$ 6.2	2.0 $\pm$ 0.1	22.6 $\pm$ 1.7
SMOT7'	2	<i>S. palmula</i>	52 $\pm$ 7	18.7 $\pm$ 6.1	2.3 $\pm$ 0.8	22.1 $\pm$ 3.1
SMOT8	2	<i>C. corteziensis</i>	49 $\pm$ 7	14.5 $\pm$ 6.5	2.1 $\pm$ 1.1	23.9 $\pm$ 5.3
SINM9	2	<i>C. corteziensis</i>	50 $\pm$ 6	17.4 $\pm$ 4.5	2.1 $\pm$ 0.7	18.3 $\pm$ 4.3
SINM10	2	<i>C. corteziensis</i>	48 $\pm$ 5	14.1 $\pm$ 4.0	2.2 $\pm$ 0.8	32.1 $\pm$ 2.0
	2	<i>S. palmula</i>	49 $\pm$ 6	21.4 $\pm$ 4.2	2.7 $\pm$ 1.0	25.2 $\pm$ 4.4
SINM11	2	<i>C. corteziensis</i>	51 $\pm$ 8	16.1 $\pm$ 5.7	2.4 $\pm$ 1	28.4 $\pm$ 2.1
SMLR12	2	<i>C. corteziensis</i>	46 $\pm$ 5	11.8 $\pm$ 3.9	1.9 $\pm$ 0.7	28.9 $\pm$ 2.6
SMLR13	2	<i>S. palmula</i>	48 $\pm$ 8	12.9 $\pm$ 4.7	1.5 $\pm$ 0.7	16.5 $\pm$ 2.4
SMLR14	2	<i>C. corteziensis</i>	54 $\pm$ 6	17.0 $\pm$ 8.6	1.9 $\pm$ 0.9	15.2 $\pm$ 1.6
SMLR15	2	<i>C. corteziensis</i>	54 $\pm$ 7	26.2 $\pm$ 9.7	3.4 $\pm$ 1.5	28.0 $\pm$ 3.0
SMLR16	2	<i>C. corteziensis</i>	43 $\pm$ 4	10.5 $\pm$ 4.8	1.8 $\pm$ 0.8	30.6 $\pm$ 3.5
SMLR17	2	<i>C. corteziensis</i>	48 $\pm$ 9	15.9 $\pm$ 9.7	2.5 $\pm$ 1.7	30.8 $\pm$ 2.3
AEP18	2	<i>C. corteziensis</i>	47 $\pm$ 4	11.1 $\pm$ 3.3	1.6 $\pm$ 0.5	21.1 $\pm$ 3.3
AEP19	2	<i>C. corteziensis</i>	44 $\pm$ 9	14.6 $\pm$ 9.0	2.0 $\pm$ 1.1	24.5 $\pm$ 3.6
AEP20	2	<i>C. corteziensis</i>	49 $\pm$ 6	17.8 $\pm$ 6.5	2.0 $\pm$ 0.9	13.9 $\pm$ 0.9
CEU21	1	<i>S. palmula</i>	49 $\pm$ 7	16.6 $\pm$ 5.9	1.9 $\pm$ 0.7	16.8*
	1	<i>C. corteziensis</i>	48 $\pm$ 6	10.8 $\pm$ 2.8	1.2 $\pm$ 0.5	17.5*
CEU22	2	<i>C. corteziensis</i>	51 $\pm$ 5	18.9 $\pm$ 4.6	2.7 $\pm$ 0.7	27.6 $\pm$ 3.7
CEU23	2	<i>C. corteziensis</i>	51 $\pm$ 7	20.5 $\pm$ 7.7	2.8 $\pm$ 1.2	26.7 $\pm$ 1.9
URI24	2	<i>C. corteziensis</i>	48 $\pm$ 6	10.36 $\pm$ 4.8	2.0 $\pm$ 1.0	35.2 $\pm$ 6.3
URI25	2	<i>C. corteziensis</i>	46 $\pm$ 5	11.9 $\pm$ 3.1	1.7 $\pm$ 0.6	20.6 $\pm$ 0.7
URI26	2	<i>C. corteziensis</i>	48 $\pm$ 5	12.5 $\pm$ 5.5	1.7 $\pm$ 1.0	17.2 $\pm$ 2.3

\*Un solo valor.

El índice de condición en acuicultura puede servir para dos propósitos. El primero es de tipo económico en el cual este índice es utilizado para designar la calidad de un producto comercializado. El segundo propósito es de tipo fisiológico, en el cual, el índice de condición se utiliza para caracterizar la “salud” aparente de un organismo, en otras palabras, para hacer una valoración de la actividad fisiológica del animal (crecimiento, reproducción, etc.) bajo condiciones ambientales dadas (Lucas y Beninger, 1985).

En este estudio, aunque se obtuvieron valores promedio del IC más altos durante la temporada de secas ( $25.5 \pm 7.1$ ) en comparación con los valores de lluvias ( $24.7 \pm 3.9$ ), el análisis estadístico no mostró diferencias significativas entre las medias de ambas temporadas (Fig. 27).

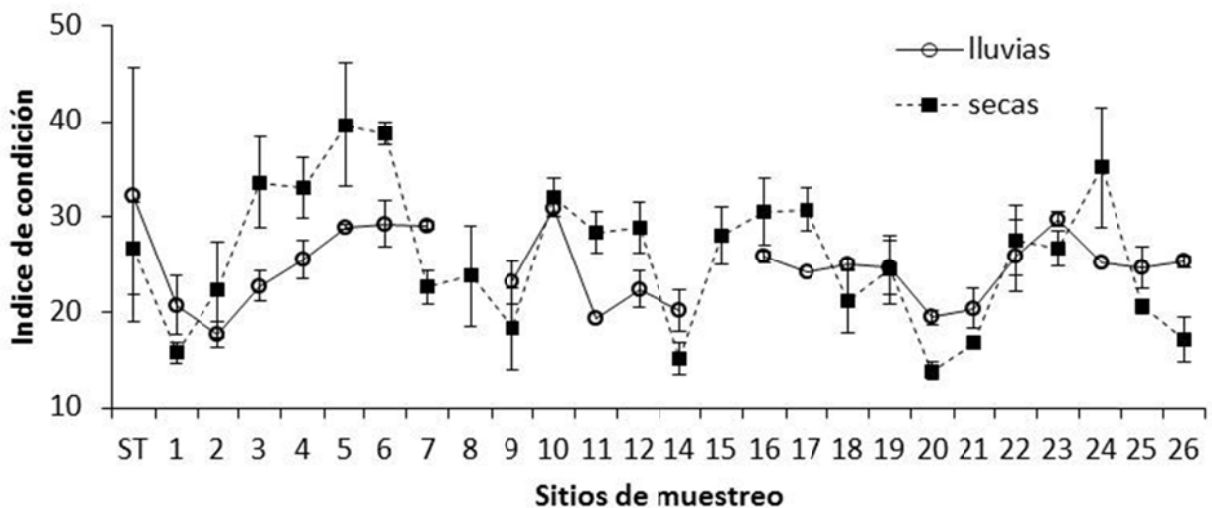


Figura 27. Promedios del Índice de Condición  $\pm$  desviación estándar obtenido para cada sitio de muestreo.

Otra información obtenida de los organismos, fue el cálculo de los porcentajes de humedad de los ostiones (Tabla 10). Estos porcentajes son obtenidos con la finalidad de poder comparar las concentraciones de los diferentes metales encontradas en este estudio, contra las concentraciones establecidas en las legislaciones (las cuales son presentadas en peso húmedo).

Aunque hubo variaciones entre las muestras de lluvias y de secas de la mayoría de las lagunas, no se encontraron diferencias significativas entre las medias de ambas temporadas, lo que se refleja en porcentajes similares tanto para lluvias (79.0 %), como para secas (78.9 %), considerando un 80% de humedad en todas las muestras, para efectos prácticos.

*Tabla 10. Porcentaje de humedad (%) de las muestras de ostiones obtenidas durante las temporadas de lluvias y de secas.*

<b>Laguna</b>	<b>Lluvias (%)</b>	<b>Secas (%)</b>
EC	78.4 ± 2.1	79.1 ± 1.3
SMOT	77.7 ± 1.5	78.2 ± 2.3
SINM	78.1 ± 2.2	78.7 ± 0.3
SMLR	78.6 ± 1.0	77.7 ± 2.2
AEP	79.6 ± 1.6	80.6 ± 0.5
CEU	79.3 ± 1.5	77.2 ± 0.7
URI	82.5 ± 1.9	80.4 ± 1.3
ST	77.1 ± 5.3	79.9 ± 0.8
Promedio	78.9 ± 1.7	79.0 ± 1.3

### **8.3. Análisis de ADN**

Con los resultados de los análisis de ADN (ácido desoxirribonucleico), se encontró que los ostiones en cuya morfología se observa el borde de la valva “liso” (sin ondulaciones), coincidieron con el haplotipo “Topolobampo 8” registrado en GenBank (Pérez-Enríquez *et al.*, 2008), mismo que puede considerarse una subespecie de *C. corteziensis*. Por otra parte, los organismos de tipo “rugoso” (con ondulaciones en sus valvas) corresponden a la especie *S. palmula* (Fig. 28). Por ello, los datos se analizaron de forma separada, según la especie.

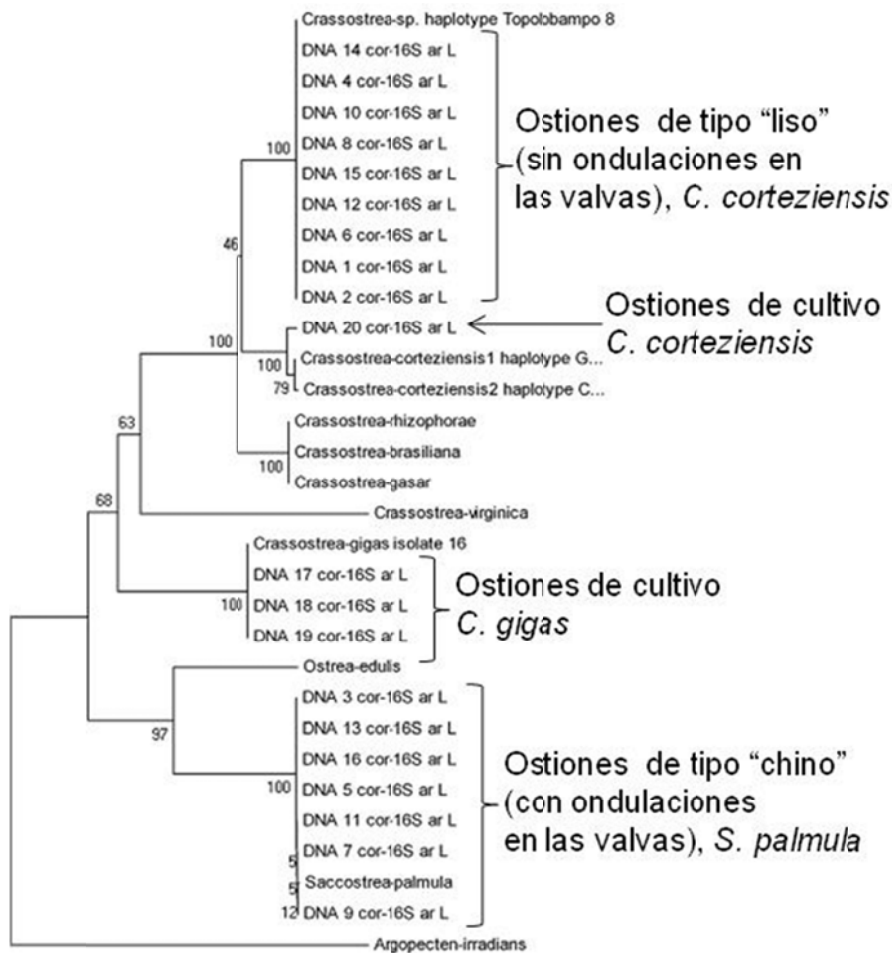


Figura 28. Resultados del análisis de ADN realizado a muestras selectas (aquellas en las que se encontraban ambos tipos de ostiones en el mismo sitio de muestreo).

#### 8.4. Metales Pesados

Con el propósito de asegurar y evaluar la confiabilidad de los resultados, junto con el análisis de las muestras, se determinaron las concentraciones de los diferentes metales en el material de referencia correspondiente, en este caso, tejido de mejillón *Mytilus galloprovincialis* (Standard Reference Material® 2976, National Institute of Standards & Technology, NIST, 1998). Posteriormente, los resultados fueron comparados con los valores certificados y se obtuvieron los porcentajes de recuperación, incluidos en la Tabla 11.



Tabla 11. Valores certificados, encontrados y porcentajes de recuperación obtenidos para cada uno de los metales analizados, con base a peso seco.

Metal	Valor certificado ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	Valor encontrado ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	Porcentaje de recuperación (%)
Cadmio	0.82±0.16	0.96±0.03	117.4
Cobre	4.02±0.33	4.58±0.11	113.9
Mercurio	61.0±3.6*	63.2±9.9*	103.6
Plomo	1.19±0.18	1.37±0.08	115.2
Zinc	137±13	163.8±9.7	119.5

\*Valor reportado en  $\mu\text{g Kg}^{-1}$ , de acuerdo al material de referencia.

Todas las concentraciones de metales están dadas con base a peso seco (80 % de humedad promedio para todos los grupos de organismos) para fines de comparación con estudios previos; pero para efectos de comparar con los límites máximos permisibles, se menciona su equivalencia en peso húmedo. En la Tabla 12 se muestran los promedios globales determinados para cada sistema lagunar.

Tabla 12. Promedios globales de las concentraciones de metales ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) determinadas en tejido blando de ostión, de los sistemas lagunares estudiados, con base a peso seco.

Sistema lagunar	Cd	Cu	Hg	Pb	Zn
EC	7.65 ± 5.15	63.3 ± 25.3	0.54 ± 0.15	0.74±0.05	920 ± 842
SMOT	5.56 ± 4.06	25.7 ± 8.1	0.18 ± 0.13	0.30±0.24	1089 ± 891
SINM	8.39 ± 5.03	112.6 ± 109.1	0.39 ± 0.17	0.65±0.33	685 ± 604
SMLR	9.02 ± 2.54	36.0 ± 2.0	0.30 ± 0.06	1.64±1.04	226 ± 55
AEP	6.47 ± 2.80	75.6 ± 11.8	0.52 ± 0.10	2.11±0.37	426 ± 95
CEU	4.27 ± 1.12	23.1 ± 8.2	0.57 ± 0.19	0.96±0.24	349 ± 29
URI	1.45 ± 0.75	84.0 ± 11.2	0.17 ± 0.13	1.36±1.14	1745 ± 243
ST	0.64 ± 0.07	20.7 ± 2.4	0.29 ± 0.08	1.51±0.93	783 ± 149
LD	0.06	3.6	0.06	0.44	11.3

LD, límite de detección (2 desviaciones estándar)

Se determinaron los límites de detección, considerando la respuesta del blanco, esto es, se obtuvo la desviación estándar de al menos 10 lecturas de absorbancia del blanco y se multiplicó por 2 (ya que, estadísticamente, la probabilidad que está dentro de 2 desviaciones estándar es del 95.4 %).

De manera general, los niveles de las concentraciones promedio determinadas para los diferentes metales fueron Zn > Cu > Cd > Pb > Hg para ambos periodos de muestreo. En estudios realizados con otras especies de ostiones, también se han encontrado

secuencias similares de la presencia de estos metales. Tal es el caso de los niveles de  $Zn > Cu > Cd > Pb$  determinados para *C. iredalei* (Azlisham *et al.*, 2009) y *C. rhizophorae* (Amado-Filho *et al.*, 2008) (trabajos en los que no se analizó la presencia de mercurio); así como los niveles de  $Zn > Cu > Cd > Hg$  determinados en ostiones *C. gigas* (Chen y Chen, 2003). Sin embargo, en trabajos anteriores realizados en la misma área de estudio (lagunas costeras de Sinaloa), se han observado algunas variaciones en la secuencia de acumulación de estos metales. Osuna-López *et al.*, (1990) y Frías-Espéricueta *et al.* (2009) encontraron concentraciones de  $Zn > Cu > Pb > Cd$  en *C. corteziensis*.

El zinc y el cobre son ejemplos de metales esenciales, razón por la cual se encuentran en mayores concentraciones. La elevada acumulación de estos micronutrientes por los ostiones permite un equilibrio biológico con su alta utilización en los procesos metabólicos de estos organismos. El Zn y Cu presentes en forma de iones ( $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ) actúan como cofactores naturales en las reacciones enzimáticas que ocurren dentro de las células y, por lo tanto, los ostiones ingieren altas concentraciones en su dieta. Por el contrario, metales no esenciales como Cd, Hg y Pb, al no presentar funciones fisiológicas conocidas, están presentes en bajas concentraciones en los tejidos de ostión (Silva *et al.* 2001; Azlisham *et al.*, 2009).

#### **8.4.1. Cadmio**

El promedio global de las concentraciones de Cd (con base a peso seco) para todos los sitios y lagunas fue de  $5.37 \pm 3.20 \mu g g^{-1}$ . En general, se determinaron mayores concentraciones en los sistemas lagunares localizados en el centro y norte de Sinaloa, encontrándose diferencias significativas en comparación con los sistemas de CEU y URI, localizados en la parte sur (Fig. 29).

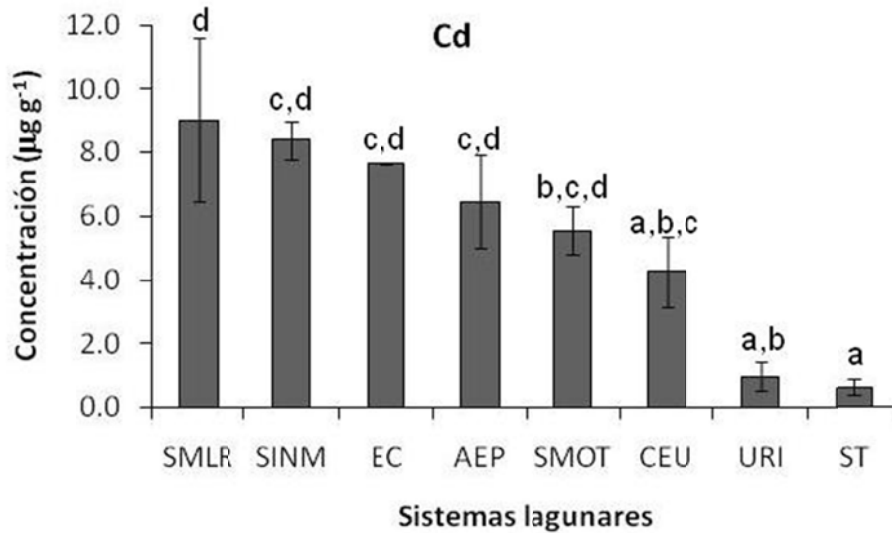


Figura 29. Promedio  $\pm$  desviación estándar de las concentraciones de cadmio con base a peso seco, encontradas en cada sistema lagunar. Lagunas con diferente letra indican que las medias son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) entre sí.

Los promedios globales por temporada para todas las lagunas fueron de  $4.87 \pm 3.01$  y  $5.87 \pm 3.52 \mu\text{g g}^{-1}$  con base a peso seco para las épocas de lluvias y secas, respectivamente. De manera general se encontraron mayores concentraciones en las muestras de la temporada de secas, en comparación con los promedios obtenidos para la temporada de lluvias, con excepción de los sistemas SMOT, URI y EC. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los promedios por estación para cada laguna, debido a las amplias desviaciones estándar que, a su vez, se deben a las diferencias en las concentraciones entre los sitios dentro de una misma laguna (Fig. 30). Esta tendencia es similar a los resultados de estudios realizados con la misma especie de ostiones en el estado de Sonora (García-Rico *et al.*, 2010), en el cual se determinaron mayores concentraciones de Cd en las muestras recolectadas durante junio, respecto a las del mes de noviembre. A diferencia de estos resultados, en un estudio similar con ostiones *C. rhizophorae*, Amado-Filho *et al.* (2008) encontraron mayores concentraciones de Cd en las muestras de la temporada de lluvias, aunque tampoco se encontraron diferencias significativas.

Los niveles elevados de las concentraciones de Cd han sido observados y documentados en muestras de lugares con registros de surgencias (Lares *et al.*, 2009).

Por lo que, probablemente, la presencia de estos eventos podría estar incidiendo en las altas concentraciones encontradas durante la estación de secas, ya que tales eventos se presentan también en el Golfo de California (Delgadillo-Hinojosa *et al.*, 2001), con posibles efectos de incremento de este metal en los sistemas lagunares debido al ingreso de las aguas de surgencias.

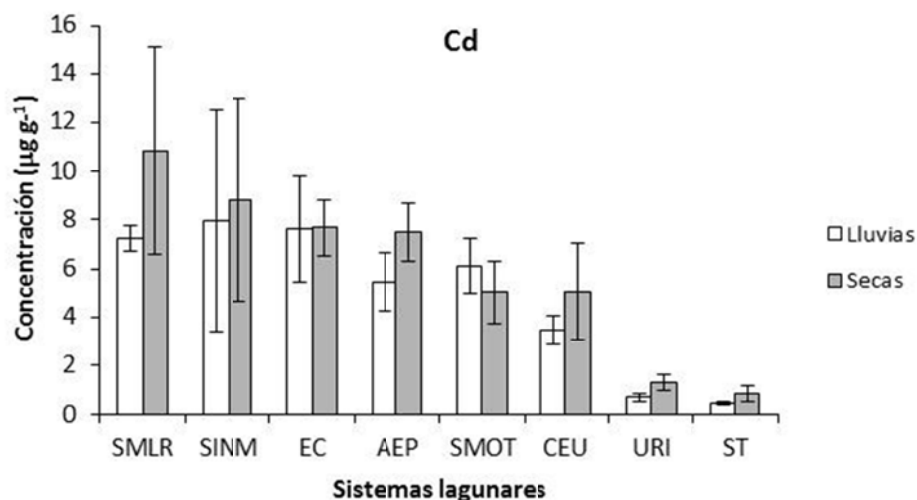


Figura 30. Promedio  $\pm$  desviación estándar de las concentraciones de cadmio, con base a peso seco, encontradas en cada sistema lagunare, durante las estaciones de lluvias y de secas.

Durante la época de lluvias, los promedios de Cd de los diferentes sitios de muestreo fueron menores al límite máximo permisible, de acuerdo a la Organización Mundial de Salud (WHO, 1982; por sus siglas en inglés: World Health Organization), esto es  $2 \mu\text{g g}^{-1}$  de Cd en tejido fresco, equivalentes a  $10 \mu\text{g g}^{-1}$  en base a peso seco. Este límite máximo permisible también equivale al que marca la norma oficial mexicana correspondiente (NOM-242, 2011). No obstante, en el sitio 9, perteneciente al sistema SINM, la concentración ( $13.24 \pm 1.66 \mu\text{g g}^{-1}$ ) rebasó este límite. En este caso, es probable que los niveles encontrados estén relacionados con el transporte de materiales desde la cuenca de drenaje, ya que dicho sitio se localiza en la parte más alejada de la boca de las laguna, por lo que el intercambio de agua con el mar abierto es menor (Figura 31a). Finalmente y como se esperaba, en el sitio testigo se encontraron las menores concentraciones de Cd durante esta temporada ( $0.45 \pm 0.05 \mu\text{g g}^{-1}$ ).

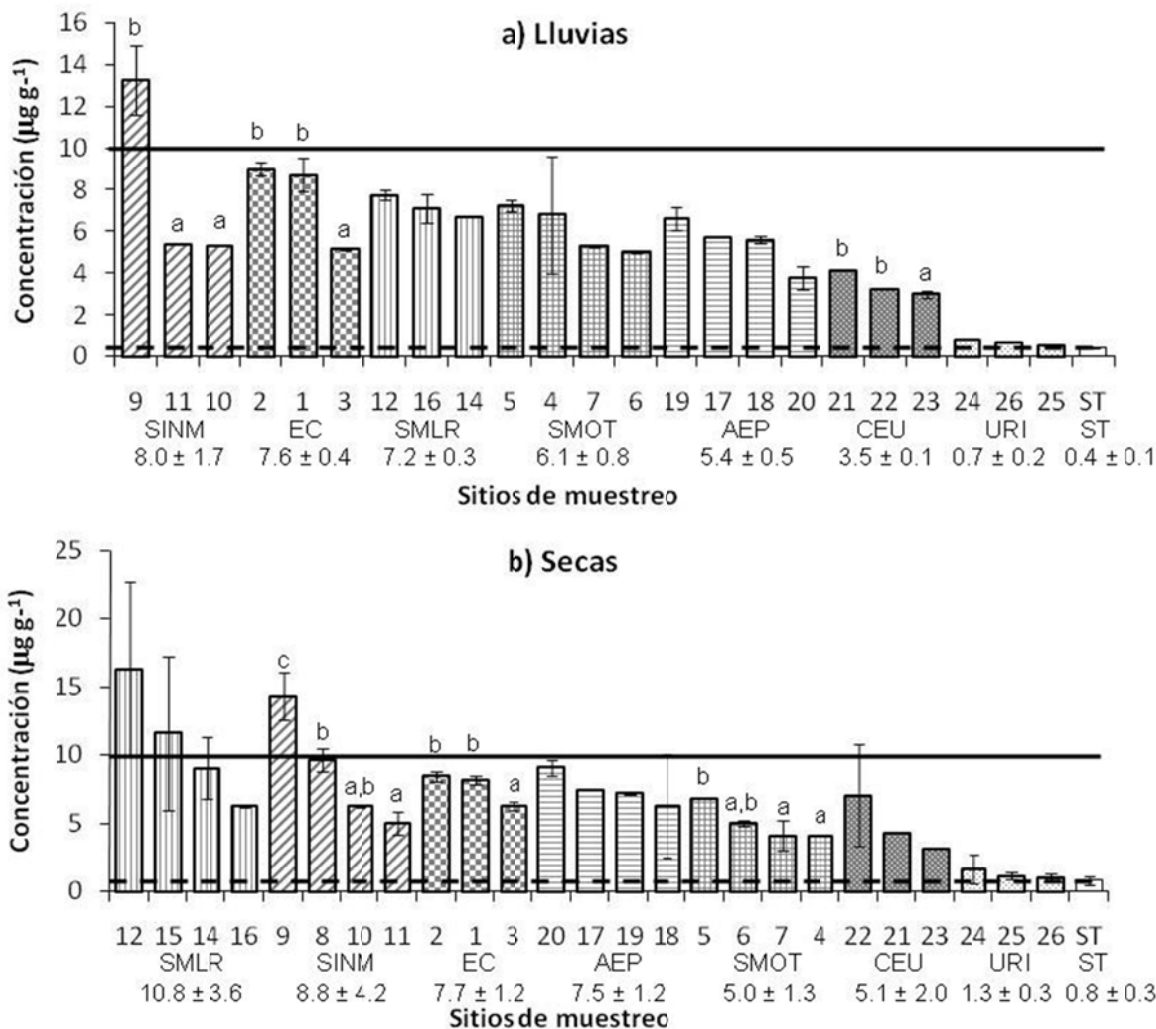


Figura 31. Promedios  $\pm$  desviación estándar de las concentraciones de Cd, con base a peso seco, encontradas en cada sitio de muestreo, durante las estaciones de lluvias (a) y secas (b); límite máximo permisible, según la norma internacional y la norma mexicana (WHO, 1982 y NOM-242, línea continua) y nivel encontrado en el sitio testigo (línea punteada). Letras diferentes implican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre sitios dentro del mismo sistema lagunar.

