



El Colegio de la Frontera Sur

**Evaluación de HAPs y GST como biomarcador de estrés
oxidativo en la medusa *Cassiopea* spp. en dos Sistemas
Lagunares de Quintana Roo, México**

TESIS

presentada como requisito parcial para optar al grado de

Maestra en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural

Con orientación en Manejo y Conservación de Recursos Naturales

Por

Rebeca Nephtalí Meléndez Rosas

2018



El Colegio de la Frontera Sur

Chetumal, Quintana Roo a 7 de Diciembre de 2018.

Las personas abajo firmantes, miembros del jurado examinador de:

Rebeca Nephtalí Meléndez Rosas

Hacemos constar que hemos revisado y aprobado la tesis titulada:

Evaluación de HAPs y GST como biomarcador de estrés oxidativo en la medusa *Cassiopea* spp. en dos Sistemas Lagunares de Quintana Roo, México

para obtener el grado de **Maestra en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural**

	Nombre	Firma
Directora		_____
Asesora		_____
Asesora		_____
Sinodal adicional		_____
Sinodal adicional		_____
Sinodal suplente		_____

Dedicatoria

Al conocimiento de nuestros océanos porque -sólo queremos lo que conocemos y sólo cuidamos lo que queremos-.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca asignada No. 432778.

A la Dra. Teresa Álvarez por su apoyo y ánimo durante el arduo proceso de la maestría, por el esfuerzo invertido y la fé en mí; al Q.B.P. Alejandro Ortíz por todo lo que me enseñó en el laboratorio de química sobre análisis, orden y planeación, a la Ing. Adriana Zavala por su paciencia y pláticas en las tardes de trabajo. A la Dra. Rebeca por aportar a este trabajo sus conocimientos sobre medusas, por ayudarme a tomar desiciones difíciles y por seguir en este proceso hasta el final. A la Dra. Laura por su esfuerzo de conocer más sobre nuestros océanos, por compartir sus conocimientos para mejorar esta tesis y por esas pláticas cuando recién llegué a Chetumal.

Al M.C. Alejandro Vega y la Dra. Conchita por formar parte de mi comité y a la Dra. Neidy Navarro por sus valiosas observaciones y recomendaciones además de las porras de ánimo.

A todos esos compañeros que se convirtieron en amigos de una vida, Astrid, Tania, León Felipe, Rubén, Víctor, Paco y a quien decidió sumarse por tiempo indefinido a mi vida, Jere. Gracias infinitas a todos por acompañarme en días, noches y madrugadas difíciles.

Y claro, a mis padres Rebeca Rosas y Alberto Meléndez por nunca dejar de acompañarme en la distancia y a mis hermanas Jeni y Xo Meléndez por decir tú puedes.

Gracias, los quiero.

Índice

Resumen	6
Introducción	7
Antecedentes	12
Justificación	16
Preguntas de investigación	17
Hipótesis	17
Objetivo general	17
Objetivos particulares	17
Metodología	18
Área de estudio	19
Trabajo de campo	20
Laboratorio	24
Análisis estadísticos	29
Resultados	30
Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs)	30
Biomarcador de estrés oxidativo Glutación-S-Transferasa (GST)	49
Factor de correlación HAPs-GST	51
Discusión	58
<i>Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en agua y sedimentos</i>	58
<i>Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en Cassiopea spp.</i>	64
<i>Glutación-S-Transferasa</i>	73
Introducción	92
Materiales y Métodos	93
Laboratorio	94
Estadísticos	95
Resultados	95
Factor de correlación HAPs-GST	99
Discusión	99
Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en agua y sedimentos	99
Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en Cassiopea spp.	101

Glutación-S-Transferasa 105

Resumen

La degradación ecológica del medio marino se debe a diversas causas como la contaminación por actividades antropogénicas. Los cuerpos de agua marinos son el reservorio de diferentes contaminantes incluyendo hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) los cuales tienen efectos citotóxicos, carcinogénicos y mutagénicos en la biota marina incluyendo a las medusas. Adicionalmente, el biomarcador enzimático Glutación-S-Transferasa (GST) es un mecanismo de defensa ante la generación de moléculas reactivas inducida por los HAPs. En este estudio, se analizó la concentración de 16 HAPs y GST en 4 tejidos (gastrodermis, gónadas, vesículas y brazos orales) de medusas *Cassiopea* spp. de la parte norte (Laguna Nichupté) y sur (Bacalar Chico) del Caribe Mexicano.

Las mayores concentraciones promedio de HAPs se encontraron en gónadas y zooxantelas. No se encontraron diferencias entre sitios o tejidos para la totalidad de HAPs analizados, de manera individual el acenafteno ($p=0.04$) y acenaftileno ($p=0.01$) fueron diferentes entre sitios. También se encontraron diferencias para compuestos individuales específicos por tejido. Además, el biomarcador GST tuvo diferencias entre sitios y tejidos ($p=0.01$), encontrándose la mayor concentración en las vesículas para ambos sitios de estudio. Correlaciones significativas entre GST y HAPs se encontraron para 6 contaminantes. La variación de contaminantes y biomarcador entre tejidos de *Cassiopea*, hace necesaria la realización de estudios ecotoxicológicos, ya que se desconocen los mecanismos que les permiten persistir en ambientes contaminados y la función que cumplen sus tejidos.

Palabras clave: Contaminación, hidrocarburos, estrés oxidativo, gastrodermis, zooxantelas.

Introducción

El impacto antropogénico y el cambio climático, han originado la alteración del equilibrio natural de los ecosistemas marinos (Pauly et al. 2009; Condon et al. 2012). Con ello, los estudios ecológicos se han dirigido a grupos con rápida adaptación a la reestructuración de los hábitats, como las medusas (Purcell et al. 2007; Richardson et al. 2009; Brotz et al. 2012; Purcell 2012; Gibbons y Richardson 2013).

Las medusas que pertenecen al Phylum Cnidaria, Subphylum Medusozoa, se agrupan en cuatro Clases reconocidas: Hydrozoa, Scyphozoa, Cubozoa y Staurozoa (Collins 2009). Se caracterizan por estar compuestas en un 95 % de agua (Condon et al. 2012), poseer nematocistos y presentar un ciclo de vida con alternancia de generaciones. Esto conlleva el establecimiento de un organismo bentónico (pólipo) como etapa de resistencia que, por medio de la unión de gametos, da origen a un organismo de vida libre o medusa (Brusca y Brusca 2003; Campbell et al. 2007).

A pesar de ser organismos clave dentro de las cadenas tróficas debido a su depredación sobre el zooplancton, la baja tasa de depredadores y la capacidad de generar florecimientos, su importancia para el océano es apenas reconocida (Boero et al. 2008). Dentro del grupo medusa, la Clase Scyphozoa se ha documentado como la más tolerante, debido a su capacidad para adaptarse a temperaturas elevadas y fluctuaciones de salinidad (Daly et al. 2007; Lucas 2012; Lucas 2014; Schiariti et al. 2014).

Los scyphozoarios han desarrollado diversas adaptaciones para su modo de vida; la simbiosis con dinoflagelados del Género *Symbiodinium* (i.e. zooxantelas) es una de sus adaptaciones más peculiares. Este es el caso del Género *Cassiopea* Péron y Lesueur, 1809, dentro del cual se encuentra la medusa invertida, que recibe este nombre debido a la orientación de sus brazos orales hacia arriba para favorecer la incidencia de luz sobre

las zooxantelas endosimbióticas (Hamlet et al. 2011; Lampert et al. 2011). La medusa invertida habita en regiones tropicales y subtropicales, dentro de fondos arenosos rodeados por ecosistemas de pastos y manglar. En el Caribe Mexicano, se ha registrado a la medusa *Cassiopea xamachana* y *Cassiopea andromeda* (Collado-Vides et al. 1998; Freudenthal 1962; Holland et al. 2004; Hamlet et al. 2011). Sin embargo, estas dos especies no son diferenciables morfológicamente (Collado-Vides et al. 1998; Gamero-Mora, 2014).

El hábitat de *C. xamachana* y *C. andromeda* experimenta una alta presión antropogénica, debido a su cercanía con las actividades humanas. Particularmente, el Caribe Mexicano ha sufrido la alteración ecológica de sus ecosistemas debido al crecimiento poblacional y el desarrollo costero generado por el turismo. Esta región posee una alta riqueza biológica (Botello et al. 1997; Gasca y Loman-Ramos 2014; Lara-Lara 2008). Así, las medusas se han convertido en la biota predominante de ecosistemas sobreexplotados, eutróficos, contaminados y con bajas concentraciones de oxígeno (Arai, 2001; Mills 2001; Purcell et al. 2007; Pauly et al. 2009; Richardson et al. 2009; Brotz et al. 2012).

La zona costera recibe una amplia gama de contaminantes provenientes de las ciudades aledañas (Filimonova et al. 2016). Esto está direccionado principalmente por la industrialización de las ciudades; que implica el uso de grandes cantidades de derivados petroquímicos, entre los que encontramos a los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) (Crain et al. 2008; Guzmán-Martínez 2009; Jiao et al. 2015; MEA 2003; Nellemann y Corcoran 2006).

La generación excesiva de HAPs ocasiona su permanencia continua en los océanos debido a la extracción petrolera, derrames incidentales de petróleo, circulación de

embarcaciones, desechos de las industrias y combustión de materia orgánica (Almeda et al. 2013; Fernández-Linares et al. 2006; Hayes et al. 2005).

Los hidrocarburos son compuestos con elevada toxicidad, que tienen efectos citotóxicos, genotóxicos, carcinogénicos y mutagénicos (Mastandrea et al. 2005). De acuerdo con la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR 2009) los HAPs con mayor toxicidad son el acenafteno, acenaftileno, antraceno, benzo[a]antraceno, benzo[a]pireno, benzo[e]pireno, benzo[a]fluoranteno, criseno, fluoranteno, fluoreno, fenantreno y pireno.

Tomando en cuenta lo anterior, es alarmante la cantidad de HAP's que ingresa al medio marino, ya que se estiman 230,000 toneladas vertidas a los océanos por año, de las cuales el 70 % proviene de derrames petroleros y el restante de deposición atmosférica u otras fuentes (Kennish 2000; Greenpeace 2012).

La unión química de los HAP's con moléculas orgánicas, tiene repercusiones para todo el ecosistema, ya que facilita su dispersión a través de la cadena trófica mediante procesos de bioacumulación y biomagnificación (Mastandrea et al. 2005). Debido a su elevada persistencia durante años en los sedimentos, su movilidad también es coadyuvada por el efecto de la resuspensión y transporte por las corrientes marinas (Almeda et al. 2013; Blackburn et al. 2014).

Debido a la rapidez con la cual se modifica la dinámica natural de los sistemas biológicos, es necesario identificar cómo inciden los contaminantes dentro de los organismos. Diferentes especies del Género *Cassiopea* se han empleado como bioindicadores (Almeda et al. 2013; Fowler et al. 2004; Stoner et al. 2011; Todd et al. 2006); debido a su papel como reguladores de ciclos biogeoquímicos, su peculiar simbiosis y no estar bajo ninguna categoría de protección (Almeda et al. 2013; West et al. 2009; Chang-feng 2015).

