

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS AGROPECUARIAS Y
PESQUERAS

ESPECIALIDAD EN CIENCIAS AMBIENTALES



EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN A PLAGUICIDAS Y METALES
PESADOS EN OSTIÓN (*Crassostrea corteziensis*) DEL ESTERO BOCA
DE CAMICHÍN, NAYARIT.

TESIS

Que para obtener el Título de Maestro en Ciencias

Presenta

QFB. Yael Yvette Bernal Hernández

Directora de tesis

Dra. Aurora Elizabeth Rojas García



SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE NAYARIT

Tepic, Nayarit, octubre de 2009.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

Tepec, Nayarit a 23 de octubre de 2009.

DR. JUAN DIEGO GARCÍA PAREDES
CORDINADOR DEL POSGRADO CBAP

PRESENTE

Por este conducto nos permitimos comunicarle que la tesis de la estudiante de maestría Yael Yvette Bernal Hernández titulada "Evaluación de la exposición a plaguicidas y metales pesados en ostión (*Crassostrea corteziensis*) del estero Boca de Camichín, Nayarit", ha sido revisada y aprobada en contenido y formato. Por lo que consideramos que la estudiante puede continuar con los trámites para solicitar fecha de examen de grado.

Sin más por el momento reciba un cordial saludo.

Atentamente

Dra. Aurora Elizabeth Rojas García
Dra. Irma Martha Medina Díaz
Dra. María de Lourdes Robledo Marengo
Dr. Manuel Iván Girón Pérez
Dr. Jesús Bernardino Velázquez Fernández

Sección de firmas manuscritas con líneas horizontales de apoyo.

Ccp. Archivo/AERG



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT
ÁREA DE CIENCIAS BIOLÓGICO AGROPECUARIAS Y PESQUERA
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICO AGROPECUARIAS

CBAP/199/09

Xalisco, Nayarit., 27 de octubre de 2009

Ing. Alfredo González Jáuregui
Director de Administración Escolar
P r e s e n t e .

Con base al oficio de fecha 23 de octubre del presente año, enviado por los CC. Dra. Aurora Elizabeth Rojas Garcia, Dra. Irma Martha Medina Diaz, Dra. Maria de Lourdes Robledo Marengo, Manuel Iván Girón Pérez y Dr. Jesús Bernardino Velázquez Fernández, donde se nos indica que el trabajo de tesis cumple con lo establecido en forma y contenido, y debido a que ha cumplido con los demás requisitos que pide el Posgrado en Ciencias Biológico Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Nayarit, se autoriza a la C.Yael Yvette Bernal Hernández, continúe con los trámites necesarios para la presentación del examen de grado de Maestría.

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente
"Por lo Nuestro a lo Universal"

Dr. J. Diego Garcia Paredes
Coordinador del Posgrado



C.c.p.-Minutario.
C.c.p.-Expediente.
JDGP/ref.

Este trabajo se realizó en el laboratorio de Contaminación y Toxicología Ambiental, de la Universidad Autónoma de Nayarit, bajo la tutoría de la doctora Aurora Elizabeth Rojas García, y con financiamiento de los fondos NAYARIT-2006-C01-66170 y PROMEP/103.5/07/2746.

AGRADECIMIENTOS

Mi más sincero agradecimiento a la Dra. Aurora Elizabeth Rojas García por ser la guía que me ha llevado paso a paso a la culminación de este proyecto, por su confianza, disponibilidad y enorme paciencia, por su profesionalismo en cada etapa de mi investigación, sobre todo porque sé que al igual que para mí llegar al término después de todo, ha sido un verdadero reto. Por el apoyo que me brindo en todo momento, sobre todo por su amistad, muchas gracias.

Agradezco al comité de revisión: Dra. Lourdes Robledo Marengo, Dra. Irma Martha Medina Díaz, Dr. Jesús Bernardino Velázquez Fernández y Dr. Manuel Iván Girón Pérez, por el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo, por sus acertados y valiosos comentarios que sin duda enriquecieron el contenido del mismo, por su disponibilidad y asesoría cuando la necesite, pero sobre todo por su apoyo y comprensión a lo largo del proyecto.

Agradezco a la Universidad Autónoma de Nayarit por ser el lugar donde adquirí mi formación profesional y porque es aquí donde he vivido hasta el momento, la mejor etapa de mi vida, sin olvidar a mis maestros, los que me enseñaron que el compartir el conocimiento es una de las alegrías más vitales de la vida y una obligación para con nuestros semejantes.

Agradezco a la Escuela Nacional De Ingeniería Pesquera por las facilidades y el apoyo brindado durante los bioensayos.

Agradezco a la Mtra. Delia Domínguez Ojeda por sus conocimientos compartidos, por ser una persona que contagia su pasión por lo que hace, pero sobre todo por su valiosa amistad.

Agradezco a la dirección y administración del atletismo universitario, especialmente a Arturo Hermosillo González y Jorge Ducke Navarrete, por su apoyo incondicional e invaluable amistad.

Agradezco al laboratorio de acuicultura integral Acuain por el apoyo brindado para la alimentación y aclimatación de los organismos.

Agradezco a la comunidad del Estero Boca de Camichín por las facilidades otorgadas durante los muestreos.

Agradezco al Ing. Marco Luis Loza por su valiosa colaboración en la colecta de las muestras, por su disponibilidad y por el trabajo que desarrolla en beneficio de su comunidad. Gracias también a su familia, por su amable hospitalidad.

Agradezco a Raúl, por los buenos momentos en carretera, sobre todo por su valiosa ayuda en las tantas salidas a campo.

Agradezco sinceramente a mis amigas Sandra y Mayra, auxiliares del laboratorio de contaminación y toxicología ambiental, por todo el apoyo y palabras de aliento, por el enorme cariño que siempre recibo de su parte, pero sobre todo por su maravillosa amistad.

Agradezco a mi compañera y amiga Laura Ortega Cervantes, por compartir conmigo tantos buenos momentos, por brindarme su ayuda, por ser una persona que emana alegría y enseñarme que no se necesita mucho para reír, pero sobre todo gracias por tu amistad. Te deseo lo mejor amiga.

Agradezco a mi amiga Lilia Margarita Godínez González, por todo el apoyo a lo largo de nuestra amistad, por compartir conmigo tantas vivencias, por sus palabras de aliento y la paz que me regala, pero sobre todo gracias por tu maravillosa amistad.

Agradezco a Fernando Elias Carvajal, por estar siempre conmigo, por los buenos y malos momentos que hemos compartido, por tu honestidad y la manera tan particular de ver las cosas, por hacer con tu afecto mucho más fácil mi camino, pero sobre todo gracias por tu invaluable amistad.

Agradezco a Emmanuel Barbosa por los buenos momentos a la hora del café, sobre todo gracias por tu apoyo y amistad. Mucha suerte y lo mejor en la nueva etapa de tu vida.

Agradezco a Rubi Cornejo, técnico del laboratorio del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) por su amable capacitación en las técnicas de biología molecular.

Agradezco a mis compañeros de generación: Vania Soledad, Mariela Castro, Job Bugarín y Fernando Grageola, por tantos momentos compartidos, porque sé que al igual que para mí estos dos años en el posgrado han sido toda una aventura. Mucho éxito y lo mejor para ustedes.

Agradezco a mis compañeros tesisistas, prestadores de servicio y prácticas profesionales del laboratorio de contaminación y toxicología ambiental sin olvidar a ninguno, por su ayuda en la fase experimental, por los buenos momentos que hacían la diferencia, pero sobre todo gracias por su amistad.

Especialmente agradezco a Williams Agustín por su importante colaboración en la estandarización de la técnica para determinar metalotioneína.

Agradezco a mi compañero y amigo Alvaro Montaño por el apoyo en la determinación de plaguicidas, por su compañía en las inolvidables jornadas de trabajo, por tantos momentos compartidos, pero sobre todo gracias por tu amistad.

Agradezco a Félix Hernández Panu, por todo su apoyo, por sus consejos y los buenos momentos que siempre pasamos recordando el ayer, gracias tío por estar con nosotros.

Agradezco profundamente a mi primo Octavio González Hernández y su familia, por el enorme apoyo y muestras de cariño en los momentos difíciles, por que sé que cuento contigo y estarás ahí como el hermano que has sido, gracias.

Agradezco sinceramente a la familia Huerta Hernández por todo el apoyo y cariño que siempre recibo de su parte, por permitirme compartir con ustedes este pequeño logro, pero sobre todo por estar siempre presentes cuando los necesite, muchas gracias.

Agradezco a Cocytén por el apoyo económico brindado en el último semestre de este estudio.

Por último, quisiera agradecer a todos los que alguna vez han compartido sus conocimientos para enriquecernos todos.

DEDICATORIAS

A la memoria de mi padre Luis Antonio Bernal Vidaurry†, inspiración y fortaleza en las horas más difíciles, por ayudarme cuando me equivoque, por aconsejarme cuando dude, por estar siempre a mi lado cuando lo necesite. Por tantos planes que compartimos y aunque no te ha tocado ver lo feliz que me siento ahora, sé que estarías orgulloso de mí.

A Sofia Hernández Delgadillo, por ser el cimiento de mi vida, por tu comprensión y apoyo incondicional, por tu paciencia y por estar conmigo siempre, mamá este pequeño logro es tuyo, mi admiración y agradecimiento eterno.

A mis hermanos, Sofia Anahí, Luis Germán y Wilmar Antonio, por su comprensión y apoyo, porque que a pesar de no entender mucho este camino, siempre me han animado a seguirlo, por los momentos que aprendimos a superar, pero sobre todo por la unidad y el cariño que existe entre nosotros.

A Sofia Delgadillo Panu, por enseñarme que cada día es una nueva oportunidad, por todo el cariño que siempre me brindas, por estar con nosotros, gracias abuelita.

A mi pequeño sobrino, Iker Kaled, por ser la alegría de vuelta en casa, aunque aún no sabes leer, cuando lo hagas, estoy segura que lo entenderás como un ejemplo de perseverancia y superación.

A todas aquellas personas que de alguna manera formaron parte de este importante capítulo en mi vida, gracias.

"Es preciso saber lo que se quiere; cuando se quiere, hay que tener el valor de decirlo, y cuando se dice, es menester tener el coraje de realizarlo"

Georges Clemenceau

RESUMEN

El estero Boca de Camichín se localiza en la costa de Nayarit y se caracteriza por tener una alta biodiversidad de especies, entre ellas el ostión. El cultivo de ostión que se practica en este lugar es una actividad con más de 35 años de práctica y deja una derrama económica importante para la región. En los últimos 40 años, se ha incrementado la presencia de plaguicidas y metales pesados en los ecosistemas acuáticos (agua, suelo y organismos), como consecuencia de un aumento en su producción y uso. La presencia de plaguicidas y metales pesados en los ostiones, puede ocasionar disminución en la productividad de este recurso y por ende en la economía de los ostricultores. Además, también puede afectar la salud de las personas que consumen este alimento. El objetivo de este estudio fue determinar la presencia de plaguicidas organoclorados (POC) en sedimentos y ostiones, así como evaluar biomarcadores de exposición a plaguicidas organofosforados (POF) y metales pesados en ostiones *Crassostrea corteziensis* del estero Boca de Camichín. Los niveles de POC se determinaron por cromatografía de gases utilizando un estándar externo. La exposición a POF se evaluó por medio de la actividad de la enzima acetilcolinesterasa (AChE), mientras que la contaminación por metales pesados se determinó con la evaluación de los cambios en la concentración de metalotioneína (MT). Se detectó delta-HCH y heptacloro epóxido en sedimentos, mientras que en organismos no se detectó la presencia de POC. Por otro lado, la actividad de AChE en los ostiones colectados mostró una disminución de 61.7% comparada con los organismos control negativo (0.64 nmol/min/mg de proteína versus 1.67 nmol/min/mg de proteína), esta disminución fue similar a la observada en ostiones tratados en el laboratorio con el plaguicida organofosforado diclorvos (control positivo). El promedio de MT en los organismos colectados en el estero Boca de Camichín fue de 137.30 µg MT/g de branquias, y fue estadísticamente diferente al de los organismos control positivo, los cuales fueron tratados con CdCl₂-ZnCl₂ (679.4 µg MT/g de branquia), pero no con respecto a los organismos control negativo (122.8 µg MT/g de branquia). Estos resultados sugieren por un lado, la presencia en ostiones de compuestos anticolinesterásicos, como los POF, y por otro, que la presencia de POC y metales pesados no son un problema de contaminación en los ostiones del estero Boca de Camichín.

ABSTRACT

The Boca of Camichin estuary is located in the coast of Nayarit and is characterized for possessing a high biodiversity of species, including oysters. Oyster cultivation is an activity that has been practiced in Boca de Camichin for more than 35 years that leaves an important economic income for the region. In the last 40 years, the presence of pesticides and heavy metals in aquatic ecosystems (water, soil and organisms) has increased due to the increase in production and use. The presence of pesticides and heavy metals in oysters, however, may decrease the oyster productivity and thereby alter oyster farmers economy, as well as, may affect the health of people who eat oysters. The aim of this study was to determine the presence of organochlorine pesticides (POC) in sediment and oysters, and to evaluate biomarkers of exposure to organophosphorus pesticides (POF) and heavy metals in oyster *Crassostrea corteziensis* from Boca of Camichin estuary. POC levels were determined by gas chromatography using an external standard. POF exposure was assessed by the activity of the enzyme acetylcholinesterase (AChE), and heavy metals contamination was determined by evaluating changes in metallothionein (MT). Delta-HCH and heptachlor epoxide were found in sediments, whereas no POCs were found in organisms. AChE activity in the collected oysters was 61.7% decreased compared to negative control oysters (0.64 nmol / min / mg protein versus 1.67 nmol / min / mg protein), this decrease was similar to that observed in oysters treated in the laboratory with the organophosphate pesticide dichlorvos (positive control). The average of MT in organisms collected in Boca de Camichin estuary was 137.30 mg MT / g of gills, which was statistically different with respect to organisms from positive control treated with CdCl₂-ZnCl₂ (679.45 mg MT / g of gill), but similar to negative control organisms (122.8 mg MT / g of gill). These data suggest the presence of anticholinesterase compounds such as POF in oyster. These data also suggest that the presence of POC and heavy metals does not represent a pollution problem in oysters from Boca of Camichin estuary.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Ubicación geográfica del Estero Boca de Camichín.....	15
Figura 2	Esquema de una sarta de cultivo.....	17
Figura 3	Ostión <i>Crassostrea corteziensis</i>	17
Figura 4	Contenido de proteína total en branquias de ostión.....	28
Figura 5	Actividad AChE en branquias de ostión del estero Boca de Camichín.....	29
Figura 6	Actividad AChE en branquias de ostión de acuerdo a cada muestreo.....	30
Figura 7	Actividad de AChE en branquias de ostión por estación y punto de muestreo.....	31
Figura 8	Efecto de retracción de manto y músculo aductor laxo en ostiones tratados con DDVP.....	32
Figura 9	Contenido de MT en branquias de ostión colectado en el estero boca de Camichín.....	33
Figura 10	Determinación de MT en branquias de ostion de acuerdo a cada muestreo.....	34
Figura 11	Contenido de MT en branquias de ostión por estación y punto de muestreo.....	35

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Localización geográfica de las estaciones de muestreo.....	16
Tabla 2	Diluciones estándar para la curva de BSA.....	23
Tabla 3	Plaguicidas organoclorados detectados en sedimentos del estero Boca de Camichín.....	27
Tabla 4	Contenido de materia orgánica en sedimentos del estero Boca de Camichín.....	28
Tabla 5	Actividad AChE en bivalvos.....	41
Tabla 6	Concentraciones de MT reportado en bivalvos.....	44

LISTA DE ABREVIATURAS

ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterasa
BSA	Albúmina Sérica Bovina
CYP	Citocromo P-450
DDD	Diclorodifenildicloroetileno
DDE	Diclorodifenildicloroetano
DDT	Diclorodifenitricloroetano
DDVP	Diclorvos
DTNB	5,5'- Ditio-bis (2-ácido nitrobenzoico)
DTT	Ditiotreitol
EDTA	Ácido etilendiaminotetraácetico
GPS	Sistema de Posicionamiento Global
GSH	Glutación reducido
gp	Grado plaguicida
HCH	Hexacloro-ciclohexano
Iso-OMPA	Tetraisopropilpirofosfamida
MO	Materia orgánica
MT	Metalotioneína
PMSF	Fluoruro de fenilmetilsulfonilo
POC	Plaguicidas organoclorados
POF	Plaguicidas organofosforados
SPB-5	Silice fundido al 5%, fenil metil silicón

ÍNDICE GENERAL	Página
Resumen	VIII
Abstract	IX
Índice de figuras	X
Índice de tablas	XI
Lista de abreviaciones	XII
1.INTRODUCCIÓN	1
1.1 Contaminación en los ecosistemas acuáticos.....	1
1.1.1 Contaminación por plaguicidas.....	1
1.2 Plaguicidas organoclorados.....	2
1.2.1 Materia orgánica.....	4
1.3 Plaguicidas organofosforados.....	4
1.4 Contaminación por metales.....	5
1.5 Biomarcadores.....	7
1.5.1 Acetilcolinesterasa.....	7
1.5.2 Metalotioneína.....	8
1.6 Acuicultura.....	9
1.6.1 Ostricultura.....	10
2.JUSTIFICACIÓN	12
3.HIPOTÉISIS	12
4.OBJETIVOS	13
4.1 Objetivo general.....	13
4.2 Objetivos específicos.....	13
5.METODOLOGÍA	14
5.1 Área de Estudio.....	14
5.2 Muestreo.....	14
5.2.1 Estaciones de muestreo.....	16
5.3 Obtención de muestras.....	16
5.3.1 Organismos.....	16
5.3.2 Sedimentos.....	18
5.4 Análisis de Muestras.....	18
5.4.1 Evaluación de la exposición a plaguicidas organoclorados.....	18

5.4.1.1 Organismos.....	18
5.4.1.2 Sedimentos.....	19
5.4.1.3 Cuantificación de POC por cromatografía de gases....	20
5.4.1.4 Determinación de materia orgánica en sedimentos.....	20
5.4.2 Evaluación de la exposición a plaguicidas organofosforados....	22
5.4.2.1 Determinación de proteínas totales.....	22
5.4.2.2 Actividad de acetilcolinesterasa.....	23
5.4.2.3 Grupos control.....	24
5.4.3 Evaluación de la exposición a metales pesados.....	25
5.4.3.1 Cuantificación de metalotioneína.....	25
5.4.3.2 Grupos control.....	26
5.5 Análisis estadístico.....	26
6.RESULTADOS.....	27
6.1 Presencia de plaguicidas organoclorados.....	27
6.1.1 Contenido de materia orgánica.....	27
6.2 Proteínas totales en branquias de ostión.....	28
6.3 Actividad de acetilcolinesterasa	29
6.4 Contenido de metalotioneína	32
7.DISCUSIÓN.....	36
7.1 Exposición a plaguicidas organoclorados.....	36
7.1.1 Materia Orgánica.....	37
7.2 Contenido de proteínas totales en branquias de ostión.....	38
7.3 Actividad AChE como biomarcador de exposición a plaguicida organofosforados.....	38
7.4 Metalotioneína como biomarcador de exposición a metales.....	41
8.CONCLUSIONES.....	46
9.BIBLIOGRAFÍA.....	47

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Contaminación en los ecosistemas acuáticos

Por definición, un ecosistema es la unidad ecológica en la cual un grupo de organismos interactúa entre sí y con el ambiente (Roldán, 1992). Los ecosistemas acuáticos están influenciados por dos grandes grupos de factores, bióticos y abióticos, los cuales pueden modificar el medio en el cual se desenvuelven los organismos acuáticos (Allan, 1996).