En cambio, durante la temporada de secas, las concentraciones promedio encontradas en los sitios 12 y 15 de SMLR y de nuevo en la estación 9 de SINM sobrepasaron el límite máximo permisible establecido (WHO, 1982), con promedios de  $16.32 \pm 6.42$ ,  $11.64 \pm 5.63$  y  $14.33 \pm 1.74 \mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente. Pero también en esta temporada se sobrepasa en todos los sistemas, excepto en URI y el ST el límite máximo establecido por la legislación mexicana (NOM-242, 2011). En el caso de los sitios 12 y 15, éstos se localizan frente a cada una de las dos bocas que presenta este sistema, por lo que,

probablemente al presentarse las surgencias, éstas inciden principalmente en tales sitios. Pero, el sitio 9, como se mencionó anteriormente, se encuentra alejado de la boca de la laguna, por tal motivo, en este caso las altas concentraciones probablemente reflejan una entrada de Cd proveniente de la cuenca de drenaje de este sistema. Este resultado coincide con el estudio de Frías-Espericueta *et al.* (2009) en el cual encontraron los contenidos más altos de Cd en muestras de Navachiste. En los otros sitios se encontraron concentraciones muy cercanas al límite máximo permisible o superiores a éste, al menos en uno de los duplicados (*e.g.* sitios 8, 18, 20 y 22), pero en promedio fueron niveles menores a la concentración límite de la norma nacional (NOM-242, 2011) e internacional (WHO, 1982). Nuevamente, las mayores concentraciones durante esta temporada se observaron en las lagunas de la región centro-norte, y la menor concentración promedio ( $0.8 \pm 0.34 \mu\text{g g}^{-1}$ ) se encontró en ST, al igual que durante la temporada anterior. De igual manera, URI ( $1.30 \pm 0.54 \mu\text{g g}^{-1}$ ) fue el único sistema con concentraciones comparables a las del sitio testigo (Fig. 31b). Esto indica, de alguna manera, que las actividades industriales, la presencia de la termoeléctrica y de las granjas de camarón no influyen significativamente en el complejo lagunar para aumentar las concentraciones de Cd en URI.

Aunque el Cd se presenta en el ambiente marino en concentraciones muy bajas, la mayoría de los organismos marinos, especialmente moluscos y crustáceos, pueden acumularlo rápidamente. Dentro del organismo, no se presenta una distribución uniforme, sino que se acumula selectivamente en órganos específicos como el hígado, el riñón, las branquias y el exoesqueleto (*e.g.* crustáceos y peces); pero las concentraciones en el tejido muscular son de varios órdenes de magnitud menor. La forma química del Cd en el ambiente es de gran importancia para su bioacumulación, la mayor parte es capturada en forma de cloruro de cadmio ( $\text{CdCl}_2$ ), por lo que la salinidad puede afectar su especiación; sin embargo, en los organismos los niveles de Cd no sólo dependen de factores abióticos, sino de factores bióticos como el metabolismo. En algunos estudios se ha observado su depuración por algunos bivalvos, pero otros organismos muestran una retención muy efectiva. La formación de metalotioneinas para la detoxificación y almacenamiento ha sido observada en una gran variedad de

organismos marinos (Ray, 1986). En este sentido, se ha observado una correlación positiva entre altas concentraciones de Cd y la presencia de metalotioneinas. Además de la excreción, existen otras rutas de eliminación del cadmio, entre las que se incluyen la secuestación en estructuras epidérmicas (e.g. plumas, piel, escamas y pelo), así como la transferencia de Cd en hembras hacia los huevos y las crías (Burger, 2008). En los moluscos bivalvos, además, se ha mostrado una transferencia de metales hacia las valvas (e.g. Cd y Zn en capas de calcita y de Pb en capas de aragonita); lo cual confirma la suposición de una sustitución de los iones de calcio por estos metales pesados y la formación de los respectivos carbonatos que precipitan junto con el carbonato de calcio durante los procesos de crecimiento de las valvas de los moluscos analizados (Cotugno *et al.*, 1980). En los mejillones también se ha observado la transferencia de algunos metales hacia el bisco (Szefer y Geldon., 1998; Szefer *et al.*, 2004).

#### **8.4.2. Cobre**

El promedio global de las concentraciones de Cu fue de  $55.1 \pm 33.9 \mu\text{g g}^{-1}$ . Respecto a este metal, la mayor concentración se encontró en SINM ( $112.6 \pm 109.1 \mu\text{g g}^{-1}$ ) y, debido a su elevada desviación estándar, al hacer el análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas con el resto de las lagunas. En cambio, se realizó el análisis estadístico con los resultados de todas las lagunas sin considerar los datos de SINM y se observaron diferencias significativas entre los promedios de concentración (Fig. 32). Después de SINM se encuentran AEP y URI también con las mayores concentraciones (los dos primeros sistemas localizados en la porción media y URI en el sur de Sinaloa). En estudios similares con la misma especie, se han encontrado también las mayores concentraciones de Cu en sitios de estos tres sistemas lagunares (Páez-Osuna *et al.*, 2002; Frías-Espericueta *et al.*, 2009).

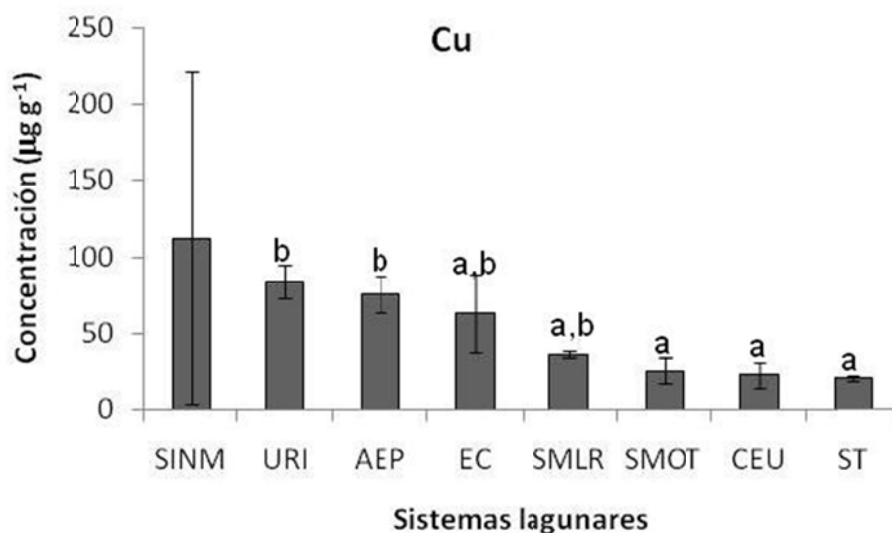


Figura 32. Promedio  $\pm$  desviación estándar de las concentraciones globales de cobre, con base a peso seco, encontradas en cada sistema lagunare. Lagunas con diferente letra indica que las medias son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) entre sí.

Los sistemas SINM y AEP se localizan en la parte centro-norte de Sinaloa, en cuyas cuencas se encuentran las áreas más productivas y extensivas para la agricultura en México y se realiza principalmente la agricultura intensiva, para la cual se utilizan cantidades importantes de productos a base de cobre para la protección de las semillas. Por esta razón, se esperarían encontrar altas concentraciones de este metal en las lagunas del centro y norte. Sin embargo, las altas concentraciones de cobre en los sitios de URI, muestran una importante fuente de este metal debido a las descargas de los efluentes municipales e industriales, a la presencia de su planta termoeléctrica, así como a sus actividades portuarias. Esto puede deberse a las pinturas anti-incrustantes utilizadas en sus flotas pesqueras y a las aguas residuales de las industrias procesadoras de pescado (Frías-Espericueta *et al.*, 2009).

Los promedios por temporada para todas las lagunas fueron de  $47.2 \pm 22.4$  y  $63.1 \pm 38.8 \mu\text{g g}^{-1}$ , para las temporadas de lluvias y secas, respectivamente (Fig. 33). Las concentraciones más altas fueron encontradas en las muestras de la temporada de secas en los sistemas SINM y AEP, y en las muestras de la temporada de lluvias en los sistemas URI y EC.



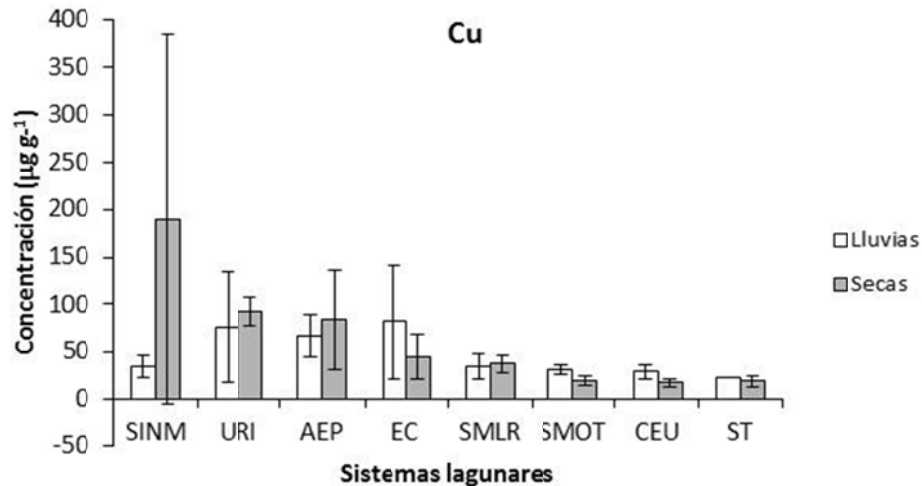


Figura 33. Promedios  $\pm$  desviación estándar de las concentraciones de cobre, con base a peso seco, encontradas en cada sistema lagunare, durante la época de lluvias y de secas. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las medias de las dos temporadas en cada laguna.

En SINM se obtuvo un promedio con su desviación estándar muy alta ( $112.6 \pm 109.1 \mu\text{g g}^{-1}$ ), lo cual implica la marcada diferencia entre las concentraciones de las temporadas de lluvias y secas. Para los otros sistemas, el análisis estadístico solo mostró diferencias significativas entre los promedios por temporada de SMOT y CEU.

Las concentraciones más elevadas de Cu durante la época de lluvias fueron encontradas en los sistemas EC, URI y AEP, cuyos promedios rebasaron el límite máximo permisible de  $10 \mu\text{g g}^{-1}$  en base a peso húmedo, equivalente a  $50 \mu\text{g g}^{-1}$  en peso seco (WHO, 1982). En los sitios 9 y 16 de los sistemas SINM y SMLR se encontraron concentraciones cercanas, pero inferiores a este límite (Fig. 34a). En las muestras de URI de la época de lluvias, el sitio 24, que es el más cercano a la planta termoeléctrica, presentó la mayor concentración promedio de cobre, esto coincide con los resultados de Frías-Espericueta *et al.* (2005), quienes encontraron esta tendencia en ostiones de la misma especie y, de igual forma, coincide la tendencia respecto a las menores concentraciones, las cuales se determinaron en ambos estudios en los sitios más cercanos a la cabeza del estero (sitio 26 de este estudio). En esa zona se encuentran establecidas granjas camaronícolas cuya presencia, al parecer, tiene nula o

menor incidencia en la carga de este metal hacia el sistema, en comparación con las otras actividades (e.g. planta termoeléctrica, industria pesquera).

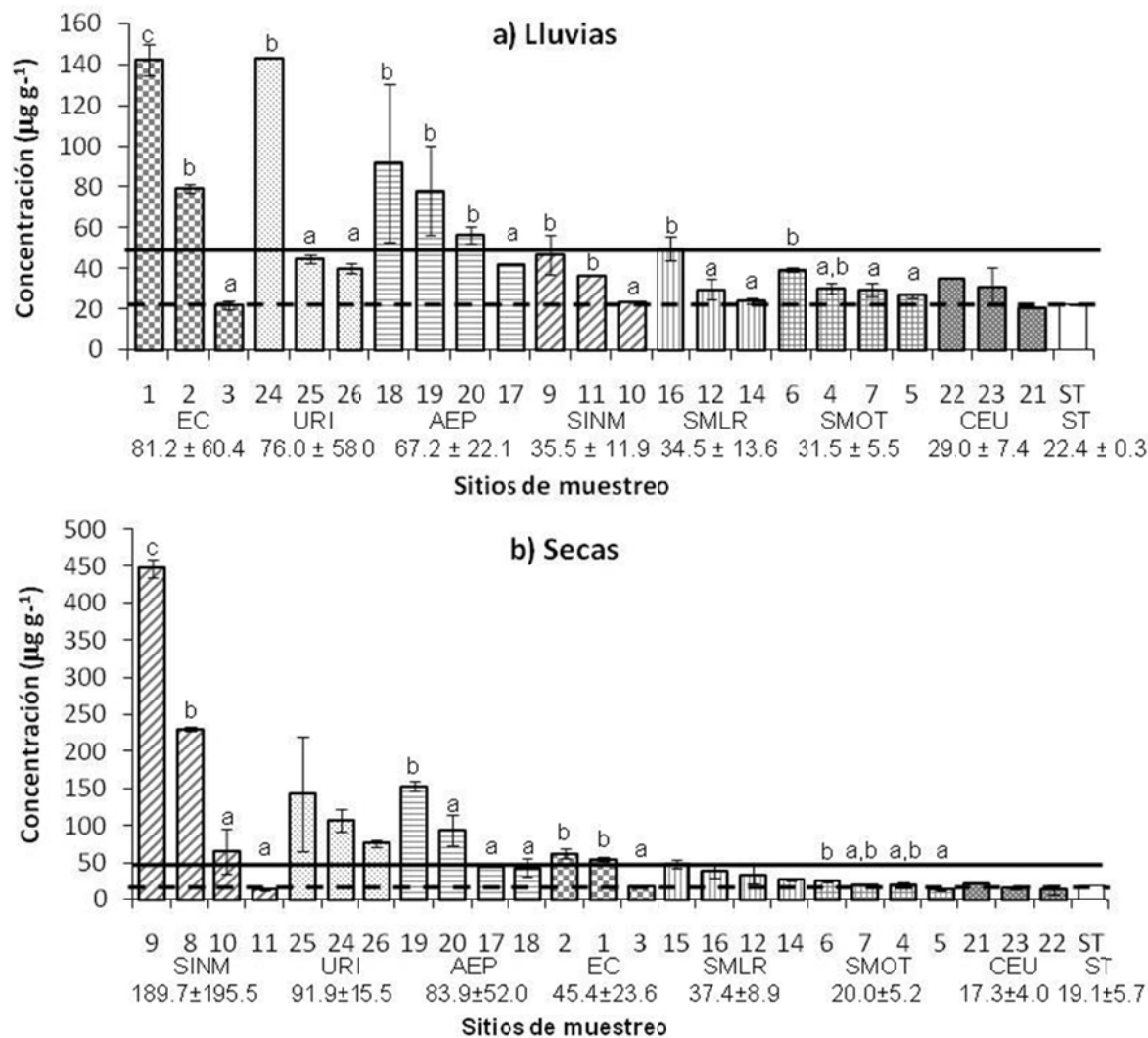


Figura 34. Promedios  $\pm$  desviación estándar de las concentraciones de cobre, con base a peso seco, encontradas en cada sitio de muestreo, durante las estaciones de lluvias (a) y secas (b); límite máximo permisible, según la norma internacional (WHO, 1982, línea continua) y nivel encontrado en el sitio testigo (línea punteada). Letras diferentes implican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre sitios dentro del mismo sistema lagunar.

En la temporada de secas el promedio del sistema SINM presentó los niveles más altos de cobre ( $189.7 \pm 195.5 \mu\text{g g}^{-1}$ ), con amplias diferencias entre los sitios de muestreo. En este sistema, sobresale la concentración encontrada para el sitio 9 ( $447.96 \pm 12.03 \mu\text{g g}^{-1}$ ), localizado en la porción más alejada de las bocas de este sistema. Por lo que, estas

altas concentraciones pueden estar relacionadas con escurrimientos desde la cuenca de drenaje (Fig. 34b). Por el contrario, Frías-Espéricueta *et al.* (2009) determinaron los niveles más altos en Navachiste en los sitios más cercanos a la boca de este sistema, aunque sólo presentan sus promedios anuales, sin desglosarlos por temporada. El estero de Urías y el sistema AEP también sobrepasaron el límite máximo permisible. En ambas temporadas los sistemas SMLR, SMOT y CEU presentaron las menores concentraciones en ese orden decreciente, respectivamente, pero solamente los promedios de SMOT ( $20.0 \pm 5.2 \mu\text{g g}^{-1}$ ) y CEU ( $17.3 \pm 4.0 \mu\text{g g}^{-1}$ ) fueron comparables a los encontrados en el sitio testigo ( $19.1 \pm 5.7 \mu\text{g g}^{-1}$ ). Frías-Espéricueta *et al.* (2009) también encontraron las menores concentraciones de Cu en Ceuta, aunque sus resultados mostraron niveles más elevados de este metal ( $29.7 - 72.1 \mu\text{g g}^{-1}$ ).

#### 8.4.3. Mercurio

El promedio general de las concentraciones de Hg de todas las lagunas y para ambas épocas fue de  $0.37 \pm 0.16 \mu\text{g g}^{-1}$ . Si bien, se encontraron mayores concentraciones en las lagunas de CEU, EC y AEP; al hacer el análisis estadístico, no se encontraron diferencias significativas entre los promedios globales de los diferentes sistemas lagunares (Fig. 35).

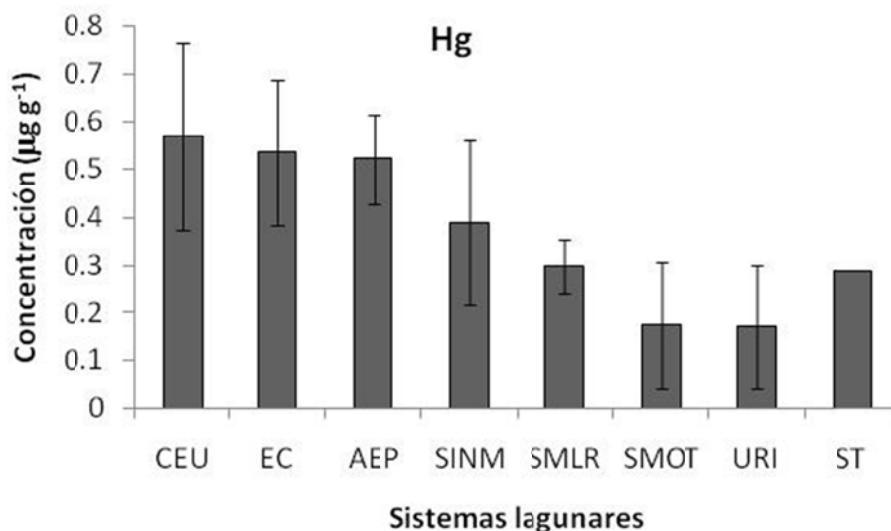


Figura 35. Promedio  $\pm$  desviación estándar de las concentraciones globales de mercurio, con base a peso seco, encontradas en cada sistema lagunar.

Los promedios por temporada fueron de  $0.46 \pm 0.18$  y  $0.28 \pm 0.15 \mu\text{g g}^{-1}$ , para las épocas de lluvias y secas, respectivamente. En todos los sistemas se encontraron concentraciones más altas en las muestras de la temporada de lluvias, en comparación con los promedios obtenidos para la temporada de secas (Fig. 36), encontrándose diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las medias de las temporadas de lluvias y secas de cada laguna (excepto en AEP y SMLR,  $p > 0.05$ ).

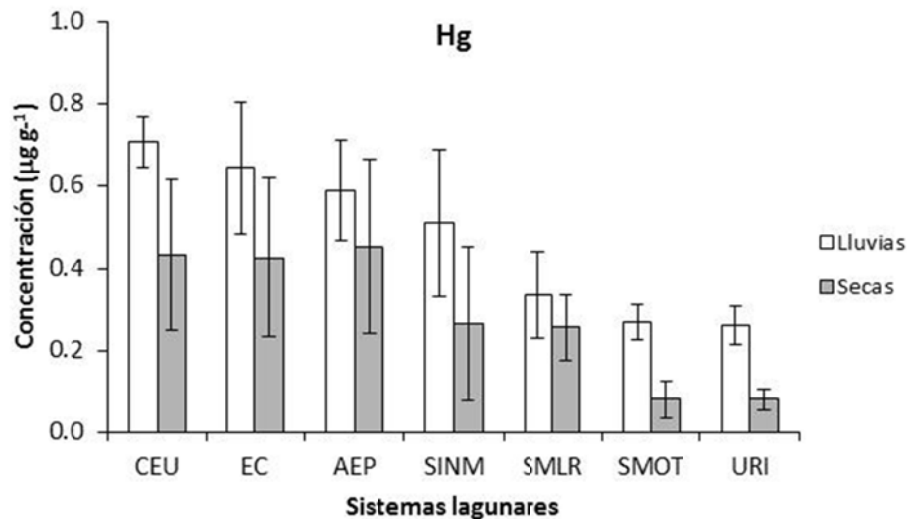


Figura 36. Promedios  $\pm$  desviación estándar de las concentraciones de mercurio, con base a peso seco, encontradas en cada sistema lagunar, durante la temporada de lluvias y de secas. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las medias de las dos temporadas en cada laguna.

Estos resultados pueden ser explicados por el transporte de materiales desde las cuencas de drenaje hacia las lagunas. En un estudio con la almeja *Polymesoda caroliniana* del estuario del río Coatzacoalcos, Ruelas-Inzunza *et al.* (2009) encontraron niveles de mercurio significativamente mayores durante la temporada de lluvias, en comparación con la temporada de secas. En un estudio similar, en la región costera de Marruecos, Maanan (2008) encontró también concentraciones más altas de Hg en las muestras de la temporada de lluvias y esta tendencia se ha observado también en estudios realizados en regiones costeras de otros países (Terengganu, Malasia; Affizah *et al.*, 2009). Otro factor a considerar es la fase de maduración de los ostiones, la cual incide en las fluctuaciones estacionales de las concentraciones de metales en estos organismos (Frías-Espericueta *et al.*, 1999). El

estado reproductivo y la talla corporal ejercen una influencia importante sobre la acumulación y variabilidad de los metales pesados (Páez-Osuna *et al.*, 1995). Frías-Espicueta *et al.* (1997) estudiaron el ciclo reproductivo de *C. corteziensis* en organismos recolectados en San Blas, Nayarit y observaron que las fases de reposo y maduración se presentan respectivamente en los meses de noviembre y marzo-abril.

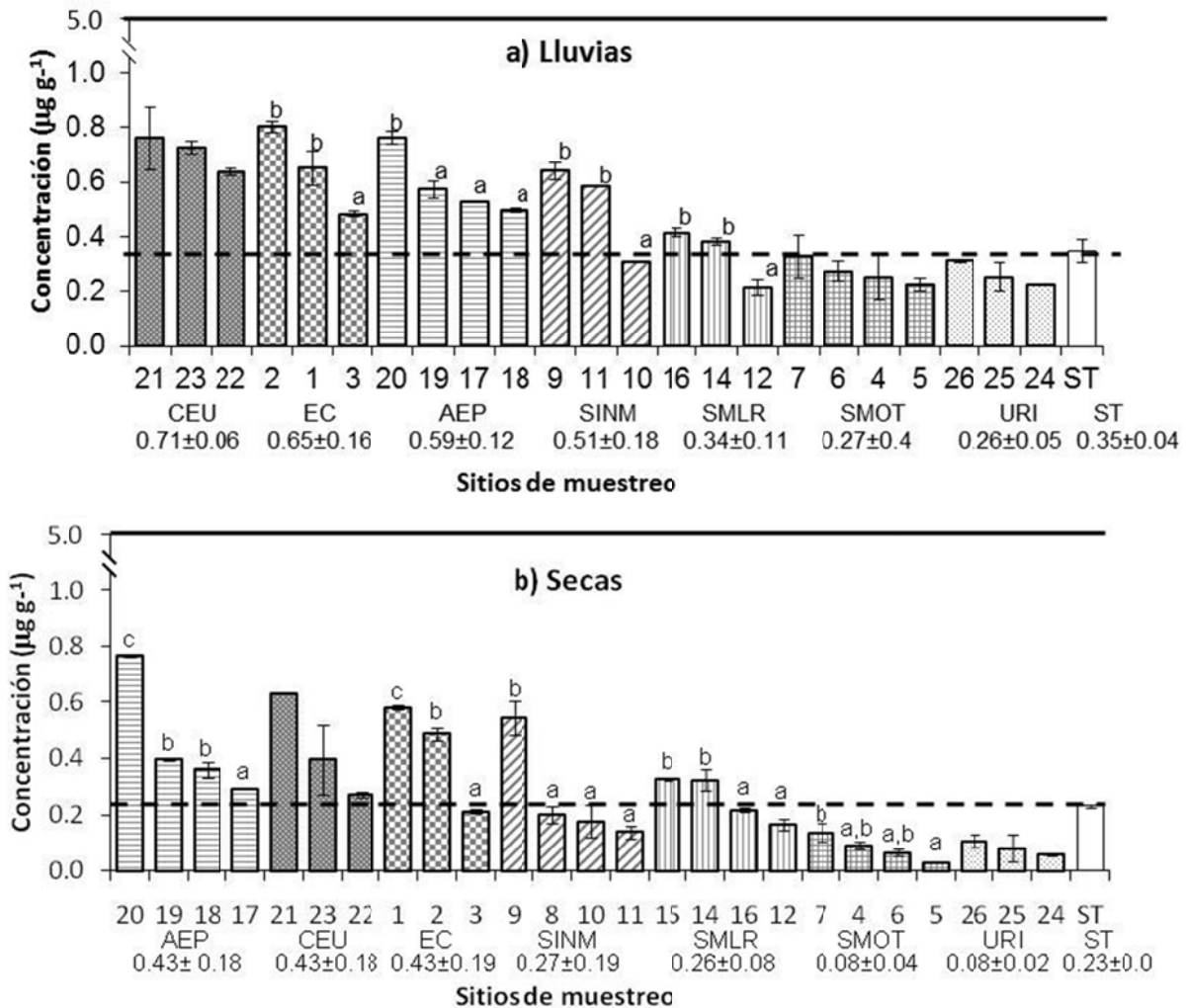


Figura 37. Promedios  $\pm$  desviación estándar de las concentraciones de mercurio, con base a peso seco, encontradas en cada sitio de muestreo, durante las estaciones de lluvias (a) y secas (b); límite máximo permisible, según la norma (WHO, 1982 y NOM-031, 1993, línea continua) y nivel encontrado en el sitio testigo (línea punteada). Letras diferentes implican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre sitios dentro del mismo sistema lagunar.