Otras alternativas exploradas, son la identificación de patrones de bioacumulación y estudios ecotoxicológicos (Almeda et al. 2013; Echols et al. 2011; Klein et al. 2016; Muñoz-Vera et al. 2015; Stoner et al. 2011; Templeman y Kingsford 2010; Templeman y Kingsford 2015; Todd et al. 2006). Dentro de estos últimos, se recurre a menudo al análisis de biomarcadores. Estos compuestos, son respuestas fisiológicas de los organismos para tolerar y subsanar las repercusiones negativas del estrés generado por un ambiente degradado (Hayes et al. 2005).

El principal efecto de los xenobióticos, es la generación de especies reactivas de oxígeno que inducen al estrés oxidativo. Este proceso detona la síntesis de sustancias que neutralizan los efectos de los radicales libres en la célula, identificados como biomarcadores de exposición. Sin embargo, cuando el problema no puede ser subsanado, se generan daños celulares y modificaciones en la fisiología del organismo como la peroxidación de la membrana celular, la degradación del músculo, la falla del sistema nervioso, hemólisis, deterioro general del metabolismo celular y finalmente la muerte de la célula. En este punto se identifican los biomarcadores de efecto tóxico (Vasseur y Cossu-Leguille 2003; Zhang et al. 2004), por lo que es posible recabar información acerca de respuesta fisiológica de los organismos, ya sea de daño o sólo exposición (Kaviraj et al. 2014; Hanson et al. 2013).

Dentro de los biomarcadores más empleados en el monitoreo de los organismos marinos para identificar contaminación por hidrocarburos se encuentran las enzimas catalasa (CAT), Glutación-S-Transferasa (GST) y Citocromo P450, así como sustancias no enzimáticas como el tripéptido Glutación (GSH) y Glutación disulfuro (GSSG) (Vasseur y Cossu-Leguille 2003).

Dentro de estos, el GST y GSH a menudo se analizan en conjunto ya que actúan como indicadores de exposición y efecto a HAPs. El GST participa en la biotransformación de xenobióticos electrofílicos para su posterior excreción (Hayes et al. 2005; Luchmann et al. 2011). Mientras que el GSH actúa como agente celular reductor para aminorar los efectos por oxidación gracias al grupo sulfhídrico, constituyendo la primera línea de defensa contra el estrés oxidativo (Zhang et al. 2004).

Posterior a la unión química de biomarcador y contaminante, los metabolitos resultantes son transportados a los órganos del almacén o excreción. En animales superiores, el hígado y los riñones son los órganos desintoxicadores por excelencia. Respecto a los organismos marinos, los tejidos encargados de llevar a cabo esta función son el hepatopáncreas y las branquias que resultan ser la primera barrera de contacto entre el organismo y el contaminante (Lee 1988; Luchmann et al. 2011).

Así, la concentración de biomarcadores inducida por la presencia de contaminantes es diferencial por tejido (Manduzio et al. 2004; Liang et al. 2007; Kamel et al. 2012). Para el caso de los HAP's, se ha documentado su adhesión en tejido graso y órganos con alto contenido lipídico (Echols et al. 2016; Guzmán-Martínez 2009).

El desconocimiento del grado de contaminación por hidrocarburos que ha experimentado el Caribe Mexicano, enmarcan la urgente necesidad por llevar a cabo investigaciones sobre la contaminación marina y sus implicaciones en la biota (Álvarez-Legorreta 2009).

En el presente estudio se evaluó la actividad de GST como biomarcador de exposición a HAPs en *Cassiopea* spp. de dos sitios del Caribe Mexicano con diferente grado de presión antropogénica. Esto permitirá determinar si las medusas cuentan con un mecanismo de desintoxicación que favorece su éxito ecológico en sitios altamente contaminados (Epstein et al. 2016).

Antecedentes

Existen trabajos en los que se recurre al empleo de especies como bioindicadoras de diferentes contaminantes. Por ejemplo, Stoner et al. 2011 demostraron una correlación positiva entre la talla y abundancia del género *Cassiopea* y la densidad humana. Por otro lado Todd et al. 2006, también emplearon a este género como bioindicador de concentraciones de fosfatos en Florida, al comprobar bajas tasas de captación de fosfato inorgánico disuelto por las medusas en sitios eutróficos.

En la literatura se encuentran publicaciones relacionadas a la bioacumulación de metales pesados. Dentro de estos trabajos se encuentran los de Muñoz-Vera et al. 2015 efectuado en España sobre la medusa *Cotylorhiza tuberculata*; y el de Duysak et al. 2013 efectuado en las costas de Turquía, con *Rhopilema nomadica*. Referente a este tópico, se han publicado algunos trabajos más con diferentes especies de medusas (Fowler et al. 2004; Templeman y Kingsford, 2012). Adicionalmente existen estudios de bioacumulación de metales pesados en *Cassiopea* (Templeman y Kingsford 2010; Templeman y Kingsford 2015; Epstein et al. 2016). Otras publicaciones han descrito el efecto de los metales pesados sobre nematocistos (Morabito et al. 2013; Morabito et al. 2014); y la supervivencia de las medusas (Lucas y Horton, 2014).

En lo que respecta a estudios sobre la medusa invertida y contaminantes orgánicos persistentes (COP's), se encuentra el trabajo conducido por Klein et al. (2016), quienes documentaron las repercusiones sinérgicas de la disminución de la salinidad y la adición de atrazina al medio. Los resultados denotaron que la baja salinidad incrementa la vulnerabilidad fisiológica de la medusa al herbicida, observándose la disminución en el

rendimiento cuántico efectivo de radiación de clorofila, menor amplitud de las pulsaciones, disminución de la talla y mortalidad.

En relación con hidrocarburos del petróleo Almeda et al. 2013, realizaron un estudio bajo condiciones de laboratorio para conocer los efectos del petróleo crudo en la bioacumulación de HAP's, dentro de diferentes especies del zooplancton gelatinoso. Se incluyeron dos medusas de la familia Scyphozoa, (*Pelagia noctiluca* en su etapa adulta y *Aurelia aurita* en etapa adulta y larval). Este estudio concluyó que los rangos de tolerancia al petróleo y su bioacumulación, son diferentes por especie. Los organismos de *Pelagia noctiluca* presentaron altas tasas de mortalidad, mientras que en *Aurelia aurita* los efectos fueron subletales, como daño en tejidos y nado anormal.

Echols et al. 2016, condujeron un ensayo ecotoxicológico bajo condiciones controladas de laboratorio en la medusa luna (*Aurelia aurita*). En este trabajo se sometieron éfiras a diferentes compuestos derivados del petróleo y a dispersantes químicos empleados en acciones de limpieza de derrames; los resultados indicaron que las éfiras no presentan daño por exposición al petróleo, pero sí elevada mortandad al combinar los compuestos de petróleo con los dispersantes químicos.

En México, los trabajos sobre *Cassiopea* spp. se limitan a su distribución y variación de la densidad poblacional por estacionalidad. Estudios de medusas sobre acumulación o biomarcadores en relación a contaminantes ambientales no han sido generados, y menos aún sobre hidrocarburos aromáticos policíclicos. En la zona de estudio, se ha evaluado la presencia de HAPs únicamente por medio de su cuantificación en sedimentos y muestras de agua (Álvarez-Legorreta y Sáenz-Morales 2005; Botello et al. 1997; Noreña-Barroso, 1998). Asimismo Guzmán-Martínez (2009) estudió los efectos de fototoxicidad y riesgo ecológico del antraceno, benzo[α]pireno y fluoranteno en organismos de

diferentes Phyla incluyendo artrópodos, moluscos y cnidarios; encontrando sensibilidad a los hidrocarburos en conjunto con la radiación solar UV. Sin embargo, estos hidrocarburos no fueron detectados en la columna de agua.

En otras partes del mundo se ha acrecentado la preocupación por el efecto de los contaminantes sobre diferentes taxa. Al respecto, se han generado trabajos en los que se aborda el uso de biomarcadores como indicadores de respuesta al estrés oxidativo por HAP's en organismos marinos. Este es el caso de trabajos conducidos en peces como el de Jee y Kang (2005), quienes estudiaron la respuesta de GST y CAT en el lenguado *Paralichthys olivaceus*, encontrando un incremento en estos sistemas antioxidantes y diferencias en los tejidos hepático, renal y branquias ante la exposición a fenantreno. En otra especie de lenguado (*Solea senegalensis*), fue empleado por Oliva et al. 2010, encontrando correlaciones positivas entre la concentración de GST, GSH y GPx en el hígado y la concentración de naftaleno, pireno y fenentreno; así como con la concentración de estos HAPs en sedimento.

Tuvikene (1995) realizó un estudio en el que se reporta la respuesta de los peces ante los HAPs, incluyendo la descripción de procesos de bioacumulación, biotransformación y la respuesta de biomarcadores. Estas incluyeron a GST y GSH, así como los efectos particulares por tejido y órgano.

Grupos de invertebrados marinos también se han sometido a estudios ecotoxicológicos, en un trabajo conducido por Zhang et al. 2004, se cuantificó la respuesta del cladócero *Daphnia magna* ante la presencia de diésel por medio del incremento de GSH, GST, CAT, SOD, Se-GPx, GR y GSSG. Los autores obtuvieron una relación significativa para los tres primeros biomarcadores, por la exposición a la fracción soluble del compuesto.

Otro crustáceo sometido a pruebas de respuesta fisiológica ante la presencia de hidrocarburos y metales, es el cangrejo *Carcinus maenas*. En este trabajo, las concentraciones de los contaminantes se relacionaron positivamente con la síntesis de biomarcadores como GST, Acetilcolinesterasa y CAT. El estudio se realizó en dos sitios contaminados, encontrando variaciones entre ellos, entre la temporalidad y los tejidos de branquias y glándula digestiva (Ben-Khedher et al. 2013).

Los organismos más estudiados en ecotoxicología, han sido los bivalvos. Cheung et al. 2000 hicieron la exposición del mejillón *Perna viridis* a sitios contaminados, encontrando una respuesta positiva de la mayoría de los mecanismos antioxidantes a la presencia de HAPs; incluyendo GST y GSH. Las concentraciones fueron diferenciales por tejido, y la enzima GST guardó mejor relación con la concentración de contaminantes.

Por otro lado Richardson et al. 2008, expusieron a la misma especie de mejillón a una mezcla de HAP's y pesticidas organoclorados (OC's). Los biomarcadores medidos fueron GST, GSH, SOD, CAT, entre otros, teniendo la mayor respuesta para GST y CAT en tejido hepático.

Otros estudios sobre moluscos han sido documentados por Manduzio et al. 2005, quienes denotan la actividad de SOD, CAT, GSH y algunos biomarcadores más como respuesta a la presencia de HAPs y HAPs/PCB's (bifenil policlorados) en las especies *Perna viridis*, *Mytilus edulis* y *M. galloprovincialis*, *Saccostrea cucullata* y *Unio tumidus*.

Otro género analizado debido a la bioacumulación de contaminantes es *Crassostrea*. Los trabajos de Zanette et al. 2011 analizaron el efecto sinérgico de la salinidad y la vulnerabilidad a diésel en *C. gigas*, midiendo su efecto en los biomarcadores GST, CAT y MDA (Malondialdehído). Los organismos experimentaron un efecto positivo en la concentración de los biomarcadores ante la baja de salinidad y la exposición al

contaminante. Por otro lado, Lüchmann et al. 2011 analizaron la respuesta a diferentes biomarcadores como SOD, CAT, GST G6PDH, HSP60 y GGT en *C. brasiliensis*, encontrando la mejor respuesta en la glándula digestiva a GST y de HSP60 en tejidos de glándula digestiva y branquias.