El deterioro de los ecosistemas debido a la contaminación es un problema crítico de nuestros tiempos (Lafont et al., 2001; Locatello et al., 2009). La creciente cantidad de contaminantes en zonas costeras se produce como consecuencia del vertimiento de desechos industriales, urbanos, actividad agrícola, minera y portuaria, lo que representa un peligro inminente para el hombre y el ambiente (Páez-Osuna, 1999a).

1.1.1 Contaminación por plaguicidas

Los plaguicidas se definen como aquellas sustancias que se utilizan para prevenir, destruir o controlar plagas, incluyendo vectores de enfermedades que afectan a animales o humanos, así como especies que causan daño durante la producción, proceso, almacén, transporte o venta de alimentos (Urdsin, 1970).

Los plaguicidas pueden ser naturales (tabaco y piretro) y sintéticos, dentro de este último grupo se encuentran los organoclorados (POC), organofosforados (POF), carbámicos y piretroides, entre otros (FAO, 1986). El uso intensivo de plaguicidas ha ocasionado daños a corto plazo como desaparición de insectos benéficos y mortandad de distintas especies de animales (aves, peces y mamíferos, principalmente). Con respecto a los daños a largo plazo, se puede citar la disminución en la productividad de aguas continentales y costeras, la acumulación de los plaguicidas en las cadenas tróficas y el desarrollo de resistencia en los organismos plaga (Osuna-Flores y Riva, 2004).

En México la contaminación química no fue importante hasta poco antes de 1945, ya que la agricultura que se practicaba era tradicional, se usaban solamente extractos naturales como quinina, plaguicidas inorgánicos y un uso mínimo de productos químicos (Botello et al., 2000). La contaminación de ecosistemas costeros por plaguicidas halogenados, junto con otros contaminantes inorgánicos y orgánicos, ha recibido gran atención durante las últimas décadas y en particular los estudios se han enfocado a lagunas y estuarios (Botello et al., 1996).

Los estudios realizados para abordar los problemas de contaminación por plaguicidas, han evidenciado que México no está exento a la contaminación de cuerpos de agua; como lo demuestran los estudios realizados en sedimentos y organismos en los sistemas acuáticos del Golfo de México (Rosales y Álvarez, 1979; Gold-Bouchout et al., 1993 y 1995; Botello et al., 1996; Noreña et al., 1998) y en el Pacífico Mexicano (Rosales y Escalona, 1983 y 1985; Galindo et al., 1992; Gutiérrez et al., 1992; Carvalho et al., 1996; Galindo et al., 1997; Galindo et al., 1999; Botello et al., 2000; Osuna-Flores y Riva, 2002; Leyva-Cardoso et al., 2003; Partida et al., 2003; Hernández et al., 2004, López, 2006).

Osuna-López et al. (1998), reportaron que los sistemas acuáticos del Pacífico Mexicano más contaminados por plaguicidas en sedimentos fueron: Bahía de Guaymas (Sonora), Bahía de Lobos (Sonora), Puerto de Mazatlán (Sinaloa) y Laguna de Mexcalitán (Nayarit).

En Nayarit, el problema de contaminación por plaguicidas no es diferente al resto del país, existen algunos estudios en el estado, dirigidos en su mayoría a ambientes costeros, donde se ha detectado la presencia de estos xenobióticos en sedimentos, peces, moluscos y crustáceos (De la Lanza, 1984; Romero, 1998; Rojas, 1998; Flores, 1999; Martínez, 2001; Castillo, 2005; Robledo-Marengo et al., 2006).

1.2 Plaguicidas organoclorados

Un grupo de contaminantes de alto riesgo, debido a su alta capacidad de dispersión en el ambiente y a sus propiedades de bioacumulación y biomagnificación, son los

POC (Albert y Benítez, 1996). Los POC son compuestos relativamente insolubles en agua, de estructura cíclica formados por un esqueleto de átomos de carbono, en el cual, algunos de los átomos de hidrógeno unidos al carbono, son reemplazados por átomos de cloro (Rueda, et al., 1997).

Los POC ingresan a los sistemas acuáticos por diversos mecanismos, tales como el arrastre, filtración y erosión de los suelos. El lavado de suelos hace que los POC lleguen a los ríos, ecosistemas costeros y marinos; también contribuye el agua utilizada para lavar el material de rociado y que es vertida en estanques, ríos y lagunas. Otra ruta es a través de la precipitación proveniente de la atmósfera o por transporte atmosférico (Botello, 2001).

En el ambiente marino y estuarino, estos xenobióticos afectan el desarrollo de los organismos (Lafont et al., 2001; Erkmén y Kolonkaya, 2006; Keppler, 2007; Volety, 2008; Locatello et al., 2009). Se ha observado que las ostras pueden acumular en el lapso de un mes hasta 70,000 veces la concentración de los plaguicidas presentes en el agua y que pueden tener una inhibición de hasta 50% en el crecimiento (Ramírez, 1988). Además algunos POC tiene la capacidad de inhibir la formación de la concha (Restrepo, 1988).

En invertebrados acuáticos que logran sobrevivir a la exposición a POC, se han observado secuelas a mediano plazo, tales como pérdida de coordinación, alteraciones de la conducta, pérdida de fertilidad, retraso en el crecimiento, alteración de la gametogénesis, fecundación, teratogénesis, inhibición de la madurez sexual masculina, inhibición enzimática y síntesis proteínica (Albert, 1990; Alpuche, 1991).

En los ecosistemas acuáticos, los sedimentos pueden servir como transportadores y depósitos de plaguicidas (Froylán, 2005). Uno de los factores más importantes que afecta la adsorción de los POC en sedimentos es el contenido de materia orgánica (MO), algunos autores mencionan una correlación entre la concentración de POC y el contenido de MO (Rojas, 1998, Romero, 1998).

1.2.1 Materia orgánica

La MO es una mezcla de productos animales y vegetales en distintas etapas de descomposición, está compuesta por dos tipos de sustancias, las no húmicas, con rápidas tasas de flujo dentro de los ecosistemas y las húmicas que forman en su mayoría la MO del suelo y el agua (Froylán, 2009). Las fuentes de MO pueden ser de dos tipos: la primera incluye la MO proveniente del fitoplancton, zooplancton, bacterias, macroalgas, algas marinas, detritus de manglar y de los animales (peces, crustáceos, moluscos y aves, entre otros), la segunda puede ser MO proveniente de desechos de aguas de origen industrial, aguas residuales municipales, humedales y agricultura, los cuales se transportan a los cuerpos de agua a través de la escorrentía, los ríos, drenajes agrícolas y los desagües (Flores-Verdugo, 1990; Ahumada, 1991; González-Farías et al., 2006).

La importancia de la cuantificación de MO se debe a que, el contenido de ésta junto con otros factores tales como el tamaño de partícula y el contenido de material mineral, son factores del suelo que afectan a la persistencia de ciertas sustancias tóxicas, el carbono junto con la arcilla son los dos componentes del suelo, que se relacionan con la persistencia de xenobióticos (Rojas, 1998).

1.3 Plaguicidas organofosforados

Los plaguicidas organofosforados (POF) son ésteres del ácido fosfórico o fosforotióico, con baja persistencia en el ambiente pero altamente tóxicos para los organismos. Son compuestos poco volátiles, muchos de ellos presentan fotólisis directa e indirecta, son liposolubles e inestables a pH básico. Estos compuestos han sido ampliamente utilizados como insecticidas y en menor grado como herbicidas (Maroni et al., 2000).

Los efectos tóxicos más importantes de los POF se deben a la fosforilación de esterasas presentes en el sistema nervioso central. El mecanismo de acción de los organofosforados es a través de la inhibición de la acetilcolinesterasa (AChE). Los POF tienen una estructura similar a la del neurotransmisor endógeno acetilcolina

(ACh). Debido a esta similitud, el grupo fosfato es atraído al sitio de esterificación de la AChE, y fosforila selectivamente la serina del centro activo de la enzima (Thompson, 1999). De esta manera, la AChE es incapaz de hidrolizar ésteres de colina, lo que conduce a un incremento de los niveles de ACh en el espacio sináptico de las uniones neuromusculares, con la consiguiente sobrecarga colinérgica (Fukuto, 1990). La continua sobreestimulación del músculo o de la fibra nerviosa, genera en último término, cansancio y tetania, y según la dosis, conduce finalmente a la muerte del organismo expuesto (Fukuto, 1990).

Asimismo, existen estudios que han encontrado que los POF tienen efectos genotóxicos (Nepomuceno y Spano, 1995) e inmunotóxicos en organismos acuáticos (Galloway y Handy, 2003; Girón-Pérez et al., 2007; Girón-Pérez et al., 2009).

Debido a la alta toxicidad de los POF, en Estados Unidos se está reevaluando la cancelación de ciertos registros y considerando su prohibición (Cortinas, 2001).

1.4 Contaminación por metales

Existen varias definiciones del término "metales pesados". Por lo general se acepta que son aquellos elementos cuya densidad es mayor a 5 g/mL, son constituyentes naturales de la corteza terrestre, de rocas, suelos, sedimentos, erupciones volcánicas y del agua (Cervantes y Moreno 1999; Caso et al., 2004).

Los metales pesados son contaminantes que llegan a las aguas costeras mediante procesos naturales y actividades antropogénicas. La erosión, el mal uso de fertilizantes, la movilización de los sedimentos, la explotación forestal, agrícola, minera y obras de dragado, son fuentes de metales pesados (Páez-Osuna, 1999a, b).

Además las descargas domésticas sin tratamiento aportan grandes volúmenes de lodos enriquecidos con metales como plomo, zinc, cadmio y cromo, que se descargan en los ríos o directamente en el mar (García y Dorronsoro, 2004). La interacción de los metales con el ecosistema depende de la forma y especie química

en la que se encuentre, además de otros factores como el pH, las condiciones de óxido-reducción del agua, la presencia de sustancias orgánicas con capacidad de formar complejos químicos y diversos factores climáticos que potencian el estrés químico (Cervantes y Moreno, 1999).

Los metales pesados con mayor impacto sobre el ambiente son el mercurio, cadmio, plomo y arsénico debido a que son relativamente abundantes en la corteza terrestre. Son usados frecuentemente en procesos industriales y en la agricultura. Son tóxicos para el ser humano y pueden causar perturbaciones considerables en los ciclos biogeoquímicos (ATSDR, 2005; EPA, 2006).

En los océanos y las zonas costeras los organismos bentónicos son los más afectados por la contaminación de algunos metales de naturaleza tóxica como el mercurio, plomo, cadmio y cromo, los cuales reducen drásticamente su potencial de sobrevivencia y en ocasiones propician su desaparición (Botello et al., 1996).

El comportamiento de algunos organismos puede ocasionar la bioacumulación de ciertos metales que se encuentran en el agua (Botello et al., 2002). Esta bioacumulación depende del metal y del tipo de organismo. En un estudio realizado en Veracruz, se encontró que el níquel, un metal esencial para los organismos vivos, es el que menos se bioacumula (Villanueva et al., 1988). Presley (1994) menciona que los elevados valores registrados de zinc para las lagunas Alvarado, Salada, Mancha y el Llano, así como de los ríos Blanco y Coatzacoalcos, son probablemente de origen industrial, aportándose a los sedimentos y bioacumulándose en los organismos con ayuda del fitoplancton.

1.5 Biomarcadores

Los biomarcadores son la respuesta biológica a contaminantes ambientales que se manifiestan a nivel molecular, bioquímico, celular o fisiológico, y proporcionan una medida de la exposición al contaminante o de la magnitud del efecto que éste causa sobre un organismo (Carvan et al., 2008). Los biomarcadores han sido clasificados como biomarcadores de efecto, de exposición y de susceptibilidad (ATSDR, 1994).

Durante los últimos 20 años, importantes esfuerzos se han dedicado al desarrollo y aplicación de biomarcadores para la evaluación del riesgo ecológico, para indicar que los organismos están o han estado expuestos a ciertas sustancias químicas o que los organismos están sufriendo o que sufrirán en el futuro alteraciones de relevancia ecológica (Forbes et al., 2006). En este sentido, los moluscos bivalvos, como los mejillones y las ostras, son comúnmente utilizados en los programas de vigilancia del ambiente, debido a su amplia distribución geográfica, una gran sensibilidad a los contaminantes ambientales y una alta capacidad de acumulación de productos químicos (Roesijadi, 1994a y b; Bodin et al., 2004; Binelli et al., 2006).

El uso de biomarcadores para evaluar los efectos de los contaminantes químicos en los organismos acuáticos es de gran importancia como herramienta de diagnóstico en el monitoreo biológico (Escartín y Porte, 1997; Sturm et al., 1999). Algunos de los biomarcadores más empleados en estudios realizados en sistemas costeros y marinos son la determinación de la actividad acetilcolinesterasa, el contenido de metalotioneína (MT), vitelogenina, citocromo P-450, entre otros (Monserrat, et al., 2003).

1.5.1 Acetilcolinesterasa

Entre los marcadores biológicos, la medición de la actividad AChE es ampliamente utilizada para evaluar los efectos de la exposición a compuestos neurotóxicos como los plaguicidas organofosforados y carbamatos, en varias especies, incluidas las especies acuáticas (Galgani et al., 1992; Escartín y Porte, 1997; Cajaraville et al., 2000; Monserrat et al., 2002; Dutta y Arends, 2003; Lionetto et al., 2003; Magni et al., 2005; Pfeifer et al., 2005).

La AChE es una enzima presente en diferentes tejidos (especialmente sistema nervioso) que se encarga de hidrolizar el neurotransmisor acetilcolina; representa a una clase conocida de serina hidrolasas (Thompson, 1991) y desempeña un papel importante en el sistema neuro-muscular (Fulton y Key, 2001). La inhibición de la actividad de la AChE resulta en fallas graves en organismos acuáticos, por ejemplo, cambios de comportamiento, parálisis y la muerte (Fulton y Key, 2001).

En la actualidad, son pocos los estudios en donde se ha evaluado la actividad AChE en bivalvos, sin embargo, se sugiere que la mayor actividad AChE se encuentra en las branquias, manto y músculo aductor de moluscos bivalvos (Bocquené et al., 1997).

1.5.2 Metalotioneína

Las MT son proteínas citosólicas, no enzimáticas, de bajo peso molecular, ricas en grupos sulfidrilos (-SH), con una alta afinidad por iones metálicos del grupo IB y IIB (Viarengo et al., 1999). Fueron descritas por primera vez en el año 1957, al identificar una proteína que unía cadmio en riñón de caballo (Kägi y Vallee, 1960). Posteriormente, fue aislada en los principales grupos de invertebrados, incluyendo nemátodos, anélidos, artrópodos, equinodermos y moluscos (Roesijadi y Fowler, 1991; Dallinger y Rainbow, 1993; Berger et al., 1995).

Estudios ecotoxicológicos sobre los efectos de los metales pesados en diversos organismos, han sugerido el uso de la MT como un bioindicador potencial de exposición a estos xenobióticos (Isani et al., 2000; Cosson y Amiard, 2000). La presencia de la MT se modifica como una respuesta temprana ante la presencia de metales pesados, tanto en peces, como en moluscos (Bremner, 1987; Viarengo et al., 1999; Vergani et al., 2005). Se asume que esta proteína juega un papel importante en la homeostasis celular, mediante el almacenamiento de metales esenciales y la detoxificación de algunos metales pesados (Huang, 1993). Por esta razón, en muchos estudios de monitoreo ambiental se ha incluido la determinación de los niveles de esta proteína en los tejidos de los animales (Cosson y Amiard, 2000; Langston et al., 2002).

1.6 Acuicultura

La acuicultura es el cultivo de organismos como peces, reptiles, anfibios, crustáceos, moluscos, así como plantas y algas destinados para alimento y alguna otra utilidad por parte del hombre (recreación, estudio, obtención de productos) o para su conservación y protección (FAO, 2003). Los primeros datos sobre acuicultura datan del año 2000 a.C. tiempo en el que los japoneses cultivaban ostras en sus zonas intermareales (Cifuentes et al., 1997). Existen referencias de prácticas de cultivo en la antigua China, Egipto, Babilonia, Grecia, Roma y otras culturas euroasiáticas y americanas (Cifuentes et al., 1997).