Por lo que encontraron que las mayores concentraciones para algunos metales ocurren cuando los ostiones están en la fase de reposo y las menores concentraciones de los mismos metales fueron encontradas cuando los ostiones presentaban una marcada actividad gametogénica (Frías-Espericueta *et al.*, 1999).

En ambas épocas de muestreo, los sistemas lagunares donde se presentaron las concentraciones más altas de Hg fueron CEU, EC y AEP, aunque en ninguno de los sitios de muestreo se encontraron niveles superiores al límite máximo permisible ( $1 \mu\text{g g}^{-1}$ ; WHO, 1982 y NOM-031, 1993), equivalente a  $5 \mu\text{g g}^{-1}$  de tejido seco. Si bien, en ninguno de los sitios se sobrepasó tal límite; las concentraciones de Hg determinadas fueron superiores a aquellas encontradas en otras regiones costeras dentro del mismo Golfo de California ( $0.04 \mu\text{g g}^{-1}$ , García-Rico *et al.*, 2010), así como en un estudio anterior realizado en URI ( $0.08 \mu\text{g g}^{-1}$ , Jara-Marini *et al.*, 2008). Durante la época de lluvias, las concentraciones determinadas para el ST ( $0.35 \pm 0.04 \mu\text{g g}^{-1}$ ) fueron mayores que aquellas encontradas en SMOT ( $0.27 \pm 0.04 \mu\text{g g}^{-1}$ ) y URI ( $0.26 \pm 0.04 \mu\text{g g}^{-1}$ ) y comparables con la concentración promedio de SMLR ( $0.34 \pm 0.11 \mu\text{g g}^{-1}$ ). Una tendencia similar se presentó en las concentraciones de Hg de la temporada de secas, aunque con niveles menores (Fig. 37a,b). En este caso, se puede estar presentando un enriquecimiento natural por Hg en ST, o bien, sus niveles relativamente altos con respecto a los otros sistemas, debido a los aportes atmosféricos y/o a la presencia de minerales enriquecidos con mercurio en la cuenca de drenaje. El mercurio se transforma fácilmente a especies volátiles y es transportado vía atmosférica, una vez depositado en los ambientes acuáticos o terrestres, se bioacumula en la trama alimenticia (Yang *et al.*, 2008), y de esta forma, se presenta un impacto incluso en áreas prístinas muy alejadas de las fuentes de este metal (Yang *et al.*, 2010).

#### **8.4.4. Plomo**

El promedio general de las concentraciones de Pb de todas las lagunas y de las dos épocas estudiadas fue de  $1.16 \pm 0.60 \mu\text{g g}^{-1}$ . Los sistemas con las más altas concentraciones de este metal fueron AEP, SMLR y URI (Fig. 38); pero no se encontraron diferencias significativas mediante el análisis estadístico, debido a las

amplias desviaciones estándar determinadas, las cuales reflejan grandes diferencias entre las concentraciones de las temporadas de lluvias y secas encontradas dentro de la misma laguna (excepto para EC y ST).

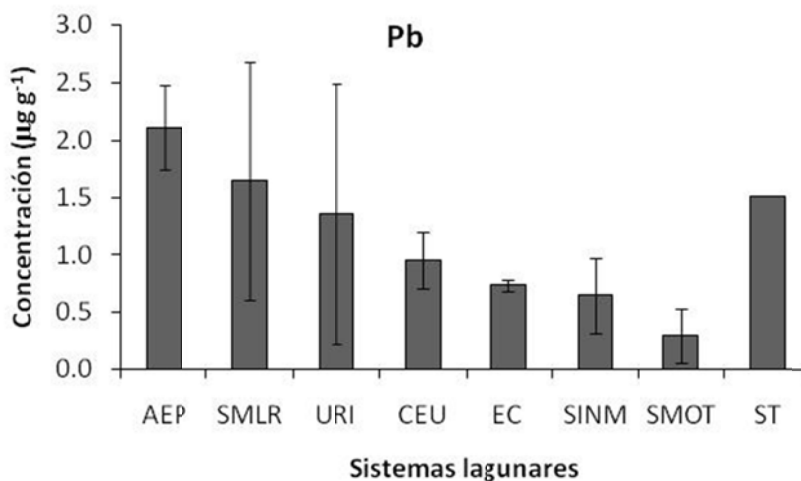


Figura 38. Promedio  $\pm$  desviación estándar de las concentraciones globales de plomo, con base a peso seco, encontradas en cada sistema lagunar.

Al igual que en el presente estudio, Páez-Osuna et al. (2002) determinaron en AEP ( $7.6 \mu\text{g g}^{-1}$ ) y URI ( $7.4 \mu\text{g g}^{-1}$ ) las concentraciones más altas de este metal; así como sus niveles más bajos en la laguna de Ohuira (SMOT;  $2.5 \mu\text{g g}^{-1}$ ). Sin embargo, en este trabajo se encontraron menores niveles de plomo, en comparación con estudios anteriores realizados en sistemas lagunares de Sinaloa (Páez-Osuna et al., 2002; Frías-Espericueta et al., 2009). Incluso en los sistemas con mayores concentraciones, los niveles fueron menores que los que se habían determinado anteriormente. En AEP, Frías-Espericueta et al. (2008) encontraron valores entre  $7.7$  y  $8.7 \mu\text{g g}^{-1}$  en muestras de ostiones *C. corteziensis* recolectadas en 2004 y 2005. Para el sistema de URI, los valores determinados por Páez-Osuna y Marmolejo-Rivas (1990) tuvieron un intervalo mayor (entre  $1.5$  y  $15 \mu\text{g g}^{-1}$ ). El plomo se utilizó, hasta hace pocos años como aditivo antidetonante en la gasolina mexicana y las altas emisiones de los motores son la fuente probable de su alta concentración en los sedimentos de estas lagunas ( $46 - 294 \mu\text{g g}^{-1}$ ; Green-Ruíz y Páez-Osuna, 2003). En este caso, el Pb podría liberarse de los sedimentos, en donde quedó acumulado en los años previos. Aunque hay otras fuentes

de este metal, como son los sitios de minería y las concentraciones naturales de los suelos de las planicies costeras del Pacífico (Páez-Osuna, 1999; Frías-Espericueta *et al.*, 2009). Soto-Jiménez y Flegal (2008) analizaron cinco fuentes potenciales de plomo en ecosistemas costeros de la eco-región del Golfo de California y las caracterizaron mediante métodos de isotopía, tales fuentes corresponden a: (a) el plomo como componente natural de la roca de la Sierra Madre Occidental, (b) el plomo derivado de su uso en la combustión de las gasolinas en años pasados, (c) el plomo contenido en los fertilizantes aplicados en los valles agrícolas del noroeste de México, (d) el plomo liberado por intemperismo, volviéndose parte de los sedimentos de las minas en las estribaciones de la Sierra Madre y (e) la influencia de una fuente no-regional de plomo, relacionada con las emisiones industriales desde los Estados Unidos. En este último estudio, encontraron que cantidades significativas de plomo de origen antropogénico de las áreas urbanas pueden ser transportadas hacia los ecosistemas costeros adyacentes y que este transporte se produce principalmente por los sistemas de alcantarillado (escorrentía urbana y aguas residuales domésticas) y, en menor medida, por la deposición atmosférica directa. Aunque, se sabe también que el transporte atmosférico es el responsable de la presencia de plomo antropogénico y otros metales, presumiblemente originados desde las fuentes industriales, en Sudamérica y las regiones polares (Valiela, 2006; Páez-Osuna, 2011).

Los promedios por temporada fueron de  $0.78 \pm 0.50$  y  $1.54 \pm 0.80 \mu\text{g g}^{-1}$  de plomo, para las temporadas de lluvias y secas, respectivamente; con diferencias significativas en los sistemas URI, SINM y SMOT, así como en el ST. Esta tendencia se observó también en los estudios previos realizados por Frías-Espericueta *et al.* (2008) en AEP, Frías-Espericueta *et al.* (2009) en CEU; así como en otras regiones del Golfo de California (Bahía de Bacoachibampo, Sonora; García-Rico *et al.*, 2010). En el sitio testigo, se determinaron concentraciones promedio mayores que en todos los sistemas, excepto AEP y SMLR (Fig. 39). Al igual que el mercurio, el ciclo del plomo incluye el transporte atmosférico. Por lo tanto, aunque en la cuenca de drenaje de este sistema no se encuentren fuentes importantes de este metal, sus aguas pueden estar enriquecidas ya sea por este transporte o bien, se puede presentar un enriquecimiento natural de Pb a



partir de algunos minerales (Soto-Jiménez y Flegal, 2008). Tal es el caso de la galena (PbS) (Páez-Osuna, 2011). Las mayores concentraciones promedio de Pb en ambas temporadas se encontraron en los sistemas AEP, SMLR y URI. Sin embargo, en ninguno de los sitios de muestreo se registraron concentraciones superiores al límite máximo permisible de  $1 \mu\text{g g}^{-1}$  con base a peso húmedo (WHO, 1982 y NOM-242, 2011), equivalente a  $5 \mu\text{g g}^{-1}$  con base a peso seco.

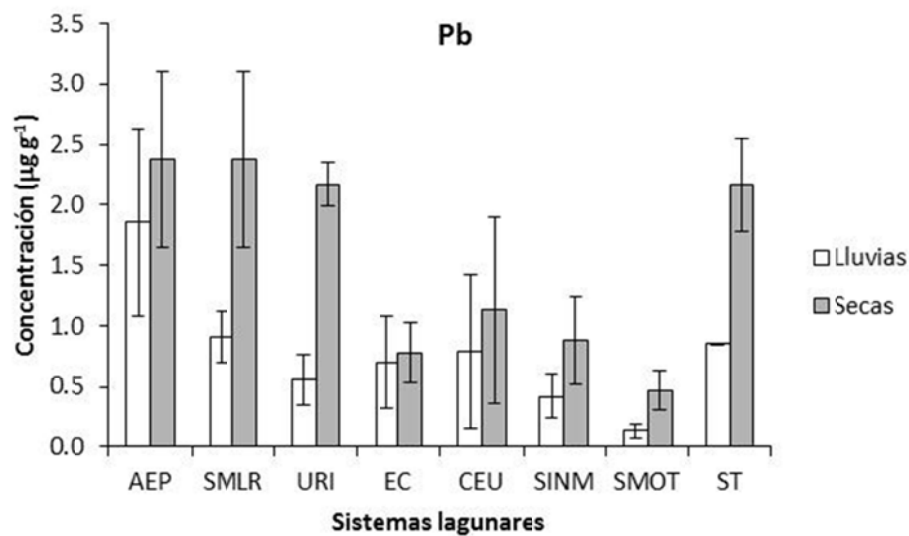


Figura 39. Promedios  $\pm$  desviación estándar de las concentraciones de plomo, con base a peso seco, encontradas en cada sistema lagunar, durante la estación de lluvias y de secas. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las medias de las dos temporadas en cada laguna.

Durante la temporada de lluvias, los promedios de concentración más altos se encontraron en los sistemas AEP, EC y SMLR (Fig. 40a). Anteriormente, Frías-Espéricueta *et al.* (2008), registraron en este sistema concentraciones promedio de  $7.7 \mu\text{g g}^{-1}$ , superiores a las determinadas en este estudio. En CEU sobresale la alta concentración del sitio 21 ( $1.52 \pm 0.42 \mu\text{g g}^{-1}$ ) con una diferencia significativa mayor ( $p < 0.05$ ) respecto a los otros dos sitios muestreados en este sistema. Lo cual implica una alta fuente de Pb cercana a tal sitio, ubicado en la parte más cercana al embarcadero y a la zona de estanquería de las granjas camaronícolas.

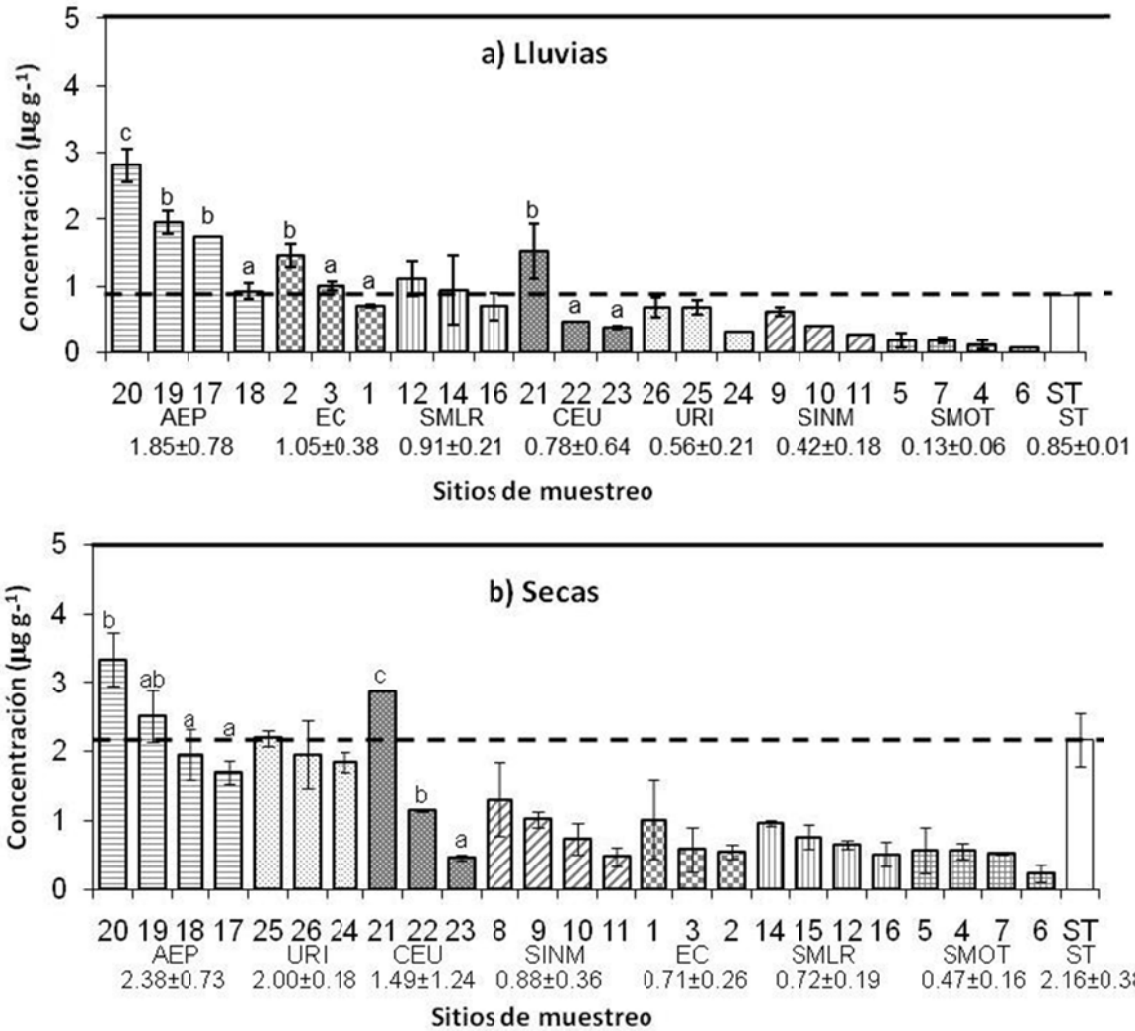


Figura 40. Promedios  $\pm$  desviación estándar de las concentraciones de plomo, con base a peso seco, encontradas en cada sitio de muestreo, durante las estaciones de lluvias (a) y secas (b); límite máximo permisible, según la norma (WHO, 1982 y NOM-242, 2011, línea continua) y nivel encontrado en el sitio testigo (línea punteada). Letras diferentes implican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre sitios dentro del mismo sistema lagunar.

Durante la temporada de secas, después de AEP, a diferencia de la temporada anterior, las mayores concentraciones se encontraron en los sistemas de la parte sur del estado, URI y CEU. En este último, nuevamente sobresale el promedio de Pb encontrado en el sitio 21 ( $2.86 \mu\text{g g}^{-1}$ ); mientras que en URI, el sitio 25 tuvo la concentración promedio más alta ( $2.20 \mu\text{g g}^{-1}$ ). Finalmente, las concentraciones determinadas para el ST fueron comparables o incluso más altas que las de la mayoría de los sitios muestreados (Fig. 40b). Esto indica la presencia de una fuente de plomo en la región, que puede estar

relacionada con la presencia de Pb intemperizado procedente de minerales ricos en este metal, o bien, con algún aporte localizado.

#### **8.4.5. Zinc**

La concentración promedio global de Zn para todas las lagunas y las dos épocas de muestreo fue de  $778 \pm 489 \mu\text{g g}^{-1}$ . Los promedios por temporada fueron de  $590 \pm 577 \mu\text{g g}^{-1}$  (lluvias) y  $966 \pm 587 \mu\text{g g}^{-1}$  (secas). En URI se encontraron las mayores concentraciones de este metal (Fig. 41). Al igual que en las determinaciones hechas para el cobre, se esperaba encontrar las mayores concentraciones de Zn en los sistemas de las zonas centro y norte de Sinaloa, mismas que están contempladas entre las áreas agrícolas mexicanas más productivas, dedicadas principalmente a la agricultura intensiva, en la cual se utilizan cantidades importantes de productos a base de Zn para proteger las semillas. A pesar de ello, los valores máximos de este metal se encontraron en URI, el cual recibe principalmente las descargas del puerto de Mazatlán, así como de su planta termoeléctrica y de los efluentes municipales e industriales. Por lo que, tales descargas parecen ser fuentes más importantes de Zn que los efluentes de la agricultura, posiblemente, debido a las aguas de desecho provenientes de las industrias procesadoras de pescado, ya que los peces marinos son una fuente rica en zinc (Frías-Espéricueta *et al.*, 2009). Los altos niveles de este metal en URI coinciden también con los análisis de estudios anteriores ( $1.467 \mu\text{g g}^{-1}$ , Páez-Osuna *et al.*, 2002 y  $2.304 \mu\text{g g}^{-1}$ , Frías-Espéricueta *et al.*, 2009). Otro factor que influye, es el tamaño relativamente pequeño de URI (1,280 ha de espejo de agua), en comparación con los demás sistemas lagunares; y la urbanización de sus áreas adyacentes.

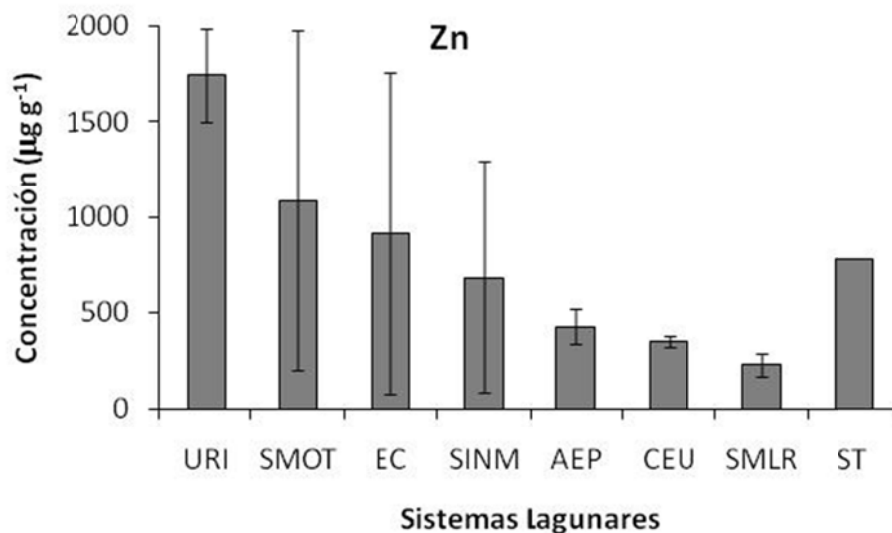


Figura 41. Promedio  $\pm$  desviación estándar de las concentraciones globales de zinc, con base a peso seco, encontradas en cada sistema lagunar.

Por otra parte, después de URI, los siguientes tres sistemas con mayores concentraciones promedio (SMOT > EC > SINM) se localizan en la parte centro-norte del estado, lo que se puede deber al elevado uso de agroquímicos en esta región, mencionado anteriormente. En contraste con esto, las menores concentraciones de Zn se registraron en SMLR, localizada también en la parte centro-norte. La tendencia de este último sistema se ha observado también en estudios previos (Páez-Osuna *et al.*, 2002). Finalmente, en el sitio testigo es posible que se esté presentando un enriquecimiento natural de Zn, o a una fuente localizada ya que se encontraron concentraciones promedio superiores a las de los sistemas AEP, CEU y URI.

En cuanto a la época del año, las concentraciones más altas se encontraron durante la temporada de secas en todos los sistemas, excepto en URI y en ST. En este último, la tendencia respecto a las mayores concentraciones determinadas en la temporada de lluvias, coincide con un estudio de metales realizado en el estuario de San Cristóbal, Nayarit, cuya localización es muy cercana a la de ST, por lo que su clima, régimen de lluvias, etc., son más similares entre sí, que con respecto a los sistemas lagunares de Sinaloa (Frías-Espericueta *et al.*, 1999).

No obstante, sólo se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los promedios por temporada de SMOT, EC y SINM. El ST presentó concentraciones promedio mayores que varios de los sistemas durante la temporada de lluvias (excepto URI) y superó los promedios de AEP, CEU y SMLR, en la temporada de secas (Fig. 42).

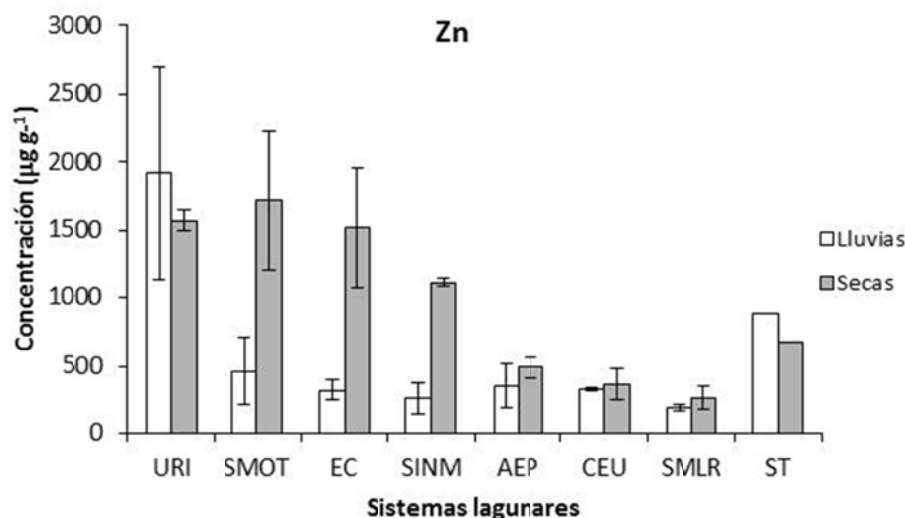


Figura 42. Promedios  $\pm$  desviación estándar de las concentraciones de zinc, con base a peso seco, encontradas en cada sistema lagunar, durante las estaciones de lluvias y de secas. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las medias de las dos temporadas en cada laguna.

Durante la temporada de lluvias el promedio de las concentraciones de Zn en URI ( $1916 \pm 784 \mu\text{g g}^{-1}$ ) y en ST ( $888 \pm 0.4 \mu\text{g g}^{-1}$ ) fueron mayores al límite permisible ( $100 \mu\text{g g}^{-1}$ ; WHO, 2003; equivalente a  $500 \mu\text{g g}^{-1}$  en peso seco). Las concentraciones promedio de los otros sistemas estuvieron por debajo de tal límite, aunque en los sitios 6 (SMOT) y 18 (AEP) se encontraron concentraciones de  $868 \pm 9$  y  $581 \pm 92 \mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente (Fig. 43a). En las muestras de la temporada de secas se obtuvieron concentraciones promedio superiores al límite máximo permisible (WHO, 1982) en la mayoría de los sistemas lagunares (SMOT, URI, EC, SINM), incluyendo al sitio testigo ( $677 \pm 91 \mu\text{g g}^{-1}$ ).

En los sistemas AEP y CEU se determinaron concentraciones superiores a tal límite, al menos en uno de los sitios de muestreo (Fig. 43b). La elevada incorporación de microelementos, tales como Zn y Cu, por los ostiones está biológicamente balanceada con la alta utilización de tales componentes en sus procesos metabólicos, ya que en sus

formas iónicas ( $Zn^{2+}$  y  $Cu^{2+}$ ) actúan como cofactores naturales en las reacciones enzimáticas dentro de la célula y, por lo tanto, los ostiones ingieren altas concentraciones de estos metales en su dieta (Silva *et al.*, 2001; Azlisham *et al.*, 2009).