Justificación

En la actualidad, los HAPs son ubicuos en el Caribe Mexicano y representan una amenaza siempre presente para la vida silvestre. Un grupo clave dentro de los ecosistemas acuáticos que puede aportar información valiosa del grado de contaminación en la región son las medusas. Estas pueden ser útiles en estudios ecotoxicológicos debido a su abundancia, rápido crecimiento, estrategia reproductiva y a la estabilidad de sus poblaciones que no requieren esquemas de protección.

En el estado de Quintana Roo, México, las medusas del Género *Cassiopea* spp, habitan tanto en sitios altamente contaminados como la Laguna Nichupté localizada en la ciudad turística de Cancún; como en sitios mejor conservados como lo es Bacalar Chico (localizado en la parte sur de Quintana Roo). Sin embargo, no se conocen los mecanismos de desintoxicación que les permiten mantener poblaciones prósperas en un ambiente contaminado.

Debido a esto, se evaluó si las medusas *Cassiopea* spp. que están expuestas a HAPs presentan mecanismos de desintoxicación que les permite evitar o reducir el estrés oxidativo causado por estos contaminantes. Adicionalmente se evaluó si este mecanismo responde de manera diferente de acuerdo al grado de exposición de los tejidos involucrados con la ingesta y metabolismo de los HAPs.

Preguntas de investigación

¿La síntesis de GST en la medusa invertida *Cassiopea* spp. está relacionada con el grado de contaminación por HAPs en el medio que viven, al funcionar como una estrategia contra el estrés oxidativo? Y si esto es así, ¿la acumulación de HAPs y la síntesis de GST es diferente por tipo de tejido, de acuerdo a su función fisiológica?

Hipótesis

- La concentración de HAPs en *Cassiopea* spp. será superior en el sitio más contaminado y por ende existirá mayor actividad del biomarcador GST.
- Existirá una correlación positiva entre la actividad del biomarcador GST y la concentración de HAPs.
- El tejido con mayor actividad de GST y concentración de HAPs serán los brazos orales en ambas localidades con diferente presión antropogénica, al ser el tejido encargado de la ingesta alimenticia en el que coexisten diferentes estructuras de alimentación.

Objetivo general

Evaluar la actividad de GST como biomarcador de exposición a HAPs en *Cassiopea* spp. en dos sitios con diferente grado de presión antropogénica.

Objetivos particulares

- Evaluar la concentración de HAPs en muestras de agua y sedimento de un sitio con bajo impacto antropogénico y otro altamente impactado, para caracterizar el grado de contaminación por hidrocarburos.

- Determinar la concentración de HAPs en cuatro tejidos de la medusa invertida para cada localidad de estudio.
- Cuantificar la actividad del biomarcador Glutación-S-Transferasa como parte del sistema de desintoxicación en cuatro tejidos de *Cassiopea* spp. para los dos sitios de estudio.
- Determinar si existen diferencias significativas en la concentración de HAPs y la síntesis de GST entre tejidos y localidades.
- Determinar si existe una relación significativa entre la síntesis de GST y concentración de HAPs por tipo de tejido en las medusas de cada localidad.

Metodología

Se analizó la concentración de HAPs y la actividad del biomarcador GST en la medusa invertida (*Cassiopea sp*), habitante del Caribe Mexicano. Para ello, se eligieron dos localidades en el norte y sur del estado de Quintana Roo, con diferente grado de presión antropogénica: a) Norte de Laguna Nichupté (LN) en Cancún, que recibe el impacto de una infraestructura hotelera que ofrece servicios dirigidos al turismo masivo de playa, incluyendo infraestructura de marinas y canales de navegación de embarcaciones menores, y b) Laguna Bacalar Chico (BC) en Xcalak, que es un sistema de canales que comunica a la Bahía de Chetumal con el Mar Caribe y en donde se practican algunas actividades de pesca deportiva, pero no existen asentamientos humanos (Figura 1). Debido a la dificultad para efectuar la identificación morfológica de las especies del género *Cassiopea*, los organismos de ambas localidades se disectaron de la misma forma y son referidos como *Cassiopea* spp.

Área de estudio

Laguna Bacalar Chico, Xcalak.-

Localizada al sureste de la Bahía de Chetumal. Este sistema lagunar presenta colindancia con el Parque Nacional “Bacalar Chico”, perteneciente a Belice, y con el Parque Nacional Arrecifes de Xcalak bajo jurisdicción mexicana. Bacalar Chico, es un sistema de canales delimitados por comunidades de manglar en el borde costero, y por pastos marinos en la porción marina. La hidrología de este sistema se rige por la temporalidad de la Bahía de Chetumal, teniendo tres épocas diferenciables: nortes, lluvias y secas. De acuerdo con Carrillo et al. 2009, la región experimenta una salinidad que va de 8-18 ups, temperatura de 24.5-31.0°C y un valor de oxígeno disuelto de 6.9-8.3 mg O₂ l⁻¹ de acuerdo con la variación estacional. En lo que respecta a la hidrología, debido a la naturaleza cárstica de la región existen afluentes de agua dulce proveniente del subsuelo que se infiltran fácilmente debido a la poca profundidad en el borde costero. La batimetría del sistema lagunar de Bacalar Chico, oscila alrededor de 1.5 m de profundidad (Grimshaw y Paz, 2004).

Laguna Nichupté, Cancún.-

Esta laguna se encuentra dentro del Sistema Lagunar Nichupté-Bojórquez, conformado por la laguna de Nichupté, Río Inglés, Somosaya y Laguna Bojórquez. Este sistema, es alimentado por la intrusión de agua salina proveniente del Mar Caribe, así como por afluentes subterráneos de agua dulce. Específicamente en el sitio donde se colectaron los organismos se ubicó una marina rodeada por edificios y centros comerciales, pero sin infraestructura hotelera adyacente. En el sistema, el gradiente de salinidad oscila entre 24-30 psu, mientras que la temperatura se encuentra entre 26-27.3°C y los valores de

oxígeno disuelto van de 1.5-13 mg O₂ l⁻¹. La profundidad máxima reportada es de 2 m. En lo que respecta a los ecosistemas presentes, esta laguna alberga manchones de pastos marinos y manglares a las orillas de los sistemas de canales (Carbajal-Pérez, 2004; Buenfil-Friedman, 2009).

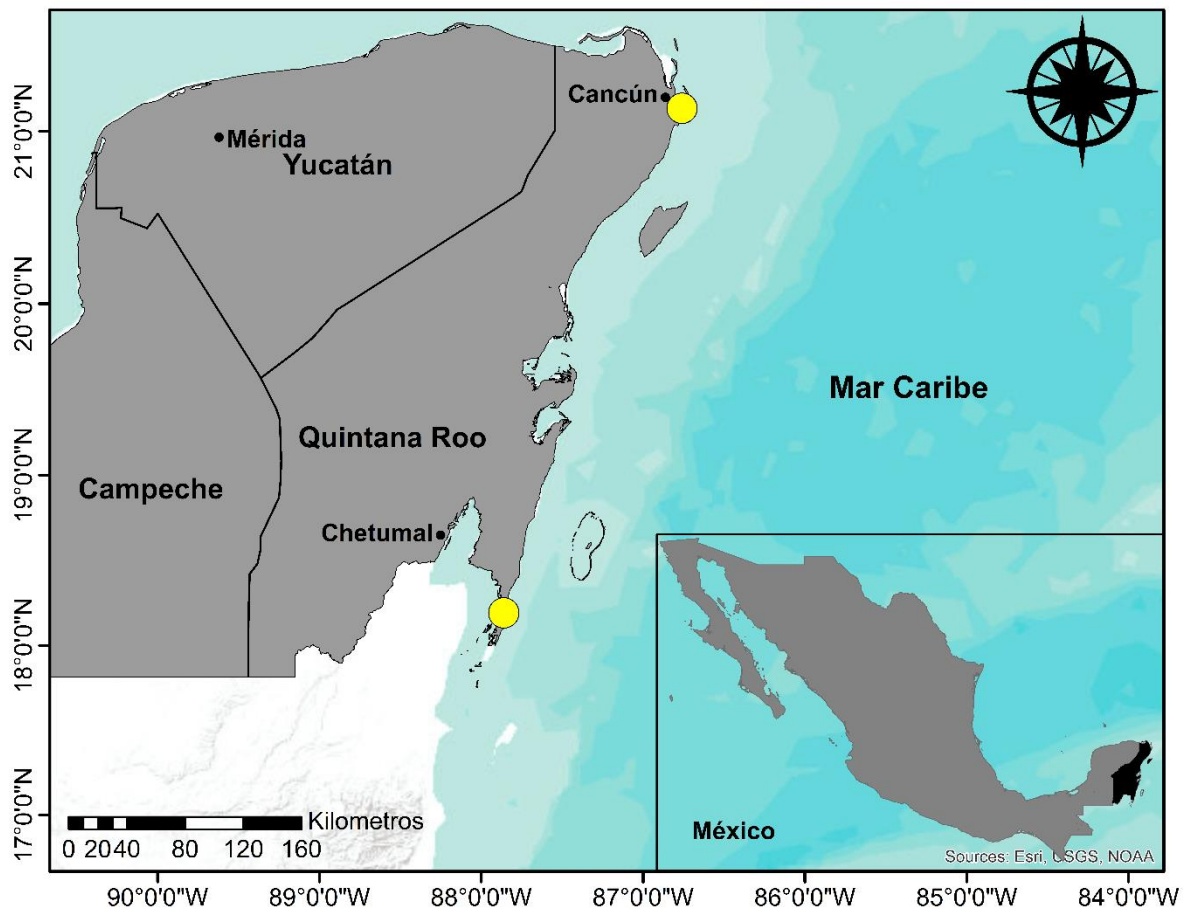


Figura 1. Área de estudio. Al norte Laguna Nichupté y al sur Laguna Bacalar Chico.

Trabajo de campo

En diciembre de 2016 se realizó una colecta al azar de 15 medusas por localidad. En BC estas fueron capturadas por medio de buceo libre a lo largo de cinco estaciones de muestreo (Figura 2). En LN los organismos se colectaron por medio de una red de mano en una única estación en la que se contruyó una marina (Figura 3), debido a la ausencia de organismos en las coordenadas geográficas registradas en la literatura para este

Género (Collado et al. 1998; Espinosa-Bouchot, 2011). Debido a la poca documentación de la biología básica de estos organismos incluyendo la estacionalidad y movimientos migratorios de las poblaciones, en varios puntos de la laguna se hicieron rastreos desde embarcaciones tanto diurnos (alrededor de medio día para favorecer la visibilidad con la luz solar) y nocturnos, en los cuales se emplearon lámparas de luz de alto alcance para lograr ver el fondo. El rastreo por medio de buceo se imposibilitó debido a las condiciones ecológicas de la laguna, la escasa visibilidad, la presencia de cocodrilos y la contaminación de la misma. A pesar de este esfuerzo no se lograron encontrar poblaciones de *Cassiopea* en puntos adicionales.

Los organismos capturados en ambos sitios se transportaron vivos en una hielera con agua del sitio, para su inmediata disección.



Figura 2. Estaciones de muestreo en Bacalar Chico.