En estos cultivos controlados se pretende cubrir las demandas alimenticias de una población mundial en crecimiento y con recursos naturales limitados (Aguilera y Noriega, 1986). Las actividades acuícolas desde hace varios decenios, han estado enfocadas al cultivo de especies de elevado interés productivo o de precio alto en el mercado como ostión y camarón. Los cultivos que han alcanzado mayor desarrollo son las especies comestibles pertenecientes a moluscos, crustáceos y peces (Cifuentes et al., 1991). La acuicultura se desarrolla en agua dulce, estuarina y marina, y se puede realizar con la ayuda de estanques, canales de circulación rápidos, canales de riego, jaulas flotantes, jaulas fijas, jaulas sumergibles, canastas suspendidas, sargas y estantes, entre otros (Cifuentes et al., 1991).

México cuenta con 2 769 km de costa frontal en el Golfo de México y el Caribe y 7 775 km en el Pacífico (Ortiz-Pérez y De la Lanza-Espino, 2006), la acuicultura de bivalvos se ha desarrollado también en el noroeste de México, ahí se explotan más de 54 especies de moluscos y cuenta con cuerpos de agua apropiados para el desarrollo de cultivos (Baqueiro, 1984). El litoral de las vertientes del Pacífico y del Golfo de México alcanza 1.5 millones de hectáreas, en el que el 48% son sistemas costeros, de mayor número de lagunas y cuerpos afines en el Pacífico con el 60% y en el Golfo de México el restante (Programa Nacional de Desarrollo de la Pesca y sus Recursos, 1990-94). Estos sistemas costeros no sólo son importantes en su extensión, sino en sus recursos vegetales y animales (De la Lanza, 1993). De todas

las especies de moluscos de gran potencial acuícola destacan el ostión japonés *Crassostrea gigas* y el ostión de placer *Crassostrea corteziensis* para el Pacífico y *Crassostrea virginica* para el Golfo de México (De La Lanza y Martínez, 1994).

1.6.1 Ostricultura

La forma más antigua de acuicultura es la ostricultura; como actividad se ha practicado desde tiempos muy antiguos, 4 000 años aproximadamente, época en la que japoneses, griegos y romanos cultivaban con gran éxito (Polanco y Corral, 2004).

La acuicultura de bivalvos en México inicia a finales del siglo XIX con el cultivo de ostras perleras en una isla de Baja California Sur (Cariño y Monteforte, 1995). Posteriormente, se desarrolla una pesquería acuacultural de *Crassostrea virginica* en el Golfo de México con una producción de alrededor de 40 000 toneladas de peso entero vivo. Durante los años 90's la FAO clasificaba esta actividad dentro de la acuicultura debido a que los pescadores inducían la formación de bancos al depositar las conchas de ostras que servían de sustrato para las larvas pediveliger en sitios predeterminados (Maeda-Martínez, 2008). En años recientes, las estadísticas de esta producción se movieron al rubro de las pesquerías y por lo tanto, los registros de producción en México reflejan una producción intensiva de bivalvos. En 1993 la producción declina a 1 053 toneladas y posteriormente se incrementa en 1995 a 2 500 toneladas y a 3 038 toneladas en 1997. Después de ese año la producción decrece nuevamente a un promedio de 1 500 toneladas anuales, cifra que se ha mantenido hasta el 2005. Actualmente en México, la producción se basa prácticamente en la ostra del Pacífico *Crassostrea gigas* y en menor grado en el ostión de placer (*Crassostrea corteziensis*) (Maeda-Martínez, 2008).

En México, la acuicultura de bivalvos se realiza casi exclusivamente en las costas del Pacífico y ocupa el cuarto lugar en América Latina después de Chile, Brasil y Perú. Entre los bivalvos de gran interés para el hombre se encuentra el ostión, también llamado en algunos países ostra, del que se conocen diversas especies, siendo la más frecuente *Ostrea* que vive en el bentos del litoral y *Crassostrea* que se localiza

en las lagunas litorales y esteros. Estos moluscos son comestibles y muy estimados; su cultivo ha dado origen a una importante industria, que ha alcanzado un gran desarrollo en algunos países como Japón, España, Francia, Australia y México (Maeda-Martínez, 2008).

En México, el ostión es una de las especies que por legislación, está reservada a las sociedades cooperativas de producción pesquera, formadas por pescadores originarios de las zonas. En el litoral del Pacífico Mexicano operan 51 cooperativas con 6,318 socios y en el Golfo de México existen 35 cooperativas con 5,074 socios; lo que producen, permite atender el consumo interno, pero es necesario subrayar que es una pesquería que se debe incrementar con futuros programas de desarrollo pesquero (Cifuentes et al., 1991).

En el litoral del estado de Nayarit, se reconocen varias áreas susceptibles de ser aprovechadas para el establecimiento de cultivos comerciales de moluscos, particularmente de ostión (SEMARNAP, 1999). Existen algunas unidades semi-intensivas de producción de ostión de placer (*Crassostrea corteziensis*), localizadas en el municipio de Santiago Ixcuintla, que son operadas por grupos sociales en las comunidades de Boca de Camichín, Villa Juárez, Campo de los Limones y Mexcaltitán (Haro, 1980).

2. JUSTIFICACIÓN

Los POC se caracterizan por su alta persistencia en el ambiente y por su capacidad de acumulación en sedimentos, plantas y animales; sus residuos se han encontrado prácticamente en todos los sustratos ambientales, a pesar de su prohibición paulatina desde 1982. Adicionalmente, los POF y los metales pesados, son compuestos ampliamente distribuidos en el ambiente debido a su uso frecuente en diferentes sectores productivos (agrícola, pecuario e industrial). A estos xenobióticos se les relaciona con efectos adversos importantes sobre la flora y fauna.

Por otra parte, el estero Boca de Camichin, Nayarit, perteneciente a la región de Marismas Nacionales, constituye un ecosistema importante por su biodiversidad, y productividad de organismos acuáticos. En este lugar abundan organismos como camarón, ostión, robalo y pargo, entre otros. En este sitio se cultiva principalmente el ostión y es una actividad con más de 35 años de antigüedad lo que deja una derrama económica importante para la región.

Debido a lo anterior, con este estudio se pretende evaluar la contaminación por POC en sedimentos y ostiones (*Crassostrea corteziensis*), así como evaluar la actividad acetilcolinesterasa y los niveles de metalotioneína como biomarcadores de POF y metales pesados, respectivamente, en ostiones del estero Boca de Camichin, Nayarit, contribuyendo por una parte, a la evaluación de la calidad ambiental de este ecosistema y por otra, a la toma de decisiones por parte de las autoridades correspondientes, ya que si estos organismos están contaminados, puede haber repercusiones en la productividad, y por ende en la economía y la salud de las personas de la región y de las que consumen este alimento.

3. HIPÓTESIS

El estero de la Boca de Camichin recibe y acumula plaguicidas y metales en sedimentos y organismos.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

1. Determinar la presencia de plaguicidas organoclorados y evaluar biomarcadores de exposición a plaguicidas organofosforados y metales pesados en sedimentos y ostión (*Crassostrea corteziensis*) del Estero Boca de Camichín, Nayarit.

4.2 Objetivos específicos

1. Determinar la presencia de plaguicidas organoclorados en sedimentos y ostión (*Crassostrea corteziensis*).
2. Determinar el contenido de materia orgánica en sedimentos superficiales del estero de la Boca de Camichín, Nayarit.
3. Evaluar la actividad de la acetilcolinesterasa en ostión.
4. Determinar el contenido de metalotioneína en branquias de ostión.

5. METODOLOGÍA

5.1 Área de Estudio

El estero Boca de Camichín se localiza en la zona norte del estado de Nayarit, sus límites geográficos están en las coordenadas 21° 37' al 22° 16' de latitud norte y a 104° 53' al 105° 39' de longitud oeste. Perteneció al sistema estuarino que limita al norte con los municipios de Tecuala, Rosamorada, Ruiz y Tuxpan, al sur con San Blas, al oriente con los municipios de Tepic y El Nayar y al poniente con el Océano Pacífico. Comprende un área de 1 830 90 km². Este estero pertenece a la región conocida como Marismas Nacionales y comprende parte de la planicie costera en el Pacífico (García-Carmona, 2004) (Figura 1).

La comunidad de Boca de Camichín cuenta con una superficie productiva de 300 hectáreas de espejo de agua, en el cual se instalan poco más de 2 000 empilados, con más de 80 mil sargas de concha de ostión. Se obtiene una producción de 800 toneladas por ciclo (García-Carmona, 2004).

Este estero se abastece de las aguas del Río San Pedro y se encuentra rodeado de zonas que se dedican a la ganadería y de campos agrícolas, en los que se cultiva tabaco, tomate, chile y sandía, entre otros (SEPESCA, 1991).

El cultivo de ostión que se practica en este lugar es una actividad con más de 35 años de antigüedad. La modalidad de cultivo es de tipo semi-intensivo, con sargas que favorecen la fijación de la larva y permiten su crecimiento en zonas propicias. Bajo estas condiciones de trabajo, los acuicultores realizan un ciclo de producción por año. La actividad involucra aproximadamente a 800 personas, adicionalmente la población se dedica a la pesca, captura de camarón y colecta de otros organismos.

5.2 Muestreo

Se realizó un muestreo sistemático con un diseño de transecto fijo, para lo cual se empleó un equipo GPS. Se seleccionó un punto al azar y se continuó con muestreos en sub-áreas contiguas definidas en base a un patrón de muestreo a intervalos fijos, de manera espacio temporal. El patrón espacial se fijó de acuerdo a la superficie total

del estero. En cuanto al patrón temporal se contemplaron dos muestreos en dos años consecutivos (marzo de 2008 y mayo de 2009).

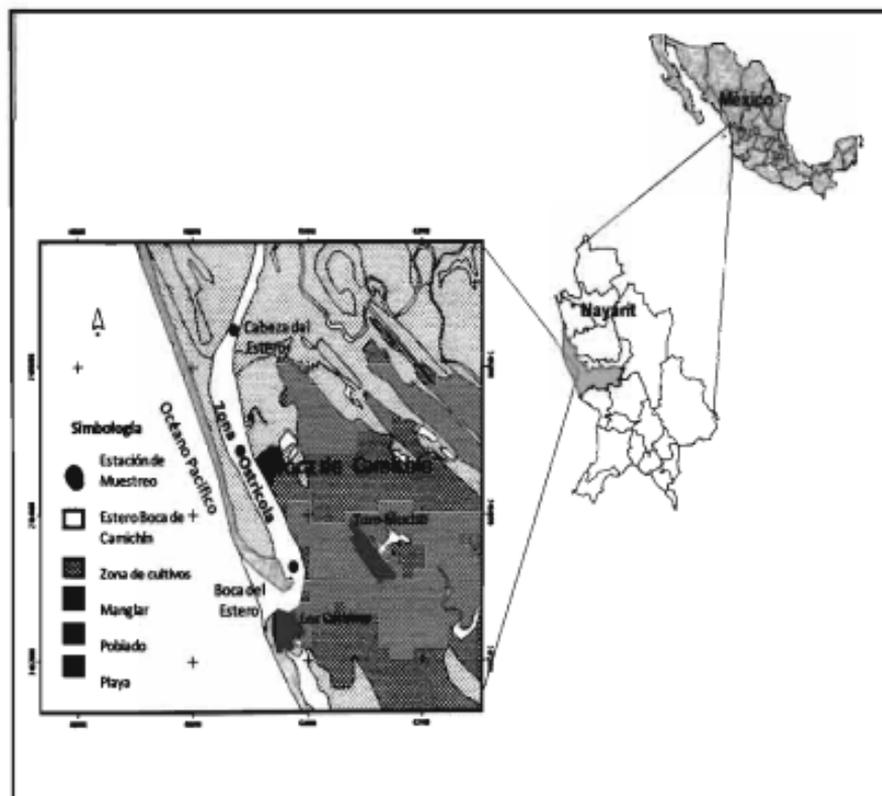


Figura 1. Ubicación geográfica del estero Boca de Camichín

5.2.1 Estaciones de muestreo

De acuerdo a la dinámica y superficie del cuerpo de agua se consideraron tres estaciones de muestreo para organismos y seis para la colecta de sedimentos. Las localizaciones geográficas se muestran en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Localización geográfica de las estaciones de muestreo

Estaciones	Organismos	
	Norte	Oeste
1	21° 44' 6.7"	105° 29' 19.96"
2	21° 44' 53.0"	105° 29' 39.0"
3	21° 45' 41.1"	105° 29' 43.5"
Estaciones	Sedimentos	
	Norte	Oeste
1	21° 45.49' 2"	105° 29' 38.9"
2	21° 45.5' 7"	105° 29' 41.9"
3	21° 45.5' 7"	105° 29' 38.3"
4	21° 46.01' 9"	105° 29' 30.7"
5	21° 46.09' 6"	105° 29' 32.7"
6	21° 46' 16.2"	105° 29' 27.8"

5.3 Obtención de muestras

5.3.1 Organismos

Los organismos *Crassostrea corteziensis* (**Figura 2**), se obtuvieron de forma manual y directamente de la zona de cultivo. De cada estación se colectaron 100 organismos, 50 de la parte superior y 50 de la parte inferior de la sarta de cultivo (**Figura 3**), una vez colectados los organismos, se etiquetaron, se colocaron en tinas de plástico y fueron llevados al laboratorio para su posterior análisis.



Figura 2. Ostión *Crassostrea corteziensis*

Los organismos colectados tenían una talla, entre 5 y 7 cm y aproximadamente nueve meses de desarrollo.

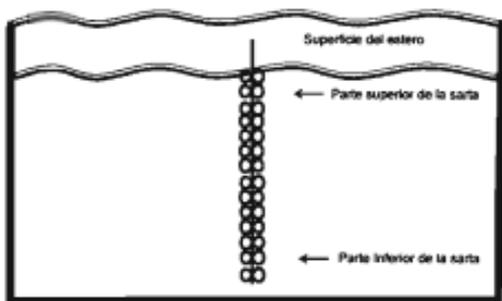


Figura 3. Esquema de una sarta de cultivo

5.3.2 Sedimentos

Se obtuvieron muestras de sedimentos de las estaciones previamente establecidas mediante el uso de una draga tipo Ponar. Una vez colectadas las muestras de sedimentos se etiquetaron, se colocaron en frascos de vidrio tratados previamente con acetona y hexano grado plaguicida (gp) y fueron llevadas al laboratorio donde se almacenaron a temperaturas de congelación para su posterior análisis.

5.4 Análisis de muestras

5.4.1 Evaluación de la exposición a plaguicidas organoclorados

Procedimiento

Para la extracción, saponificación y purificación de los POC en organismos, se empleó el método propuesto por la UNEP/FAO/IAEA (1986) método de referencia No. 14. Para la determinación de POC en sedimentos marinos se empleó el método propuesto por la UNEP/IAEA (1982) método de referencia No. 17.

Se utilizó un estándar externo (CHEM Service 608/625/8080/8081) de 16 plaguicidas (alfa, beta, gama y delta HCH, heptacloro, aldrin, heptacloro epóxido, endosulfan I, dieldrin, p,p'-DDE, endrin, endosulfan II, p,p'-DDD, endrin aldehído, endosulfan sulfato, p,p'-DDT) a una concentración de 100 pg / μ L.

5.4.1.1 Organismos

Para el análisis de POC se emplearon 50 organismos por estación de muestreo, 25 de la parte superior y 25 de la parte inferior de la sarta, para cada uno de los muestreos. Los organismos fueron descongelados a temperatura ambiente, se colocaron en charolas de aluminio previamente etiquetadas y se secaron en horno a temperatura de 45-47 °C hasta obtener peso constante. Una vez secas las muestras se pulverizaron en un mortero y se tamizaron con tamiz de abertura de malla de 0.250 mm. Se colocaron 5 g de cada muestra pulverizada en un filtro de celulosa previamente tratado con hexano, la extracción se realizó en un equipo soxhlet con 250 mL de hexano durante 8 horas, reciclando el solvente en una proporción de 4 a 5

ciclos/hora, obteniendo simultáneamente el blanco correspondiente. El extracto obtenido se concentró a 10 mL aproximadamente por rotoevaporación (rotovapor büchi R-114, Zwiterland) a temperatura de 33 ± 1 °C. Posteriormente, se realizó la saponificación del extracto con 2 mL de ácido sulfúrico concentrado, para hidrolizar los lípidos presentes en las muestras y se dejó reposar durante 5 min. Se centrifugó a 1 500 rpm/10 min. El concentrado se purificó por cromatografía en columna utilizando sílica gel como adsorbente activado a 200 °C y desactivado al 3% con agua desionizada. Se agregó una capa inferior de aproximadamente 2 g de sulfato de sodio anhidro. Las muestras se concentraron nuevamente por rotoevaporación hasta obtener un volumen de 5 mL, posteriormente se concentró a 2 mL con nitrógeno gc.

5.4.1.2 Sedimentos

Los sedimentos fueron descongelados a temperatura ambiente. Se tomaron 500 g de sedimentos en peso húmedo de cada una de las estaciones, se colocaron en charolas de aluminio debidamente etiquetadas. Se secaron en horno a temperatura de 45-47 °C hasta obtener un peso constante. Una vez secas, las muestras se pulverizaron en un mortero y se tamizaron, en un tamiz con abertura de malla de 0.250 mm. Se colocaron 10 g de las muestras pulverizadas en un filtro de celulosa previamente lavado con hexano, la extracción se realizó en un equipo soxhlet con 250 mL de hexano durante 8 horas, reciclando el solvente en una proporción de 4 a 5 ciclos/hora; simultáneamente, se obtuvo el blanco correspondiente. El extracto se concentró por rotoevaporación a temperatura de 33 ± 1 °C hasta un volumen de 10 mL aproximadamente. El concentrado se purificó por cromatografía de columna, utilizando 13 g de florisil activado a 400 °C y desactivado con agua desionizada al 1.25% y se agregó una capa de aproximadamente 2 g de sulfato de sodio anhidro. Una vez purificadas las muestras se concentraron por rotoevaporación hasta 5 mL, los cuales fueron evaporados hasta 2 mL con nitrógeno gc.