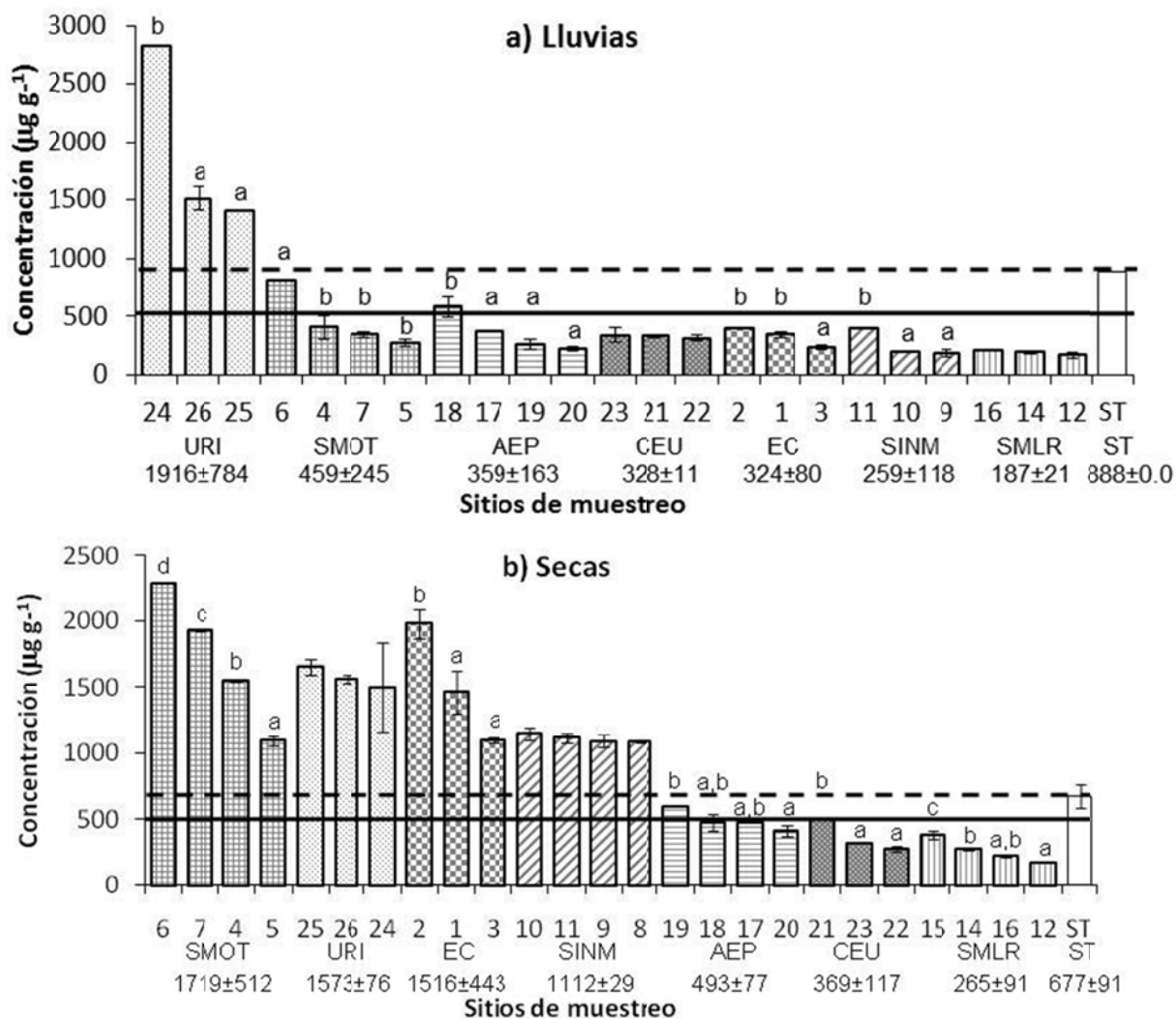


Figura 43. Promedios  $\pm$  desviación estándar de las concentraciones de zinc, con base a peso seco, encontradas en cada sitio de muestreo, durante las estaciones de lluvias (a) y secas (b); límite máximo permisible, según la norma (WHO, 1982, línea continua) y valor encontrado en el sitio testigo (línea punteada). Letras diferentes implican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre sitios dentro del mismo sistema lagunar.

Como ya se ha mencionado, existen factores externos que afectan las tasas de captura de metales, debido a que influyen en la forma y/o especiación de los metales y, por lo tanto, en su biodisponibilidad (Luoma y Rainbow, 2008). Entre esos factores externos, podemos encontrar algunos parámetros físico-químicos. Por ello, se realizaron análisis

de correlación (coeficiente de Pearson; Tabla 13) entre las concentraciones de metales y los valores de salinidad y temperatura registrados en cada sitio.

Tabla 13. Matriz de correlación entre los diferentes parámetros analizados;  $n = 50$  (sitios muestreados en las dos temporadas); valor  $r$  de tablas = 0.235 ( $p < 0.05$ ) (Zar, 1999).

	Cd	Cu	Hg	Pb	Zn	IC	S (‰)	T (°C)
Cd	1							
Cu	0.312	1						
Hg			1					
Pb			0.298	1				
Zn	-0.375		-0.474		1			
IC		-0.242	-0.584	-0.464		1		
S (‰)			-0.296				1	
T (°C)	-0.417		0.265					1

IC, Índice de condición; S (‰), salinidad; T (°C), temperatura.

Respecto al análisis de la salinidad en todas las muestras (ambas temporadas), solo se encontró una correlación significativa ( $p < 0.05$ ) entre este parámetro y el mercurio ( $r = -0.296$ ) (Fig. 44).

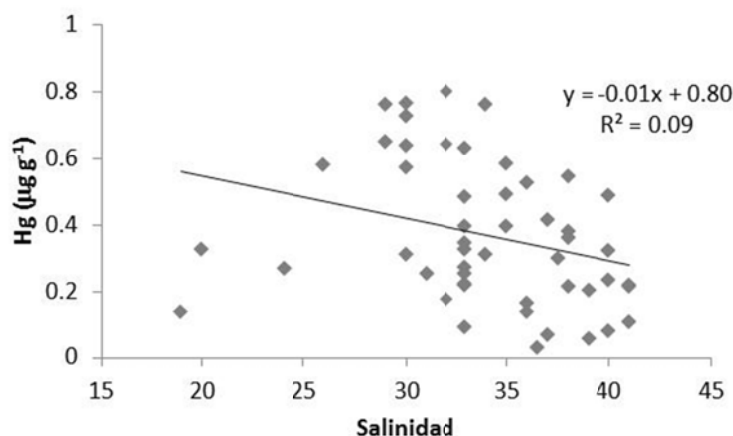
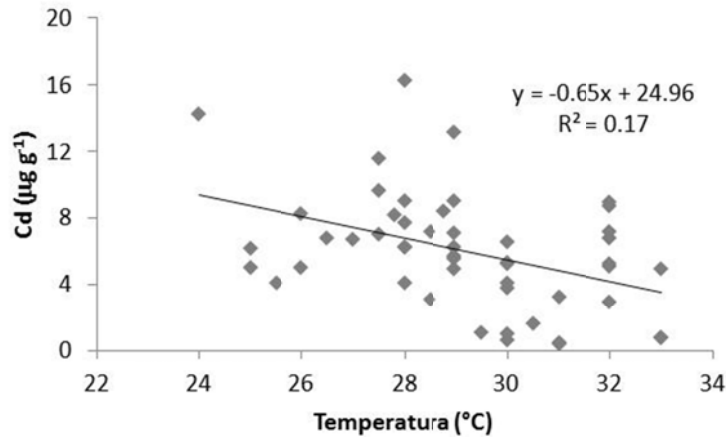


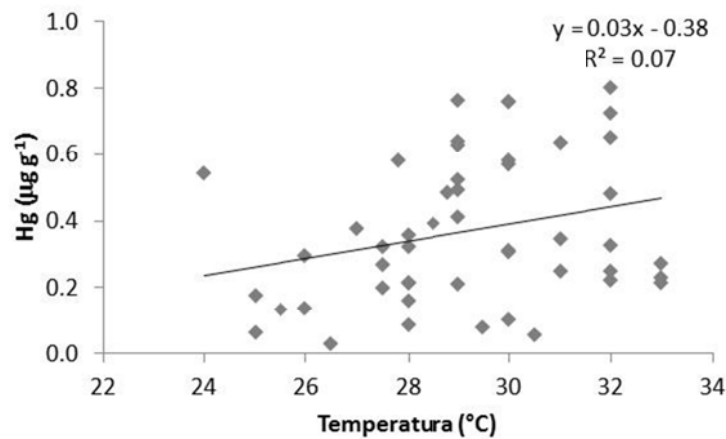
Figura 44. Correlación significativa ( $p < 0.05$ ) entre la salinidad y las concentraciones de mercurio.

Frecuentemente, los cambios en la salinidad afectan las tasas de captura de metales en los organismos, en los que se presenta una mayor tasa de captura conforme disminuye la salinidad, como se observa en este trabajo para el caso del mercurio. Esto se debe al incremento en la concentración de iones metálicos libres, como consecuencia de la

disminución de complejos metálicos con cloruros, en baja salinidad (Luoma y Rainbow 2008). Para las correlaciones con la temperatura, se obtuvieron valores de  $r$  significativos entre este parámetro y las concentraciones de Cd ( $r = -0.417$ ; Fig. 45a) y Hg ( $r = 0.265$ ; Fig. 45b). Tales correlaciones muestran una influencia de los cambios estacionales sobre las variaciones en las concentraciones de estos metales.



a)



b)

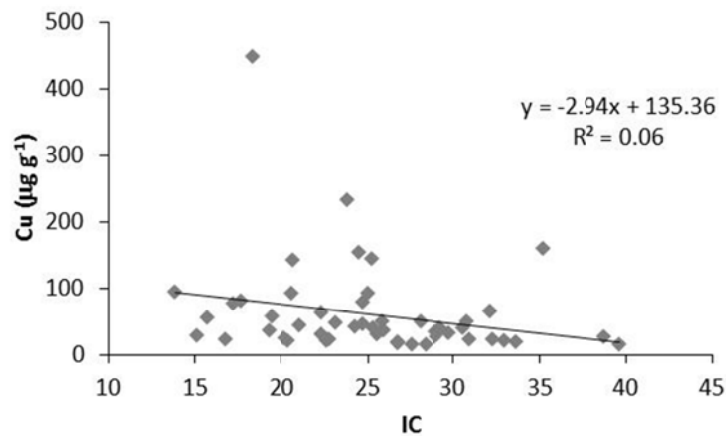
Figura 45. Correlaciones significativa ( $p < 0.05$ ) entre la temperatura y las concentraciones de cadmio (a) y mercurio (b).

Estos resultados coinciden con los de García-Rico *et al.* (2010) para la misma especie, así como con Rebelo *et al.* (2003) en ostiones *C. rhizophorae*. Las fluctuaciones estacionales están relacionadas con el incremento en los efluentes hacia las lagunas, así como el incremento en las tasas de alimentación de los ostiones, debido al

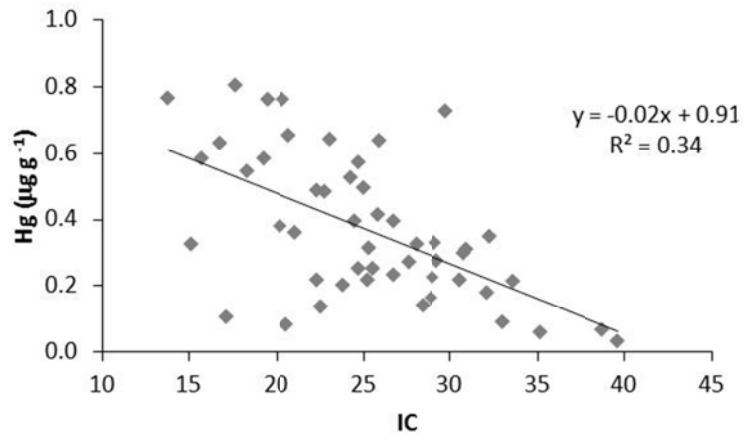


incremento de la temperatura del agua durante los meses de verano (Soto-Jiménez *et al.*, 2001; Rebelo *et al.*, 2003).

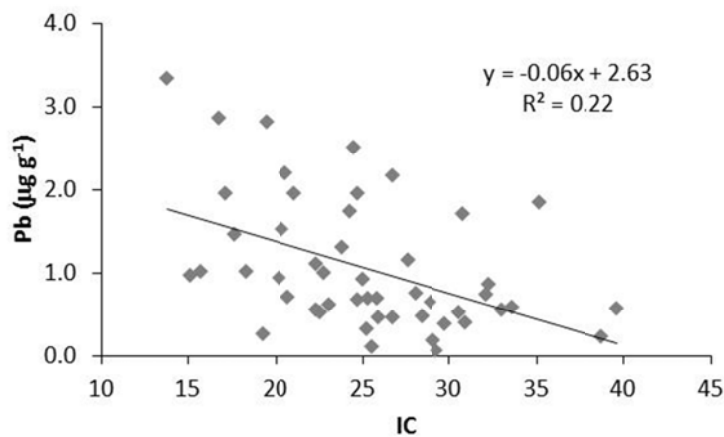
Existen algunos factores fisiológicos (*i.e.* el desove y el crecimiento), que pueden afectar directamente la capacidad de los ostiones como biomonitores (Rebelo *et al.*, 2005). Por lo tanto, también se hizo el análisis de correlación (coeficiente de Pearson; Tabla 12) entre el índice de condición (IC) y las concentraciones de metales, encontrándose coeficientes de correlación significativos para IC-Cu ( $r = -0.242$ ; Fig. 46a), IC-Hg ( $r = -0.584$ ; Fig. 46b), así como para IC-Pb ( $r = -0.464$ ; Fig. 46c). Avery *et al.* (1996), encontraron también una correlación negativa altamente significativa ( $r = -0.80$ ,  $p < 0.001$ ) entre el IC y el contenido de mercurio en muestras de ostiones *Saccostrea commercialis*, lo cual sugiere una fuerte influencia negativa de este metal en concentraciones relativamente bajas sobre la condición fisiológica de los ostiones. De igual forma, la correlación negativa entre el IC y el contenido de plomo coincide con los resultados encontrados por Mubiana *et al.* (2006) en un análisis de metales pesados en mejillones *M. edulis*.



a)



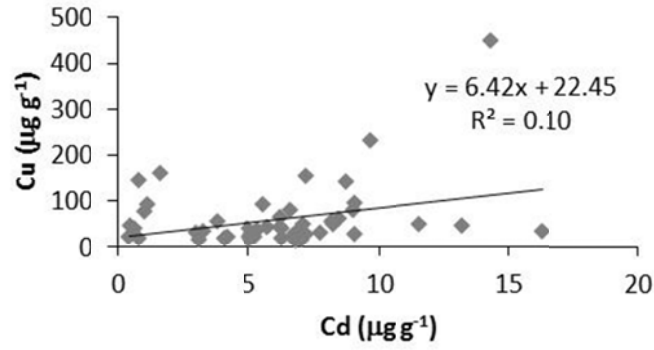
b)



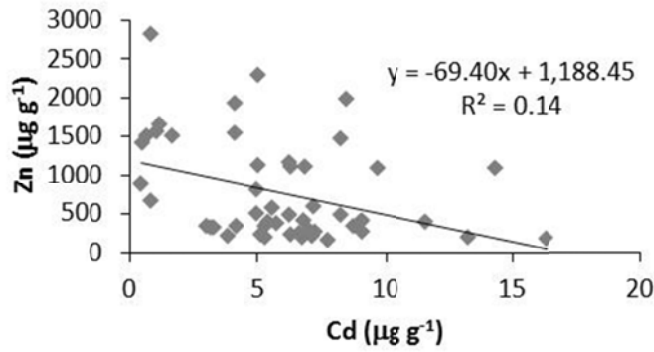
c)

Figura 46. Correlaciones significativas ( $p < 0.005$ ) entre el índice de condición de los ostiones (IC) y la concentración de cobre (a), mercurio (b) y plomo (c).

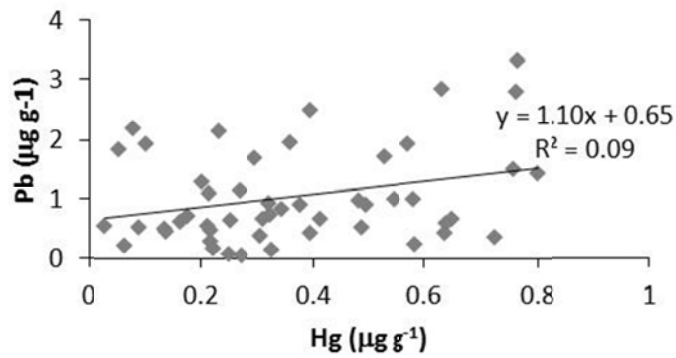
Finalmente, la presencia de otros metales en solución puede afectar la captura de determinado metal por un organismo acuático. Las interacciones entre los metales pueden ocurrir a causa de las alteraciones en el equilibrio físico-químico que controla la especiación de metales en solución, o bien, en la interacción con una proteína transportadora o un canal de membrana, con los efectos subsecuentes en las tasas de captura. Con base en esto, se hicieron las correlaciones entre las concentraciones de los cinco metales determinadas para cada muestra (Tabla 12). Las correlaciones que se presentaron entre sí para los metales fueron Cd-Cu ( $r = 0.312$ ; Fig. 47a), Cd-Zn ( $r = -0.375$ ; Fig. 47b), Hg-Pb ( $r = 0.298$ ; Fig. 47c) y Hg-Zn ( $r = -0.474$ ; Fig. 47d).



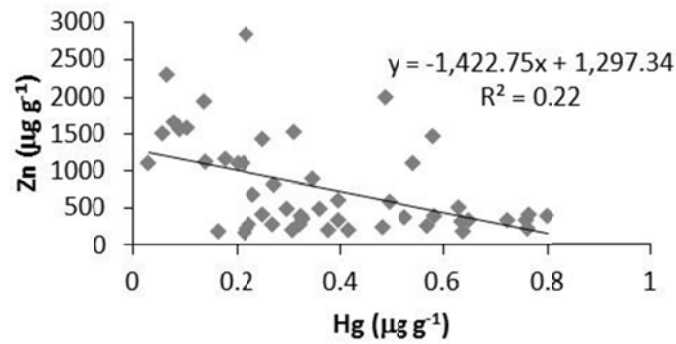
a)



b)



c)



d)

Figura 47. Correlaciones significativas ( $p < 0.05$ ) entre las concentraciones de cadmio y cobre (a), cadmio y zinc (b), mercurio y plomo (c) y entre mercurio y zinc (d).

En cuanto a la correlación Cd-Cu, Azlisham *et al.* (2009) también obtuvieron una correlación positiva entre estos metales, en ostiones de la especie *C. iredalei*. Para la correlación negativa entre Cd y Zn, Burger (2008) señala que puede presentarse un aumento en la tasa de captura del cadmio, relacionada con niveles bajos de Zn y otros metales (*i.e.* Fe, Ca) en los organismos. Soto-Jiménez *et al.* (2001) encontraron esta misma correlación negativa Cd-Zn en ostiones *C. iridescens* recolectados en la bahía de Mazatlán, Sinaloa.

Otro factor que puede ayudar a entender la distribución de los metales en las lagunas costeras son los procesos hidrodinámicos y de transporte de materiales. Sin un entendimiento de estos procesos es difícil predecir en qué lugares se acumularán los diferentes tipos de sustancias (Montaño-Ley *et al.*, 2008), tal es el caso de los metales y otros contaminantes. Los recambios de agua limitados reducen fuertemente la dilución potencial cuando los contaminantes son liberados hacia los sistemas lagunares; estos procesos de hidrodinámica dentro de las lagunas costeras básicamente son modulados por las mareas oceánicas astronómicas, la geomorfología de las propias lagunas, el forzamiento por los vientos y los escurrimientos desde las cuencas de drenaje (Tabla 14; Montaño-Ley *et al.*, 2007).

*Tabla 14. Características morfométricas e hidrológicas de los sistemas lagunares.*

<b>Sistema lagunar</b>	<b>Espejo de agua (has)</b>	<b>Profundidad promedio (m)</b>	<b>Número y tamaño (Km) de bocas</b>	<b>Lluvia (mm)</b>
EC	14,688	1 – 2	1 (1)	700
SMOT	20,840	2 – 3	1 (4)	241
SINM	22,314	4	2 (2 y 1.5)	300 – 400
SMLR	51,172	7	2 (3.6 y 5.6)	400 – 500
AEP	23,474	1.5 – 5	2 (2 y 0.5)	640
CEU	6,737	0.5 – 2	2 (2 y 0.47)	300
URI	1,280	5	1 (0.15)	800

#### 8.4.6. Metales pesados en ostiones de cultivo

La talla es uno de los factores internos más importantes que afecta las tasas de acumulación en tejidos biológicos (Meyer *et al.*, 1998); por ello, fueron recolectados especímenes de tallas similares ( $87\pm 10$  mm). La Tabla 15 muestra los datos morfométricos de los organismos y cada valor es el promedio de un grupo de 25 ostiones.

Tabla 15. Datos morfométricos (promedio  $\pm$  desviación estándar) de los ostiones recolectados en granjas de cultivos ostrícolas.

Laguna costera	Campaña de muestreo	Especie/ Grupo	Longitud (mm)	Peso total (g)	Peso TB	IC
EC	lluvias	Cg/A	90 $\pm$ 9	73.3 $\pm$ 12.0	11.4 $\pm$ 2.8	36.8 $\pm$ 9.0
	lluvias	Cg/B	92 $\pm$ 7	75.8 $\pm$ 12.1	11.2 $\pm$ 2.9	
SMLR	lluvias	Cg/A	79 $\pm$ 6	54.9 $\pm$ 6.4	7.9 $\pm$ 1.6	34.7 $\pm$ 9.0
	lluvias	Cg/B	76 $\pm$ 8	51.4 $\pm$ 5.8	7.7 $\pm$ 1.9	
	secas	Cg/A	79 $\pm$ 7	55.5 $\pm$ 11.4	12.1 $\pm$ 3.5	33.6 $\pm$ 6.8
ALT	secas	Cg/B	81 $\pm$ 7	56.7 $\pm$ 11.5	12.2 $\pm$ 2.7	
	secas	Cg/A	93 $\pm$ 9	63.1 $\pm$ 7.8	13.7 $\pm$ 2.6	35.2 $\pm$ 8.7
CEU	secas	Cg/B	92 $\pm$ 6	63.4 $\pm$ 7.4	13.3 $\pm$ 2.5	
	lluvias	Cg/A	84 $\pm$ 6	61.4 $\pm$ 12.5	8.8 $\pm$ 2.8	55.8 $\pm$ 16.1
	lluvias	Cg/B	86 $\pm$ 7	57.8 $\pm$ 7.9	6.6 $\pm$ 2.1	
	secas	Cg/A	97 $\pm$ 10	47.7 $\pm$ 5.9	10.6 $\pm$ 2.2	54.8 $\pm$ 12.1
	secas	Cg/B	99 $\pm$ 8	50.8 $\pm$ 8.1	10.9 $\pm$ 2.2	
	lluvias	Cc/A	75 $\pm$ 6	63.0 $\pm$ 9.3	7.7 $\pm$ 1.9	55.5 $\pm$ 10.5
	lluvias	Cc/B	79 $\pm$ 7	65.0 $\pm$ 9.8	8.3 $\pm$ 2.2	
	secas	Cc/A	82 $\pm$ 10	71.6 $\pm$ 14.8	13.7 $\pm$ 3.8	53.1 $\pm$ 10.0
	secas	Cc/B	84 $\pm$ 8	74.8 $\pm$ 13.0	14.8 $\pm$ 4.3	

Cg, *Crassostrea gigas*; Cc, *Crassostrea corteziensis*; TB, tejido blando; IC, índice de condición.

Las muestras fueron recolectadas de tallas similares en ambas campañas de muestreo, por lo que el peso total también fue similar en ambas temporadas. Por el contrario, el peso del tejido blando fue más alto en las muestras de la estación de secas, cuando el índice gonadal (proporción entre el peso seco de la gónada y el peso seco del tejido somático) es mayor (Páez-Osuna *et al.*, 1995), lo cual ya ha sido observado antes también en ostiones *C. rhizophorae* (Rebelo *et al.*, 2005).

Las concentraciones de metales en tejido blando de ostiones de cultivo, al igual que en los ostiones recolectados del mangle, fueron Zn > Cu > Cd > Pb > Hg. En la Tabla 16 se

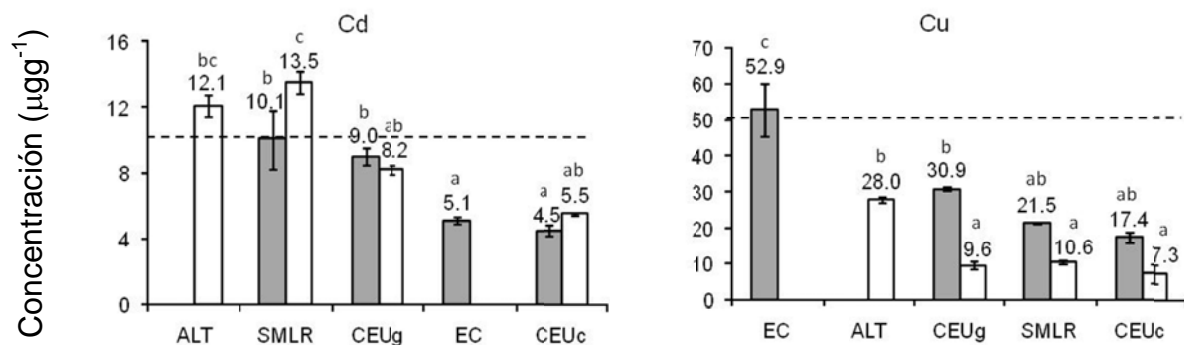
muestran las concentraciones globales promedio para *C. gigas* y en la figura 48 se observan las concentraciones de los cinco metales determinados en las muestras de las diferentes lagunas. Tanto en *C. gigas* como en *C. corteziensis* (CEU), los mayores promedios de Cd se encontraron durante la temporada de secas.

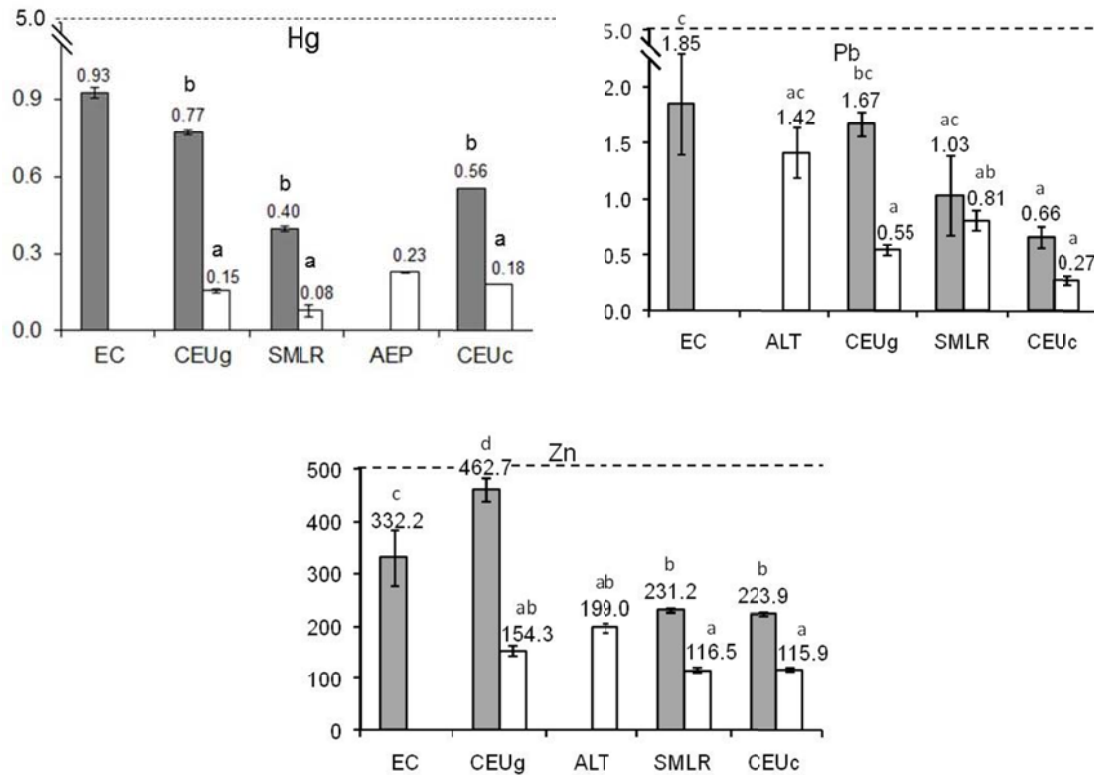
Tabla 16. Concentración promedio de metales ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ; con base en peso seco), determinadas para ostiones de cultivo *C. gigas* en las cuatro lagunas costeras.