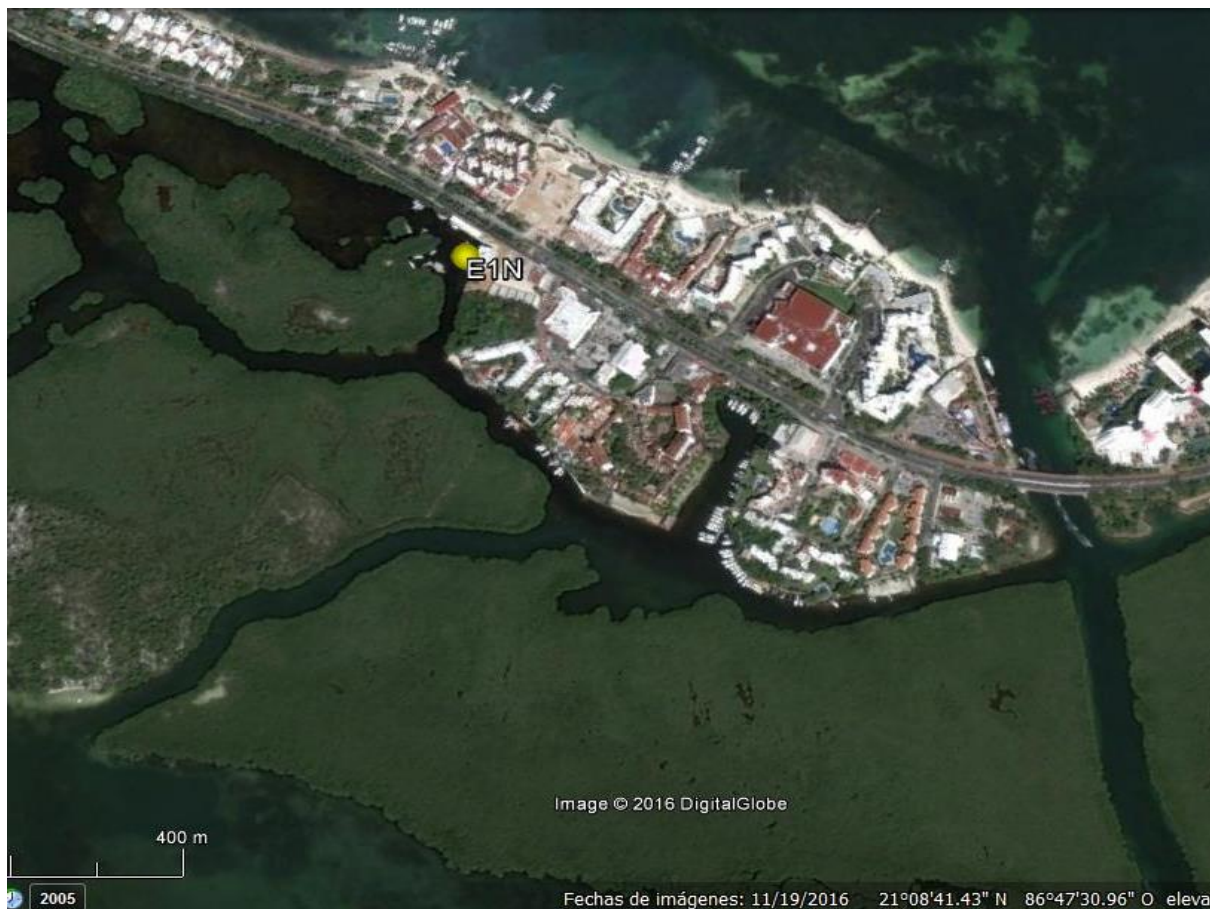


Figura 3. Estación de muestreo en Laguna Nichupté.

De forma complementaria, en cada una de las estaciones de colecta de organismos, se tomaron muestras de sedimentos por medio de una draga de acero inoxidable; y se hicieron colectas de agua con ayuda de una botella de cristal de 4 l. Finalmente, se realizó la toma de parámetros físicoquímicos del agua *in situ*, por medio de una sonda multiparamétrica HORIBA U-10. En el caso de BC, el muestreo se constituyó de 5 estaciones, mientras que en LN sólo se condujo 1 estación.

Las muestras de agua y sedimentos, se conservaron en frascos de vidrio para ser transportados en frío dentro de hieleras.

Todo el material empleado para la colecta, almacenamiento y análisis de las muestras fue lavado previamente por medio de solventes grado cromatográfico. Todos los

procedimientos se condujeron en el laboratorio de Química de ECOSUR-Unidad Chetumal.

Laboratorio

Disección de los organismos.-

Una vez en el laboratorio, se midió la talla de la umbrela de los organismos colectados; esta osciló entre 11 y 23 cm de diámetro y se procedió a su disección.

Cada medusa fue dividida en cuatro tejidos diferenciables fisiológica y morfológicamente, correspondiendo a: gastrodermis, gónadas, brazos orales (zooxantelas), apéndices vesiculares (vesículas) (Figura 4). La gastrodermis es una capa fina de tejido que se separó eficazmente del cuerpo de la medusa por desprendimiento. Las gónadas fueron el tejido más fácilmente extraído debido a su compartimentalización dentro de la umbrela. Por otro lado, las vesículas se extrajeron una por una de la medusa para evitar que la muestra se contaminara con otro tejido del organismo. Los brazos orales se diseccionaron cortando la zona apical de estos, en el documento se referirá como zooxantelas ya que estas fueron el tejido predominante en los cortes realizados, además de bocas secundarias y tejido de mesoglea.

El análisis de GST se condujo en 112 muestras de los cuatro diferentes tejidos que constaron de brazos orales (28), gastrodermis (28), gónadas (25) y vesículas (29). La cuantificación de HAPs se llevó a cabo en 92 muestras que estuvieron constituidas por 27 de gastrodermis, 14 de gónadas, 22 de vesículas y 28 de brazos orales.

La elección de estos tejidos se basó en un análisis prospectivo de la actividad del biomarcador Glutación-S-Transferasa, eligiendo aquellas regiones con mayor respuesta

de la enzima; cabe mencionar que las de menor respuesta y omitidas de los análisis fueron aquellas regiones compuestas únicamente por mesoglea (como la umbrela). Las muestras de tejido para cuantificación del biomarcador GST, se mantuvieron a -60°C hasta su procesamiento; mientras que aquellas para la cuantificación de HAP's fueron etiquetadas y congeladas a -20°C para posteriormente ser secadas en la liofilizadora LABCONCO-FreeZone 4.5®, durante 24 h. Así, las extracciones de HAPs se estandarizaron a microgramos por gramo de peso seco ($\mu\text{g/g}$ PS).

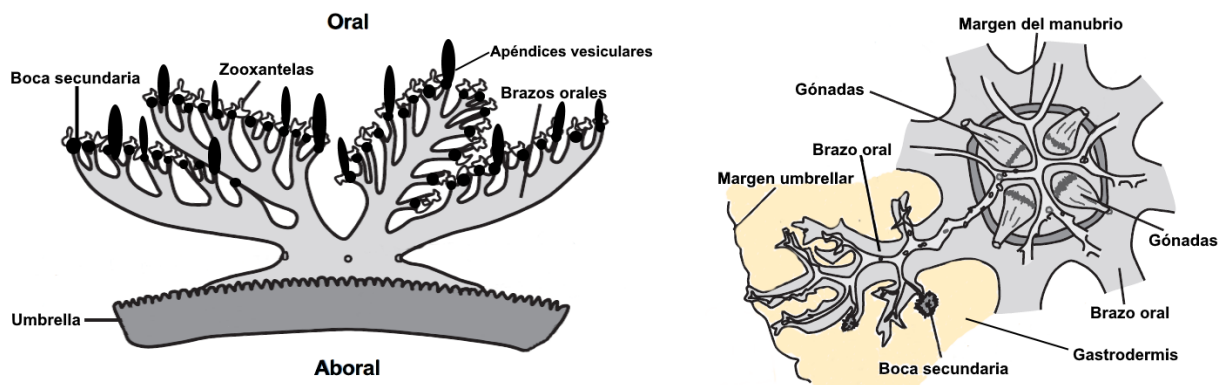


Figura 4. Estructuras morfológicas de *Cassiopea* spp. vista longitudinal a la izquierda, y corte transversal de la umbrela a la derecha. Modificado de Hamlet et al. 2011.

Cuantificación de HAPs en tejido.-

La concentración de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en tejidos se cuantificó siguiendo la metodología de CARIPOL/IOCARIBE (1986). Se analizaron 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos definidos por la Agencia de Protección al Ambiente Estadounidense (USEPA, por sus siglas en inglés) como de toxicidad prioritaria: naftaleno, acenafteno, acenaftileno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo[a]antraceno, criseno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k,j]fluoranteno, benzo[a]pireno,

indeno[1,2,3]pireno, dibenzo[a,h]antraceno, y benzo[g,h,i]perileno. Se empleó el estándar SUPELCO EPA-610.

La extracción de los compuestos se hizo por medio de solventes orgánicos grado HPLC. Todas las muestras fueron pesadas previo a la digestión del tejido. Para el proceso de digestión, la muestra se mantuvo por 18 h en 15 ml de una solución de NaOH 6N. Una vez transcurrido el tiempo se hizo la separación de los compuestos por medio de un embudo de separación con 50 ml de etiléter. El extracto se colectó en un matraz bola y se concentró en un rotavapor a un volumen de 3 ml.

Las muestras fueron purificadas en columnas cromatográficas, empacadas en húmedo con 8 g de sílice, 8 g de alúmina neutral, 0.5 cm de sulfato de sodio anhidro y 10 ml de hexano para adecuar la polaridad de la columna. Posterior a esto, se adicionaron los 3 ml de muestra.

La fracción alifática de hidrocarburos se obtuvo haciendo pasar 20 ml de hexano a través de la columna; mientras que los HAP's se obtuvieron por medio de dos soluciones de hexano (HEX)/diclorometano (DCM); la primera correspondió a 20 ml de HEX/DCM (9:1, v/v) y la segunda a 40 ml de HEX/DCM (8:2, v/v). Ambas fracciones fueron colectadas en matraces bola, se llevaron a concentración de 3 ml y se envasaron en viales ámbar de 4ml. Estos se llevaron a sequedad para ser redisueltos con 1 ml de hexano inmediatamente antes de su inyección en un cromatógrafo de gases.

La cuantificación se realizó por medio de un cromatógrafo de gases con Detector de Ionización de Flama (Agilent 7890A) equipado con una columna capilar (30 m y 25 mm i.d.). La temperatura del inyector y detector fueron fijadas a 260°C y 275°C, respectivamente. La temperatura de la columna fue elevada de 60°C a 240°C a un

intervalo de $10^{\circ}\text{Cmin}^{-1}$ durante 21 min, y se incrementó a 280°C con intervalos de $4^{\circ}\text{Cmin}^{-1}$ por 21 min, reteniéndose por 3 min.

Finalmente, se llevó a cabo la identificación de los picos individuales de la fracción de HAPs presentes en la muestra, y se realizaron los cálculos de su concentración.

Cuantificación de HAPs en sedimento.-

Los análisis se realizaron en muestras de sedimentos liofilizados, y pasados por un tamiz de $500\ \mu\text{m}$. Los HAPs se cuantificaron por el método de CARIPOL-IOCARIBE (1986). Se analizaron los mismos 16 HAP's enmarcados por la EPA, y se empleó el mismo estándar SUPELCO EPA-610. Este método fue estandarizado al igual que los tejidos a microgramos de HAPs por gramo de peso seco ($\mu\text{g/g PS}$).