5.4.1.3 Cuantificación de POC por cromatografía de gases

Los análisis se efectuaron en un cromatógrafo de gases Agilent 6890-N, equipado con detector de captura de electrones y fuente de poder Ni^{63} . Se utilizó una columna capilar de 30 m de longitud por 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 μm de grosor de capa SPB-5 (sílice fundido al 5%, fenil metil silicón). Como gas acarreador se utilizó helio (pureza grado 4) con un flujo de 1 mL/min y como gas auxiliar nitrógeno (pureza grado 5) con un flujo de 30 mL/min.

Se inyectó 1 μL de la muestra concentrada, bajo las siguientes condiciones de operación:

Temperatura del inyector: 260 °C

Rampa de temperatura de la columna: 2 min 90 °C, 30 °C/min 90-180 °C, 3 °C/min 180-270 °C, tiempo de análisis total: 35 min

Temperatura del detector: 320 °C

Modo de inyección: Splitless

La cuantificación se realizó por una interpolación en una curva estándar de 5 puntos, realizada por triplicado utilizando estándares externos (Chem-service). La asignación de los picos se realizó POC/tiempo ± 0.2 min.

5.4.1.4 Determinación de materia orgánica en sedimentos

Reactivos

- Dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) 1N (J.T. Baker)
- Ácido sulfúrico (H_2SO_4) (Analytyka)
- Ácido fosfórico al 85% (H_3PO_4) (J.T. Baker)
- Fluoruro de sodio (NaF) (Analytyka)
- Difenilamina 5% ($\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{NH}$) (Analytyka)
- Sulfato ferroso amoniacal 1N ($\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (J.T. Baker)

Fundamento

El análisis de materia orgánica en sedimento se determinó por valoración del carbono orgánico oxidable, mediante el método de Gaudette et al. (1974). El fundamento de esta valoración consiste en que todos los compuestos orgánicos se pueden oxidar con dicromato de potasio en presencia de ácido sulfúrico. El exceso de oxidante se valora con sulfato ferroso amoniacal y el contenido de carbono orgánico se calcula a partir del volumen del dicromato potásico reducido. Se toma en cuenta la normalidad del sulfato ferroso y se realiza una valoración previa con un blanco.

Procedimiento

Los sedimentos fueron descongelados a temperatura ambiente, se secaron en horno a 45 a 47 °C, después fueron molidos en un mortero y se tamizaron con una malla de 0.250 mm. Se pesaron 0.1 g de cada muestra y se colocaron en matraces Erlenmeyer de 500 mL, se les agregó 10 mL de solución 1 N de dicromato de potasio y se mezcló. Posteriormente se añadieron 20 mL de ácido sulfúrico concentrado agitando suavemente, se mezcló por un minuto y se dejó reposar durante 30 minutos. Se diluyó con agua destilada a 200 mL y se añadieron 10 mL de ácido fosfórico al 85%, 0.2 g de fluoruro de sodio y 15 gotas del indicador difenilamina. Se tituló con una solución 1 N de sulfato ferroso amoniacal, el color cambia de café verdoso a azul y en el punto de equivalencia pasa a verde brillante. En cada serie de sedimentos, se corrió el blanco correspondiente. El contenido de MO se calculó de acuerdo a la fórmula siguiente:

$$\% \text{ carbono orgánico} = 10 (1 - T/S) [1N(0.003)] (100W)$$

T = ml de solución de sulfato ferroso amoniacal de la muestra

S = ml de solución de sulfato ferroso amoniacal del blanco

0.003 = 12/4000 = peso equivalente del carbono

1N = Normalidad del dicromato en ml

W = Peso de la muestra en gramos

5.4.2 Evaluación de la exposición a plaguicidas organofosforados

5.4.2.1 Determinación de proteínas totales

Reactivos

- Reactivo de Folin-Ciocalteu 1N
- Reactivo de Lowry
- BSA (2 mg/mL)

Fundamento

La determinación de proteínas totales incluye una reacción del sulfato cúprico y las proteínas presentes en solución alcalina, formando un complejo proteína-cobre, el cual reacciona con el reactivo de Folin-Ciocalteu y genera un producto color azul que es medido a 750 nm.

Procedimiento

La determinación de proteínas en branquias de ostión se realizó mediante el kit comercial "modified Lowry protein assay" de Pierce. La determinación de proteínas totales se realizó en 100 μ L de la fracción soluble (S9), utilizando una dilución 1:50. La fracción S9 se generó homogeneizando las branquias con buffer de homogeneización (20 mM de Tris-Base, 1 mM EDTA, 1 mM DTT, 500 mM sacarosa, 150 mM de KCl, 0.1mM de PMSF) a pH 7.6 y centrifugando a 9 000 rpm durante 30 minutos. Para la curva estándar de proteínas se utilizó BSA (2 mg/mL) a concentraciones de 1-1 500 μ g/mL (Tabla 2). Se colocaron 100 μ L de cada estándar y se agregaron 500 μ L del reactivo de Lowry a cada tubo, posteriormente se incubó 10 minutos a temperatura ambiente. Finalizado el tiempo de incubación se agregaron 50 μ L del reactivo de Folin-Ciocalteu, se volvió a incubar a temperatura ambiente 30 minutos en oscuridad y se midió la absorbancia a 750 nm utilizando un espectrofotómetro modelo Spectronic Genesys 10Bio (Wisconsin, USA). Las determinaciones se hicieron por triplicado. La concentración se calculó a partir de una curva hipérbola cuadrática.

Tabla 2. Diluciones estándar para la curva de BSA

Tubo	Volumen (μL) dH_2O	Estándar		Concentración Final ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Volumen Final (μL)
		Volumen (μL)	Concentración ($\mu\text{g}/\text{mL}$)		
A	100	300 Stock	2000	1500	400
B	200	200 Stock	2000	1000	400
C	100	100 Stock de A	1500	750	200
D	200	200 Stock de B	1000	500	400
E	200	200 Stock de D	500	250	400
F	200	200 Stock de E	250	125	400
G	400	100 Stock de F	125	25	500
H	400	100 Stock de G	25	5	500
I	400	100 Stock de H	5	1	500
J	500	0	0	0	500

5.4.2.2 Actividad de Acetilcolinesterasa

Reactivos

- Tris-Base 20 mM (Sigma-Aldrich)
- EDTA 1 mM (Sigma-Aldrich)
- DTT 1 mM (Sigma-Aldrich)
- Sacarosa 500 mM (J.T Baker)
- Cloruro de potasio 150 mM (KCl) (USB corporation)
- PMSF 0.1 mM (Sigma-Aldrich)
- iso-OMPA 1mM (Sigma-Aldrich)
- DTNB 0.5 mM (Sigma-Aldrich)
- Acetilcolina 0.5 mM (Sigma-Aldrich)
- Buffer fosfatos 0.1 M (J.T Baker)
- Diclorvos 1 mg/L (DDVP) (Vapodel, 20%)
- Bicarbonato (NaHCO_3) (J.T. Baker)

Fundamento

La evaluación de la actividad de AChE se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Eilman et al. (1961). En este método espectrofotométrico se mide la hidrólisis de la acetiltilocolina por la AChE, producto de la cual se forma tiocolina, ésta reacciona con el reactivo de DTNB produciendo un complejo de color amarillo, que es medido a una longitud de onda de 412 nm durante 120 segundos a 25 °C.

Procedimiento

La actividad AChE se determinó en la fracción S9. Se realizaron mediciones sin inhibidor y con inhibidor iso-OMPA 1mM. Para la medición de la actividad AChE sin inhibidor se utilizó una solución constituida por 2 700 µL de buffer fosfatos 0.1 M pH 8, 300 µL de homogeneizado, 100 µL de DTNB y 20 µL de ACh 0.5 mM como sustrato. Las muestras se procesaron por triplicado. La actividad específica de AChE se determinó utilizando 1 mM de iso-OMPA, éste es un inhibidor de la butirilcolinesterasa o colinesterasa falsa. El inhibidor se incubó 15 minutos con el homogeneizado, posteriormente se adicionaron 100 µL de DTNB y 20 µL de ACh como sustrato. El blanco consistió de 2 700 µL de buffer fosfatos 0.1 M pH 8, 300 µL de homogeneizado y 100 µL de DTNB. La actividad de AChE fue corregida por la concentración de proteína presente en las muestras.

5.4.2.3 Grupos control

Los controles negativo y positivo fueron generados en el laboratorio bajo condiciones óptimas de supervivencia. Los organismos fueron llevados al laboratorio donde se colocaron en peceras de 40 L con agua de mar filtrada y se aclimataron durante 15 días, tiempo durante el cual fueron alimentados con 2 L/día de microalgas de la especie *Chaetoceros spp* (6×10^5 algas/ mL). Para el control positivo, 25 organismos fueron expuestos a DDVP en una concentración de 1 mg/L durante 6 horas (Le Bris, et al., 1995). Inmediatamente después los organismos fueron sacrificados y se realizó la disección de las branquias para el análisis de AChE.

5.4.3 Evaluación de la exposición a metales pesados

5.4.3.1 Cuantificación de Metalotioneína

Reactivos

- Sacarosa 0.5 M (J.T. Baker)
- Tris-HCl 20 mM (Promega corporation)
- Leupeptina 0.006 mM (Sigma- Aldrich)
- PMSF 0.5 mM (Sigma- Aldrich)
- β -mercaptoetanol 0.01 % (Sigma- Aldrich)
- Etanol (Sigma- Aldrich)
- Cloroformo (Sigma- Aldrich)
- GSH 500 μ M (J.T. Baker)
- Cloruro de cadmio (CdCl_2) 500 $\mu\text{g/mL}$ (Sigma- Aldrich)
- Cloruro de zinc (ZnCl_2) 500 $\mu\text{g/mL}$ (Sigma- Aldrich)

Fundamento

El contenido de MT presente en branquias de ostión se determinó utilizando los métodos propuestos por Viarengo et al. (1997) y Piano et al. (2004). Este método espectrofotométrico mide el contenido de MT presente en la muestra, basado en la estimación del contenido de los grupos sulfidrilos de las MT.

Procedimiento

Para la determinación de MT en branquias se emplearon organismos de la parte superior e inferior de la sarta de cultivo de cada estación de muestreo. Las branquias extraídas fueron medidas y pesadas. Se realizó un *pool* de branquias de cada estación y punto de muestreo y se almacenaron a -70°C hasta su análisis. Para medir el contenido de MT en branquias, se generó la S9 a partir de un homogeneizado de branquias con tres volúmenes de buffer de homogeneización (0.5 M de sacarosa, 20 mM de Tris-HCl a pH 8.6) al cual se le agregaron 0.006 mM de leupeptina, 0.5 mM de PMSF como agente antiproteolítico y 0.01% de β -mercaptoetanol como agente reductor. Para obtener el contenido de MT, el

homogeneizado se centrifugó a 5 000 rpm durante 49 minutos. Se realizaron alicuotas de 1 mL del sobrenadante y se trataron con una solución de etanol-cloroformo. Posteriormente, se realizó la lectura en el espectrofotómetro a 412 nm de acuerdo al método de Ellman et al. (1961).

5.4.3.2 Grupos Control

Los organismos fueron llevados al laboratorio donde se colocaron en peceras de 40 L con agua de mar filtrada y se aclimataron durante 15 días, tiempo durante el cual los organismos fueron alimentados con 2 L/día de microalgas de la especie *Chaetoceros spp* (6×10^5 algas/ mL). Para el control positivo, 25 organismos fueron co-expuestos a 500 µg/mL de CdCl₂ y ZnCl₂ durante cinco días. Inmediatamente después de la exposición los organismos fueron sacrificados y se realizó la disección de las branquias para el análisis de MT. Las concentraciones utilizadas de metales, fueron consideradas tomando en cuenta la Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996, la cual establece como límites máximos permisibles promedio diario para Cd y Zn, 0.2 mg/L y 20 mg/L, respectivamente, en aguas residuales.

5.5 Análisis estadístico

Los resultados se expresan como el promedio \pm desviación estándar. La comparación entre medias se realizó mediante un análisis de U-Mann-Whitney y Kruskal-Wallis. Para el análisis estadístico se utilizó el programa estadístico STATA versión 8.0 (Stata Corp).

6. RESULTADOS

6.1 Presencia de plaguicidas organoclorados

Las concentraciones de POC encontrados en sedimentos se muestran en la **Tabla 3**, en donde se puede observar que el delta HCH (hexacloro-ciclohexano) fue detectado en cuatro de las seis estaciones de muestreo. La concentración mínima encontrada fue de 0.15 ng/g en la estación 6 y la máxima de 2.37 ng/g en la estación E4, en esta última también se detectó la presencia de heptacloro epóxido (11.20 ng/g).

No se detectó la presencia de POC en organismos colectados en el estero Boca de Camichin.

Tabla 3. Plaguicidas organoclorados detectados en sedimentos del estero Boca de Camichin

Plaguicida (ng/g)	E1	E2	E3	E4	E5	E6
Delta HCH	N.D.	0.40	N.D.	2.37	0.34	0.15
Heptacloro epóxido	N.D.	N.D.	N.D.	11.20	N.D.	N.D.

N.D. = No detectado E= estación de muestreo

6.1.1 Contenido de materia orgánica

En la **Tabla 4** se presenta el contenido de MO encontrado en los sedimentos colectados del Estero Boca de Camichin. De acuerdo con estos resultados, la estación 2 y 5 son las que presentaron mayor contenido de MO, sin embargo, éste no es estadísticamente diferentes a lo encontrado en las otras estaciones ($p > 0.05$). En este trabajo no se encontró una correlación entre el contenido de materia orgánica y la presencia de plaguicidas organoclorados en sedimentos ($r^2 = 0.28$, $p = 0.72$).

Tabla 4. Contenido de materia orgánica en sedimentos del estero Boca de Camichín.

Estación de muestreo	E1	E2	E3	E4	E5	E6
MO (%)	3.2 ± 0.9	3.7 ± 1.6	2.9 ± 0.45	3.5 ± 0.7	3.7 ± 0.3	2.4 ± 0.6

E= Estación de muestreo

6.2 Proteínas totales en branquias de ostión

El promedio en el contenido total de proteínas, en branquias de los organismos colectados en el estero fue de 16.8 mg/mL de homogenado. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en el contenido de proteínas de las branquias de los organismos colectados en las diferentes estaciones de muestreo (Figura 4).

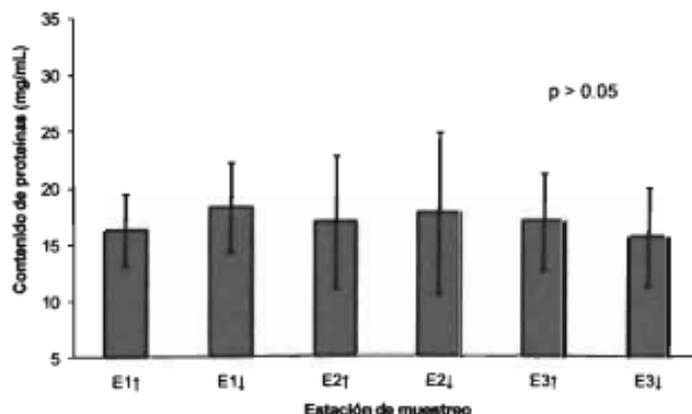


Figura 4. Contenido de proteína total en branquias de ostión. E1=Estación 1, E2=Estación 2, E3=Estación 3, ↑= Parte superior de la sarta, ↓= Parte inferior de la sarta. Las barras representan el promedio de dos muestreos.

6.3 Actividad de acetilcolinesterasa

En la Figura 5 se muestra la actividad de AChE de los organismos colectados en el estero, así como de los organismos controles, tanto negativos como positivos (tratados con DDVP). La actividad de AChE de los organismos control negativo fue de 1.67 nmol/min/mg de proteína, mientras que el promedio de la actividad de AChE, de los organismos colectados en el estero Boca de Camichín fue de 0.64 nmol/min/mg de proteína, lo que implica una disminución en la actividad enzimática del 61.7%. En cuanto a la actividad de AChE en los ostiones tratados con el plaguicida diclorvos, ésta fue de 0.69 nmol/min/mg de proteína, es decir, presentaron un 58.7% menos de actividad que los organismos control negativo. De acuerdo al análisis estadístico, los organismos colectados en el estero tienen una menor actividad de AChE con respecto a los organismos control negativo y no diferente a la de los ostiones tratados *in vivo* con el plaguicida organofosforado DDVP.

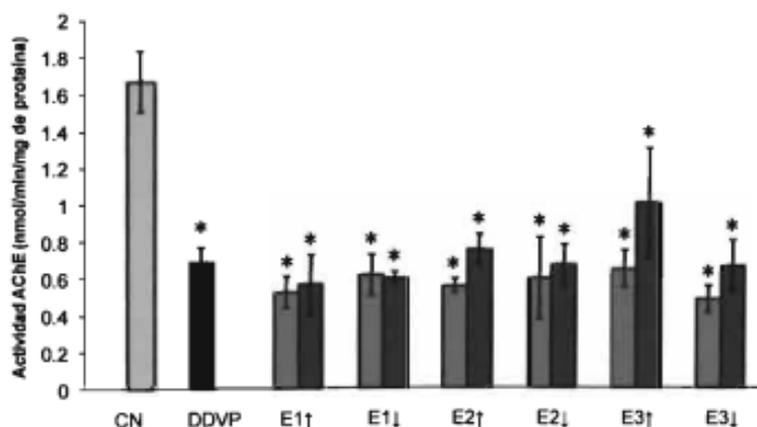


Figura 5. Actividad AChE en branquias de ostión del estero Boca de Camichín. E1= Estación 1, E2=Estación 2, E3=Estación 3; ↑= Parte superior de la sarta, ↓= Parte inferior de la sarta. CN= Control Negativo, DDVP= Control positivo, tratamiento con diclorvos. Las barras color verde corresponden al primer muestreo y las barras color rosa representan el segundo muestreo. El asterisco sobre las barras indica diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) con respecto al control negativo.

Por otro lado, no se encontraron diferencias en el promedio de la actividad de AChE de los organismos colectados en el primer muestreo (0.57 nmol/min/mg de proteína) con respecto a los colectados en el segundo (0.71 nmol/min/mg de proteína) ($p > 0.05$) (Figura 6).