Metal	Lluvias	Secas
Cd	8.05 $\pm$ 2.60	11.30 $\pm$ 2.70
Cu	35.09 $\pm$ 16.12	16.04 $\pm$ 10.34
Hg	0.70 $\pm$ 0.24	0.15 $\pm$ 0.07
Pb	1.52 $\pm$ 0.43	0.92 $\pm$ 0.45
Zn	342 $\pm$ 116	156 $\pm$ 41

Al igual que para los ostiones recolectados de las raíces de mangle, tal incremento en la biodisponibilidad de Cd en esta temporada podría explicarse por la presencia del régimen de surgencias que prevalece durante esta temporada (Lares *et al.*, 2002), ya que el Golfo de California se caracteriza por la presencia de surgencias en su costa Este durante los meses de febrero a abril (Staines-Urías *et al.*, 2009).

Sin embargo, para Cu, Hg, Pb y Zn las mayores concentraciones fueron encontradas durante la temporada de lluvias en todas las lagunas y para ambas especies (Fig. 48), lo cual coincide con los resultados de Frías-Espéricueta *et al.* (1999). Además, este patrón implica una mayor entrada de dichos metales desde la cuenca de drenaje y procedente de los escurrimientos.





#### Sitios de muestreo

Figura 48. Concentraciones de metales pesados, con base a peso seco, en ostiones de cultivo de las lagunas costeras. CEUc y CEUg ostiones *C. corteziensis* y *C. gigas*, respectivamente, obtenidos de la laguna de Ceuta; las barras grises corresponden a la temporada de lluvias y las barras blancas a la de secas. Línea punteada, límite máximo permisible (WHO, 2003; NOM's); letras diferentes implican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los sitios.

Respecto a las concentraciones en las diferentes lagunas, en la Tabla 17 se muestran las tendencias de los valores promedio para cada metal analizado en *C. gigas*. En ambas temporadas de muestreo, los niveles más altos de cadmio se encontraron en las muestras de SMLR, lo cual podría estar relacionado con la extensión de la boca de la laguna y su distancia hasta la localización de la granja. El sistema SMLR tiene dos bocas grandes y una distancia cercana entre la granja y la boca sur (Yameto), lo cual parece favorecer la entrada de Cd proveniente del agua de fondo por el efecto de las surgencias, durante la temporada de secas. Por el contrario, en SMLR se obtuvieron las menores concentraciones de Cu, Hg, Pb y Zn, durante esta temporada.

Tabla 17. Tendencia de las concentraciones medias de metales, con base a peso seco, determinadas en ostiones de cultivo *C. gigas* de las lagunas, durante las temporadas de lluvias y secas.

Metal	Lluvias	Secas
Cd	SMLR > CEU > EC	SMLR > ALT > CEU
Cu	EC > CEU > SMLR	ALT > CEU > SMLR
Hg	EC > CEU > SMLR	ALT > CEU > SMLR
Pb	EC > CEU > SMLR	ALT > CEU > SMLR
Zn	CEU > EC > SMLR	ALT > CEU > SMLR

Por otra parte, en EC la granja se localiza más alejada de la boca de la laguna, mientras que en SMLR la granja se encuentra comparativamente más cerca a la boca. Cuando los ostiones están más cerca de la boca de la laguna, están expuestos a recambios de agua de mar (Golfo de California) más constantes, por lo que, en este sentido, pueden tener una menor tasa de acumulación de metales. En este contexto, Montañón-Ley *et al.* (2008) evaluaron los procesos de advección-difusión de contaminantes hipotéticos en dos lagunas costeras de la región y encontraron que las mayores concentraciones eran observadas en la porción más alejada de la boca de la laguna. Por el contrario, las menores concentraciones se observaron en las zonas cercanas a la boca de la laguna. Se realizó una regresión lineal en la que las concentraciones de Cd, Cu, Hg, Pb y Zn en el tejido blando de las muestras de ostión se representaron gráficamente como una función lineal del IC (Fig. 49) y los resultados mostraron que el Hg ( $r = 0.861$ ,  $p < 0.05$ ) y Zn ( $r = 0.863$ ;  $p < 0.05$ ) se correlacionan negativamente con el IC. Este resultado coincide con análisis efectuados en mejillones *Mytilus edulis* por Mubiana *et al.* (2006).

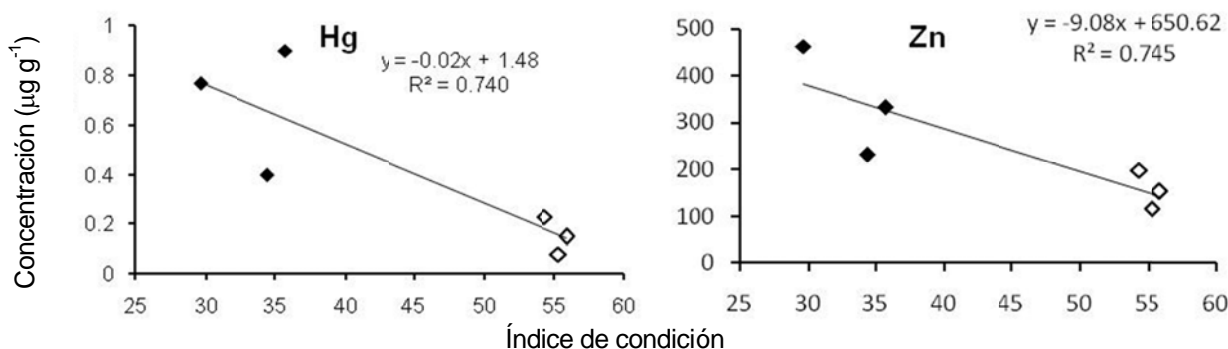


Figura 49. Regresión lineal entre las concentraciones de Hg y Zn en tejido de ostiones *C. gigas* ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) y su índice de condición ( $\diamond$  lluvias,  $\blacklozenge$  secas).



Se hicieron también análisis de correlación (coeficiente de Pearson) entre los cinco metales estudiados (Tabla 18) y los resultados mostraron correlaciones significativas ( $p < 0.05$ ) entre el Hg y los otros metales; así como entre Pb-Cu (0.928) y Pb-Zn (0.798). Estas dos últimas correlaciones coinciden con las determinadas anteriormente en la misma especie de ostiones recolectados en la bahía de Mazatlán, Sinaloa (Jara-Marini, 2008). Tales correlaciones indican que los metales involucrados presentan propiedades físicas y/o químicas similares (Szefer *et al.*, 1994).

Tabla 18. Matriz de correlación entre los cinco metales analizados en ostiones de cultivo *C. gigas*;  $n = 6$  (sitios muestreados); valor  $r$  de tablas = 0.729 ( $p < 0.05$ ).

	Cd	Cu	Hg	Pb	Zn
Cd	1				
Cu		1			
Hg		0.884	1		
Pb		0.928	0.863	1	
Zn			0.897	0.798	1

En cuanto a las muestras de Ceuta, ambas especies (*C. gigas* y *C. corteziensis*) fueron recolectadas de la misma granja (sitio); por lo tanto, estuvieron bajo las mismas condiciones y expuestas a los mismos niveles de metales. Aunque se contó con un limitado número de muestras recolectadas ( $n=8$ ), el análisis entre las dos especies mostró correlaciones positivas para Cu, Hg, Pb y Zn ( $p < 0.05$ ); así como una correlación negativa respecto al Cd ( $p < 0.10$ ).

Tabla 19. Ecuaciones que muestran la correlación entre *C. corteziensis* y *C. gigas* respecto a sus niveles de acumulación de los cinco metales analizados.

Metal	Ecuación	$r$	$p$
Cd	$y = -1.00x + 13.62$	-0.89	< 0.10
Cu	$y = 0.48x + 2.51$	0.97	<0.05
Hg	$y = 0.62x + 0.08$	0.99	<0.05
Pb	$y = 0.35x + 0.08$	0.97	<0.05
Zn	$y = 0.35x + 62.21$	0.99	<0.05

*X*, concentraciones de *C. gigas*; *Y*, concentraciones de *C. corteziensis*.

Las ecuaciones obtenidas (Tabla 19, Fig. 50), pueden ser útiles en programas de biomonitorio para la inter-comparación de niveles de metales entre diferentes sitios donde se encuentren estas especies.

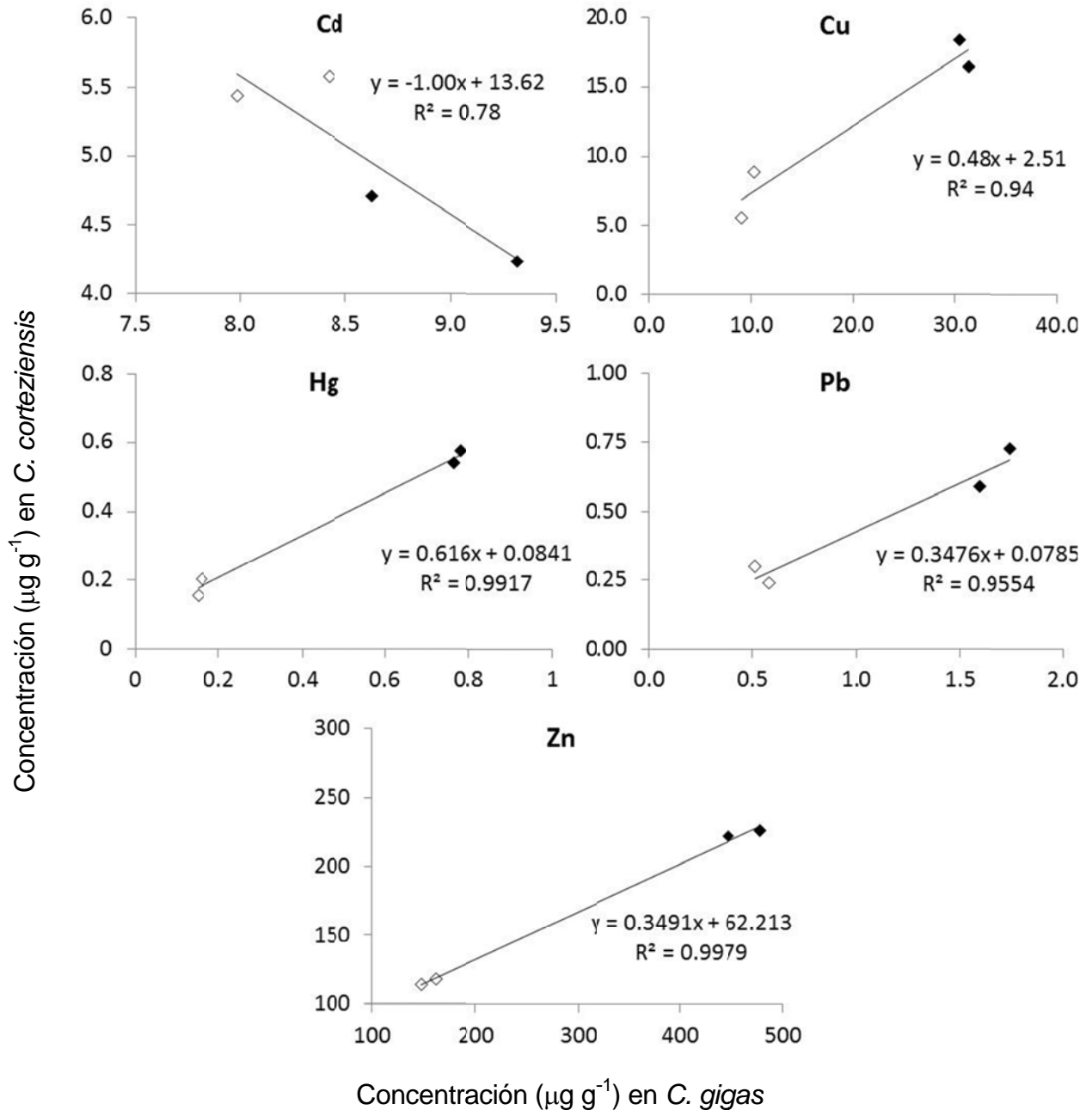


Figura 50. Correlación de concentraciones de los metales Cd, Cu, Hg, Pb y Zn determinadas en ostiones *C. corteziensis* y *C. gigas* ( $\diamond$  lluvias,  $\blacklozenge$  secas).

En la Tabla 20 se muestra una comparación entre las concentraciones de los metales Cd, Cu, Pb y Zn, determinadas en ostiones del género *Crassostrea* de diferentes sitios, así como los valores encontrados en este estudio. Para los ostiones *C. gigas*, los niveles de cadmio son superiores a los de trabajos realizados en zonas costeras de Taiwán (Chen y Chen, 2003), Marruecos (Maanan *et al.*, 2008), Brasil (Silva *et al.*, 2006) y

Canadá (Widmeyer *et al.*, 2008); pero comparables e, incluso, menores a los altos niveles que se han presentado en sitios de Japón (Shulkin *et al.*, 2003). Los niveles de cadmio de la especie *C. corteziensis*, fueron superiores a los determinados anteriormente en las mismas áreas de estudio, así como en otras zonas del Pacífico mexicano (Frías-Espericueta *et al.*, 1999, 2009; Páez-Osuna *et al.*, 2002; Jara-Marini *et al.*, 2008).

Los niveles de cobre determinados para *C. gigas*, son inferiores a los de sitios de países asiáticos como Taiwán (Chen *et al.*, 2003) y Japón (Shulkin *et al.*, 2003); pero comparables a sitios de Marruecos (Maanan *et al.*, 2008), Brasil (Silva *et al.*, 2006) y Canadá (Widmeyer *et al.*, 2008). Para los ostiones *C. corteziensis*, los resultados de cobre son comparables o inferiores a los de algunos estudios previos de la misma zona.

Tabla 20. Intervalos de concentración de Cd, Cu, Pb y Zn ( $\mu\text{g g}^{-1}$ , con base a peso seco) en especies del género *Crassostrea* determinadas para sitios de México y regiones de otros países.

Especie	Cd	Cu	Pb	Zn	Area de estudio
<i>Cg</i>	0.3-2.4	34-1115	ND	243-1606	Bahía Chi-ku, Tai-shi, Tapeng, Taiwan (1)
<i>Cg</i>	0.6-9.4	3.6-42.1	1.2-7.4	28-672	Laguna Oualidia, Marruecos (2)
<i>Cg</i>	1.3-2.3	18.0-39.0	ND	967-2028	Estuario Potengi, Brasil (3)
<i>Cg</i>	4.7-27.2	250-6576	4.1-36.0	1683-7262	Bahía Ussuriyskiy, Japón (4)
<i>Cg</i>	2.3-3.0	36.3-66.1	0.6-1.1	414-478	Sonda Baynes, Canada (5)
<i>Cg</i>	4.9-13.9	9.1-58.0	0.5-2.1	113-478	Lagunas costeras, SE G. de California, México (10)
<i>Cc</i>	1.5-7.4	17.5-166.3	4.1-9.4	245-2304	Lagunas costeras, SE G. de California, México (6)
<i>Cc</i>	ND	15.4-216	3.6-7.6	442-1595	Costa del Pacífico de México (7)
<i>Cc</i>	0.2-0.6	33.6-44.9	0.3-1.9	263-382	Laguna de Urías, México (8)
<i>Cc</i>	0.9-3.4	12.1-31.1	0.3-3.6	248-768	Estuario San Cristobal, México (9)
<i>Cc</i>	4.2-5.5	5.5-18.4	0.2 - 0.7	114-226	Lagunas costeras, SE G. de California, México (10)

*Cg*, *Crassostrea gigas*; *Cc*, *Crassostrea corteziensis*; (1) Chen y Chen (2003); (2) Maanan (2008); (3) Silva *et al.* (2006); (4) Shulkin *et al.* (2003); (5) Widmeyer *et al.* (2008); (6) Frías-Espericueta *et al.* (2009); (7) Páez-Osuna *et al.* (2002); (8) Jara-Marini *et al.* (2008); (9) Frías-Espericueta *et al.* (1999); (10) Este estudio; (ND) No determinado.

Las concentraciones de plomo en *C. gigas* fueron inferiores a las de sitios de Marruecos (Maanan *et al.*, 2008) y Japón (Shulkin *et al.*, 2003); pero superiores a las determinadas en sitios costeros de Canadá (Widmeyer *et al.*, 2008). En el caso de *C. corteziensis*, las concentraciones estuvieron por debajo de los niveles determinados previamente en los mismos sitios y en otras zonas costeras del Pacífico mexicano (Frías-Espericueta *et al.*, 2009; Páez-Osuna *et al.*, 2002; Jara-Marini *et al.*, 2008; Frías-Espericueta *et al.*, 1999). Los niveles de zinc en *C. gigas* fueron comparables a los que se determinaron en ostiones de Marruecos (Maanan *et al.*, 2008), pero inferiores a los de Taiwán (Chen *et al.*, 2003), Brasil (Silva *et al.*, 2006), Japón (Shulkin *et al.*, 2003) y Canadá (Widmeyer *et al.*, 2008). De igual forma, en *C. corteziensis* se encontraron niveles de zinc menores a los que se tienen registrados en estudios previos de la misma zona, así como en otras áreas costeras del Pacífico mexicano (Frías-Espericueta *et al.*, 1999, 2009; Páez-Osuna *et al.*, 2002; Jara-Marini *et al.*, 2008).

En la Tabla 21 se muestra una comparación entre las concentraciones de Hg determinadas en este estudio y las que se han registrado en sitios de México y otras regiones del mundo, en ostiones del género *Crassostrea*. Los niveles fueron superiores a la mayoría de los otros estudios. Solo son comparables a las concentraciones de ostiones *C. gigas* de Guaymas, México (Green-Ruíz *et al.*, 2005) e inferiores a las concentraciones registradas en Brasil (Meyer *et al.*, 1998) y China (Wang *et al.*, 2005).

Tabla 21. Intervalos de concentración de Hg ( $\mu\text{g g}^{-1}$ , con base a peso seco) en especies del género *Crassostrea* determinadas para sitios de México y regiones de otros países.

<b>Especie</b>	<b>Concentración</b>	<b>Área de estudio</b>
<i>C. rhizophorae</i>	0.27 - 2.21	Canal de Santa Cruz, Brasil (1)
<i>C. virginica</i>	0.02 - 0.03	Ensenada Murrells, USA (2)
<i>C. tulipa</i>	0.12 - 0.21	Lagunas Benya y Ningo, Ghana (3)
<i>C. talienwhanensis</i>	0.02 - 0.06	Mar de Bohai, China (4)
<i>C. gigas</i>	10.0*	Bahía Minamata, Japón (5)
<i>C. gigas</i>	0.09 - 0.01	Costa Sur de Nueva Caledonia (6)
<i>C. gigas</i>	0.23*	Laguna de Guaymas, México (7)
<i>C. corteziensis</i>	0.03 - 0.08	Laguna de Urías, México (8)
<i>C. gigas</i>	0.06 - 0.91	Lagunas costeras, SE Golfo de California,
<i>C. corteziensis</i>	0.16 - 0.58	México (9)

(1) Meyer *et al.* (1998); (2) Kawaguchi *et al.* (1999); (3) Otchere *et al.* (2003); (4) Wang *et al.* (2005); (5) Eisler (1987); (6) Chouvelon *et al.* (2009); (7) Green-Ruíz *et al.* (2005); (8) Jara-Marini *et al.* (2008); (9) Este estudio; \*Solo se registró el promedio.

**8.4.7. Concentraciones de metales pesados en ostiones *Crassostrea corteziensis* y *Saccostrea palmula***

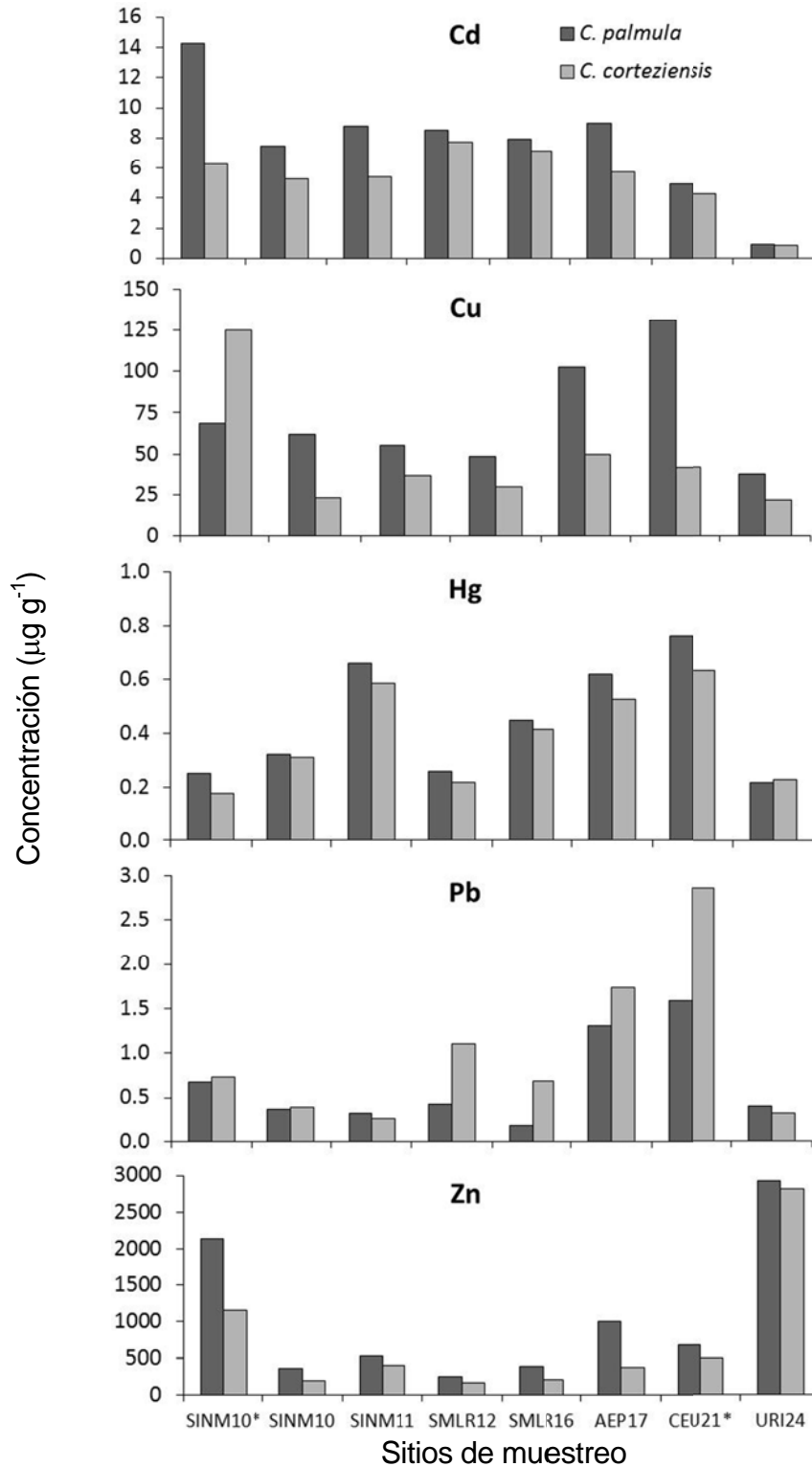
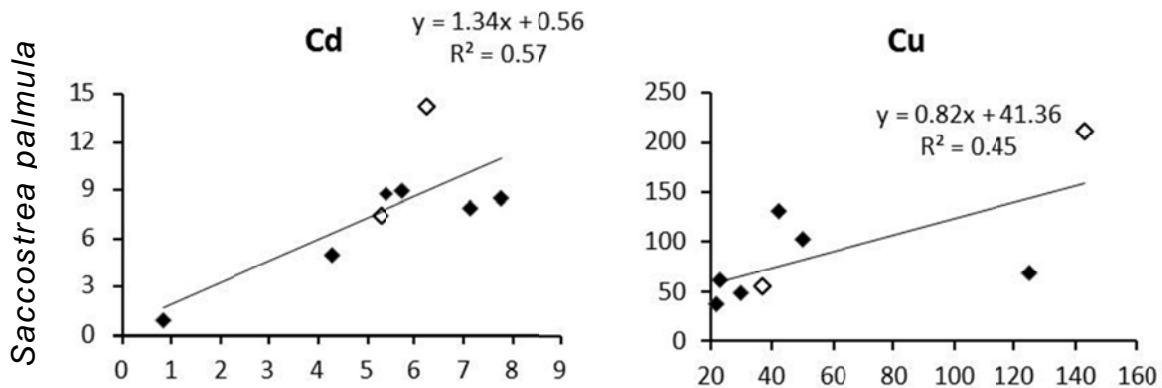


Figura 51. Concentraciones de Cd, Cu, Hg, Pb y Zn, con base a peso seco, en ostiones *S. palmula* y *C. corteziensis*; asterisco = datos de 1 solo grupo (sin duplicado).

Como ya se ha mencionado, en estos sistemas se pueden encontrar tanto ostiones *C. corteziensis* como *S. palmula* adheridos a las raíces de las mismas plantas de manglar. Por lo tanto, ambas especies se encuentran bajo las mismas condiciones (*i.e.* parámetros físico-químicos, régimen de marea, alimento disponible, etc.). A pesar de ello, en el presente estudio, se determinaron concentraciones más altas para los cinco metales, en los ostiones *S. palmula* (Fig. 51), aunque las diferencias entre las medias fueron significativas sólo para el caso del cobre ( $p < 0.05$ ).

Sin embargo, al hacer la correlación entre los niveles de acumulación de ambos organismos, se observaron altos coeficientes de correlación (Pearson) entre los niveles acumulados en ambas especies (Fig. 52). Las diferencias entre las tasas de acumulación de especies de estos géneros (*Crassostrea* y *Saccostrea*), han sido anteriormente explicadas por las diferencias en sus tasas de detoxificación.