Para el análisis, se pesaron $\sim 6\ \text{g}$ de muestra que se colocaron en dedal para la extracción de los compuestos en un equipo Soxhlet. Para cada muestra se utilizó un matraz bola con 150 ml de metanol, 3 g de hidróxido de potasio y dos perlas de vidrio.

El extracto de metanol se depositó en embudos de separación equipados con una llave de teflón, al que se le adicionaron 25 ml de hexano, se agitó por 2 min y se recuperó el hexano en un matraz bola. Este procedimiento se efectuó dos veces. La muestra recuperada se concentró a 3 ml y se adicionaron 0.5 g de sulfato de sodio anhidro para eliminar trazas de agua.

Los compuestos fueron purificados en una columna cromatográfica elaborada a partir de una pipeta Pasteur. Esta fue equipada con un tapón de fibra de vidrio, 5 cm de alúmina activada a 200°C por 12 h y 0.5 cm de sulfato de sodio anhidro. Previo a la adición de la muestra, la columna fue lavada con 6 ml de hexano que se desecharon. La extracción de las fracciones de hidrocarburos se hizo por medio de 8 ml de hexano para el caso de los

alifáticos y 4 ml de una solución de HEX:DCM (7:3, v/v) adicional a 4 ml de DCM para los hidrocarburos aromáticos policíclicos. Cada fracción se colectó en viales que fueron llevados a sequedad, para posteriormente ser redisueltos con 0.5 ml de hexano antes de su inyección en el cromatógrafo de gases, con las mismas condiciones mencionadas en la sección anterior.

Como análisis complementario se hizo la cuantificación de materia orgánica en los sedimentos colectados, para ello se empleó el método por calcinación.

Cuantificación de HAPs en agua.-

La extracción de los hidrocarburos se hizo a partir de 100 ml de hexano en los 4 l de agua colectados en campo. El hexano se transfirió a frascos de vidrio para su transporte en frío; una vez en el laboratorio se extrajo el agua restante en la muestra. Posteriormente, el hexano se transfirió a matraces bola y se concentró a 3 ml. La purificación, identificación y cuantificación de HAPs se realizó siguiendo el mismo procedimiento descrito para sedimentos; y los resultados se reportaron en nanogramos por litro (ng/l).

Cuantificación del biomarcador.-

La cuantificación de Glutathión-S-Transferasa (GST) se llevó a cabo por el método de Habig et al. (1974) adaptado al método espectrofotométrico. Las muestras de tejido preservadas en viales dentro de un ultracongelador se descongelaron, para inmediatamente agregar 1 ml de solución buffer (fosfato de potasio pH=6.5, 0.1 M); y ser homogeneizadas por 20 segundos mediante un homogeneizador de tejidos. Posteriormente, las muestras se centrifugaron en una microcentrífuga a 12000 rpm

durante 30 min a 4°C y transcurrido el tiempo, la alícuota se separó y se colocó en nuevos viales.

Los viales se mantuvieron en contenedores con hielo durante todo el proceso, y se cuantificó la cantidad de proteínas presentes en cada muestra, ya que la cuantificación de GST se estandarizó a miligramos por gramos de proteína para cada muestra (mg/g). La cantidad de proteínas fue estimada por el método de Bradford (1974), empleando el kit Bio-Rad Protein Assay (BIORAD) y albúmina sérica bovina como estándar.

Una vez conocida la cantidad de proteínas, todas las muestras se estandarizaron a 0.5 mg/ml de proteína, diluyendo aquellas en las que se sobrepasó la concentración requerida.

Una vez estandarizada la cantidad de proteínas se preparó la solución buffer y la solución de reacción. La solución de reacción se constituyó por un buffer, (fosfato de potasio pH=6.5, 0.1 M); enzima GSH (L-Glutathione reduced Sigma-Aldrich®) y el reaccionante 1-Chloro-2,4-Dinitrobenzeno (CDNB).

Posteriormente se procedió a hacer la lectura de la concentración de GST, para lo cual se emplearon celdas de cuarzo a las que se les adicionaron 1 ml de solución de reacción y 0.2 ml de muestra. La concentración del biomarcador fue leída en un espectrofotómetro Genesys 10uv Thermo®.

Análisis estadísticos

Para explorar las diferencias estadísticamente significativas entre sitios, tejidos e hidrocarburos aromáticos policíclicos individuales, se realizaron Análisis de Varianza (ANDEVA) para comparar las concentraciones obtenidas tanto para HAPs como para GST.

Los ANDEVA también se realizaron en cada sitio, con el fin de conocer si existen diferencias entre tejidos y/o compuestos individuales.

Por otro lado, para conocer el grado en el que se relaciona la actividad del biomarcador GST con concentración de los HAPs se generaron modelos de correlación empleando el método de Spearman, calculando también la probabilidad de significancia. De la misma forma que para los ANDEVA, este modelo se exploró por sitio, tejido e hidrocarburo individual. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo en el programa R-studio.

Resultados

La colecta de *Cassiopea* spp. se llevó a cabo en diciembre de 2016. La caracterización de los sitios se reporta en promedio (\bar{x}) para el caso de BC, ya que las muestras procesadas correspondieron a 5 sitios; mientras que para LN el resultado se basó en un sólo sitio.

Los organismos colectados midieron entre 14 y 23 cm de diámetro para Bacalar Chico (BC) y de 11-23 cm para Laguna Nichupté (LN). Las variables fisicoquímicas entre los sitios fueron similares. En BC se registró una temperatura de $28.5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.9$, un pH de 8 ± 0.2 , el oxígeno disuelto fue de $9.8\text{ mg/l} \pm 0.2$, la salinidad de $38 \pm 0.1\text{ ppm}$ y la materia orgánica de $11.99\% \pm 2.66$. Para LN la temperatura fue de $28.2\text{ }^{\circ}\text{C}$, el pH de 8.4, el oxígeno disuelto de 5.5 mg/l , la salinidad de 31 ppm y la materia orgánica de 8.14% . LN, presenta 4 mg/l menos de oxígeno disuelto que para BC. En contraste, LN tuvo menores valores para materia orgánica en sedimentos que BC.

Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs)

a) Agua

En la laguna de Bacalar Chico, se procesaron las muestras de 4 estaciones únicamente, ya que durante el procedimiento se perdió el material del primer sitio. En las muestras se detectaron 4 hidrocarburos aromáticos policíclicos en diferentes concentraciones, correspondiendo a acenaftileno (3.08 ng/l), fluoranteno (2.5 ng/l \pm 1.04), benzo(a)pireno (5.37 ng/l \pm 3.76) e indeno(123cd)pireno (3.4 ng/l). En contraste, para LN sólo se detectaron dos compuestos, el benzo(a)pireno (2.64 ng/l) y fluoranteno (4.12 ng/l) (Tabla I). Con respecto a la concentración total cuantificada de HAPs en agua, para BC se obtuvo un valor promedio de 8.88 ng/l \pm 4.08 y para LN fue de 6.75 ng/l.

Los análisis estadísticos para identificar diferencias entre sitios no fueron significativos; esta prueba se condujo con los valores obtenidos para el fluoranteno y benzo(a)pireno, únicos HAPs compartidos entre sitios y para la concentración total entre sitios. En todos los casos se obtuvo una $p > 0.4$.

La concentración de HAPs en agua fue superior para BC, que tuvo cuatro estaciones. Sin embargo la interpretación de los resultados debe hacerse de forma cuidadosa, ya que el estado de cada estación ya sea en BC o LN, no refleja las condiciones del sistema costero completo. Por otro lado, debe notarse que el patrón de contaminación por hidrocarburos es diferente para cada sitio.

En BC en 3 de las 4 estaciones se encontraron concentraciones elevadas de benzo(a)pireno (5.37 ng/l \pm 3.76, PM=252.3) con respecto a la concentración de este hidrocarburo en LN (2.64 ng/l). Sin embargo, en LN se cuantificó la concentración más elevada de fluoranteno (PM=202.3) de todas las estaciones muestreadas (Tabla I).

Tabla I. Concentración de HAPs individuales detectados en la matriz de agua (ng/l) para las estaciones de BC y LN. En la última columna se presenta la concentración promedio de los HAPs totales detectados para las 4 estaciones muestreadas en BC.

HAPs (ng/l)	BC E2	BC E3	BC E4	BC E5	LN E1	HAPs totales para BC
Acenaftileno				3.09		3.09
Fluoranteno		3.63	2.3	1.57	4.12	2.5±1.04
Benzo(a)pireno	4.85	8.18	7.21	1.25	2.64	5.37±3.76
Indeno(123cd)pireno		3.43				3.43

b) Sedimentos

Se detectaron 15 compuestos para BC y 4 para LN (Tabla II). En BC las mayores concentraciones promedio correspondieron a los hidrocarburos benzo(a)antraceno con $3.219 \mu\text{g/g} \pm 5.61$, benzo(a)pireno con $0.218 \mu\text{g/g} \pm 0.140$ y benzo(k)fluoranteno con $0.100 \mu\text{g/g} \pm 0.142$. Para LN se detectaron los compuestos benzo(a)antraceno ($0.707 \mu\text{g/g}$), criseno ($0.014 \mu\text{g/g}$), benzo(a)pireno ($0.009 \mu\text{g/g}$) e indeno(123cd)pireno ($0.032 \mu\text{g/g}$). En todos los casos, las concentraciones de HAPs fueron inferiores en las muestras colectadas dentro de LN (Tabla II).

En BC, se cuantificó una concentración promedio para HAPs totales de $3.66 \mu\text{g/g} \pm 5.83$ en peso seco y $0.76 \mu\text{g/g}$ de peso seco para LN. Es importante mencionar que para BC el hidrocarburo que ocasionó una alta concentración de los compuestos totales, fue el benzo(a)antraceno, ya que en una estación se cuantificaron $13.09 \mu\text{g/g}$ y para otra $2.46 \mu\text{g/g}$, elevando el resultado final.

A pesar de las diferencias en la concentración de HAPs entre los sitios, no hubieron diferencias significativas entre sitios ($p=0.67$) ni entre las concentraciones de hidrocarburos individuales ($p<0.2$).

Tabla II. Concentración de HAPs individuales detectados en sedimentos y concentración promedio de los HAPs totales ($\mu\text{g/g}$, peso seco) para las BC y LN. En negritas se presentan los valores detectados sólo en una estación. Se presenta desviación estándar.

HAPs ($\mu\text{g/g}$)	BC E1	BC E2	BC E3	BC E4	BC E5	LN E1	HAPs totales para BC
Naftaleno	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
Acenaftileno	0.017	0.045	ND	0.007	ND	ND	0.023 \pm 0.020
Acenafteno	ND	ND	ND	0.009	ND	ND	0.009
Fluoreno	ND	0.008	0.009	ND	ND	ND	0.008 \pm 0.001
Fenantreno	0.006	0.030	ND	ND	ND	ND	0.018 \pm 0.017
Antraceno	ND	0.119	0.135	0.060	0.009	ND	0.081 \pm 0.058
Fluoranteno	0.009	0.009	0.002	ND	ND	ND	0.007 \pm 0.004
Pireno	0.020	0.036	ND	ND	ND	ND	0.028 \pm 0.011
Benzo(a)antraceno	0.313	13.097	2.466	0.191	0.025	0.707	3.219 \pm 5.611
Criseno	ND	0.032	0.025	ND	ND	0.014	0.028 \pm 0.005
Benzo(b)fluoranteno	ND	ND	0.010	0.013	ND	ND	0.011 \pm 0.002
Benzo(k)fluoranteno	ND	0.010	0.264	0.026	ND	ND	0.100 \pm 0.142
Benzo(a)pireno	0.091	0.454	0.183	0.218	0.144	0.009	0.218 \pm 0.140
Benzo(ghi)perileno	0.060	ND	ND	ND	ND	ND	0.060
Dibenzo(ah)antraceno	0.026	0.014	ND	ND	ND	ND	0.02 \pm 0.009
Indeno(123cd)pireno	ND	0.045	0.024	0.024	0.043	0.032	0.034 \pm 0.012

ND: No Detectado

c) Concentración de HAPs en tejidos

Laguna Bacalar Chico.-

La concentración de HAPs en los tejidos (122.86 $\mu\text{g/g}$ \pm 78.85) en BC fue mayor en comparación con las concentraciones obtenidas en agua y sedimentos.