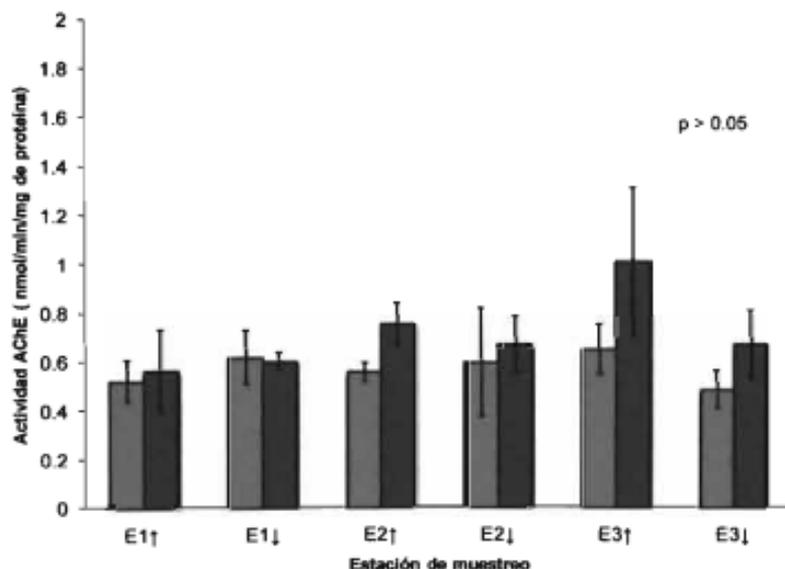


Figura 6. Actividad AChE en branquias de osión de acuerdo a cada muestreo. E1= Estación 1, E2=Estación 2, E3=Estación 3; ↑= Parte superior de la sarta, ↓= Parte inferior de la sarta. Las barras color verde corresponden al primer muestreo y las barras color rosa representan el segundo muestreo.

En la **Figura 7**, se presentan los resultados de la actividad de AChE por punto de muestreo. El promedio de la actividad AChE en los organismos colectados en la estación uno fue de 0.57 nmol/min/mg de proteína, en la estación dos de 0.63 y en la estación tres de 0.70. Las diferencias entre estaciones no son estadísticamente

significativas ($p > 0.05$). Tampoco se observaron diferencias en la actividad de los organismos colectados en la parte superior de las sartas (0.67 nmol/min/mg de proteína) con respecto a los colectados en la parte inferior (0.60 nmol/min/mg de proteína).

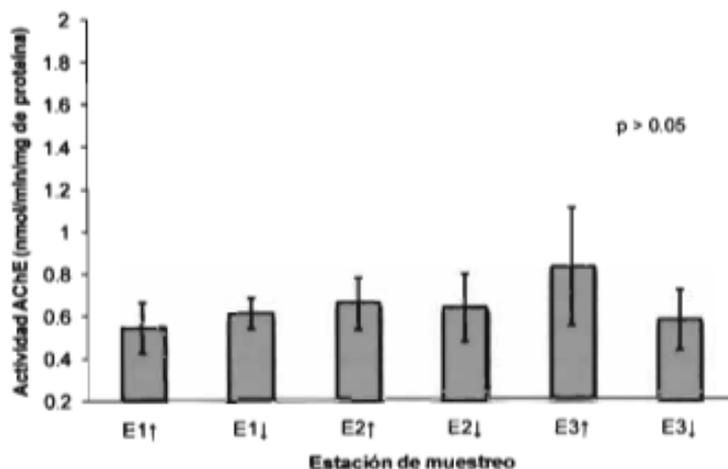


Figura 7. Actividad de AChE en branquias de ostión por estación y punto de muestreo. E1= estación 1, E2= estación 2, E3= estación 3, ↑= Parte superior de la sarta, ↓= Parte inferior de la sarta.

En los organismos tratados con el plaguicida DDVP se observó un fenómeno denominado retracción de manto y músculo aductor laxo, mismo que se puede observar en la **Figura 8**.

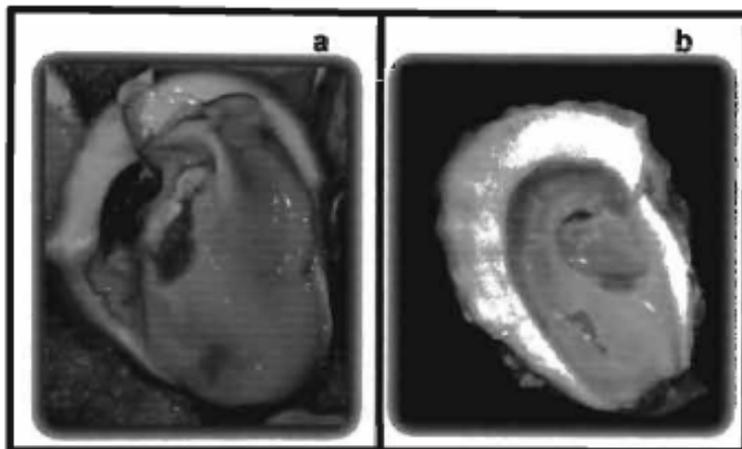


Figura 8. Efecto de retracción de manto y músculo aductor laxo en ostiones tratados con DDVP. (a) ostión sin tratar, con el manto completamente extendido a lo largo y ancho de la valva. (b) ostión después de ser tratado con DDVP (1 mg/L) durante 6 horas, con retracción del manto, el organismo está completamente en el centro de la valva.

6.4 Contenido de metalotioneína

La **Figura 9**, muestra el contenido de MT presente en branquias de ostiones colectados en el estero Boca de Camichín y en los organismos control. De acuerdo a estos resultados, el contenido de MT en los organismos tratados con $CdCl_2 - ZnCl_2$ fue de 679.45 μg MT/g de branquia, mientras que el contenido de MT en los organismos control negativo fue de 122.8 μg MT/g de branquia. Asimismo, el promedio de MT en los organismos colectados en el estero Boca de Camichín fue de 137.30 μg MT/g de branquias, éste fue estadísticamente diferente con respecto a los organismos tratados con $CdCl_2 - ZnCl_2$ ($p < 0.05$), pero no con respecto a los organismos control negativo. Por otra parte, los organismos colectados de la parte superior de la sarta de la estación uno, durante el primer muestreo, fueron los únicos que tuvieron un mayor contenido de MT con respecto al control negativo.

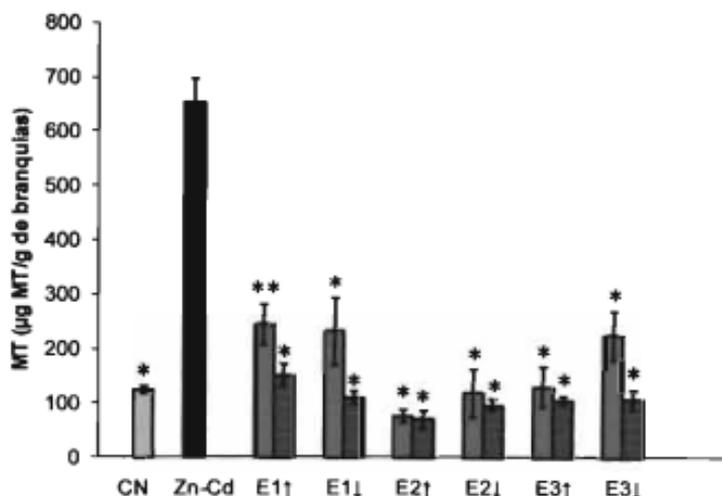


Figura 9. Contenido de MT en branquias de ostión colectado en el estero boca de Camichín. CN= control negativo, Zn-Cd= control positivo, E1=Estación 1, E2= Estación 2, E3= Estación 3, ↑= Parte Superior de la sarta, ↓= Parte inferior de la sarta. Las barras color verde corresponden al primer muestreo y las barras color rosa representan el segundo muestreo. El asterisco sobre la barra indica diferencia estadística ($p < 0.05$) con respecto al control positivo. El doble asterisco indica diferencia estadística ($p < 0.05$) con respecto al control positivo y al control negativo.

El promedio general en el contenido de MT en los organismos colectados en el primer muestreo fue de $168.71 \mu\text{g MT/g}$ de branquias, mientras que el promedio de los colectados en el segundo fue de $105.88 \mu\text{g MT/g}$ de branquias, sin que se observe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$). Sin embargo, en la estación 1, si se observaron diferencias en los resultados encontrados en los dos diferentes muestreos, estas diferencias se observan si se analizan por separado los resultados encontrados en la parte superior de la sarta (E1↑; primer muestreo = $263.94 \mu\text{g MT/g}$ de branquias, segundo muestreo = $141.88 \mu\text{g MT/g}$ de branquias) y

en la parte inferior (E1↓; primer muestreo = 216.84 $\mu\text{g MT/g}$ de branquias, segundo muestreo = 109.94 $\mu\text{g MT/g}$ de branquias). También se observaron diferencias en la estación E3↓ (216.58 $\mu\text{g MT/g}$ de branquias y 106.06 $\mu\text{g MT/g}$ de branquias) (Figura 10).

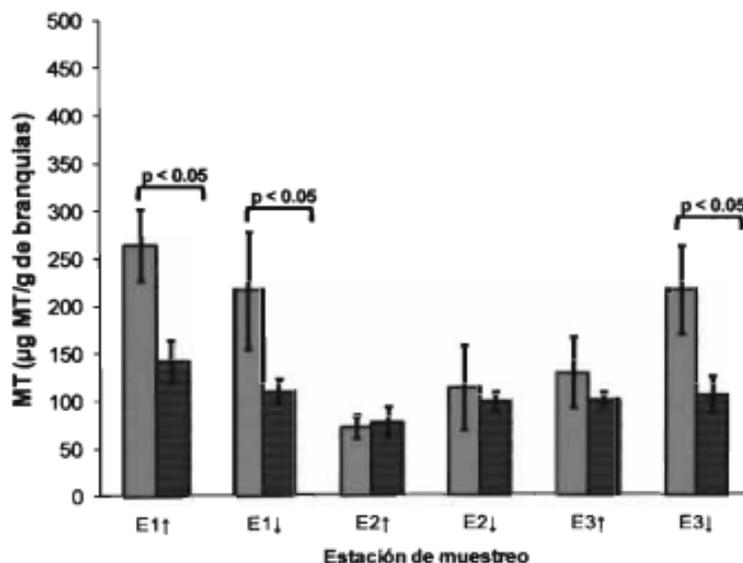


Figura 10. Determinación de MT en branquias de ostión de acuerdo a cada muestreo. E1=Estación 1, E2= Estación 2, E3= Estación 3, ↑= Parte Superior de la sarta, ↓= Parte inferior de la sarta. Las barras color verde corresponden al primer muestreo y las color rosa representan el segundo muestreo.

El promedio de los dos muestreos en el contenido de MT en la estación 1 es de 183.15 $\mu\text{g MT/g}$ de branquias, en la estación 2 de 90.41 $\mu\text{g MT/g}$ de branquias y en la estación 3 de 138.33 $\mu\text{g MT/g}$ de branquias, estas diferencias no son estadísticamente significativas ($p > 0.05$). Tampoco se observan diferencias significativas en el contenido de MT si se comparan los promedios de los organismos colectados en la parte superior de la sarta (131.0 $\mu\text{g MT/g}$), con respecto a los

colectados en la parte inferior (143.6 μg MT/g de branquias), o si se comparan de manera independiente cada punto de muestreo (Figura 11).

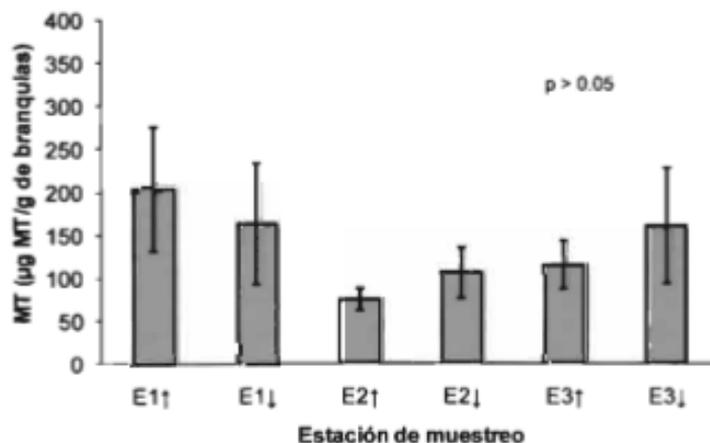


Figura 11. Contenido de MT en branquias de ostión por estación y punto de muestreo. E1=Estación 1, E2= Estación 2, E3= Estación 3, \uparrow = Parte superior de la sarta, \downarrow = Parte inferior de la sarta.

7. DISCUSIÓN

7.1 Exposición a plaguicidas organoclorados

Los resultados obtenidos en este estudio, revelan la presencia de delta-HCH y heptacloro epóxido en muestras de sedimentos colectados en el estero Boca de Camichín. Estos resultados coinciden con los encontrados en estudios realizados en algunas regiones de México. Leyva-Cardoso et al. (2003) encontraron en sedimentos de las costas de Guerrero la presencia de heptacloro, endosulfán I, alfa-HCH, beta-HCH y aldrín. La presencia de heptacloro, heptacloro epóxido, aldrín, endosulfan II y p,p'-DDE también se ha detectado en sistemas lagunares de Chiapas (Rueda, 1997).

Específicamente en el estado de Nayarit, se ha detectado la presencia de 13 de los 16 plaguicidas analizados en muestras de sedimento del estero pozo-Rey, ubicado en el municipio de San Blas. Entre los POC encontrados están el delta-HCH (6.10 ng/g) y el heptacloro epóxido (12.33 ng/g) (Robledo-Marengo et al., 2006). Si bien, en ese estudio se encontraron concentraciones relativamente mayores de ambos compuestos, con respecto a las encontradas en el presente trabajo, esto puede deberse a diferencias en espacio y tiempo, la hidrodinámica general de las aguas superficiales y profundas de circulación de cada cuerpo de agua, el tamaño de las partículas que determina el transporte y la difusión a través del agua, factores mineralógicos y geoquímicos y la contribución de los residuos inorgánicos y orgánicos (De Lazzari et al., 2004).

La presencia de POC también se ha reportado en regiones de otros países. Kim et al. (2007), detectaron la presencia de delta-HCH (0.205 ng/g), así como, heptacloro epóxido (0.001 ng/g) en sedimentos de la bahía Ariake (Japón). Doong et al. (2002) encontraron la presencia de delta-HCH y heptacloro epóxido en sedimentos del río Da-han y Erh-jen en Taiwan. Kang et al. (2001) reportaron la presencia de HCH (incluyendo los isómeros alfa, beta, gama, delta) en sedimentos del estero Macao (China).

Todas estas observaciones sugieren que los POC aún se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente terrestre y acuático (Boke et al., 2007; Senthil et al., 2008). Estos compuestos fueron utilizados para combatir plagas en la industria, la agricultura e incluso en campañas de salud (Calva y Torres, 1998). Sus propiedades fisicoquímicas los hacen muy resistentes a la degradación, por lo que son altamente persistentes (Iwate et al., 1994). El uso de POC (con la excepción de endosulfán) está prohibido para la agricultura en México y en otros países (CICOPLAFEST, 1996), sin embargo, existen reportes que documentan el uso ilegal de algunos de estos compuestos (González-Farías et al., 2002).

En México, no existen normas que regulen la concentración de residuos de POC en sedimentos. En agua, según la NOM-127-SSA1-1994 el límite máximo permisible de heptacloro epóxido es de 0.03 microgramos/L. Asimismo, en ostiones la norma NOM-031-SSA1-1993 establece que estos organismos no deben tener residuos de POC. De acuerdo con esta información y con los resultados obtenidos en el presente trabajo, se sugiere que estos xenobióticos no representan un problema de contaminación en los organismos del estero Boca de Camichín.

7.1.1 Materia orgánica

Una de las características más importantes que afectan el comportamiento de los contaminantes en los sedimentos son las concentraciones de minerales detriticos ricos en MO (De Lazzari et al., 2004).

En este trabajo, el promedio de MO detectado en los sedimentos fue de 3.1%. A la fecha, no existen otros trabajos en los que se haya estudiado el contenido de MO en este cuerpo de agua, sin embargo, hay información del contenido de MO en otros esteros del estado. Así, Romero en 1998, encontró un contenido de MO de 2.6 y 2.9% en sedimentos del estero San Cristóbal y Pozo-Rey, respectivamente. Rojas en el mismo año reportó un contenido de MO de 1.7 y 1.6% en sedimentos de los esteros antes mencionados.

Existen también antecedentes del contenido de MO en cuerpos de agua dulce en el estado de Nayarit. Froylán en el 2009, reportó el contenido de MO en sedimentos de los Lagos de Santa María del Oro ($9.79 \pm 2.02\%$), San Pedro ($15.94 \pm 3.30\%$) y Tepetitlic ($29.95 \pm 2.10\%$). Al parecer en estos sistemas de agua dulce existe una mayor variabilidad en MO, misma que también se ha encontrado en estudios realizados en otras regiones de México. Rueda et al. (1997) en sedimentos de la laguna Chantuto-panzacola, encontraron un comportamiento heterogéneo en el contenido de MO, ya que sus resultados oscilaban de 0.8 a 10.2%. Gold-Bouchot et al. (1993) en estudios realizados en sedimentos del río Palizada, que desemboca en el Golfo de México, encontró un contenido de MO de 0.23 a 7.7%. Por otra parte, se detectó 4.6% de MO en sedimentos de la Bahía de Altata, Sinaloa (González-Farías et al., 2006).

7.2. Contenido de proteínas totales en branquias de ostión

Son escasos los estudios en la literatura en los que se menciona el contenido de proteínas totales en organismos acuáticos. En este estudio el contenido de proteínas encontrado en branquias de ostión fue de 16.8 mg/mL. Mora et al. (1999) reportaron una concentración de proteínas en branquias de mejillón *Mytilus galloprovincialis* de 0.8 mg/mL, mientras que en almeja asiática *Corbicula fluminea* se ha reportado un contenido de proteína de 1.2 mg/mL.