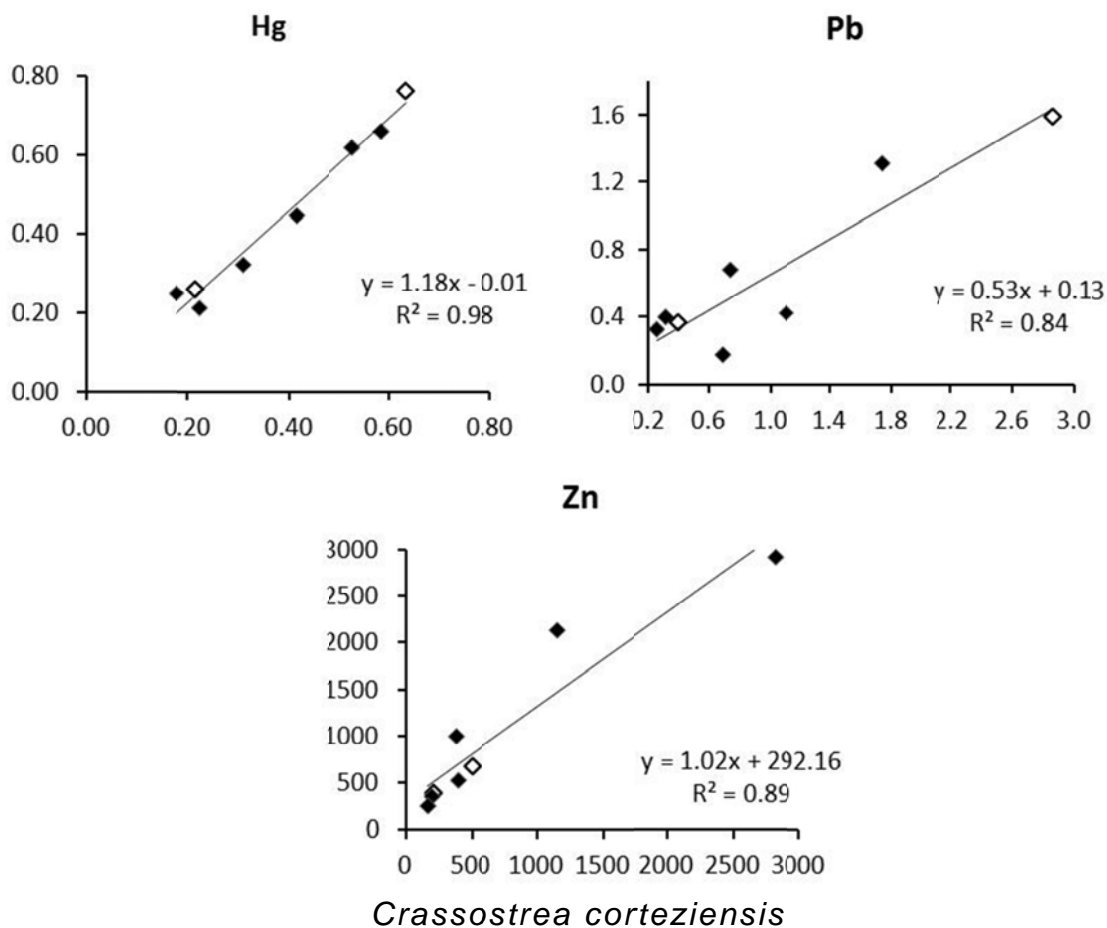


Figura 52. Correlación de las concentraciones de Cd, Cu, Hg, Pb y Zn entre ostiones *C. corteziensis* y *S. palmula*; rombos blancos = muestras de la temporada de secas; rombos rellenos = muestras de la temporada de lluvias.

En un bioensayo, las tasas de destoxificación de Cd y Zn difirieron de manera altamente significativa entre ostiones *C. rivularis* y *S. glomerata* (Ke y Wang, 2001), encontrándose menores tasas en esta última especie (Tabla 22), con los efectos consecuentes sobre las concentraciones acumuladas.

Tabla 22. Constantes de tasas de destoxificación de metales ( $K_e$ ; por día, promedio  $\pm$  desviación estándar).

Especie	Cd ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	Zn ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
<i>Crassostrea rivularis</i>	$0.014 \pm 0.004$	$0.014 \pm 0.012$
<i>Saccostrea glomerata</i>	$0.004 \pm 0.003$	$0.003 \pm 0.001$

Tomado de Luoma y Rainbow, 2008.

Un enfoque comparativo, sin embargo, tienen un riesgo inherente. Sólo es válido comparar las concentraciones absolutas acumuladas entre organismos de la misma especie, incluso para las especies estrechamente relacionadas que cohabitan en un mismo lugar pueden presentar concentraciones acumuladas significativamente diferentes (Rainbow, 1995). Tal es el caso de los mejillones *Mytilus edulis* y *M. trossulus* provenientes de los mismos sitios en Newfoundland, Canadá, en los que se encontró que tienen diferentes concentraciones de metales acumulados (Lobel *et al.*, 1990). Lo mismo sucede con balanos *Balanus amphitrite* y *B. vulginosus* provenientes de la provincia de Fujian, China (Rainbow y Phillips, 1993; Rainbow *et al.*, 1993).

Si bien, no son válidas las comparaciones absolutas entre la acumulación de metales por organismos de diferentes especies, hay una necesidad de identificar biomonitores cosmopolitas para poder hacer comparaciones entre las diferentes zonas geográficas (Rainbow, 1995). Sin embargo, en ocasiones una misma especie no se distribuye en toda la zona contemplada para llevar a cabo el programa de biomonitoreo. Es entonces cuando el conocimiento de los niveles de metales y de otros contaminantes que acumulan diferentes especies (*e.g.* *C. corteziensis* y *S. palmula*) se puede relacionar mediante ecuaciones simples, como es el caso del análisis de correlación. Si los datos de biomonitoreo de diferentes especies están disponibles, pueden hacerse interpretaciones útiles, esto es, si la misma especie no está presente en todos los sitios de interés, hay protocolos disponibles para poder comparar los datos entre diferentes especies (Luoma y Rainbow, 2008).



## 8.5. Biotoxinas marinas

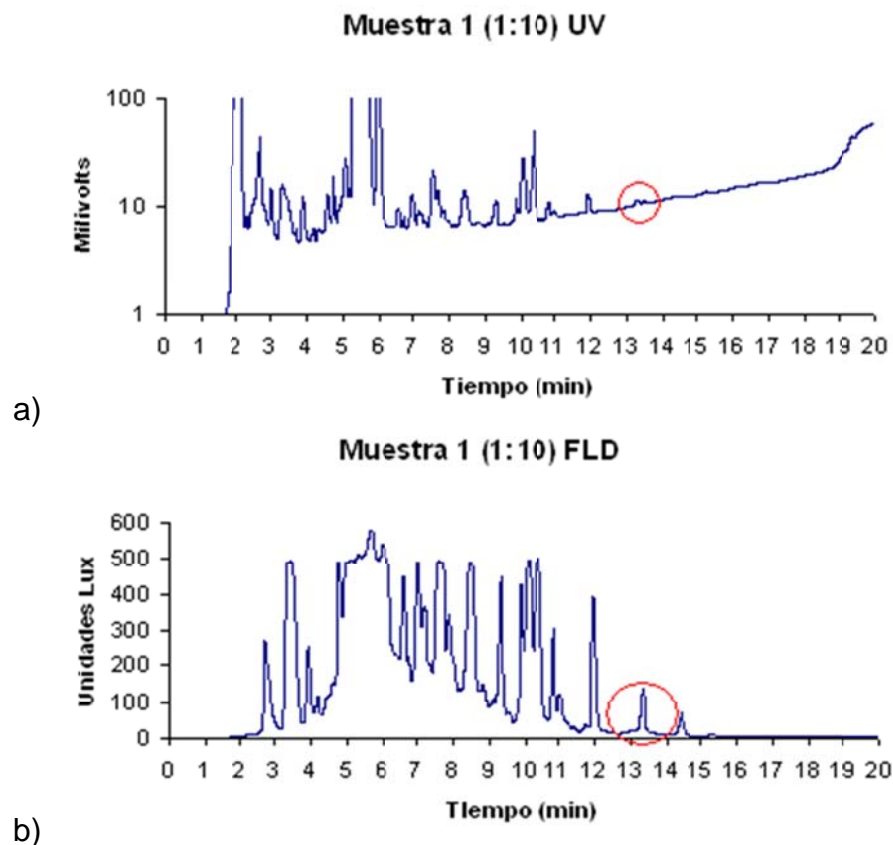
### 8.5.1. Toxinas de tipo ASP

Durante la estancia de entrenamiento realizada en el Centro de Investigación Científica y de Estudios Superiores de Ensenada (CICESE), se hicieron extracciones y análisis de toxinas del tipo ASP a cinco de las muestras de ostiones recolectadas en la campaña de muestreo de lluvias (Tabla 23). Tales muestras corresponden a los sitios que se presentan en la Tabla 8 y que fueron analizadas por detectores de fluorescencia y ultravioleta.

Tabla 23. Origen de las 5 muestras analizadas durante la estancia de entrenamiento en CICESE.

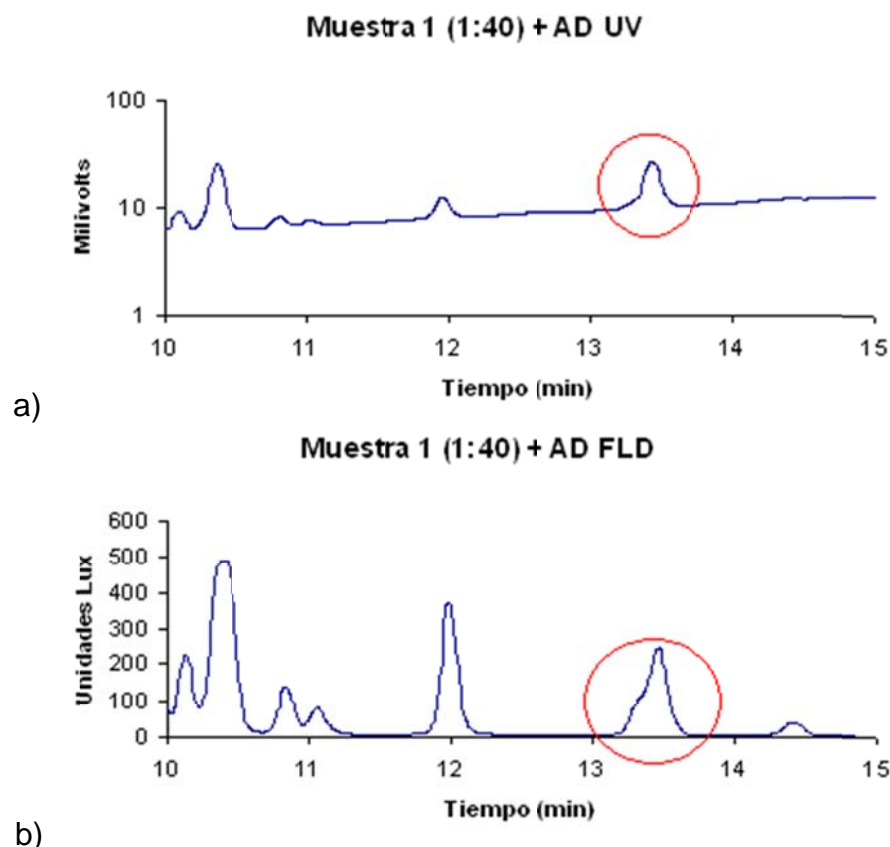
Clave de muestra	Especie	Origen	Sitio	Laguna
1	<i>C. gigas</i>	Cultivo	ECg	El Colorado
2	<i>C. corteziensis</i>	Silvestre	SMOT7'	Ohuira
3	<i>C. corteziensis</i>	Silvestre	SINM8	Navachiste
4	<i>C. gigas</i>	Cultivo	SMLRg	Santa María-La Reforma
5	<i>C. gigas</i>	Cultivo	Cgc	Ceuta

Se llevó a cabo un primer análisis del extracto de la muestra 1 (dilución 1:10), el cual se derivatizó con el reactivo FMOC, de acuerdo a la técnica de Pocklington *et al.* (1990). En este caso se utilizaron ambos detectores UV (242 nm) y FLD (264 nm de excitación y 313 nm de emisión; Agilent 1100A, Columna Zorbax Eclipse XDB C18 250 mm). El AD eluye aproximadamente en el minuto 13.4. Al observar en el cromatograma a) de la figura 53, se puede ver un pequeño pico aproximadamente en ese tiempo. En el cromatograma b) de esta misma figura, se observa ese mismo pico con una mayor área y puede inferirse que tal pico corresponde a la presencia de AD en esta muestra.



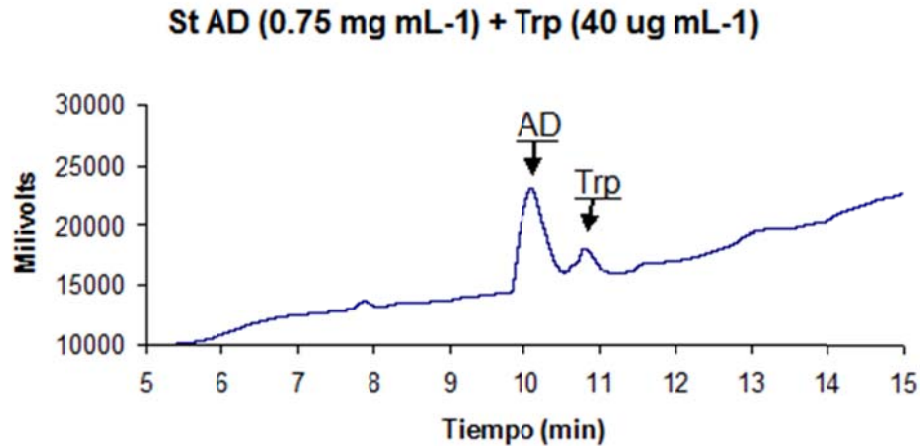
*Figura 53. Cromatogramas de la muestra 1 de ostión (dilución 1:10) a) con detección ultravioleta; b) con detección de fluorescencia.*

Para confirmar la presencia de AD en esta muestra se realizó una segunda inyección de otra alícuota, a la cual, se le adicionó ácido domoico (1:1). En este caso, la dilución de la muestra fue 1:40, para tratar de evitar que interfirieran otros picos de mayor área. De esta forma, si se incrementa el área del pico de AD, se confirma su presencia en la muestra; por el contrario, si el AD eluye muy cerca, formando otro pico o si su forma presenta un “hombro”, entonces el analito que eluye en un tiempo cercano en la muestra sin adición, no es de AD. Como se obtuvo un pico de este tipo, se descarta entonces la presencia de AD en la muestra analizada (Figura 54).

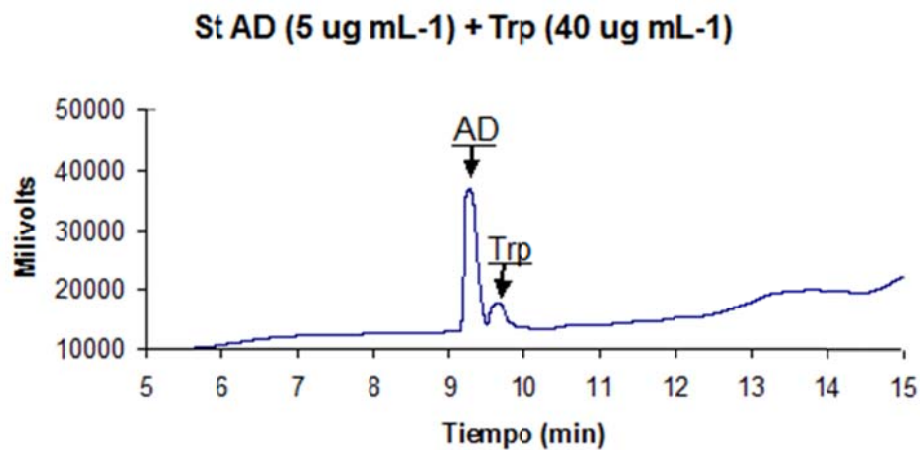


*Figura 54. Cromatogramas de la muestra 1 de ostión (dilución 1:40) + AD (proporción 1:1) a) con detección ultravioleta; b) con detección de fluorescencia.*

Posteriormente, se inyectaron los extractos de las cinco muestras. Para ello, se realizaron pruebas previas con adición de estándares de AD, esto es, previendo también la posibilidad de elución de picos en tiempos cercanos. En la bibliografía se menciona la interferencia en el análisis de AD, por la presencia de triptófano en las muestras. Por tal motivo, se hicieron pruebas que incluían la matriz, ácido domoico y triptófano. Así, se procedió a este análisis en el equipo HPLC (Shimadzu LC-10AD, columna Zorbax-Eclipse C18, 250 x 4.6 mm, 5 $\mu$ ). En este caso, el AD eluye aproximadamente a los 9.3 minutos y el triptófano, en todos los casos, eluye en un tiempo posterior (Fig. 55).



a)



b)

*Figura 55. Cromatogramas de los estándares de ácido domoico + triptófano (Trp): a) Concentración del AD = 0.75  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ; b) Concentración del AD = 5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . En ambos casos la concentración del triptófano fue de 40  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .*

Se inyectó nuevamente una mezcla de la muestra 1 con AD, así como el resto de las muestras por separado. Una vez que se obtuvieron los cromatogramas, se hizo un gráfico en el que se contrastaron los tiempos de elución de cada muestra con respecto al tiempo de elución que corresponde al AD. Todas las muestras eluyen en un tiempo anterior al AD, esto es, aproximadamente en el minuto 8.6 (Figura 56). Con estos resultados se comprobó que en estas muestras no hay presencia de AD, aplicando la técnica con detección UV (límite de detección, LOD, por sus siglas en inglés = 0.025  $\mu\text{g/mL}$ ). Se sabe de los problemas por interferencia del triptófano en el análisis de este tipo de toxinas, el pico en las muestras se presenta antes, por lo que se infiere que tampoco es el triptófano.

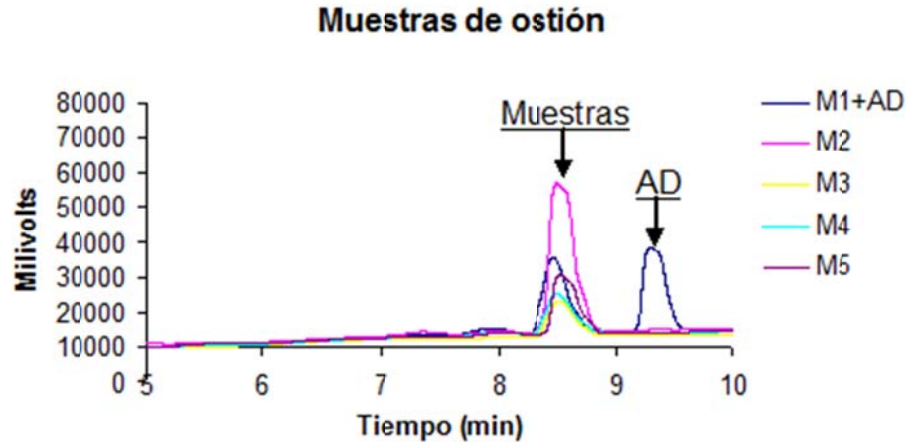


Figura 56. Cromatogramas de las cinco muestras de tejido blando de ostión, que eluyen a los 8.6 min y del AD a los 9.3 min, aproximadamente.

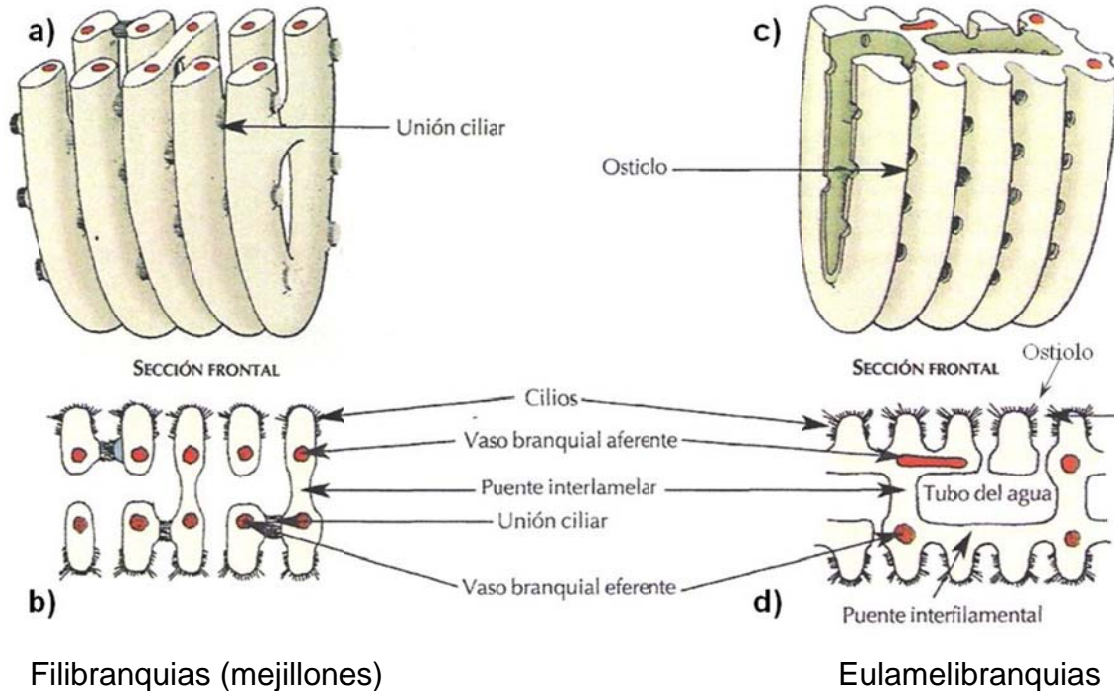
En base a estos resultados, se hizo una búsqueda bibliográfica a fin de saber que analito está eluyendo en estas muestras, y si puede causar cierta interferencia con la detección de AD, probablemente otro aminoácido. Konosu y Yamaguchi (1982) mencionan que los moluscos bivalvos, en general, son ricos en los aminoácidos prolina, glicina, alanina y arginina; pero que sus niveles fluctúan considerablemente de una especie a otra. Je *et al.* (2004) encontraron que el contenido de ácido aspártico, lisina, ác. glutámico, glicina y alanina fueron los más altos en la composición de aminoácidos de 5 especies de ostiones del género *Crassostrea*. Mencionan también la presencia de aminoácidos libres en el tejido de estos organismos, de los cuales, los que se encontraron en mayores concentraciones fueron taurina, ácido glutámico, lisina, glicina y alanina. Zhang *et al.* (2006) encontraron que los principales aminoácidos libres de los ostiones que analizaron fueron taurina, ácido glutámico, glicina, alanina, arginina y prolina y, de éstos, la taurina fue el más abundante.

De acuerdo a los resultados de las pruebas realizadas, se puede concluir que el triptófano no causa problemas al momento de analizar las muestras de ostión, debido a que no forma parte de los aminoácidos que se presentan principalmente en el contenido de estos organismos. Por otra parte, según estos antecedentes hay otros aminoácidos (alanina, taurina, etc.) que sí se encuentran en alta concentración en el

tejido de ostiones. Uno de esos aminoácidos podría ser el que eluye aproximadamente a los 8.6 minutos.

Se realizaron los análisis de toxinas del tipo ASP a la totalidad de las muestras, tanto de la temporada de lluvias como de secas en el Laboratorio de Biotoxinas del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Unidad Académica Mazatlán (ICMyL-UNAM), por el método de Quilliam (2003). De igual manera, tampoco se detectaron toxinas del tipo ASP (menor concentración inyectada del estándar: 1  $\mu\text{g/mL}$ ). Si bien, se sabe que los moluscos bivalvos alimentados con microalgas tóxicas del género *Pseudonitzschia* spp., son los principales vectores de AD hacia los humanos (Jones *et al.*, 1995); no obstante, los ostiones acumulan consistentemente menores niveles de ácido domoico en comparación con otras especies de bivalvos (*e.g. Mytilus edulis*) con las que co-ocurren durante florecimientos naturales de *Pseudo-nitzschia* y raramente alcanzan el límite de regulación (20  $\mu\text{g g}^{-1}$ ); lo cual es debido a mecanismos tales como bajas tasas de aclaramiento, formación de pseudo-heces y rechazo selectivo de algunas especies de este género de microalgas (Mafra *et al.*, 2009a,b, 2010a). Los moluscos bivalvos tienen mecanismos complejos de clasificación de las partículas que filtran, en las branquias y palpos, en el intestino y en los divertículos digestivos que se ven fuertemente afectados por el tamaño de las partículas. Por ello, el tamaño de las partículas de alimentos determina el grado en el que a su vez participan en los procesos de selección y digestión (Newman y Unger, 2003).

Sin embargo, existen amplias diferencias anatómicas entre los organismos que conforman a este grupo de organismos (moluscos bivalvos). Una de estas diferencias está constituida por el tipo de branquias que presentan. Por ejemplo, los mejillones presentan filibranquias, a diferencia de los ostiones que presentan pseudo-lamelibranquias, las cuales son más especializadas (Fig. 57; Ruppert y Barnes, 1996), lo que puede explicar el mayor rechazo selectivo que se presenta en los ostiones en comparación con los mejillones.



Filibranquias (mejillones)

Eulamelibranquias

(pseudo-lamelibranquias presentes en ostiones,  
con mayor similitud a las eulamelibranquias)

Figura 57. Tipos branquiales. Filibranquia: a) cinco filamentos adyacentes (imagen tridimensional de una vista superficial; b) sección frontal. Eulamelibranquia: c) cinco filamentos adyacentes fusionados (imagen tridimensional de una vista superficial); d) sección frontal (Ruppert y Barnes, 1996).

Mafra *et al.* (2010a) expusieron grupos de ostiones (*C. virginica*) a concentraciones de *Pseudonitzschia multiseries* de dos longitudes promedio diferentes (células pequeñas de 24  $\mu\text{m}$  y células grandes de 81  $\mu\text{m}$ ). En este bioensayo los autores observaron el rechazo de los ostiones ante células mayores a 70  $\mu\text{m}$ , las cuales fueron expulsadas a través de la formación de pseudos-heces. La selección de las partículas basada en el tamaño de células ocurre exclusivamente en las branquias de bivalvos como *C. virginica*, las cuales están caracterizadas por dos tipos de filamentos (*i.e.* condición heterorabdica) y una capacidad de transporte bidireccional. En contraste, los mejillones presentan branquias homorabdicas (*i.e.* filamentos ordinarios) y solamente son capaces de hacer una selección de partículas en sus palpos labiales (Ward *et al.*, 1998).

Por otra parte, si bien en estudios anteriores se han observado diatomeas del género *Pseudonitzschia* presentes en el área de estudio (Ibargüen-Zamudio, 2006; Alonso-Rodríguez *et al.*, 2008), en las muestras de agua recolectadas en los sitios de muestreo de este estudio, no se observó la presencia de estas microalgas en ninguna de las dos temporadas de muestreo. Además de estos análisis, se prepararon muestras compuestas (*i.e.* por cada laguna) del tejido de ostión liofilizado, para enviarlas y analizar la presencia de toxinas del tipo ASP en la Facultad de Medicina, Instituto de Ciencias Biomédicas en la Universidad de Chile, con el apoyo del Dr. Américo López Rivera. Mediante este análisis se corroboraron los resultados negativos que se habían obtenido para todas las muestras de ambas temporadas (por detección UV; LOD = 0.078 µg/ml). Si bien se sabe que el proceso de congelación (Reboreda *et al.*, 2010) y liofilización reducen la concentración de AD en tejido de mariscos, con estos análisis se pretendía corroborar su detección, al menos a nivel cualitativo, la ausencia de este tipo de toxinas en las muestras de ostión analizadas.