Las gónadas tuvieron la mayor concentración de HAPs (136.45 $\mu\text{g/g}$ \pm 71.16), seguido por las zooxantelas (134.73 $\mu\text{g/g}$ \pm 61.18). La menor concentración de HAPs en tejido se encontró en las vesículas (115.40 $\mu\text{g/g}$ \pm 116.47) y la gastrodermis (104.66 $\mu\text{g/g}$ \pm 55.51) con menores valores (Tabla III).

Tabla III. Concentración de los HAPs totales ($\mu\text{g/g}$) en las muestras de tejido colectadas en Laguna Bacalar Chico por cada organismo y tejido. En la última fila y en negritas se presenta el promedio de concentración de HAPs totales por tejido.

Tejidos Laguna Bacalar Chico

	Gastrodermis($\mu\text{g/g}$)	Gónadas($\mu\text{g/g}$)	Vesículas($\mu\text{g/g}$)	Zooxantelas($\mu\text{g/g}$)
Medusa1	42.83	66.29	87.56	106.31
Medusa2	67.04	74.10	57.34	146.03
Medusa3	223.82	233.78	40.80	84.32
Medusa4	159.55	180.56	449.83	204.12
Medusa5	SM	149.75	40.67	97.79
Medusa6	86.08	146.99	SM	165.41
Medusa7	123.35	241.68	181.80	185.84
Medusa8	45.58	SM	97.17	137.06
Medusa9	169.65	201.42	89.13	134.01
Medusa10	67.74	56.78	48.16	217.68
Medusa11	65.73	53.76	105.13	57.08
Medusa12	111.13	SM	48.37	15.83
Medusa13	93.38	SM	25.15	223.39
Medusa14	SM	SM	229.23	SM
Medusa15	SM	95.85	SM	111.30
Promedio				
HAPS				
totales	104.66\pm55.51	136.45\pm71.16	115.40\pm116.47	134.73\pm61.18

SM: Sin Muestra

Respecto a la identificación de los compuestos individuales en los tejidos, se lograron identificar 4 HAPs como los predominantes para los 4 tejidos analizados; correspondiendo al antraceno, fluoranteno, pireno y fluoreno. En la Figura 5 se observan como las barras más altas.

Debido a la naturaleza química de los hidrocarburos, así como a los patrones de distribución que siguen una vez que entran en contacto con el medio biótico, la predominancia y concentración de cada compuesto varió dependiendo del tejido. En gastrodermis, la concentración del 81% de los HAPs totales estuvo dada por 7 compuestos (antraceno, fluoranteno, pireno, fenantreno, fluoreno, benzo(k)fluoranteno y benzo(a)antraceno), sin embargo sólo el fenantreno, antraceno y pireno aparecieron en el 100% de las muestras. Para las gónadas, el 85% de la concentración total estuvo dada también por 7 compuestos (antraceno, indeno(123cd)pireno, fenantreno, benzo(a)pireno, fluoranteno, pireno y fluoreno); en éste tejido el fenantreno y antraceno fueron los únicos hidrocarburos presentes en todas las muestras analizadas. En lo que respecta a las vesículas, el 84% se conformó por 7 compuestos (dibenzo(ah)antraceno, antraceno, benzo(a)pireno, fluoranteno, pireno, criseno y fluoreno), de los cuales únicamente el fluoranteno apareció en el 100% de las muestras. Para las zooxantelas, el 84% del total se conformó por 6 compuestos (fluoranteno, antraceno, benzo(a)pireno, fluoreno, fenantreno y benzo(k)fluoranteno). Este tejido fue el que tuvo el mayor número de HAPs presentes en el 100% de las muestras, los cuales correspondieron al acenaftileno, fluoreno, fenantreno y benzo(a)pireno.

En general, los compuestos menos presentes o no detectados fueron el naftaleno y benzo(k)fluoranteno (Figura 6). El listado de los HAPs se hizo en orden de mayor a menor concentración, para evidenciar la prevalencia de un compuesto específico para cada tejido.

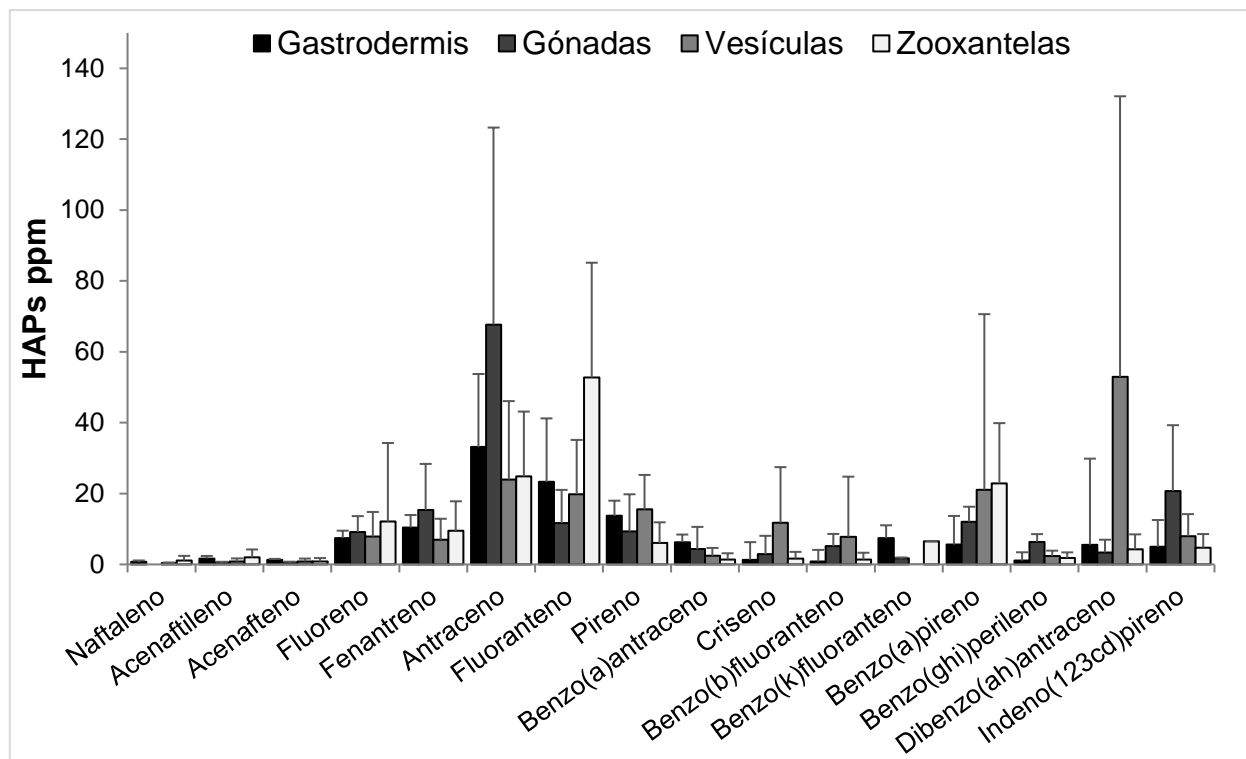


Figura 5. Concentraciones promedio de los HAPs individuales (ppm peso seco) en los tejidos de *Cassiopea* spp. colectadas en Bacalar Chico.

Así, la concentración de los HAPs varió de acuerdo al tejido. Algunos predominaron en el tejido graso (gónadas) y otros en los tejidos fotosintéticos (vesículas/zooxantelas). En gastrodermis, el tejido encargado de la ingesta alimenticia, la concentración predominante correspondió al antraceno ($33.12 \mu\text{g/g} \pm 27.94$), y fluoranteno ($23.3 \mu\text{g/g} \pm 17.59$). Las gónadas tuvieron mayor concentración de antraceno ($67.7 \mu\text{g/g} \pm 55.6$) e Indeno(123cd)pireno ($20.69 \mu\text{g/g} \pm 18.69$ PS), es importante notar que la concentración de antraceno fue casi el doble en el tejido graso de gónadas que para gastrodermis.

Por su parte, las vesículas exhibieron concentraciones notables de dibenzo(ah)antraceno ($52.94 \mu\text{g/g} \pm 79.19$) y antraceno ($23.95 \mu\text{g/g} \pm 22.14$); mientras que en las zooxantelas se cuantificaron cantidades superiores de fluoranteno ($52.76 \mu\text{g/g} \pm 32.39$) y antraceno ($24.86 \mu\text{g/g} \pm 18.28$). En el caso de las zooxantelas la cantidad de fluoranteno fue superior

y la de antraceno menor, en comparación con aquella detectada para gastrodermis y el resto de los tejidos (Figura 6).