El contenido de proteínas en moluscos tiene gran impacto en el valor nutricional, propiedades funcionales, calidad sensorial y estabilidad del producto durante el almacenamiento. La cantidad de proteína puede variar dependiendo del sexo, tamaño, factores ambientales y genéticos, morfológicos, fisiológicos y alimenticios; estos cambios se traducen en modificaciones en el sabor, color, textura y apariencia superficial (Maeda-Martínez et al., 2001).

7.3 Actividad acetilcolinesterasa como biomarcador de exposición a plaguicidas organofosforados

Algunos estudios demuestran la utilidad de la medición de la actividad AChE como un biomarcador de exposición a compuestos neurotóxicos en organismos acuáticos (Cajaraville et al., 2000; Kristoff et al., 2006; Carvan et al., 2008). En la actualidad, existe un particular interés en la medición de la actividad de la AChE en organismos que han sido utilizados como bioindicadores (Varela y Augspurger 1996; Bakry et al., 2001). Hay amplia evidencia acerca de que la actividad de la AChE es inhibida por la presencia de plaguicidas organofosforados y carbamatos (Zinckl et al., 1987; Day y Scott, 1990; Devi y Fingerman, 1995; Amiard-Triquet et al., 1998; Galgani y Bocquené 1998) y también por metales pesados (Bocquené et al., 1997; Najimi et al., 1997; Hamza-Chaffai et al., 1998; Guilhermino et al., 1998; Machreki-Ajmi et al., 2008). La mayoría de estos estudios son *in vivo* utilizando peces (Najimi et al., 1997; Sturm et al., 1999; Abdel-Halim et al., 2006), aunque también se ha evaluado la AChE en crustáceos (Key et al., 1998a y b), mejillones (Payne et al., 1996; Mora et al., 1999; Dellali et al., 2001) y almejas (Hamza-Chaffai et al., 1998; Dellali et al., 2001).

La actividad de esta enzima puede verse afectada no sólo por contaminantes químicos, sino también por factores de estrés, tales como temperatura del agua (Day y Scott 1990; Devi y Fingerman 1995; Payne et al., 1996; Bocquené et al., 1997; Najimi et al., 1997; Amiard-Triquet et al., 1998; Galgani y Bocquené 1998; Hamza-Chaffai et al., 1998; Dellali et al., 2001), salinidad (Scaps y Borot 2000; Dellali et al., 2001) y ficotoxinas (Bocquené et al., 1997).

En estudios de campo, se ha observado que la actividad AChE es significativamente menor en organismos colectados en zonas donde se utiliza una gran variedad de plaguicidas (Matozzo et al., 2005). Por ejemplo, Almejas recolectadas de un sitio cercano a una zona agrícola en la laguna de Bizerta (Túnez) tuvieron una disminución en la actividad de AChE (Dellali et al., 2001). También se han observado cambios en la actividad de AChE en *M. galloprovincialis*, relacionados con las

prácticas agrícolas en zonas donde se utilizan con frecuencia plaguicidas y biocidas (Escartín y Porte, 1997).

En México, son escasos los trabajos realizados en campo en donde se utiliza este biomarcador. Al respecto, se reportó una inhibición de la AChE de 3 al 21% en cerebros de peces colectados en una zona de extracción de petróleo, y donde se utilizaron plaguicidas para la práctica agrícola y campañas de salud (Rodríguez-Fuentes y Gold-Bouchot, 2000).

De manera general, la actividad AChE en moluscos bivalvos es baja comparada con la actividad AChE en vertebrados y algunas especies de invertebrados (Habig y Di Giulio, 1991). La actividad AChE promedio encontrada en los ostiones colectados en el estero fue de 0.6 nmol/min/mg de proteína, mientras que la actividad AChE de los organismos control fue de 1.67 nmol/min/mg de proteína. Valores similares fueron encontrados por Monserrat et al. (2002) en *Crassostrea rhizophorae*. En estudios realizados en otras especies principalmente en mejillón, la actividad AChE reportada fue de 9 hasta 25.5 nmol/min/mg de proteína. En almeja, se ha reportado una actividad de AChE de 2.38 ± 1.0 nmol/min/mg proteína (Matozzo et al., 2005) (Tabla 5).

En los organismos tratados con DDVP (1 mg/mL) no se presentó mortalidad, se observó un fenómeno de retracción de manto y músculo aductor laxo. Resultados similares fueron reportados por Le Bris et al. (1995) en almejas expuestas a DDVP. Asimismo Bolton-Warberg et al. (2007) observaron estos efectos en ostiones (*Crassostrea virginica*) expuestos a DDVP durante 96 horas. Probablemente este fenómeno se debe a la fatiga del músculo debido las contracciones prolongadas, mismas que se asocian con la exposición a plaguicidas organofosforados.

Por otra parte, los organismos colectados en el estero Boca de Camichín, presentaron una inhibición de la actividad AChE del 61.7% con respecto al control negativo.

Tabla 5. Actividad AChE en bivalvos

Especies	Actividad AChE (nmol/min/mg proteína)*	Tejido	Referencia
<i>Crassostrea</i> <i>corteziesis</i>	1.7 ± 0.2	branquias	Este trabajo
<i>Crassostrea</i> <i>gigas</i>	1.2 x 10 ⁶	branquias	Le Bris et al., 1995
	21.8 ± 2.8	branquias hepatopáncreas Manto	Bocquené et al., 1997
	25.5 ± 3.6		
	24.3 ± 2.5		
7.39 ± 1.65	organismo completo (Larva)	Damiens et al., 2004	
<i>Crassostrea</i> <i>rhizophorae</i>	1.92 ± 0.04	branquias	Montserrat et al., 2002
<i>Mytilus</i> <i>edulis</i>	7.5	branquias	Mora et al., 1999
	9	branquias	Mora et al., 1999
<i>Mytilus</i> <i>galloprovincialis</i>	24	branquias	Radenac et al., 1998
	2.2 x 10 ⁵ ± 6.0 x 10 ⁴	organismo completo	Mora et al., 1999
	25.3 ± 7.7	branquias	

*Los resultados están reportados como la media ± desviación estándar.

Resultados similares de inhibición de AChE, se observaron en estudios anteriores realizados por Le Bris et al. (1995) en donde se observó una disminución de un 68% en ostiones *Crassostrea gigas* tratados con DDVP 1 mg/L durante 6 horas. De igual manera, McHenry et al. (1990) reportaron una inhibición del 50% en la actividad de la AChE en larvas de crustáceos expuestos a DDVP (10 µg/L), Bolton-Warberg et al.

(2007) observaron una inhibición de la AChE del 77% en camarón y del 79% en ostiones expuestos a DDVP (0.05 mg/L y 5 mg/L).

Los resultados de AChE, sugieren que los organismos colectados en las diferentes estaciones del estero Boca de Camichin, están expuestos a compuestos anticolinesterásicos, probablemente a POF. El estero es un ecosistema que se encuentra rodeado por una zona agrícola importante. En esta región se cultivan productos como tabaco, frijol, sandía, jicama, y chile verde (INEGI, 2005; INAFED, 2009). De acuerdo a las recomendaciones emitidas por SAGARPA, para el control de plagas en estos productos se utilizan los plaguicidas organofosforados principalmente y en menor proporción carbamatos.

7.4 Metalotioneína como biomarcador de exposición a metales

La MT ha sido ampliamente utilizada como un biomarcador de exposición a metales pesados en organismo de agua dulce o mar (George y Olsson, 1994; Bebianno et al., 1997; Langston et al., 1998; Raspor et al., 1999; Linde et al., 1999; Viarengo 1999b). El metabolismo de los metales está regulado por mecanismos complejos y, en muchos casos, éstos implican un aumento de la concentración de proteína en respuesta a un aumento en la concentración de un metal en el tejido. Este hecho se aprovecha para la utilización de los niveles de MT como un biomarcador (Ureña-Robles, 2007). Los resultados obtenidos en diferentes estudios ponen de manifiesto la utilidad de la MT como biomarcador de contaminación por metales pesados. El contenido de MT en dichos estudios depende, en gran medida, de la especie y del órgano seleccionado (Tabla 6), así como de una metodología adecuada para su determinación. En las especies centinelas, la concentración de metal en los tejidos refleja la contaminación por metales en su medio, sin embargo, existen excepciones (Ureña-Robles, 2007).

En animales acuáticos y especialmente en invertebrados, el desarrollo de procedimientos para el estudio de las formas específicas de MT, así como para la

expresión del gen de esta proteína, son relativamente recientes (Viarengo et al., 2007).

Existen estudios donde se reporta que el mayor contenido de MT se encuentra en la glándula digestiva y en branquias de organismos acuáticos (Bebianno et al., 1993; Mackay et al., 1993; Baudrimont et al., 1997; Mouneyrac et al., 1998; Geffard et al., 2001, Geffard et al., 2002a; Ceratto et al., 2002; Amiard et al., 2006). En este estudio se evaluó el contenido de MT en branquias, ya que son las responsables de filtrar grandes volúmenes de agua (Boening, 1999), reteniendo el plancton y detritus orgánicos, así como una variedad de sustancias, incluyendo metales pesados y plaguicidas (Baudrimont et al., 1997; Lowe y Day, 2002).

En este estudio, el contenido de MT en branquias de los organismos control negativo fue de 122.8 µg MT/ g, valores similares (120-300 µg MT/ g) fueron reportados en branquias de *Crassostrea gigas* (Geffard et al., 2002a). En organismos completos de *Crassostrea gigas* se han encontrado valores de 100 µg MT/ g (Amiard-Triquet et al., 1998).

En ambientes contaminados, los organismos están generalmente expuestos a una mezcla de diferentes metales y es imposible atribuir el aumento de los niveles de MT a un elemento en particular (Amiard et al., 2006). En estudios *in vivo* en los que se han utilizado organismos acuáticos, se observa una inducción de esta proteína ante la exposición y coexposición a diferentes metales (Klerks y Bartholomew, 1991; Mason y Jenkins, 1991). Metales como el zinc, plomo y cobre parecen ser eficientes inductores de MT en moluscos y crustáceos (Amiard et al., 2006). Bebianno y Serafim (1998) reportaron que moluscos *Mytilus galloprovincialis* responden a la exposición con cadmio, estos resultados también han sido reportados en ostiones *C. virginica* (Roesijadi y Klerks, 1989). En el presente estudio, los organismos tratados con $ZnCl_2$ - $CdCl_2$ (0.5 mg/ L) aumentaron un 80% el contenido de MT con respecto a los organismos control.

Tabla 6. Contenido de MT reportado en bivalvos

Especie	Contenido de MT (µg MT/ g)	Tejido	Referencia
<i>Crassostrea corteziensis</i>	122.8	branquias	Este trabajo
<i>Crassostrea gigas</i>	100	organismo completo	Amiard-Triquet et al., 1998a
	120-300	branquias	Geffard et al., 2002a
	700-160	glándula digestiva	Geffard et al., 2001
<i>Mytilus edulis</i>	500- 600	organismo completo	Amiard-Triquet et al., 1998
	1500-3000	glándula digestiva	Amiard et al., 1998
	300	branquias	Amiard et al., 1998
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	850- 1250	organismo completo	Raspor et al., 1999a
	5730 ± 990	glándula digestiva	Mourgaud et al., 2002
	2850- 4230	glándula digestiva	Raspor et al., 1999a
	210	glándula digestiva	Pavicic et al., 1993
<i>Ostrea edulis</i>	450-640	branquias	Raspor et al., 1999a
	1250	branquias	Langston et al., 1998

Así mismo, el promedio en el contenido de MT detectado en los organismos colectados en las diferentes estaciones de muestreo, del estero Boca de Camichin fue de 137.30 μg MT/g. Concentraciones similares de MT fueron reportadas en esteros colectados en Gironda (Francia) (Amiard-Triquet et al., 1998). Los resultados obtenidos en este trabajo, sugieren que de existir la presencia de metales pesados en el estero Boca de Camichin, se encuentran en concentraciones muy bajas y no suficientes para inducir el aumento en esta proteína.

Si bien otros factores como la falta de alimento, la anoxia, la congelación, así como la presencia de antibióticos, vitaminas o herbicidas se han relacionado con la inducción de la MT, el nivel de inducción es mucho menor que el observado por metales (Baer y Thomas, 1990; Templeton y Cherian, 1991; Kagi, 1993; English y Storey, 2003; Mosleh et al., 2004).

8. CONCLUSIONES

- 1) A pesar de que se encontró la presencia de delta-HCH y de heptacloro epóxido en muestras de sedimentos, estos compuestos no se detectaron en los ostiones colectados en el estero.
- 2) El promedio en el porcentaje de materia orgánica en los sedimentos del estero Boca de Camichín fue de 3.1%, y éste no correlacionó con los niveles de plaguicidas organoclorados.
- 3) Los ostiones colectados en el estero Boca de Camichín, mostraron una inhibición en la actividad de AChE de 61.7%, con respecto a los organismos control negativo.
- 4) Los resultados de los biomarcadores utilizados sugieren la posible presencia de POF en los ostiones colectados en el estero Boca de Camichín, y descartan la presencia de POC. Asimismo, considerando los resultados de MT, se puede sugerir que no existe la presencia de metales pesados en el estero, o de existir se encuentran en concentraciones insuficientes para modificar este biomarcador.
- 5) El uso de biomarcadores constituye una herramienta útil y económica, que permite conocer el grado de exposición de organismos acuáticos a ciertos xenobióticos, así como valorar el estado de salud de especies de importancia económica, ecológica y social.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Abdel-Halim KY, Salama AK, El-Khateeb EN, Bakry NM. (2006). Organophosphorus pollutants (OPP) in aquatic environment at Damietta governorate, Egypt: implications for monitoring and biomarker responses. *Chemosphere* 63(9):1491-1498.
- Aguilera P, Noriega P. ¿Qué es la Acuicultura? Secretaría de Pesca. México (1986). 57 pp.
- Ahumada R. (1991). Balance asimétrico del carbón orgánico particulado (COP), en la Bahía Concepción. *Chile Rev Biol Mar.* 26. (2). 233-251.
- Albert LA. (1990). Los plaguicidas, el ambiente y la salud. Centro de Ecodesarrollo, México, D.F.331 pp.
- Albert LA, Benitez AJ. Impacto Ambiental de los plaguicidas en los sistemas costeros. En: AV Botello; Rojas-Galaviz L; Benitez JA; Zarate Lomeli D (Eds). Golfo de México, Contaminación e impacto Ambiental: Diagnóstico y tendencias. Universidad Autónoma de Campeche, EPOMEX. (1996): 666 pp.
- Allan JF. Stream ecology: Structure and function of running waters. Ed. Chapman & Hall, Gran Bretaña. (1996).
- Alpuche GA. (1991). Plaguicidas Organoclorados y Medio Ambiente. *Ciencia y Desarrollo* 16 (96): 45-55.
- Amiard JC, Amiard-Triquet C, Barka S, Pellerin J, Rainbow PS. (2006). Metallothioneins in aquatic invertebrates: Their role in metal detoxification and their use as biomarkers. *Aquat Toxicol* 76:160-202.
- Amiard-Triquet C, Rainglet F, Larroux C, Regolil F, Hummel, H. (1998). Metallothioneins in Arctic bivalves. *Ecotoxicol and Environ Saf* 41: 96-102.
- Amiard-Triquet C, Amiard JC. Influence of ecological factors on accumulation of metal mixtures. In *Metal Metabolism in Aquatic Environments*, W.J. Langston and M. J. Bebianno, eds (London: Chapman & Hall) (1998a): 351-386 pp.
- ATSDR. (1994). Agency for Toxic Substances and Disease Registry. URL: www.atsdr.cdc.gov. [Consultado en Junio de 2009]
- ATSDR. (2005). Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Priority list of

Hazardous Substances. URL: <http://www.atsdr.cdc.gov/cercla/05list.html> [Consultado en Septiembre de 2009]

- Baer KN, Thomas P. (1990). Influence of capture stress, salinity and reproductive status on zinc associated with metallothionein-like-proteins in the liver of three teleost species. *Mar Environ Res* 29:277-287.
- Bakry NM, Osman KA, El-Aswad AF, Abdel-Halim KhY, Abou-Donia MB. (2001). Biomonitoring of pesticide contamination from the pesticide industry. *J Egypt Soc Toxicol* 24:107-111.
- Baqueiro CE. (1984). Status of molluscan aquaculture on the Pacific coast of Mexico. *Aquaculture* 39: 83-93.
- Baudrimont M, Metivaud J, Maury-Brachet R, Ribeyre F, Boudou A. (1997). Bioaccumulation and metallothionein response in the Asiatic clam (*Corbicula fluminea*) after experimental exposure to cadmium and inorganic mercury. *Environ Toxicol and Chem* 16:2096-2106.
- Bebianno MJ, Machado LM. (1997). Concentrations of metals and metallothioneins in (*Mytilus galloprovincialis*) along the South Coast of Portugal. *Mar Pollut Bull* 34:666-671.
- Bebianno MJ, Nott JA, Langston WJ. (1993). Cadmium metabolism in the clam *Ruditapes decussata*: the role of metallothioneins. *Aquat Toxicol* 27:315-334.
- Bebianno MJ, Serafim MA. (1998). Comparison of metallothionein induction in response to cadmium in the gills of the bivalve molluscs *Mytilus galloprovincialis* and *Ruditapes decussates*. *Sci Total Environ* 214:123-131.
- Berger B, Dallinger R, Thomaser A. (1995). Quantification of metallothionein as a biomarker for cadmium exposure in terrestrial gastropods. *Environ Toxicol Chem* 14:781-91.
- Binelli A, Ricciard F, Riva C, Provini A. (2006). Integrated use of biomarkers and bioaccumulation data in zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) for site-specific quality assessment. *Biomarker* 11(5):428-448.
- Bocquené G, Roig A, Fournier D. (1997). Cholinesterases from common oyster (*Crassostrea gigas*). Evidence for the presence of a soluble

- acetylcholinesterase insensitive to organophosphate and carbamate inhibitors. *FEBS Lett* 407(3):261–266.
- Bodin N, Burgeot T, Stanisière JY, Bocquené G, Menard D, Minier C, Boutet I, Amat, Chérel Y, Budzinski H. (2004). Seasonal variations of a battery of biomarkers and physiological indices for the mussel *Mytilus galloprovincialis* transplanted into the northwest Mediterranean Sea. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 138(4):411–427.
- Boening DW. (1999). An evaluation of bivalves as biomonitors of heavy metals pollution in marine waters. *Environ Monit Assess* 55:459–470.
- Boke H, Bakan G, Arıman S. (2007). Distribution and bioaccumulation of organochlorine pesticides along the Black Sea coast. *Environ Geochem Health* 29:59–68.
- Bolton-Warberg M, Coen LD, Weinstein JE. (2007). Acute toxicity acetylcholinesterase inhibition in grass shrimp (*Palaemonetes pugio*) and oysters (*Crassostrea virginica*) exposed to the organophosphates dichlorvos: laboratory and field studies. *Arch Environ Contam Toxicol* 52(2):207–216.
- Botello JL, Rojas GJ, Benitez JA, Zárate LD. Contaminación e impacto ambiental: Diagnóstico y tendencias. En A.V. Botello, J.L. Rojas, J.A. Benitez y D. Zárate (Eds) Golfo de México, Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias. EPOMEX serie científica 5. Universidad Autónoma de Campeche. México (1996): 666 pp.
- Botello AV, Rueda-Quintana L, Diaz-González G, Toledo A. (2000). Persistent organochlorine pesticides (POPs) in coastal lagoons of the subtropical Mexican Pacific. *Bull Environ Contam and Toxicol* 64: 390–397.
- Botello AV. Diagnóstico ambiental en la zona de influencia de la central termoeléctrica Plutarco Elías Calles, Petacalco, Guerrero. Subproyecto monitoreo de la calidad del agua (zona costera y bahía de Petacalco, Guerrero). Informe final, control: PE-001-CFE/00.ICMyL, UNAM (2001): 531 p.
- Botello AV, Barrera G, Diaz G, Ponce G, Villanueva S, Wong I. Contaminación marina y costera. La pesca en Veracruz y sus perspectivas de desarrollo.