### **8.5.2. Toxinas de tipo PSP**

En el Laboratorio de Biotoxinas (ICMyL-UNAM), se analizaron las muestras de la temporada de lluvias por el método de Hummert *et al.* (1997) modificado por Yu *et al.* (1998); mientras que las muestras de la temporada de secas (así como muestras compuestas de lluvias) fueron analizadas por el método oficial (AOAC, 2005; Lawrence *et al.*, 2005). Como se esperaba para la temporada de lluvias, en los cromatogramas no se encontraron picos que mostraran la presencia de toxinas de tipo PSP. Sin embargo, en las muestras de la temporada de secas tampoco se detectó la presencia de saxitoxinas (STXs; LD de las toxinas analizadas (µg STX eq /g): C1,2 = 0.001, GTX5 = 0.0004, STX = 0.008, dcSTX = 0.001, GTX2,3 = 0.005, dcGTX2,3 = 0.003, dcNEO = 0.03, NEO = 0.13, GTX1,4 = 0.08). Al igual que en el caso de las toxinas de tipo ASP, en el grupo de los moluscos bivalvos, los ostiones presentan comparativamente menores niveles de toxinas del tipo PSP con respecto a otros bivalvos (*e.g.* almejas y mejillones), además de que presentan menores tiempos de depuración (Bricelj y Shumway, 1998). En general, las especies que no son sensibles a las toxinas PSP (*e.g.*, mejillones *Mytilus*



*edulis*), se alimentan fácilmente de células tóxicas y por lo tanto acumulan altos niveles de estas toxinas (Bricelj *et al.*, 1990). En contraste, las especies que alcanzan toxicidades relativamente bajas (e.g. ostiones *C. virginica*), son muy sensibles a la presencia de toxinas PSP y exhiben mecanismos fisiológicos y de comportamiento que han desarrollado para evitar o reducir la exposición a las células tóxicas (Bricelj y Shumway, 1998). Tales mecanismos van desde la inhibición de las tasas de alimentación hasta el cierre completo de las valvas (Gainey y Shumway, 1988; Wildish *et al.*, 1998). Existen diferentes factores que en su conjunto determinan el destino y la distribución de STXs en los bivalvos, los cuales varían en función de las características de los florecimientos de algas nocivas, las condiciones ambientales, la exposición previa, las especies involucradas, factores intra-poblacionales, así como la variabilidad individual, la dinámica de absorción y los mecanismos de desintoxicación, distribución de la toxina en el organismo y su tiempo de retención; los mecanismos de biotransformación y las diferencias en la toxicidad inicial de dinoflagelados (Deeds *et al.*, 2008).

Como se mencionó en la metodología, en los mismos sitios donde se muestrearon los ostiones se recolectaron muestras de agua para analizar, mediante observaciones al microscopio, la presencia de los organismos productores de toxinas. De todas las muestras analizadas (32 de la temporada de lluvias y 32 de la temporada de secas), sólo en la correspondiente al sitio 8 (Navachiste) de la temporada de secas se encontraron células del dinoflagelado *G. catenatum* en concentraciones de 9,000 céls L<sup>-1</sup>. En cuanto a la presencia de *Pseudonitzschia* (productores de toxinas del tipo ASP), no se encontraron células de este género de diatomeas en ninguna de las muestras observadas. Con tales resultados, se explica la ausencia de toxinas en los ostiones recolectados.

## 9. CONCLUSIONES

---

Los niveles de concentración de metales pesados en ostiones *C. corteziensis* recolectados en los sistemas lagunares de Sinaloa son relativamente elevados para el caso del cadmio y del mercurio, pero resultaron ser bajos para el cobre, el plomo y el zinc, en comparación con los niveles encontrados en esta misma especie, en estudios anteriores de la región costera del Pacífico mexicano.

Al hacer el análisis de los niveles de metales acumulados en los ostiones por cada temporada de muestreo, se encontraron concentraciones mayores de cadmio, cobre, plomo y zinc durante la temporada de secas y de mercurio durante la temporada de lluvias.

Las concentraciones más altas de Cd, encontradas durante la época de secas, se relacionan con la presencia de surgencias en la región oriental del Golfo de California, durante esta época, las cuales influyen mediante el intercambio de aguas con las lagunas costeras.

Los altos niveles de Cu en sitios de los sistemas del centro y norte de Sinaloa (AEP y SINM), están relacionados probablemente con su uso para la agricultura. Sin embargo, se presentaron altos niveles de Cu en URI, donde existen descargas municipales e industriales, la presencia de la planta termoeléctrica y las actividades portuarias.

Se encontró una asociación entre las concentraciones de mercurio con el estado fisiológico, ya que las mayores concentraciones se registraron durante la fase de reposo (noviembre) y las menores concentraciones durante la actividad gametogénica (marzo-abril); así como con el mayor transporte de materiales en época de lluvias desde las cuencas de drenaje hacia las lagunas costeras.

Las concentraciones de Pb pueden estar asociadas con la liberación de este metal desde los sedimentos en donde quedó acumulado en años anteriores.

Los niveles más altos de zinc se encontraron en URI (el complejo lagunar más pequeño), donde hay una mayor presencia de efluentes municipales e industriales del puerto de Mazatlán y de su planta termoeléctrica.

Mediante análisis de ADN, se comprobó la presencia de dos especies diferentes (*C. corteziensis* y *S. palmula*) que comparten el espacio en las mismas raíces de mangle.

Los ostiones *S. palmula* y *C. gigas* presentaron concentraciones más elevadas de metales pesados en comparación con *C. corteziensis*, aunque se encuentran en los mismos sitios. Pero no se encontraron diferencias significativas al hacer el análisis estadístico.

En cuanto a los ostiones de cultivo, se encontraron concentraciones de Cd (en SMLR) y de Cu (en EC) superiores al límite máximo permisible, de acuerdo a la legislación mexicana (Norma Oficial Mexicana 042) y a la legislación de la Organización Mundial de la Salud (WHO, por sus siglas en inglés).

Respecto a las normas establecidas para los límites máximos permisibles para consumo humano de ostiones contaminados con metales pesados, si bien en algunos sitios se sobrepasaron los límites, los promedios globales de las concentraciones de los cinco metales estuvieron por debajo de los niveles marcados por las normas (NOM 042 y WHO, 1983).

Se detectaron mayores niveles de captura y/o acumulación de metales pesados en los ostiones *S. palmula*, en comparación con los de *C. corteziensis*, aún cuando fueron recolectados de las mismas raíces de mangle (aunque no se encontraron diferencias significativas). No obstante, se determinaron las ecuaciones que relacionan tales concentraciones de metales entre estas dos especies, lo cual constituye uno de los resultados más importantes del presente trabajo, pues de esta manera es posible la

comparación inter-específica en sitios donde sólo se cuente con la presencia de una de estas especies.

En el presente estudio, no se detectaron toxinas del tipo ASP analizadas en el laboratorio de biotoxinas del ICMYL-UNAM, UA-Mazatlán (menor concentración inyectada del estándar = 1 µg/mL) ni en las muestras enviadas a los laboratorios de Ensenada, B. C. (límite de detección, LD = 0.025 µg/mL) y de Santiago de Chile (LD = 0.078 µg/mL). Tampoco se detectaron toxinas del tipo PSP en ninguna de las muestras de ostiones analizadas (LD (µg STX eq /g) de las toxinas analizadas: C1,2 = 0.001, GTX5 = 0.0004, STX = 0.008, dcSTX = 0.001, GTX2,3 = 0.005, dcGTX2,3 = 0.003, dcNEO = 0.03, NEO = 0.13, GTX1,4 = 0.08).

La ausencia de toxinas amnésicas y paralizantes en las lagunas costeras se apoya con el resultado de la observación al microscopio de las muestras de agua, en las cuales no hubo presencia de los organismos productores de estas toxinas, excepto en el sitio 8 de Navachiste y en concentraciones bajas, esto es, 9,000 céls L<sup>-1</sup> de *Gymnodinium catenatum*.

## 10. RECOMENDACIONES

---

Se requiere la búsqueda de correlaciones y ecuaciones entre las concentraciones de metales en las especies de ostiones que se distribuyen en estos sistemas lagunares, para efectos de poder hacer comparaciones entre sitios en los cuales una de estas especies no se encuentre distribuida.

En cuanto al consumo local, existe un mayor riesgo para la salud en la recolección de ostiones con los bordes “chinos” (*S. palmula*), puesto que acumulan concentraciones más altas de metales pesados que aquellos cuyos bordes son “lisos” (*C. corteziensis*), por lo que se recomienda hacer un consumo preferente de estos últimos.

Es necesario seguir con programas de biomonitoreo para vigilar que los niveles de metales en ostiones no sobrepasen los valores establecidos en las normas. De igual forma, es importante monitorear la presencia de biotoxinas en los ostiones de estos sistemas lagunares y, así, evitar riesgos para la salud humana.

Si bien, el tiempo de depuración previo al análisis es un proceso importante en la determinación de metales pesados; para el caso de las biotoxinas se requiere hacer pruebas para evaluar cuánto puede afectar tal proceso en los contenidos y perfiles de toxinas.

## 11. LITERATURA CITADA

---

- Acevedo-Medina, G. 2006. Concentración y variación de la composición bioquímica de las biotoxinas del tipo PSP en el ostión *Striostrea prismatica* Gray, 1825 (= *Ostrea iridescens* Hanley, 1854) en la bahía de Mazatlán, Sinaloa. Tesis profesional. Instituto Tecnológico de Mazatlán. Mazatlán, Sinaloa. 74 pp.
- Acevedo-Medina, G. R. Alonso-Rodríguez, I. Gárate-Lizárraga y J. J. Bustillos-Guzmán. 2006. Estudio anual de toxinas parálíticas (TP) en el ostión de roca *Striostrea prismatica* asociado a la presencia de *Gymnodinium catenatum* en la bahía de Mazatlán, Sinaloa, México. En: Resúmenes XIV Reunión Nacional de la Sociedad Mexicana de Planctología, A. C. SOMPAC, Morelia, Michoacán del 31 de mayo al 3 de junio del 2006. Versión electrónica CD. 2 pp.
- Affizah, N., V. J. Vedamanikam, N. A. M. Shazilli. 2009. Concentration of arsenic and mercury in the oyster (*Crassostrea iredalei*) from Setiu lagoon, Terengganu. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 91 (2): 259-265.
- Alonso-Rodríguez, R. y J. L. Ochoa. 2004. Hydrology of winter–spring “red tides” in Bahía de Mazatlán, Sinaloa, México. *Harmful Algae*, 3: 163–171.
- Alonso-Rodríguez, R., F. Páez-Osuna y I. Gárate-Lizárraga. 2004a. El fitoplancton en la camaronicultura y larvicultura: importancia de un buen manejo. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México y Comité Estatal de Sanidad Acuícola de Sinaloa, México, 147 pp.
- Alonso-Rodríguez, R., I. Gárate-Lizárraga, B. Luckas, K. Reinhardt y J. Bustillos-Guzmán. 2004b. Mortalidad de larvas y camarón en cultivo en Sinaloa, México, asociado a mareas rojas de *Gymnodinium catenatum*. En XII Reunión Nacional de la Sociedad Mexicana de Planctología, A. C., Resúmenes. Nuevo Vallarta, Nayarit, México, pp. 54-55.
- Alonso-Rodríguez, R., D. U. Hernández-Becerril y I. Gárate-Lizárraga. 2008. Catálogo de microalgas de las lagunas costeras de Sinaloa. Serie Lagunas Costeras de Sinaloa 4. Universidad nacional Autónoma de México. 198 pp.

- Amado-Filho, G. M., L. T. Salgado, M. F. Rebelo, C. E. Rezende, C. S. Karez, y W. C. Pfeiffer. 2008. Heavy metals in benthic organisms from Todos os Santos Bay, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 68 (1): 95-100.
- André, J.M., F. Ribeyre y A. Boudou. 1990. Mercury contamination levels and distribution in tissues and organs of delphinids (*Stenella attenuata*) from the Eastern Tropical Pacific, in relation to biological and ecological factors. *Marine Environmental Research*, 30: 43–72.
- AOAC Official Method 2005.06, 2005. Paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish: prechromatographic oxidation and liquid chromatography with fluorescence detection. *Official Methods of Analysis of AOAC International*.
- Aslan, A. 2009. Determination of heavy metal toxicity of finished leather solid waste. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 82(5): 633-638.
- ATSDR, Agency for Toxic Substances & Disease Registry. 2007. Estudios de Caso en Medicina Ambiental (CSEM) La toxicidad del plomo ¿Dónde se encuentra el plomo? 23 de enero de 2009. [http://www.atsdr.cdc.gov/es/csem/plomo/es\\_pb-fuente.html](http://www.atsdr.cdc.gov/es/csem/plomo/es_pb-fuente.html).
- ATSDR, Agency for Toxic Substances & Disease Registry. 2008. ToxFAQs™Cinc (Zinc). 23 de enero de 2009. [http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\\_tfacts60.html](http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts60.html).
- Avery, E.L., R. H. Dunstan y J. A. Nell. 1996. The detection of pollutant impact in marine environments: Condition index, oxidative DNA damage, and their associations with metal bioaccumulation in the Sydney rock oyster *Saccostrea commercialis* . *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 31(2): 192-198.
- Azlisham, M., V. J. Vedamanikam y N. A. M. Shazilli. 2009. Concentrations of cadmium, manganese, copper, zinc, and lead in the tissues of the oyster (*Crassostrea iredalei*) obtained from Setiu Lagoon, Terengganu, Malaysia. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 91(2): 251-258.
- Band-Schmidt, C., J. Bustillos-Guzmán, L. Morquecho, I. Gárate-Lizárraga, R. Alonso-Rodríguez, A. Reyes-Salinas, K. Releer y L. Luckas. 2006. Variations of PSP toxin profiles during different growth phases in *Gymnodinium*

- catenatum* (Dinophyceae) strains isolated from three locations in the Gulf of California, Mexico. *Phycological Society of America*, 42: 757-768.
- Bañuelos-Vargas, M.I. 2007. Concentración de metales pesados en el tejido blando de *Crassostrea corteziensis* de cuatro lagunas costeras del sur de Sinaloa, durante un ciclo anual. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. 36 pp.
- Barnes, R. S. K. Coastal lagoons: the natural history of a neglected habitat. Cambridge University Press. USA, 1980, 107 pp.
- Batoréu, M.C.C., E. Dias, P. Pereira y S. Franca. 2005. Risk of human exposure to paralytic toxins of algal origin. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 19: 401-406.
- Berlanga-Robles, C. A. y A. Ruíz-Luna. 2006. Evaluación de cambios en el paisaje y sus efectos sobre los humedales costeros del sistema estuarino de San Blas, Nayarit (México) por medio de análisis de imágenes de landsat. *Ciencias Marinas*, 32(003): 523-538.
- Boening, D.W. 1997. An evaluation of bivalves as biomonitors of heavy metals pollution in marine waters. *Environmental Monitoring and Assessment*, 55: 459-470.
- Bricelj, V. M., J. H. Lee, A. D. Cembella y D. M. Anderson. 1990. Uptake kinetics of paralytic shellfish toxins from the dinoflagellate *Alexandrium fundyense* in the mussel *Mytilus edulis*. *Marine Ecology Progress Series*, 63: 177–188.
- Bricelj, V. M. y S. E. Shumway. 1998. Paralytic shellfish toxins in bivalve molluscs: occurrence, transfer kinetics, and biotransformation. *Reviews in Fisheries Science*, 6(4): 315–383.
- Burger, J. 2008. Assessment and management of risk to wildlife from cadmium. *Science of the total environment*, 389: 37-45.
- Carriker, M. R. y P. M. Gaffney. 1996. A catalogue of selected species of living oysters (Ostreacea) of the world. En: Kennedy, V.S., R. I. E. Newell y A. F. Eble. Eds., *The Eastern Oyster Crassostrea virginica*. Maryland Sea Grant College, College Park, pp. 1-18.



- Castro-González, M. I. y M. Méndez-Armenta. 2008. Heavy metals: Implications associated with the fish consumption. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 26: 263-271.
- Catalogue of life: 2009 annual checklist. Integrated Taxonomic Information System 6 de junio de 2009. <http://www.itis.gov/index.html>
- Cembella, A. D. 2003. Chemical ecology of eukaryotic microalgae in marine ecosystems. *Phycologia*, 42 (4): 420-447.
- Costanza, R., R. d'Arge, R. de Groot, S. Farber, M. Grasso, B. Hannon, K. Limburg, S. Naeems, R. V. O'Neill, J. Paruelo, R. G. Raskin, P. Sutton y M. van den Belt. 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature*, 387: 253-260.
- Chen, C. Y. y M. H. Chen. 2003. Investigation of Zn, Cu, Cd and Hg concentrations in the oysters of Chi-ku, Tai-shi and Tapeng Bay, Southwestern Taiwan. *Journal of Food and Drug Analysis*, 11(1): 32-38.
- Chester, R. y K. J. T. Murphy. Metals in the marine atmosphere. En Furness, R.W. y P. S. Rainbow. 1990. Heavy metals in the marine environment. CRC Press, Inc., USA, 256 pp.
- Chi, Y.W., S. L. Chen, M. H. Yang, R. C. Hwang y M. L. Chu. 1993. Heavy metals in traditional Chinese medicine: ba-pao-neu-hwang-san. *Journal of the Chinese Society of Mechanical Engineers, Transactions of the Chinese Institute of Engineers, Series C/Chung-Kuo Chi Hsueh Kung Ch'eng Hsuebo Pao*, 14 (3): 289-298
- Chouvelon, T., M. Warnau, C. Churlaud y P. Bustamante. 2009. Hg concentrations and related risk assessment in coral reef crustaceans, molluscs and fish from New Caledonia. *Environmental Pollution*, 157(1): 331-340.
- COFEPRIS. 2009. Características Generales de las Biotoxinas Marinas. 23 de enero de 2009. [http://201.147.97.103/wb/cfp/caracteristicas\\_generales\\_de\\_las\\_biotoxinas\\_marina/\\_rid/358?page=1](http://201.147.97.103/wb/cfp/caracteristicas_generales_de_las_biotoxinas_marina/_rid/358?page=1)
- Cortés-Altamirano, R. 1998. Las Mareas Rojas. AGT. México. 161 pp.

- Cotugno, M., U. Gallone, G. Sansone, P. Sinno, A. Biondi. 1980. Localization and individualization of abnormal carbonates in the valve of *Mytilus galloprovincialis*. *Bollettino della Societa italiana di biologia sperimentale* 56(3): 257-262.
- Crossland, C.J., H. H. Kremer, H. J. Lindeboom, J. I. Marshall-Crossland y M. D. A. Le-Tissier. Springer, Alemania, 2005, 231 pp.
- De la Lanza-Espino, G. y C. Cáceres-Martínez. 1994. Lagunas costeras y el litoral mexicano. Universidad Autónoma de Baja California Sur. 525pp.
- Deeds, J. R., J. H. Landsberg, S. M. Etheridge, G. C. Pitcher. y S. Watt-Longan. 2008. Non-Traditional Vectors for Paralytic Shellfish Poisoning. *Marine Drugs*, 6: 308-348.
- Delgadillo-Hinojosa, F., J. V. Macías-Zamora, J. A. Segovia-Zavala y S. Torres-Valdés. 2001. Cadmium enrichment in the Gulf of California. *Marine Chemistry*, 75: 109–122
- DIRECTEMAR. 2007. Origen antrópico y efectos biológicos adversos de los parámetros críticos y variables. 22 de enero de 2009. <http://www.directemar.cl/>
- Dreher, G. B. y L. R. Follmer. 2004. Mercury contents of Illinois soils. *Water, Air, and Soil Pollution*, 156: 299–315.
- Eisler, R. 1987. Mercury hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. *Biological Report U.S. Fish and Wildlife Service* 85 (1.10)
- Enciclopedia Ciencias de la naturaleza. Geología II: Mineralogía y geoquímica. 1997. Editorial Planeta, 504 pp.
- Enciclopedia de los Municipios de México. 2009. Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal. 13 de septiembre de 2010. <http://www.inafed.gob.mx/work/templates/enciclo/nayarit/mpios/18012a.htm>
- EPA (Environmental Protection Agency). 2007. Water glossary. 15 de septiembre de 2008. [www.epa.sa.gov.au/water\\_glossary.html](http://www.epa.sa.gov.au/water_glossary.html)
- FAO (Food and Agriculture Organization). 1995. Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca Pacífico Centro-Oriental. Vol. I, 646 pp.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2005. Depósito de documentos de la FAO. 23 de enero de 2009. <http://www.fao.org/docrep/008/y5486s/y5486s00.htm>

- FDA (Food and Drugs Administration, por sus siglas en inglés). 1993. Guidance documents for trace elements in seafood. [www.cfsan.fda.gov/~frf/guid-sf.html](http://www.cfsan.fda.gov/~frf/guid-sf.html)
- Frías-Espericueta, M. G., J. I. Osuna-López y F. Páez-Osuna. 1999. Gonadal maturation and trace metals in the mangrove oyster *Crassostrea corteziensis*: seasonal variation. *The Science of Total Environment*, 231: 115-123.
- Frías-Espericueta, M. G., J. I. Osuna-López, P. J. López-Sáenz, G. López-López y G. Izaguirre-Fierro. 2004. Heavy Metals in Surface Sediments from Huizache-Caimanero Lagoon, Northwest Coast of Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 73:749-755.
- Frías-Espericueta, M. G., J. I. Osuna-López, S. Flores-Reyes, G. López-López y G. Izaguirre-Fierro, G. 2005. Heavy metals in the oyster *Crassostrea corteziensis* from Urías lagoon, Mazatlán, Mexico, associated with different anthropogenic discharges. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 74: 996-1002.
- Frías-Espericueta, M. G., J. I. Osuna-López, D. Voltolina, G. López-López, G. Izaguirre-Fierro y M. D. Muy-Rangel. 2007. The metal content of bivalve molluscs of a Coastal Lagoon of NW Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 80: 90-92.
- Frías-Espericueta, M. G., J. I. Osuna-López, I. Bañuelos-Vargas, G. López-López, M. D. Muy-Rangel, G. Izaguirre-Fierro, W. Rubio-Carrasco y D. Voltolina. 2009. Cadmium, copper, lead and zinc contents of the mangrove oyster, *Crassostrea corteziensis*, of seven coastal lagoons of NW Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 83(4): 595-599.
- Furness, R. W. y P. S. Rainbow. 1990. Heavy metals in the marine environment. CRC Press, 256 pp.
- Gaetke, L. M. y C. K. Chow. 2003. Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology*, 189: 147-163.
- Gainey, L. F. Jr. y S. E. Shumway. 1988. A compendium of the responses of bivalve molluscs to toxic dinoflagellates. *Journal of Shellfish Research*, 7(4): 623–628.
- Gárate-Lizárraga, I., J. J. Bustillos-Guzmán, R. Alonso-Rodríguez y B. Luckas. 2004. Comparative paralytic shellfish toxin profiles in two marine bivalves during

- outbreaks of *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae) in the Gulf of California. *Marine Pollution Bulletin*, 48: 378-402.
- Gárate-Lizárraga, I., J. J. Bustillos-Guzmán, L. Morquecho, C. J. Band-Schmidt, R. Alonso-Rodríguez, K. Erler, B. Luckas, A. Reyes-Salinas y D. T. Góngora-González. 2005. Comparative paralytic shellfish toxin profiles in the strains of *Gymnodinium catenatum* Graham from the Gulf of California, Mexico. *Marine Pollution Bulletin*, 50: 208-236.
- García-Camacho, F., J. Gallardo-Rodríguez, A. Sánchez-Mirón, M. C. Cerón-García, E. H. Belarbi, Y. Chisti y E. Molina-Grima. 2007. Biotechnological significance of toxin marine dinoflagellates. *Biotechnology Advances*, 25: 176-194.
- García-Rico, L., M. R. Robles-Burgueño y E. M. Valenzuela-Soto. 1999. Las metalotioneínas y su relación con la toxicidad del cadmio en los mamíferos. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 15(2): 113-120.
- García-Rico, L., L. Tejeda-Valenzuela y A. Burgos-Hernández. 2010. Seasonal variations in the concentrations of metals in *Crassostrea corteziensis* from Sonora, México. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 85(2): 209-213.
- García-Mendoza, E., D. Rivas, A. Olivos-Ortiz, A. Almazán-Becerril, C. Castañeda-Vega y J. L. Peña-Manjarrez. 2009. A toxic *Pseudo-nitzschia* bloom in Todos Santos Bay, northwestern Baja California, Mexico. *Harmful Algae*, 8(3): 493-503.
- Goyer, R. A. 1997. Toxic and essential metal interactions. *Annual Review of Nutrition*, 17: 37-50.
- Granéli, E. y J. T. Turner (Eds.). 2008. Ecology of harmful algae. Serie Ecological Studies, No. 189. Springer, 179 pp.
- Green-Ruíz, C. y F. Páez-Osuna. 2003. Heavy Metal Distribution in Surface Sediments from a Subtropical Coastal Lagoon System Associated with an Agricultural Basin. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 71:52-59.

- Green-Ruiz, C., J. Ruelas-Inzunza y F. Páez-Osuna. 2005. Mercury in surface sediments and benthic organisms from Guaymas Bay, east coast of the Gulf of California. *Environmental Geochemistry and Health*, 27: 321-329.
- Green-Ruiz, C., R. Alonso-Rodríguez, K. López-Aguilar, F. Páez-Osuna, C. Ramírez-Jáuregui, G. Ramírez-Reséndiz, J. Ruelas-Inzunza, C. Ruíz-Fernández, M. Soto-Jiménez y L. Tripp-Quezada. 2009. Atlas de contaminantes: Lagunas costeras de Sinaloa. FOMIX Sinaloa, 109 pp.
- Greenhouse, A. H. 1982. Heavy metals and the nervous system. *Clinical Neuropharmacology*, 5 (1): 45-92.
- Hallegraeff, G. M., D. M. Anderson y A. D. Cembella. Manual on harmful marine microalgae. UNESCO, 2<sup>a</sup>. ed, Francia, 2003, 793 pp.
- He, Z. L., X. E. Yang y P. J. Stoffella. 2005. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 19 (2-3): 125-140.
- Hernández-Orozco, M. L. y I. Gárate-Lizárraga. 2006. Síndrome de envenenamiento paralizante por consumo de moluscos. *Revista Biomédica*, 17: 45-60.
- Hummert, C., M. Ritscher, K. Reinharde y B. Luckas. 1997. Analysis of the characteristic PSP profiles of *Pyrodinium bahamense* and several strains of *Alexandrium* by HPLC based on ion-pair chromatographic separation, post-column oxidation, and fluorescence detection. *Chromatographia*, 45: 312-316.
- Hylander, L. D. y M. Meili. 2003. 500 Years of mercury production: Global annual inventory by region until 2000 and associated emissions. *Science of the Total Environment*, 304 (1-3): 13-27.
- Ibargüen-Zamudio, J. 2006. Composición, variación y abundancia de las comunidades fitoplanctónicas en tres lagunas costeras del estado de Sinaloa, México, periodo 2004-2005. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Sinaloa, 101 pp.
- INE-SEMARNAT. 2000. La calidad del agua en los ecosistemas costeros de México. México, 407 pp.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). <http://www.inegi.org.mx/>. 9 de enero de 2011.