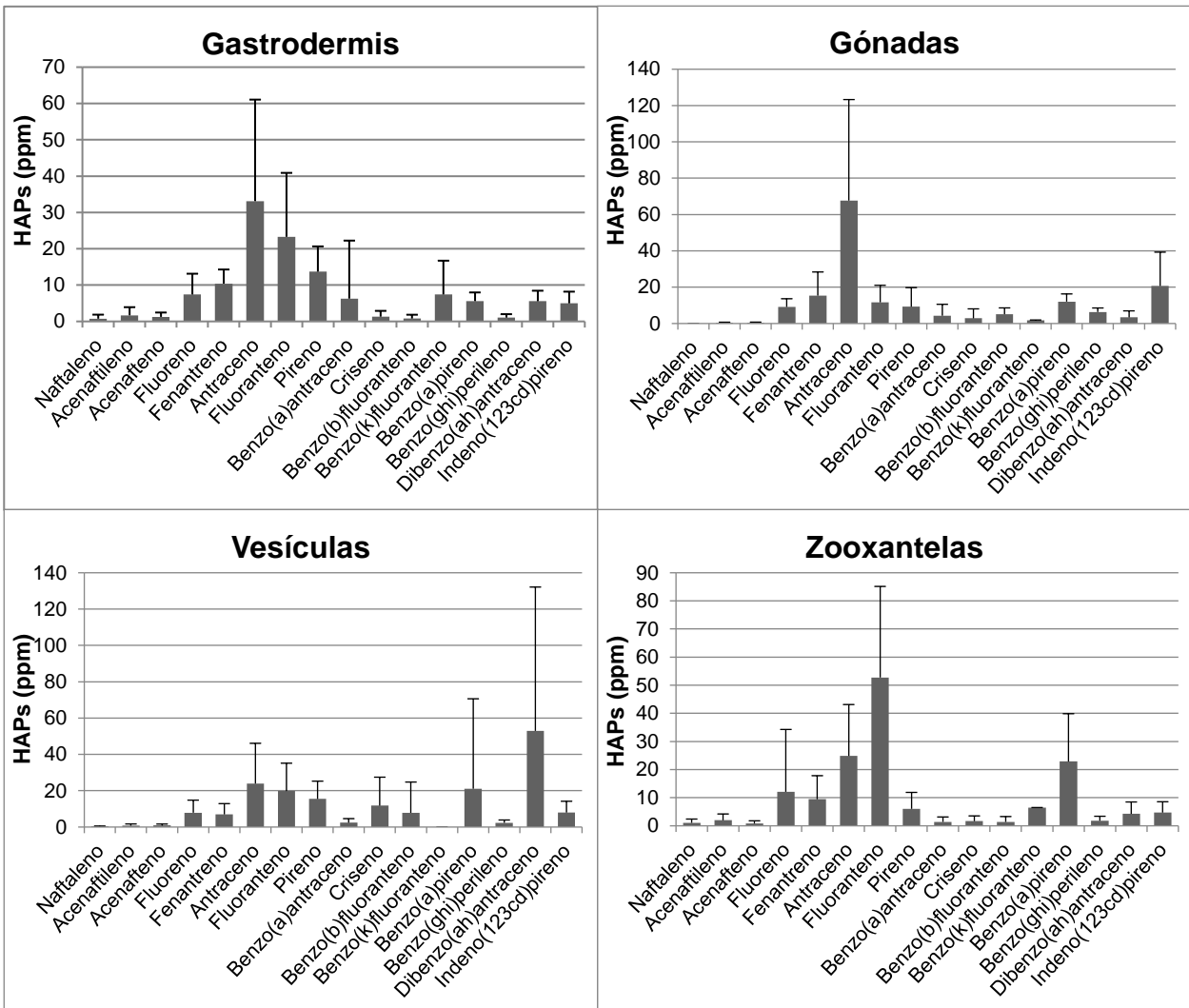


Figura 6. Hidrocarburos aromáticos policíclicos individuales (ppm peso seco), cuantificados en los tejidos de *Cassiopea* spp. de Laguna Bacalar Chico.

Laguna Nichupté.-

La cuantificación de HAPs en los tejidos fue de $145.98 \pm 124 \mu\text{g/g}$. Con respecto a la separación por tejido. La mayor concentración de HAPs se encontró en zooxantelas ($172.66 \pm 131.04 \mu\text{g/g}$), mientras que las menores concentraciones estuvieron en

gastrodermis ($155.32 \pm 144.80 \mu\text{g/g}$), gónadas ($136.76 \pm 38.33 \mu\text{g/g}$) y vesículas ($91.96 \pm 84.82 \mu\text{g/g}$) (Tabla IV).

Tabla IV. Concentración de los HAPs totales ($\mu\text{g/g}$, peso seco) en las muestras de tejido colectadas en Laguna Nichupté por cada organismo y tejido.

	Gastrodermis	Gónadas	Vesículas	Zooxantelas
Medusa1	43.86	SM		304.31
Medusa2	568.37	171.29	247.12	106.65
Medusa3	51.07	SM	64.10	SM
Medusa4	23.01	SM	16.31	162.42
Medusa5	64.55	SM	40.06	22.41
Medusa6	13.08	SM	84.48	50.44
Medusa7	124.75	SM	38.71	90.74
Medusa8	117.60	SM	225.96	123.55
Medusa9	160.89	SM	SM	62.02
Medusa10	150.57	143.48	SM	128.61
Medusa11	342.36	95.51	35.74	335.83
Medusa12	211.68	SM	SM	254.56
Medusa13	221.22	SM	75.16	133.80
Medusa14	173.27	SM	SM	145.20
Medusa15	63.56	SM	SM	496.75
Promedio HAPS totales	155.32±144.8	136.76±38.33	91.96±84.82	172.66±131.04

SM: Sin Muestra

Antraceno y fluoranteno fueron los compuestos detectados en mayor concentración en todos los tejidos analizados. Como en Bacalar Chico, la predominancia de compuestos en las medusas de Nichupté, varió de acuerdo al tejido. Así, en la gastrodermis los hidrocarburos fluoranteno, antraceno, pireno, fenantreno, dibenzo(ah)antraceno, fluoreno

y criseno comprendieron el 83% de la concentración total de HAPs; en donde el fluoreno, fenantreno y pireno fueron cuantificados en el 100% de las muestras.

En el caso de las gónadas los compuestos antraceno, benzo(a)pireno, benzo(a)antraceno, fluoranteno, fenantreno, criseno y benzo(b)fluoranteno constituyeron el 85% del total de HAPs. En las 3 muestras obtenidas de este tejido, se cuantificó el mayor número de HAPs que fueron detectados en el 100% de las muestras (10 compuestos), correspondiendo a acenaftileno, fluoreno, fenantreno, antraceno, pireno, benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(ghi)perileno e indeno(123cd)pireno.

Para las vesículas, 7 HAPs representaron el 85% de la cantidad total registrada de estos contaminantes correspondiendo a dibenzo(ah)antraceno, indeno(123cd)pireno, antraceno, fluoreno, criseno, fluoranteno y pireno. Para este tejido, ningún compuesto estuvo presente en la totalidad de las muestras; el porcentaje más alto de aparición correspondió al antraceno que se detectó en el 89% de las muestras. Es importante mencionar que el dibenzo(ah)antraceno aportó la mayor concentración del total para este tejido, y tuvo bajas concentraciones entre los demás tejidos.

Por otro lado, el indeno(123cd)pireno tuvo el segundo lugar en concentración relativa. Finalmente, en las vesículas el 84% de los HAPs lo constituyeron el fluoranteno, antraceno, pireno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, fluoreno, dibenzo(ah)antraceno y benzo(a)antraceno (Figura 7). Los HAPs detectados en el 100% de las muestras, correspondieron a fluoreno, fenantreno, antraceno, pireno e indeno(123cd)pireno.

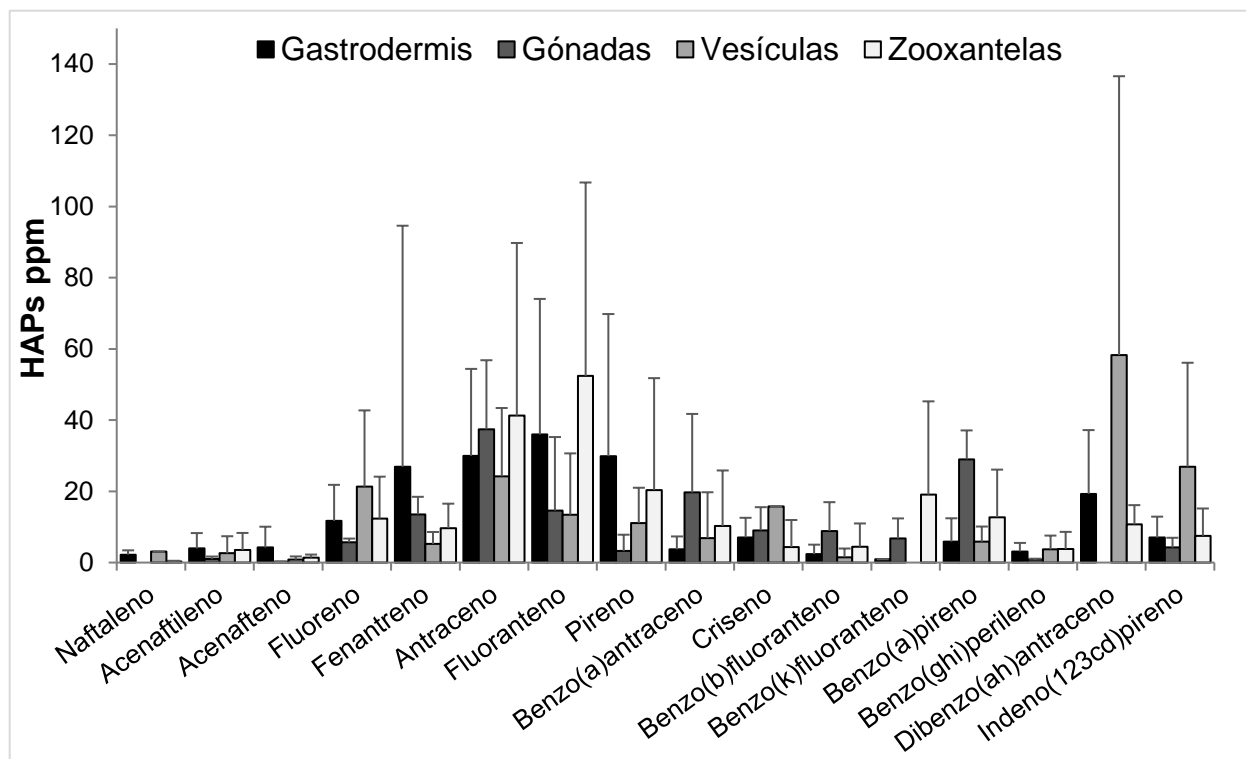


Figura 7. Concentraciones promedio de los HAPs individuales (ppm, peso seco) en los tejidos de *Cassiopea* spp. colectadas en Laguna Nichupté.

Respecto a los compuestos que se detectaron para LN, las mayores concentraciones en gastrodermis correspondieron al fluoranteno ($35.96 \mu\text{g/g} \pm 38.08$) y antraceno ($29.96 \pm 24.42 \mu\text{g/g}$); antraceno ($37.42 \pm 19.40 \mu\text{g/g}$) y benzo(a)pireno ($29 \pm 8.12 \mu\text{g/g}$) para gónadas, dibenzo(ah)antraceno ($58.24 \pm 78.33 \mu\text{g/g}$) e indeno(123cd)pireno ($26.93 \pm 29.18 \mu\text{g/g}$) en el caso de vesículas y zooxantelas tuvieron mayores concentraciones el fluoranteno ($52.42 \pm 54.32 \mu\text{g/g}$) y antraceno ($41.26 \pm 48.48 \mu\text{g/g}$) (Figura 8).