- Instituto Nacional de la Pesca. Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México (2002): 97-111 pp.
- Bremner I. (1987). Nutritional and physiological significance of metallothionein. *Experientia Suppl* 52:61-107.
- Calva LG, Torres M. (1998). Plaguicidas Organoclorados. *Contactos* 30:35-46.
- Cajaraville MP, Bebianno MJ, Blasco J, Porte C, Sarasquete C, Viarengo A. (2000). The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. *Sci Total Environ* 247: 295-311.
- Cariño M, Monteforte M. (1995). History of pearling in the Bay of La Paz, South Baja California, México (1533-1914). *Gems & Gemology*, (31): 108-126.
- Carvalho FP, Fowler SW, González-Farías F, Mee D, Readman JW. (1996). Agrochemical residues in Altata-Ensenada del Pabellón coastal lagoon (Sinaloa, Mexico): a need for integrated coastal zone management. *Inter J of Environ Health Res* 6:209-220.
- Carvan III, Michel J, Incardona JR, Matthew LR. (2008). Meeting the Challenges of Aquatic Vertebrate. *Ecotoxicol BioScience* 58(11):1015-1025. doi:10.1641/B581105.
- Caso M, Pisanty I, Ecurra E. Diagnóstico ambiental del golfo de México. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología, Instituto de Ecología A.C. y Harte Research Institute for Gulf of Mexico Studies. (2004): 1108 pp.
- Castillo BE. (2005). Situación ambiental del estero de Cuahtla, Tecuala, Nayarit. Tesis de Maestría. UACI-UAN. 63 pp.
- Ceratto N, Dondero F, Loo JW, Burlando B, Viarengo A. (2002). Cloning and sequencing of a novel metallothionein gene in *Mytilus galloprovincialis*. *Lam Comp Biochem Physiol C* 131:217-222.
- Cervantes C, Moreno SR. Contaminación Ambiental Por Metales Pesados, Impacto en los seres vivos. AGT, S.A., México, (1999): 298 pp.

- CICOPLAFEST. (1996). Comisión intersecretarial para el proceso y uso de plaguicidas, fertilizantes y sustancias tóxicas, Catálogo Oficial de Plaguicidas, México.
- Cifuentes LJC, Torres-García P, Frías MM. El Océano y sus Recursos. XI Acuicultura. La Ciencia desde México, Fondo de Cultura Económica, México (1991): 160 pp.
- Cortinas N C. Hacia un México sin basura. Bases e implicaciones de las legislaciones sobre residuos. Talleres Gráficos de la Cámara de Diputados del H. Congreso de la Unión. México D.F (2001):185-197 pp.
- Cosson RP, Amiard JC. Use of metallothioneins as biomarkers of exposure to metals. In: Lagadic L, Caquet T, Amiard JC, Ramade F (eds) Use of biomarkers for environmental quality assessment, New Hampshire: Science Publishers, Enfield, New Hampshire (2000): 79–111 pp.
- Dallinger R, Rainbow PS. Ecotoxicology of metals in invertebrates. Lewis Publishers, Boca Raton (1993).
- Damiens G, His E, Gnassia BM, Quiniou F, Roméo M. (2004). Evaluation of biomarkers in oyster larvae in natural and polluted conditions. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 138(2):121–128.
- Day KE, Scott IM. (1990). Use of acetylcholinesterase activity to detect sublethal toxicity in stream invertebrates exposed to low concentrations of organophosphorus insecticides. *Aquat Toxicol* 18:101–113.
- De la Lanza EG. (1984). Calidad ambiental de la laguna de Laguna de Mexcalitán, Nayarit, México, durante el estiaje. *An. Ins. Cienc. Del Mar y Limnol.* 13: 315-328.
- De la Lanza EG. (1993). Manejo y aprovechamiento acuícola de lagunas costeras en america latina y el caribe: El caso de México. URL:<http://www.fao.org/docrep/field/003/AB485S/AB485S05.htm#ch4>. [Consultado en Septiembre de 2009].
- De la Lanza EG, Martínez C. (1994). Lagunas Costeras y el Litoral Mexicano. UNAM-UBCS, México.

- De Lazzari A, Rampazzo G, Pavoni B. (2004). Geochemistry of sediments in the Northern and Central Adriatic Sea. *Est. Coast. Shelf Sci* 59(3):429–440.
- Dellali M, Gnassia Barelli M, Romeo M, Aissa P. (2001). The use of acetylcholinesterase activity in *Ruditapes decussatus* and *Mytilus galloprovincialis* in the biomonitoring of Bizerta lagoon. *Comp Biochem Physiol C* 130:227–235. doi:10.1016/S1096-4959(01) 00426-2.
- Devi M, Fingerman M. (1995). Inhibition of acetylcholinesterase activity in the central nervous system of the red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*, by mercury, cadmium, and lead. *Bull Environ Contam Toxicol* 55(5):746-50.
- Doong RA, Peng CK, Sun YC, Liao PL. (2002). Composition and distribution of organochlorine pesticide residues in surface sediments from the Wu-shi river estuary, Taiwan. *Marine Pollution Bull* 45:246-253.
- Dutta HM, Arends D. (2003). Hydrocarbon concentrations in the American oyster, *Crassostrea virginica*, in Laguna de Terminos, Campeche, Mexico. 1: *Bull Environ Environ Res Mar* 91(3):157-62.
- Ellman G, Courtney KD, Andres V Jr, Feather-Stone RM. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 7:88–95.
- English TE, Storey KB. (2003). Freezing and anoxia stresses induce expression of metallothionein in the foot muscle and hepatopancreas of the marine gastropod *Littorina littorea*. *J Exp Biol* 206:2517–2524.
- Erkmen B, Kolankaya D. (2006). Determination of organochlorine pesticide residues in water, sediment, and fish samples from the Meric Delta, Turkey. *Intern J Environ Anal Chem* 86:1–2.
- Escartin E, Porte C. (1997). The use of cholinesterase and carboxylesterase activities from *Mytilus galloprovincialis* in pollution monitoring. *Environ Toxicol Chem* 16:2090–2095.
- EPA. (2006). Agencia de Protección al Ambiente. Estados Unidos de América. URL: <http://www.epa.gov> [Consultado en Junio 2009]

FAO. (1986). International code of conduct on the distribution and Use of pesticides. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. URL:<http://www.fao.org> [Consultado en Julio de 2008]

FAO. (2003). Acuicultura: principales conceptos y definiciones. URL:<http://www.fao.org/spanish/newsroom/focus/2003/aquaculture-defs.htm> [Consultado en Noviembre de 2009]

Flores LMK. (1999). Monitoreo de compuestos organoclorados en la zona estuarina de San Blas, Nayarit. Tesis Profesional. FCI-UAN, Tepic, Nayarit. 45 pp.

◀ Flores-Verdugo FJ. Algunos aspectos sobre la ecología, uso e importancia de los ecosistemas de manglar, in De la Rosa, J. and González-Farías, F. (Eds.): Temas de oceanografía biológica en México, Universidad Autónoma de Baja California, México (1990): 2:21–56 pp.

◀ Forbes VE, Palmqvist A, Bach L. (2006). The use and misuse of biomarkers in ecotoxicology. *Environ Toxicol Chem* 25:272–280.

Fukuto TR. (1990). Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. *Environ Health Perspectives* 87:245-254.

Fulton MH, Key PB. (2001). Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorus insecticide exposure and effects. *Environ Toxicol Chem* 20(1):37–45.

Froylán PF. (2005). Plaguicidas organoclorados en sedimentos, materia particulada suspendida, peces y moluscos de la Laguna de San Pedro, Nayarit, México. Tesis Profesional. FCI-UAN. 51 pp.

Froylán PCF. (2009). Materia orgánica en sedimentos superficiales de tres ambientes lacustres del estado de Nayarit. Tesis profesional. UACQBF-UAN, Tepic, Nayarit. 25 pp.

◀ Galloway T, Handy R. (2003). Immunotoxicity of organophosphorous pesticides. *Ecotoxicology* 13:11-26.

Galgani F, Bocquené G, Cadiou Y. (1992). Evidence of variation in cholinesterase activity in fish along a pollution gradient in the North Sea. *Mar Ecol Prog Ser* 91:77–82.

- Galgani F, Bocquené G. Molecular biomarkers of exposure of marine organisms to organophosphorus pesticides and carbamates, [en:] Use of biomarkers for environmental quality assessment, L. Lagadic, T. Caquet, J. -C. Amiard & F. Ramade (eds.), Lavoisier Tech. Doc., Paris (1998): 320 pp.
- Galindo RJG, Guerrero IC, Villagrana LL, Quezada U, Ángulo-Escalante S. Contaminación por plaguicidas en agua, sedimentos, camarón y almeja pismo *Tivela Stultorum* (Mawe) de la Bahía de San Quintin, Baja California. VII Congreso Nacional de Oceanografía. Ensenada, Baja California (1992): 215-220.
- Galindo RG, Medina MA, Villagrana LC, Ibarra CL. (1997). Environmental and pollution condition of the Huizache-Caimanero lagoon, in the North- West of México. *Mar Poll Bull* 34:1072-1077.
- Galindo RJ, Fossato UV, Villagrana LC, Dolci F. (1999). Pesticides in water sediments and shrimp from a coastal lagoon of the Gulf of California. *Mar Poll Bull* 38:837-841.
- García- Carmona BJ. (2004). El cultivo de ostión y desarrollo de producción, Nayarit. Presentación al Taller de Intercambio Internacional sobre Extensión en Acuicultura. Mazatlán, Sinaloa, México. Centro Regional de Educación para el Desarrollo Sustentable/Secretaría De Medio Ambiente Y Recursos Naturales.
- García I, Dorronsoro C. (2004). Contaminación del suelo. Tema 15.- Contaminación con metales pesados. URL: <http://edafologia.ugr.es/conta/tema00/home.htm> [Consultado Septiembre de 2009]
- Gaudette HE, Fligh WR, Toner L, Folger D. (1974). An inexpensive titration method for the determination of organic carbon in recent sediments. *Sed Petrol.* 44 (1): 249-253.
- Geffard A, Amiard-Triquet C, Amiard JC, Mouneyrac C. (2001). Temporal variations of metallothionein and metal concentrations in the digestive gland of oysters *Crassostrea gigas* from a clean and a metal-rich site. *Biomarkers* 6(2):91-107.
- Geffard A, Amiard JC, Amiard-Triquet C. (2002a). Use of metallothionein in gills from oysters (*Crassostrea gigas*) as a biomarker: seasonal and intersite fluctuations. *Biomarkers* 7(2):123-137.

- George SG, Olsson PE. Metallothioneins as indicators of trace metal pollution. In: Krame KJM (eds) *Biomonitoring of coastal waters and estuaries*. CRC Press, Boca Raton, Florida 1994: 151–178 pp.
- Girón-Pérez MI, Santerre A, Gonzalez-Jaime F, Casas-Solis J, Hernández-Coronado M, Peregrina-Sandoval J, Takemura A, Zaitseva G. (2007). Immunotoxicity and hepatic function evaluation in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to diazinon. *Fish Shellfish Immunol* 23(4):760-769.
- Girón-Pérez MI, Velázquez-Fernández J, Díaz-Resendiz K, Díaz-Salas F, Canto Montero C, Medina-Díaz I, Robledo-Marengo M, Rojas-García A, Zaitseva G. (2009). Immunologic parameters evaluations in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to sublethal concentrations of diazinon. *Fish Shellfish Immunol* 27(2):383-385.
- Gold-Bouchot G, Silva-Herrera T, Zapata-Pérez O. (1993). Chlorinated pesticides in the Rio Palizada, Campeche, México. *Mar Pollut Bull* 26:648-650.
- Gold-Bouchot G, Silva T, Zapata HO. (1995). Organochlorine pesticide residue concentrations in biota and sediments from Rio Palizada, Mexico. *Bull Environ Cont and Toxicol* 54:554–561.
- González-Farías F, Cisneros-Estrada X, Fuentes-Ruiz C, Díaz-González G, Botello AV. (2002). Pesticides distribution in sediments of a tropical coastal lagoon adjacent to an irrigation district in northwest Mexico. *Environ Technol* 23:1247–1256.
- González-Farías FA, Hernández-Garza MdR, Diaz González G. (2006). Organic carbon and pesticide pollution in a tropical coastal lagoon-estuarine system in Northwest Mexico. *Int J Environ and Pollution* 26:234–253.
- Guilhermino L, Barros P, Silva MC, Soares AMVM. (1998). Should the use of cholinesterases as a specific biomarker for organophosphate and carbamate pesticides be questioned?. *Biomarkers* 3(2):157-163.
- Gutiérrez GE, Flores MG, Ortega GL, Villaescusa JC. (1992). Pesticidas en las aguas costeras del Golfo de California: Programa de vigilancia del mejillón 1987-1988. *Ciencias Marinas* 18(2):77-99.

- Habig C, Di Giulio RT. Biochemical characteristics of cholinesterases in aquatic organisms. In Mineau P, ed. Cholinesterase- Inhibiting Insecticides: Their Impact on Wildlife and the Environment. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands (1991): 19–33 pp.
- Hamza-Chaffai A, Romeo M, Gnassia-Barelli M, El Abed A. (1998). Effect of copper and lindane on some biomarkers measured in the clam *Ruditapes decussatus*. Bull Environ Contam Toxicol 61:397–404.
- Haro H. Correlaciones ambientales biométricas y aspectos socioeconómicos del cultivo ostrícola en Nayarit. En Memorias del 2o Simposio Latinoamericano de acuicultura. México, Departamento de Pesca (1980): 2:1013–64.
- Hernández RAH, Tovilla HC, Malo EA, Bello MR. (2004). Water quality and presence of pesticides in a tropical coastal wetland in southern México. Mar Poll Bull 48:1130-1141.
- Huang PC. Metallothionein structure: function interface. In: Suzuki, K.T., Imura, N., Kimura, M. (Eds.), Metallothionein III: Biological Roles and Medical Implications. Birkhäuser, Basel, Switzerland (1993): 407–426 pp.
- INAFED. (2009). Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal. Gobierno del Estado de Nayarit. URL:http://www.e-local.gob.mx/wb/INAFED2006/INAF_BOL05_18 [Consultado en Octubre de 2009]
- INEGI. (2005). Instituto Nacional de Estadística Geografía e informática. Estado de Nayarit. www.inegi.gob.mx
- Isani G, Andreani G, Kindt M, Carpené E. (2000). Metallothioneins in marine mollusks. Cell Mol Biol 46:311–330.
- Iwate H, Tanabe S, Sakai N, Nishimura A, Tatsukawa R. (1994). Geographical distribution of persistent organochlorine in air, water and sediments from Asia and Oceania, and their implications for global redistribution from lower latitudes. Environ Pollut 85:15-33.
- Kagi JHR. Evolution, structure, and chemical activity of class I metallothioneins: An overview. In: Susuki KT, Imura N, Kimura M (eds) Metallothionein III: Biological roles and medical implications, Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland (1993): 29–55 pp.