- INP-SAGARPA. 2004. REGISTRO DE MAREAS ROJAS EN EL PACÍFICO SUR DE 1985 A 2004. (compilado por personal del INP-SAGARPA). [fans.cicese.mx/.../Cuadro%20Mareas%20Rojas%20Pacifico%20Sur-SEMARNAT.xls](http://fans.cicese.mx/.../Cuadro%20Mareas%20Rojas%20Pacifico%20Sur-SEMARNAT.xls); octubre, 2008.
- ITIS (Integrated Taxonomic Information System). 2011. <http://www.itis.gov/>. 9 de enero de 2011.
- International Allelopathy Society. 1996. Constitutions. Drawn up during first world congress on allelopathy: A science for the future. Spain. <http://wwwias.uca.es/bylaws.htm#CONSTI>. Acceso en marzo 2010.
- Inderji, Dakschini K. 1994. Algal allelopathy *Botanical Review*, 60: 182-196.
- Jara-Marini, M. E., M. F. Soto-Jiménez y F. Páez-Osuna. 2008. Trace metal accumulation patterns in a mangrove lagoon ecosystem, Mazatlan Harbour, SE Gulf of California. *Journal of Environmental Science and Health Part A-Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 43: 1-11.
- Jarup, L. 2003. Hazards of heavy metal contamination. *British Medical Bulletin*, 68: 167-182.
- Je, J.-Y., P.-J. Park, W.-K Jung y S. K. Kim. 2004. Amino acid changes in fermented oyster (*Crassostrea gigas*) sauce with different fermentation periods. *Food Chemistry*, 91 (1): 15-18.
- Jones, T. O., J. N. C. Whyte, L. D. Townsend, N. G. Ginther y G. K. Iwama. 1995. Effects of domoic acid on haemolymph pH, PCO<sub>2</sub> and PO<sub>2</sub> in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* and the California mussel *Mytilus californianus*. *Aquatic Toxicology*, 31: 43-55.
- Jhonston, P., D. Santillo, J. Ashton y R. Stringer. 2000. Sustainability of human activities on marine ecosystems, p 359. En: Sheppard, C. R. C. (Ed.) 2000. *Seas at the millennium: An environmental evaluation*. V. III Global issues and processes. Pergamon. 498 pp.
- Kalaitzis, J. A., R. Chau, G. S. Kohli, S. A. Murray y B. A. Neilan. 2009. Biosynthesis of toxic naturally-occurring seafood contaminants. *Toxicon*, artículo en prensa.

- Kawaguchi, T., D. Porter, D. Bushek y B. Jones. 1999. Mercury in the American oyster *Crassostrea virginica* in South Caroline, USA, and public health concerns. *Marine Pollution Bulletin*, 38 (4): 324-327.
- Kjerfve, Björn. 1994. Coastal lagoon processes. Elsevier Oceanography Series. 577pp.
- Konosu, S., Yamaguchi, K. 1982. The Flavor Components in Fish and Shellfish. En R. E. Martin, G. J. Flick, C. E. Hebard, D. R. Ward (Editores). *Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products*, AVI Publishing. Westport Connecticut, pp. 367-404.
- Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products*; Martin, R. E., G. J. Flick, C. E. Hebard y D. R. Ward, Eds.; AVI: Westport, CT.
- Lankford, R. R. 1977. Coastal Lagoons of Mexico, their origin and classification. En: *Estuarine Processes, Vol. II. Circulation, Sediments and Transfer of Material in the Estuary*, 2: 182-215.
- Lares, M. L., G. Flores-Muñoz, R. Lara-Lara. 2002. Temporal variability of bioavailable Cd, Hg, Zn, Mn and Al in an upwelling regime. *Environmental Pollution*, 120: 595–608.
- Lawrence, J. F., B. Niedzwiedek y C. Menard. 2005. Quantitative determination of paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish using prechromatographic oxidation and liquid chromatography with fluorescence detection: collaborative study. *Journal of Association of Official Analytical Chemists International*, 88: 1714-1732.
- Lobel, P. B., S. P. Belkhome, S. E. Jackson, H. P. Longerich. 1990. Recent taxonomic discoveries concerning the mussel *Mytilus*: implications for biomonitoring. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 19 (4): 508-512.
- Lucas, A. y P. Beninger. 1985. The use of physiological condition indices in marine bivalve aquaculture. *Aquaculture*, 44: 187-200.
- Luckas, B, J. Dahlmann, K. Erler, G. Gerdt, N. Wasmund y C. Hummert. 2005. Overview of key phytoplankton toxins and their recent occurrence in the North and Baltic Seas. *Environmental Toxicology*, 20 (1): 1-17.
- Maanan, M. (2008). Heavy metal concentrations in marine molluscs from the Moroccan coastal region. *Environmental Pollution*, 153: 176-183.

- Mafra, L. L. Jr., V. M. Bricelj, C. Ouellette, C. Léger y S. S. Bates. 2009a. Mechanisms contributing to low domoic acid uptake by oysters feeding on *Pseudo-nitzschia* cells. I. Filtration and pseudofeces production. *Aquatic Biology*, 6 (1-3): 201-212.
- Mafra, L. L. Jr., V. M. Bricelj y J. E. Ward. 2009b. Mechanisms contributing to low domoic acid uptake by oysters feeding on *Pseudo-nitzschia* cells. II. Selective rejection. *Aquatic Biology*, 6 (1-3): 213-226.
- Mafra, L. L. Jr., V. M. Bricelj, K. Fennel. 2010a. Domoic acid uptake and elimination kinetics in oysters and mussels in relation to body size and anatomical distribution of toxin. *Aquatic Toxicology*, 100 (1): 17-29.
- Mafra Jr., L.L., Bricelj, V.M., Ouellette, C., Bates, S.S. 2010b. Feeding mechanics as the basis for differential uptake of the neurotoxin domoic acid by oysters, *Crassostrea virginica*, and mussels, *Mytilus edulis*. *Aquatic Toxicology*, 97 (2): 160-171
- Martin, M. y E. Gutiérrez-Galindo. 1989. Pesticides and PCBs in oysters from Mazatlán, Sinaloa, Mexico. *Marine Pollution Bulletin*, 20 (9): 469-472.
- Mee, L. D., M. Espinoza, G. Díaz. 1986. Paralytic shellfish poisoning with a *Gymnodinium catenatum* red tide on the Pacific Coast of Mexico. *Marine Environmental Research*, 19 (1): 77-92 pp.
- Meza-Guerrero, P. M. 2007. Contenido de Cd, Cu, Pb y Zn en el tejido blando de *Crassostrea corteziensis* de tres lagunas del norte de Sinaloa. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. 29 pp.
- Meyer, U., W. Hagen y C. Medeiros. 1998. Mercury in a northeastern brazilian mangrove area, a case study: potential of the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* as bioindicator for mercury. *Marine Biology*, 131: 113-121.
- Miller, S. A., D. D. Dykes y H. F. Polesky, 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, 16 (3): 1215.



- Montaño-Ley, J., R. Peraza-Vizcarra y F. Páez-Osuna. 2007. The tidal hydrodynamics modeling of the Topolobampo coastal lagoon system and the implications for pollutant dispersion. *Environmental Pollution*, 147: 282-290.
- Montaño-Ley, Y., R. Peraza-Vizcarra y F. Páez-Osuna. 2008. Tidal hydrodynamics and their implications for the dispersion of effluents in Mazatlán harbor: An urbanized shallow coastal lagoon. *Water Air and Soil Pollution*, 194 (1-4): 343-357.
- Moody, J. R. y R.M. Lindstrom. 1977. Selection and cleaning of plastic containers for storage of trace elements samples. *Analytical Chemistry*, 49 (14): 2264-2267.
- Mos, L. 2001. Domoic acid: a fascinating marine toxin. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 9: 79-85.
- Mubiana, V.K., K. Vercauteren y R. Blust. 2006. The influence of body size, condition index and tidal exposure on the variability in metal bioaccumulation in *Mytilus edulis*. *Environmental Pollution*, 144: 272-279.
- NAS. 1980. The International Mussel Watch. Report of a Workshop Sponsored by the Environment Studies Board. Washington: Natural Resources Commission, National Academy of Sciences.
- NIST, National Institute of Standards and Technology. 1998. Certificate of Analysis. Standard Reference Material 2976, Mussel Tissue (Trace Elements and Methylmercury). 8 pp.
- Newman, M.C. y M. A. Unger. Fundamentals of ecotoxicology. Lewis Publishers, 2<sup>a</sup>. ed., USA, 2003, 458 pp.
- NHMRC (National Health and Medical Research Council). 1987, 'National Food Standard A 12: Metals and Contaminants in Food', Canberra, Australia Australian Government Publishing Service.
- NOM-031 (Norma Oficial Mexicana) NOM-031-SSA1-1993, Bienes y servicios. Productos de la pesca. Moluscos bivalvos frescos-refrigerados y congelados. Especificaciones sanitarias.
- NOM-242 (Norma Oficial Mexicana) NOM-242-SSA1-2009, Productos y servicios. Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados. Especificaciones sanitarias y métodos de prueba.

- NRC (National Research Council). 2005. Página consultada en Mayo de 2009. <http://www.nrc-cnrc.gc.ca/obj/imb-ibm/doc/DA-fCertificateENGFeb2010.pdf>
- Olmos-Aguilera, T.L. 1992. Variación temporal de las concentraciones de metales pesados en el ostión *Crassostrea gigas* cultivado en Bahía San Quintín, B. C., México. Tesis de maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. 87 pp.
- Osuna-López, J. I., H. M. Zazueta-Padilla, A. Rodríguez-Higuera y F. Páez-Osuna. 1990. Trace metal concentrations in mangrove oyster (*Crassostrea corteziensis*) from tropical lagoon environments, Mexico. *Marine Pollution Bulletin*, 21 (10): 486-488.
- Otchere, F. A., C. R. Joiris y L. Holsbeek. 2003. Mercury in the bivalves *Anadara* (*Senilia*) *senilis*, *Perna perna* and *Crassostrea tulipa* from Ghana. *Science of the Total Environment*, 304 (1-3): 369-375.
- Otero, N., L. Vitória, A. Soler y A. Canals. 2005. Fertilizer characterization: Major, trace and rare earth elements. *Applied Geochemistry*, 20: 1473-1488.
- Páez-Osuna, F., G. Izaguirre-Fierro, R. I. Godoy-Meza, F. González-Farías y J. I. Osuna-López. 1988. Metales pesados en cuatro especies de organismos filtradores de la región costera de Mazatlán: técnicas de extracción y niveles de concentración. *Contaminación Ambiental*, 4: 31-39.
- Páez-Osuna, F. y C. Marmolejo-Rivas. 1990. Trace metals in tropical coastal lagoon bivalves, *Crassostrea corteziensis*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 45: 538-544.
- Páez-Osuna, F., H. M. Zazueta-Padilla y G. Izaguirre-Fierro. 1991. Trace metals in bivalves from Navachiste lagoon, Mexico. *Marine Pollution Bulletin*, 22 (6): 305-307.
- Páez-Osuna, F., J. I. Osuna-López, G. Izaguirre-Fierro y H. M. Zazueta-Padilla. 1993. Heavy metals in clams from a subtropical coastal lagoon associated with an agricultural drainage basin. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 50: 915-921

- Páez-Osuna, F., M. G. Frías-Espericueta y J. I. Osuna-López. 1995. Trace metal concentrations in relation to season and gonadal maturation in the oyster *Crassostrea iridescens*. *Marine Environmental Research*, 40 (1): 19-31.
- Páez-Osuna, F., H. Bojórquez-Leyva y J. Ruelas-Inzunza. 1999. Regional variations of heavy metal concentrations in tissues of barnacles from the subtropical Pacific coast of Mexico. *Environmental International*, 25: 647-654.
- Páez-Osuna, F., M. J. Ochoa-Izaguirre, H. Bojórquez-Leyva y I. L. Michel-Reynoso. 2000. Macroalgae as biomonitors of heavy metal availability in coastal lagoons from the subtropical Pacific of Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 64: 846-851.
- Páez-Osuna, F., A. C. Ruíz-Fernández, A. V. Botello, G. Ponce-Vélez, J. I. Osuna-López, M. G. Frías-Espericueta, G. López-López y H. M. Zazueta-Padilla. 2002. Concentrations of selected trace metals (Cu, Pb, Zn), organochlorines (PCBs, HCB) and total PAHs in mangrove oysters from the Pacific Coast of Mexico: an overview. *Marine Pollution Bulletin*, 44: 1303-1308.
- Páez-Osuna, F. 2005. Fuentes de metales en la zona costera marina. p. 329-342. En: Botello, A. V., Rendón-van Osten, J., Gold-Bouchot, G., Agráz-Hernández, C. (Eds.) 2005. Golfo de México, contaminación e impacto ambiental: Diagnóstico y tendencias. 2ª ed. Universidad Autónoma de Campeche, UNAM, Instituto Nacional de Ecología, 696 pp.
- Páez-Osuna, F., G. Ramírez-Reséndiz, A. C. Ruíz-Fernández, M. F. Soto-Jiménez. 2007. La contaminación por nitrógeno y fósforo en Sinaloa: flujos, fuentes, efectos y opciones de manejo. Serie Lagunas Costeras. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México, 304 pp.
- Páez-Osuna, F. (Ed.). 2011. Metales en camarón de cultivo y silvestre: importancia, efectos y transferencia trófica. Serie Lagunas costeras de Sinaloa: No. 5. Universidad Nacional Autónoma de México, 438 pp.
- Pérez-Calderón, R. 2002. Validación de la metodología para la determinación de ácido domóico (biotoxina ASP) en moluscos bivalvos, por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC). *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 19 (3): 142-145.

- Pérez-Enríquez, R., S. Ávila y A. M. Ibarra. 2008. Population genetics of the oyster *Crassostrea corteziensis* in the Gulf of California. *Ciencias Marinas*, 34 (4): 479–490.
- Phleger, F. B. 1969. Some general features of coastal lagoons. En: *Lagunas costeras, un simposio* (A. Ayala-Castañares y F. B. Phleger, Eds.), México, 5-26.
- Phillips, D. J. H. y P. S. Rainbow. 1994. *Biomonitoring of trace aquatic contaminants*. Chapman & Hall, 371 pp.
- Phillips, D. J. H. 2000. *Quantitative aquatic biological indicators*. Applied Science Publishers L T D. London, 488 pp.
- Pocklington, R., J. E. Milley, S. S. Bates, C. J. Bird, A. S. W. De-Freitas y A. M. Quilliam. 1990. Trace determination of domoic acid in seawater and phytoplankton by high-performance liquid chromatography of the fluorenylmethoxycarbonyl (FMOC) derivative. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 38: 351-368.
- Pritchard, D. W. 1967. What is an estuary: physical viewpoint. En: *Estuaries* (Lauff, G, Ed). American Association for the Advanced of Science, Pub. No. 83, USA, 3-5
- Pulido, O. M. 2008. Domoic acid toxicologic pathology: A review. *Marine Drugs*, 6: 180-219.
- Quilliam, M. A., P. G. Sim, A. W. McCulloch y G. McInnes. 1989. High-performance liquid chromatography of domoic acid, with application to shellfish and plankton. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 36: 139-154.
- Quilliam, M. A. 2003. Chemical methods for domoic acid, the amnesic shellfish poisoning (ASP) toxin. En: G.M. Hallegraeff, D.M. Anderson and A.D. Cembella (Eds.), *Manual on harmful marine microalgae, monographs on oceanographic methodology*, Vol. 11, Chapter 9. Intergovernmental Oceanographic Commission (UNESCO), Paris, 247-266.
- Rainbow, P. S. y D. J. H. Phillips. 1993. Cosmopolitan biomonitors of trace metals. *Marine Pollution Bulletin*, 26: 593-601.

- Rainbow, P. S., Z. G. Huang, S. K. Yan, B. D. Smith. 1993b. Barnacles as biomonitors of trace metals in the coastal waters near Xiamen, China. *Asian Marine Biology*, 10: 109-121.
- Rainbow, P. S. 1995. Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 31 (4-12): 183-192.
- Ray, S., 1986. Bioaccumulation of cadmium in marine organisms. *Experientia*, 50 (Suppl.): 65-75.
- Rebelo, M. F., M. C. Reboucas-do-Amaral, W. C. Pfeiffer. 2003. High Zn and Cd accumulation in the oyster *Crassostrea rhizophorae*, and its relevance as a sentinel species. *Marine Pollution Bulletin*, 46: 1341-1358.
- Rebelo, M. F., M. C. R. Amaral y W. C. Pfeiffer. 2005. Oyster condition index in *Crassostrea rhizophorae* (GUILDING, 1828) from a heavy-metal polluted coastal lagoon. *Brazilian Journal of Biology*, 65(2): 345-351.
- Reboreda, A., J. Lago, M. J. Chapela, J. M. Vieites, L. M. Botana, A. Alfonso y A. G. Cabado. 2010. Decrease of marine toxin content in bivalves by industrial processes. *Toxicon*, 55: 235-243.
- Reynoso-Nuno, H. E. 1985. Concentración de metales pesados en las poblaciones autóctonas y en transplantes de *Mytilus californianus* en la costa occidental de la península de Baja California. Estudio comparativo a las poblaciones de California E.U.A. Tesis de maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. 96 pp.
- Rice, E.L. 1984. Allelopathy, 2<sup>a</sup>. ed. Academic Press, USA, 359 pp.
- Ruelas-Inzunza, J. R. y Páez-Osuna, F. 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-Insunza, J.R., S. B. García-Rosales y F. Páez-Osuna. 2004. Distribution of mercury in adult penaeid shrimps from Altata-Ensenada del Pabellón lagoon (SE Gulf of California). *Chemosphere*, 57: 1657–1661.
- Ruíz-Fernández, A.C., M. Frignani, C. Hillaire-Marcel, B. Ghaleb, M. D. Arvizu, J. R. Raygoza-Viera y F. Páez-Osuna. 2009. Trace metals (Cd, Cu, Hg, and Pb) accumulation recorded in the intertidal mudflat sediments of three coastal

- lagoons in the Gulf of California, Mexico. *Estuaries and Coasts*, 32 (3): 551-564.
- Ruppert, E. E. y R. D. Barnes. 1996. *Zoología de los invertebrados*. 6ª. ed., McGrawHill, 1114 pp.
- Saitou, N. y M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular biology and evolution*, 4 (4): 406-425.
- Sanfeliu, C., J. Sebastià, R. Cristòfol y E. Rodríguez-Farré. 2003. Neurotoxicity of organomercurial compounds. *Neurotoxicological Research*, 5 (4): 283-305
- Schroeder, W. H. y J. Munthe. 1998. Atmospheric mercury: An overview. *Atmospheric Environment*, 32: 809–822.
- SEMARNAP (Secretaría de medio ambiente, recursos naturales y pesca). 1997. Mortandad de mamíferos marinos cuyos cadáveres arribaron a las costas de Sinaloa. Informe técnico. México, 23 pp.
- Sericano, J. L., T. L. Wade, T. J. Jackson, J. M. Brooks, B. W. Tripp, J. W. Farrington, L. D. Mee, J. W. Readmann, J. P. Villeneuve y E. D. Goldberg. 1995. Trace organic contaminations in the Americas: an overview of the US national status and trends and the international “Mussel Watch” program. *Marine Pollution Bulletin*, 31 (4-12): 214-225.
- Shulkin, V. M., B. J. Presley y V. Kavun. 2003. Metal concentrations in mussel *Crenomytilus grayanus* and oyster *Crassostrea gigas* in relation to contamination of ambient sediments. *Environment International*, 29 : 493-502.
- Silva, C. A. R., P. S. Rainbow, B. D. Smith y Z. L. Santos. 2001. Biomonitoring of trace metals contaminants in Potengi estuary, Natal (Brazil) using the oyster *Crassostrea rhizophorae*, a local food source. *Water Research*, 35(17): 4072–4078.
- Silva, C. A. R., B. D. Smith y P. S. Rainbow. 2006. Comparative biomonitors of coastal trace metal contamination in tropical South America (N. Brazil). *Marine Environmental Research*, 61: 439-455.
- Soto-Jiménez, M. F., F. Páez-Osuna y F. Morales-Hernández. 2001. Selected trace metals in oysters (*Crassostrea iridescens*) and sediments from the discharge

- zone of the submarine sewage outfall in Mazatlan Bay (southeast Gulf of California): chemical fractions and bioaccumulation factors. *Environmental Pollution*, 114: 357-370.
- Soto-Jiménez, M. F. y Flegal, A. R. 2008. Origin of lead in the Gulf of California ecoregion using stable isotope analysis. *Journal of Geochemical Exploration*, 101: 209–217.
- Staines-Urías, F., R. G. Douglas y D. S. Gorsline. 2009. Oceanographic variability in the southern Gulf of California over the past 400 years: Evidence from faunal and isotopic records from planktic foraminifera. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 284(3-4): 337-354.
- Szefer, P., K. Szefer, J. Pempkowiak, B. Skwarzec y R. Bojanowski. 1994. Distribution and coassociations of selected metals in seals of the Antarctic. *Environmental Pollution*, 83: 341-349.
- Szefer, P y J. Geldon. 1998. Distribution and association of trace metals in soft tissue and byssus of *Mytella strigata* and other benthic organisms from Mazatlan harbor, mangrove lagoon of the Northwest coast of Mexico. *Environment International*, 24(3): 359-374.
- Szefer, P., B. S. Kim, C. K. Kim, E. H. Kim y C. B. Lee. 2004. Distribution and coassociations of trace elements in soft tissue and byssus of *Mytilus galloprovincialis* relative to the surrounding seawater and suspended matter of the southern part of the Korean Peninsula. *Environmental Pollution*, 129: 209-228.
- Tamura, K., J. Dudley, M. Nei, S. Kumar. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, 24(8): 1596-1599.
- The Encyclopedia of Earth. 2007. <http://globalchange.nasa.gov/index.html>. Página consultada en Enero, 2009.
- Thompson, D. R. 1990. Metal levels in marine vertebrates. En Furness, R.W., Rainbow, P.S. 1990. *Heavy metals in the marine environment*. CRC Press, 256 pp.

- Unkiewicz-Winiarczyk, A., K. Gromysz-Kałkowska y E. Szubartowska. 2009. Aluminium, cadmium and lead concentration in the hair of tobacco smokers. *Biological Trace Element Research*, 132(1-3): 41-50.
- Valiela, I. 2006. *Global Coastal Change*. Blackwell Publishing, USA, 367 pp.
- Villanueva, F. S., A. V. Botello y F. Páez-Osuna. 1988. Evaluación de algunos metales pesados en organismos del Río Coatzacoalcos y de la Laguna del Ostión, Veracruz, México. *Contaminación Ambiental*, 4: 19-30.
- Wang, Y., L. Liang, J. Shi y G. Jiang. 2005. Study on the contamination of heavy metals and their correlations in mollusks collected from coastal sites along the Chinese Bohai Sea. *Environment International*, 3: 1103-1113.
- Ward, J. E., J. S. Levinton, S. E. Shumway y T. Cucci. 1998. Particle sorting in bivalves: In vivo determination of the pallial organs of selection. *Marine Biology*, 131(2): 283-292.
- WHO, 1982. Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants. Joint FAO/WHO expert committee on food additives. WHO Food Additives Series No 17. Geneva' World Health Organization; 1982. p. 28– 35.
- WHO (World Health Organization). Summary and conclusions of the sixty-first meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), JECFA/61/SC, Rome, 10-19 June 2009. 22pp. Página consultada en marzo de 2009. <ftp://ftp.fao.org/es/esn/jecfa/jecfa61sc.pdf>
- Widmeyer, J. R. y L. I. Bendell-Young. 2008. Heavy metal levels in suspended sediments, *Crassostrea gigas*, and the risk to humans. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 55(3): 442-450.
- Wildish, D., P. Lassus, J. Martin, A. Saulnier y M. Bardouil. 1998. Effect of the PSP-causing dinoflagellate, *Alexandrium* sp. on the initial feeding response of *Crassostrea gigas*. *Aquatic Living Resources*, 11: 35-43.
- World Register of Marine Species. <http://www.marinespecies.org/index.php>. 9 de enero de 2011.
- Yang, D., Y. Chen, J. Gunn, N. Belzile. 2008. Selenium and mercury in organisms : interactions and mechanisms. *Environmental Reviews*, 16:71-92.



- Yang, D., X. Ye., Y. Chen, N. Belzile. 2010. Inverse relationships between selenium and mercury in tissues of young walleye (*Stizosedion vitreum*) from Canadian boreal lakes. *Science of the Total Environment*, 408: 1676-1683.
- Yu, R.C., C. Hummert, B. Luckas, P. Y. Qian, J. Li y M. J. Zhou. 1998. A modified HPLC method for analysis of PSP toxins in algae and shellfish from China. *Chromatographia*, 48(9-10): 671-676.
- Zar, J.H. 1999. *Biostatistical Analysis*. Fourth edition. Prentice Hall. New Jersey, 663 pp.
- Zhang, Z., X. Changhu, G. Xin, L. Zhaojie y W. Qi. 2006. Monthly changes of glycogen, lipid and free amino acid of oyster. *Journal of Ocean University of China*, 5(3): 257-262.
- Zhou, Q., J. Zhang, J. Fu, J. Shi y G. Jiang. 2008. Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analytica Chimica Acta*, 606: 135-150.

## 12. ANEXOS

---

Artículos publicados con resultados de la tesis:

Osuna-Martínez, C. C., F. Páez-Osuna, R. Alonso-Rodríguez. 2010. Mercury in cultured oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg, 1793 and *C. corteziensis* Hertlein, 1951) from four coastal lagoons of the SE Gulf of California, Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 85 (3): 339-343.

Osuna-Martínez, C. C., F. Páez-Osuna, R. Alonso-Rodríguez. 2011. Cadmium, Copper, Lead and Zinc in Cultured Oysters Under two Contrasting Climatic Conditions in Coastal Lagoons from SE Gulf of California, Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 87 (3): 272-275.

Artículo de revisión publicado durante los estudios de doctorado:

Páez-Osuna, F. y C. C. Osuna Martínez. 2011. Biomonitores de la contaminación costera con referencia a las costas mexicanas: una revisión sobre los organismos utilizados. *Hidrobiológica*, *en prensa*.