- Kägi JHR, Vallee BL. (1960). Metallothionein: a cadmium- and zinc-containing protein from equine renal cortex. *J Biol Chem* 235:3460-3465
- Kang YH, Gonz Y, Li GG. (2001). The Study of VOCs in Guanting reservoir and Yonglinghe River China. *Acta Soci* 21(3):338-343.
- Kepler CJ. (2007). Effects of Ammonia on Cellular Biomarker Responses in Oysters (*Crassostrea virginica*). *Bull Environ Contam Toxicol* 78:63–66. DOI 10.1007/s00128-007-9007-z.
- Key PB, Fulton MH, Layman SL, Scott GI. (1998a). Azinphosmethyl exposure to grass shrimp (*Palaemonetes pugio*) life stages with emphasis on larval acetylcholinesterase activity. *Bull Environ Contam Toxicol* 60(4):645-50.
- Key PB, Fulton MH, Scott GI, Layman SL, Wirth EF. (1998b). Lethal and sub-lethal effects of malathion on three life stage of the grass shrimp, *Palaemonetes pugio*. *Aquatic Toxicol* 40:311-322.
- Kim Y, Eun H, Katase T, Fujiwara H. (2007). Vertical distributions of persistent pollutants (POPs) caused from organochlorine pesticides in a sediment core taken from Ariake, Bay Japan. *Chemosphere* 67:456-463.
- Klerks PL, Bartholomew PR. (1991). Cadmium accumulation and detoxification in a Cd-resistant population of the oligochaete *Limnodrilus hoffmeisteri*. *Aquat Toxicol* 19:97-112.
- Kristoff G, Guerrero NV, de D'Angelo AMP, Cochon AC. (2006). Inhibition of cholinesterase activity by azinphos-methyl in two freshwater invertebrates: *Biomphalaria glabrata* and *Lumbriculus variegatus*. *Toxicology* 222:185–194.
- Lafont M, Camus J-C, Fournier A, Sourp E. (2001). A practical concept for the ecological assessment of aquatic ecosystems: application on the River Dore in France. *Aquat Ecol* 35:195–205.
- Langston WJ, Bebianno MJ, Burt GR. Metal handling strategies in molluscs. In: Langston WJ, Bebianno MJ (eds). *Metal metabolism in aquatic environments*, Chapman and Hall, London (1998). 219–283 pp.
- Langston WJ, Chesman BS, Burt GR, Pope ND, McEvoy J. (2002). Metallothionein in liver of eels *Anguilla anguilla* from the Thames Estuary: an indicator of environmental quality. *Mar Environ Res* 53:263-93.

- Le Bris H, Maffart P, Bocquené G, Buchet V, Galgani F, Blanc G. (1995). Laboratory study on the effect of dichlorvos on two commercial bivalves. *Aquaculture* 138:139–144.
- Leyva-Cardoso DO, Ponce-Velez G, Botello VA, Díaz-González G. (2003). Persistent organochlorine pesticides in coastal sediments from Petacalco Bay, Guerrero, Mexico. *Bull Environ Conta and Toxicol* 71:1244–1251.
- Linde AR, Sanchez-Galan S, Vales-Mota P, Garcia-Vazquez E. (1999). Metallothionein as bioindicator of fresh water metal pollution: European Eel and Brown trout. *Ecotox and Environ Safe* 40:60-63.
- Lionetto MG, Caricato R, Giordano ME, Pascariello MF, Marinosci L, Schettino T. (2003). Integrated use of biomarkers (acetylcholinesterase and antioxidant enzyme activities) in *Mytilus galloprovincialis* and *Mullus barbatus* in an Italian coastal marine area. *Mar Pollut Bull* 46:324–330. doi:10.1016/S0025-326X(02)00403-4.
- Locatello L, Matozzo V, Marin MG. (2009). Biomarker responses in the crab *Carcinus aestuarii* to assess environmental pollution in the Lagoon of Venice (Italy). *Ecotoxicology* 18:869–877. DOI 10.1007/s10646-009-0330-5.
- López G. (2006). Historia de la contaminación por plaguicidas organoclorados en sedimentos del sistema lagunar Altata-Ensenada del pabellón. Tesis de Maestría. CBAP-UAN.
- Lowe TP, Day DD. (2002). Metal concentrations in zebra mussels and sediments from embayments and riverine environments of eastern Lake Erie, southern Lake Ontario and the Niagara River. *Arch Environ Contam Toxicol* 43:301–308.
- Machreki-Ajmi M, Ketata I, Ladhar-Chaabouni R, Hamza-Chaffai A. (2008). The effect of *in situ* cadmium contamination on some biomarkers in *Cerastoderma glaucum*. *Ecotoxicology* 17:1–11. DOI 10.1007/s10646-007-0166-9.
- McHenry JG, Francis C, Matthews A, Murison D, Robertson M. (1990). Comparative toxicity of dichlorvos to marine invertebrates. Scottish Fisheries Working Paper. The Scottish Office, Edinburgh. 7/90.

- Mackay EA, Overnell J, Dunbar B, Davidson I, Hunziker P, Kagi JH, Fothergill JE. (1993). Complete amino acid sequences of five dimeric and four monomeric forms of metallothionein from the edible mussel *Mytilus edulis*. *Eur J Biochem* 218:183–194.
- Maeda-Martínez AN. Los moluscos pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y acuicultura, editorial Limusa, México, (2001): 501pp.
- Maeda-Martínez AN. Estado actual del cultivo de bivalvos en México. En A. Lovatelli, A. Farías e I. Uriarte (eds). Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina. Taller Técnico Regional de la FAO. 20–24 de agosto de 2007, Puerto Montt, Chile. *FAO Actas de Pesca y Acuicultura*. No. 12. Roma, FAO. (2008). 91–100 pp.
- Magni P, De Falco G, Falugi C, Franzoni M, Monteverde M, Perrone E, Sgro M, Bolognesi C (2005). Genotoxicity biomarkers and acetylcholinesterase activity in natural populations of *Mytilus galloprovincialis* along a pollution gradient in the Gulf of Oristano (Sardinia, western Mediterranean) *Environ. Pollut.* 42 (1): 65-72.
- Mason AZ, Jenkins KD. (1991). Effects of cadmium bioavailability on the cytoplasmic distribution of cadmium in *Neanthes arenaceodentata*. *Bull Mar Sci* 48(2): 524–529.
- Maroni M, Colosio C, Ferioli A, Fait A. (2000). Organophosphorus pesticides. *Toxicology* 143:9-37.
- Martínez HT. (2001). Nivel de compuestos organoclorados en ostión (*Crassostrea sp.*). Tesis de Profesional. FCI- UAN. 37 pp.
- Matozzo V, Tomei A, Marin MG. (2005). Acetylcholinesterase as a biomarker of exposure to neurotoxic compounds in the clam *Tapes philippinarum* from the Lagoon of Venice. *Mar Pollut Bull* 50(12):1686–1693.
- Monserrat JM, Bianchini A, Bainy AC. (2002). Kinetic and toxicological characteristics of acetylcholinesterase from the gills of oysters (*Crassostrea rhizophorae*) and other aquatic species. *Environ* 54(3-5):781–785.

- Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, salud ambiental, agua para uso y consumo humano. Límites Permisibles de Calidad y Tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización.
- Noreña BE, Zapata PO, Ceja MV, Gold-Bouchot G. (1998). Hydrocarbon and organochlorine residue concentrations in sediment from Bay of Chetumal, México. *Env Contam Toxicol* 61:80-87.
- Ortiz-Pérez MA, De la Lanza-Espino G. Diferenciación del espacio costero de México: Un inventario regional. *Geografía para el Siglo XXI. Serie Textos Universitarios No. 3*. Instituto de Geografía, UNAM (2006): 138 p.
- Osuna-Flores I, Riva MC. (2002). Organochlorine pesticide residue concentrations in shrimp, sediments, and surface water from Bay of Ohuira, Topolobambo, Sinaloa, México. *Bull Environ Contam Toxicol* 68:532-539.
- Osuna-Flores I, Riva MC (2004). Plaguicidas organofosforados en camarones, sedimento y agua superficial de la bahía de Ohuira, Topolobambo, Sinaloa, México, 61(513):387-392.
- Osuna-López JI, López-López G, Izaguirre FG, Zazueta-Padilla HM, Frías-Espericueta MG, Correa-González EM. Insecticidas organoclorados y bifenilos policlorados en sedimentos de ecosistemas costeros del Pacífico subtropical Mexicano, in Páez-Osuna, F. (Ed.): *Biomonitoring de la contaminación en las aguas costeras del Pacífico Subtropical Mexicano*, Technical Report, Project CONACYT 0185P (1998).
- Páez-Osuna F. (1999a). La Contaminación y polución costera. *Ciencia y Desarrollo XXV* 144:60-65.
- Páez-Osuna F. (1999b). Contaminación por metales en las Costas de México. *Ciencia y Desarrollo XXV* 146: 69-73.
- Partida GD, Villaescusa CJ, Macias ZJ, Castillo FF. (2003). Contaminantes persistentes en núcleos de sedimentos de la región sur de la Cuenca de las Californias. *Ciencias Marinas* 29:521-534.
- Pavicic J, Raspor B, Marticic D. (1993). Quantitative determination of metallothionein-like proteins in mussels. Methodological approach and field evaluation. *Mar Biol* 115:435-444.

- Payne JF, Mathieu A, Melvin W, Fancey LL. (1996). Acetylcholinesterase, an old biomarker with a new future? Field trials in association with two urban rivers and paper mill in Newfoundland. *Mar Pollut Bull* 32(2): 225–231.
- Piano A, Valbonesi P, Fabbri E. (2004). Expression of cytoprotective proteins, heat shock protein 70 and metallothioneins, in tissues of *Ostrea edulis* exposed to heat and heavy metals. *Cell Stress & Chaperones* 9(2):134–142.
- Polanco Torres E, Corral ML. (2004). Ostricultura en el mundo. URL: <http://www.fundame.org/cientificas/pdfs/lostricultural/capitulo2.pdf> [Consultado en Noviembre de 2009]
- Pfeifer S, Schiedek D, Dippner J. (2005). Effect of temperature and salinity on acetylcholinesterase activity, a common pollution biomarker, in *Mytilus* sp. from the south-western Baltic Sea. *J Exp Mar Biol Ecol* 320:93–103.
- Presley B.R. (1994). The potential environmental impact of trace metals in the arctic. *Arctic and alpine research* 8:123–135.
- Programa Nacional de Desarrollo de la Pesca y sus Recursos, 1990–94. URL: <http://faolex.fao.org/docs/pdf/mex3458.pdf> [Consultado en Septiembre de 2009]
- Radenac G, Bocqueré G, Fichet D, Miramand P. (1998). Contamination of a dredged- material disposal site (La Rochelle Bay, France). The use of the acetylcholinesterase activity of *Mytilus edulis* as a biomarker of pesticides: the need for a critical approach. *Biomarkers* 3:305–315.
- Ramírez TG. (1988). Residuos de plaguicidas organoclorados en sedimentos de la Ciénega Grande de Santa Marta (Caribe colombiano). *An In Inv Mar Punta de Betin* 18: 127-136.
- Raspor B, Erk M, Pavicic J, Juric D, Kwokal Z, Odzak N. (1999). Metallothionein as biomarker of mussel exposure to heavy metals. *Marine Pollut* 151–156.
- Raspor B, Pavicic J, Kozar S, Kwokal Z, Paic M, Odzak N, Ujevic I, Kjakovic Z. Assessment of metal exposure of marine edible mussels by means of a biomarker. In: Klaassen, C. (Ed.), *Metallothionein IV*. Birkhäuser, Basel (1999a): 629–632 pp.

- Restrepo I. Naturaleza Muerta. Los Plaguicidas en México, Ediciones Océano, SA, México, D.F (1988).
- Robledo-Marenco ML, Botello AV, Romero-Bañuelos CA, Díaz-González G. (2006). Presence of persistent organochlorine pesticides in estuaries of the subtropical Mexican Pacific. *Int J Environ and Pollut* 26:284–294.
- Rodríguez-Fuentes G, Gold-Bouchot G. (2000). Environmental monitoring using acetylcholinesterase inhibition in vitro. A case study in two Mexican lagoons. *Mar Environ Res* 50:357–360.
- Roesijadi G, Klerks PA. (1989). Kinetic analysis of Cd-binding to Metallothionein and other intracellular ligands in oyster gills. *J Exp Zool* 251:1-12.
- Roesijadi G, Fowler B. Purification of invertebrate metallothioneins. In: *Methods Enzymol Vol 205: Metallobiochemistry, Part B: Metallothionein and Related Molecules* (Vallee JFRaBL, ed). San Diego: Academic Press (1991): 263-273.
- Roesijadi G. (1994a). Metallothionein induction as a measure of response to metal exposure in aquatic animals. *Environ Health Perspect* 102:91–95.
- Roesijadi G. (1994b). Behavior of metallothionein-bound metals in a natural population of an estuarine mollusc. *Mar Environ Res* 38:147–168.
- Rojas G AE. (1998). Contribución y diagnóstico ambiental de los esteros de San Blas, Nayarit, México. Tesis Profesional. FCI-UAN. Tepic, Nayarit. 55 pp.
- Roldán G. Fundamentos de limnología neotropical. Ed. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia (1992).
- Romero BCA. (1998). Determinación de plaguicidas organoclorados en sedimentos y camarón (*Panaeus sp.*) de los esteros de San Cristóbal y Pozo Rey de San Blas, Nayarit, México. Tesis Profesional. FIP-UAN. San Blas, Nayarit. 93 pp.
- Rosales MT, Álvarez R. (1979). Niveles actuales de hidrocarburos organoclorados en sedimentos de lagunas costeras del Golfo de México. *An. Centro Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Auton. México* 6(2): 1-5
<http://lyncis.dgscu.unam.mx:8080/examples/servlet/ciencias.FichasCiencias2?xml=archivo66.xml>
- Rosales MTL, Escalona RL. (1983). Organochlorine residues in organisms of two different lagoons of northwest México. *Bull Environ Contam Toxicol* 30:456-463.

- Rosales MLT, Escalona RL. (1985). Organochlorine hydrocarbon residues in sediments of two different lagoons of Northwest México. *Bull Environ Contam Toxicol* 35: 322- 330.
- Rueda QL, Botello AV, Díaz GG. (1997). Presencia de Plaguicidas Organoclorados en dos Sistemas Lagunares del Estado de Chiapas, México. *Rev. Int Contam Ambient* 13 (2):55-61.
- Rueda QL. (1997). Evaluación de plaguicidas organoclorados en sedimentos y organismos de los sistemas lagunares Chantuto-Panzacola y Carretas-Pereira, Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma México, Chiapas, México.
- SEMARNAP. (1999). Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca. Proyecto del cultivo de ostión en Boca de Camichin, México, 25 pp.
- Senthil KK, Sajwan KS, Richardson JP, Kannan K. (2008). Contamination profiles of heavy metals, organochlorine pesticides, polycyclic aromatic hydrocarbons and alkylphenols in sediment and oyster collected from marsh/estuarine Savannah GA, USA. *Mar Pollut Bull* 56:136–162.
- SEPESCA (1991). Anuario Estadístico de Pesca 1989. Dirección General de Informática y Registro Pesqueros. Distrito Federal: 125 pp.
- Scaps P, Borot O. (2000). Acetylcholinesterase activity of the polychaete *Nereis diversicolor*: effects of temperature and salinity. *Comp Biochem Phys C* 125(3):377–383.
- Sturm A, Da Silva de Assis HC, Hansen PD. (1999). Cholinesterases of marine teleost fish: enzymological characterization and potential use in the monitoring of neurotoxic contamination. *Mar Environ Res* 47(4):389–398.
- Templeton DM, Cherian MG. (1991). Toxicological significance of metallothionein. *Meth Enzymol* 205:11–24.
- Thompson HM. Serum B esterases as indicators of exposure to pesticides. In: Mineau, P (ed) *Cholinesterase-inhibiting insecticides, chemicals in agriculture*. Elsevier, Amsterdam (1991): 109–125 pp.
- Thompson HM. (1999). Esterases as markers of exposure to organophosphates and carbamates. *Ecotoxicology* 8:369-384.

- UNEP/IAEA. (1982). Determination of DDT's and PCB's and other hydrocarbons in marine sediments by gas liquid chromatography. Reference Methods for Marine Pollution Studies, No. 17.
- UNEP/FAO/IAEA. (1986). Determination of DDT's and PCB's in select marine organisms by gas liquid chromatography. Reference Methods for Marine Pollution Studies, No. 14 Rev.1.
- Ureña-Robles R. (2007). Metalotioneínas en peces y gasterópodos: Su aplicación en la evaluación de la contaminación. Tesis de doctorado, Universidad de Valencia, España 206 pp.
- Uršdin E. Reactions of cholinesterases with substrate inhibitions and reactivators. In: International Encyclopaedia of Pharmacology and Therapeutics: Anticholinesterase Agents. Pergamon Press, New York (1970): 49-354 pp.
- Varela VM, Augspurger T. Cholinesterase activity as a device for biomonitoring pesticide exposure in the freshwater mussel *Elliptio complanata*, Publ. No 95-4F23, US Fish Wildl. Serv., Southeast Region, Atlanta, GA (1996).
- Vergani L, Grattarola M, Borghi C, Dondero F, Viarengo A. (2005). Fish and molluscan metallothioneins. FEBS J 272:6014–6023.
- Volety AK. (2008). Effects of salinity, heavy metals and pesticides on health and physiology of oysters in the Caloosahatchee Estuary, Florida Ecotoxicology 17:579–590. DOI 10.1007/s10646-008-0242-9.
- Viarengo A, Ponzano E, Dondero F, Fabbri R. (1997). A Simple Spectrophotometric Method for Metallothionein Evaluation In Marine Organisms: an Application to Mediterranean and Antarctic Molluscs. Marine Environ Res 44:69-84.
- Viarengo A, Burlando B, Cavaletto M, Marchi B, Ponzano E, Blasco J. (1999). Role of metallothionein against oxidative stress in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. Am J Physiol 277:R1612–1619.
- Viarengo A, Burlando B, Dondero F, Marro A, Fabbri R. (1999b). Metallothionein as a tool in biomonitoring programmes. Biomarkers 4:455-466.
- Viarengo A, Lowe D, Bolognesi C, Fabbri E, Koehler A. (2007). The use of biomonitoring: A 2-tier approach assessing the level of pollutant-induced stress syndrome in sentinel organisms. Comp Biochem and Phys C 146: 281-300.

- Villanueva FS, Botello AV, Páez-Osuna F. (1988). Evaluación de algunos metales pesados en organismos del Río Coatzacoalcos y de la Laguna del Ostión, Veracruz, México. *Contaminación Ambiental* 4:19-30.
- Zinkl JG, Shea PJ, Nakamoto RJ, Callman J. (1987). Brain cholinesterase activity of rainbow trout poisoned by carbaryl. *Bull Environ Contam Tox* 38:29–35.