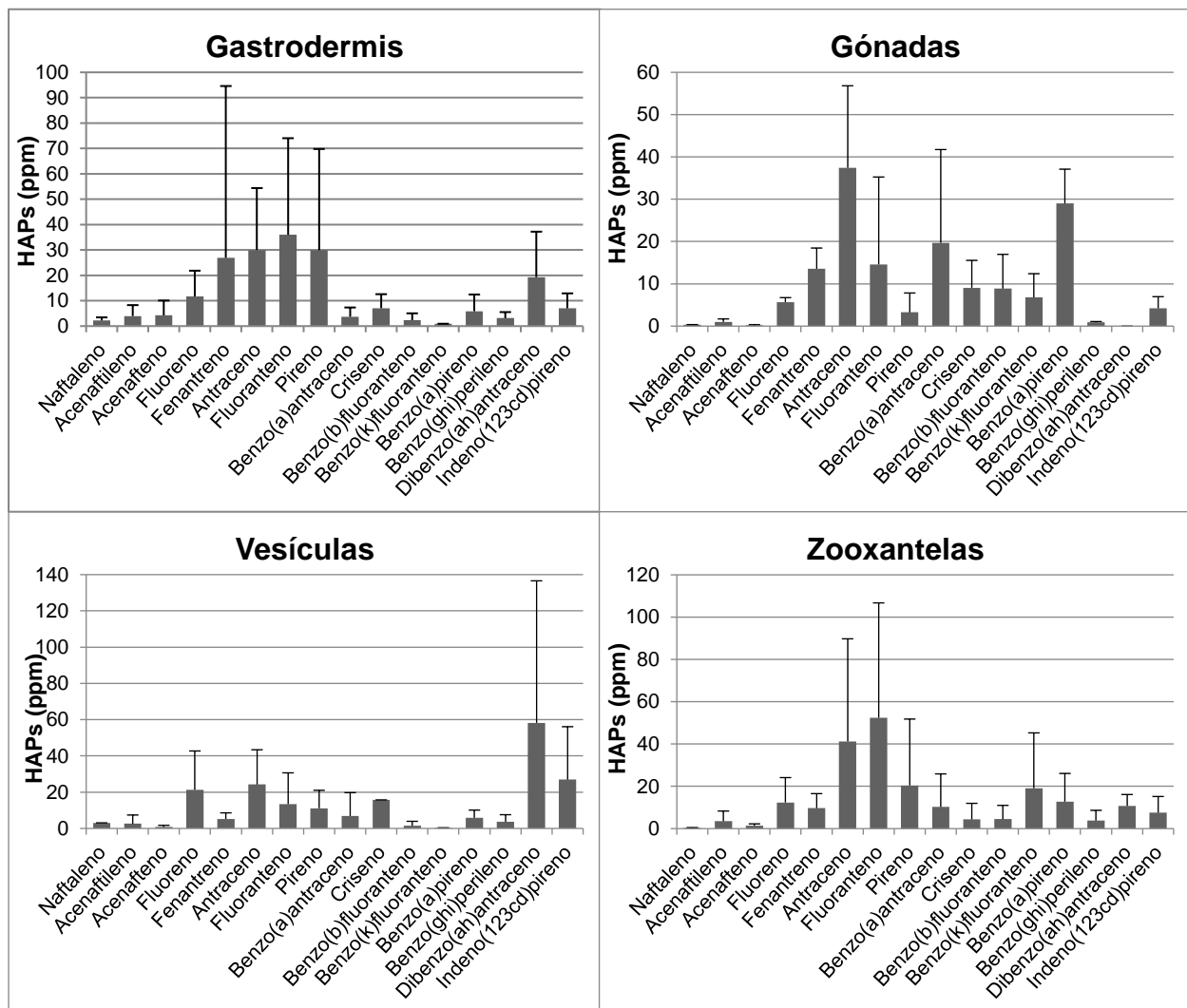


Figura 8. Hidrocarburos aromáticos policíclicos individuales (ppm, peso seco), cuantificados en los tejidos de *Cassiopea* spp. de Laguna Nichupté.

Comparación entre sitios de la concentración de HAPs en tejidos.-

De manera general, se obtuvo un promedio de la concentración total de los 16 HAPs analizados para los 4 tejidos de la medusa invertida, menor para BC en comparación con LN, $157.88 \pm 25.1 \mu\text{g/g}$ y $190.79 \pm 25.8 \mu\text{g/g}$ respectivamente (Figura 9). Esto coincidió con concentraciones más elevadas para la mayoría de HAPs individuales encontrados en los tejidos de las medusas provenientes de Laguna Nichupté. Con el fin de explorar

estas diferencias entre sitios, se efectuaron ANDEVAS, análisis para los cuales no existieron diferencias significativas entre sitios o tejidos ($p > 0.05$).

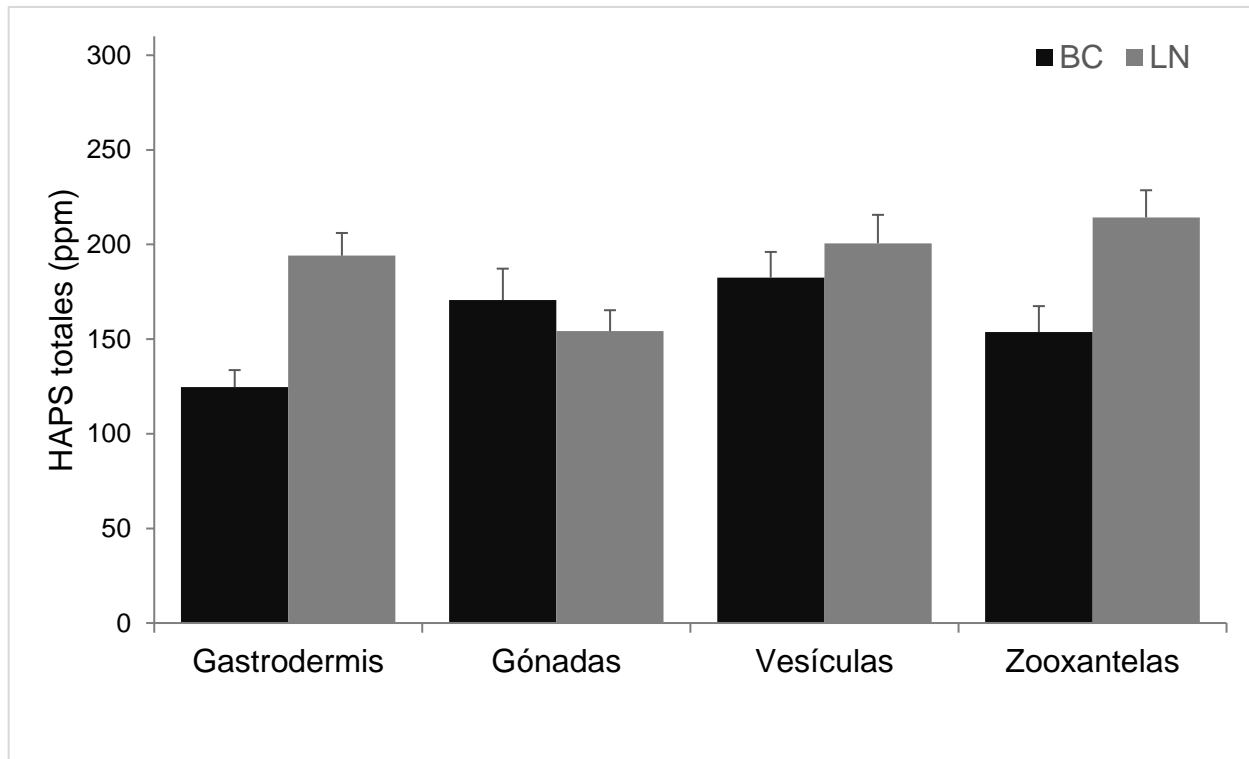


Figura 9. Concentraciones promedio de HAPs totales (ppm, peso seco) por tejido para las muestras colectadas en los dos sitios de estudio.

Quando los ANDEVAS fueron conducidos para identificar diferencias por sitio para cada contaminante individual, se encontraron diferencias para los hidrocarburos acenafteno ($F=4.39$, $p=0.04$) y acenaftileno ($F= 5.91$, $p= 0.01$) cuyas concentraciones promedio para los 4 tejidos fueron superiores en LN con $1.66 \pm 1.77 \mu\text{g/g}$ y $2.76 \pm 1.31 \mu\text{g/g}$ respectivamente. Estos dos compuestos aunados al naftaleno, tuvieron las menores concentraciones, probablemente debido a su bajo peso molecular y la volatilización inherente durante el procesamiento de laboratorio (Tabla V).

Por otro lado, se exploraron las diferencias entre sitios de manera precisa y se compararon las concentraciones obtenidas para los hidrocarburos aromáticos policíclicos

en cada tejido. En 3 de las 4 matrices tisulares, la concentración promedio de HAPs totales fue superior para LN (Tabla V). El tejido que no siguió el patrón fue el de gónadas, ya que se cuantificó una concentración mayor de HAPs para BC ($170.62 \pm 16.61 \mu\text{g/g}$) que para LN ($154.49 \pm 11.08 \mu\text{g/g}$); en el primer sitio 10 de los 16 HAPs cuantificados fueron superiores.

Los análisis para identificar diferencias entre sitios por tejido, presentaron diferencias entre BC y LN para el hidrocarburo criseno ($F=6.02$, $p=0.03$) únicamente en la gastrodermis. Esta diferencia existió al haber una mayor concentración en LN de $7.06 \mu\text{g/g}$ en contraste con $1.32 \mu\text{g/g}$ para BC. Aunado a esto, en el tejido de gónadas existieron diferencias significativas entre sitios para los HAPs benzo(a)pireno ($F=10.18$, $p=0.04$) y benzo(ghi)perileno ($F=17.44$, $p=0.001$). El primer contaminante tuvo mayor concentración para LN ($29 \mu\text{g/g}$ contra $12.06 \mu\text{g/g}$ en BC); mientras que para el segundo se cuantificaron $0.89 \mu\text{g/g}$ para LN y $6.35 \mu\text{g/g}$ en BC.

En la mayoría de los casos para todos los tejidos, las concentraciones promedio de HAPs fueron superiores en LN. No obstante, al analizar cada compuesto individual por tejidos, se encontraron hidrocarburos particulares en los que la concentración fue más elevada para BC. Este fue el caso de la gastrodermis para los compuestos benzo(k)fluoranteno, benzo(a)antraceno y antraceno. En las vesículas los HAPs más elevados para BC fueron el acenafteno, benzo(b)fluoranteno, fenantreno, pireno, benzo(a)pireno y fluoranteno y finalmente para las zooxantelas estos compuestos correspondieron al naftaleno, benzo(a)pireno y fluoranteno (Figura 10).

Tabla V. Concentraciones promedio de la matriz analizada de los 16 HAP's prioritarios, para cada tejido y sitio de estudio, se adiciona la desviación estándar de cada compuesto. En paréntesis se presenta el porcentaje de aparición de cada hidrocarburo en las muestras de tejido.

HAPs	Bacalar Chico				Laguna Nichupté			
	Gastrodermis N=12	Gónadas N=11	Vesículas N=13	Zooxantelas N=14	Gastrodermis N=15	Gónadas N=3	Vesículas N=9	Zooxantelas N=14
Naftaleno	0.8 ±1.11 (50)	ND	0.38 ±0.16 (15)	1.07±1.34 (29)	2.22 ±1.21 (27)	0.30 ±0.06 (67)	3.09 ±0 (11)	0.35 ±0.16 (50)
Acenaftileno	1.68 ±2.24 (83)	0.47 ±0.26 (45)	0.79 ±0.90 (62)	1.97 ±2.25 (100)	3.97 ±4.31 (87)	0.98 ±0.71 (100)	2.60 ±4.79 (56)	3.50 ±4.81 (93)
Acenafteno	1.25 ±1.20 (58)	0.49 ±0.28 (55)	0.87 ±0.78 (31)	0.83 ±0.96 (64)	4.22 ±5.84 (60)	0.22 ±0.11 (67)	0.80 ±0.92 (33)	1.39 ±0.85 (64)
Fluoreno	7.42 ±5.72 (92)	9.14 ±4.49 (73)	7.88 ±6.92 (77)	12.09 ±22.18 (100)	11.69 ±10.14 (100)	5.67 ±1.06 (100)	21.29 ±21.4 (44)	12.35 ±11.76 (100)
Fenantreno	10.41 ±3.88 (100)	15.38 ±12.9 (100)	6.97 ±5.92 (85)	9.47 ± 8.35 (100)	26.89 ±67.70 (100)	13.54 ±4.92 (100)	5.24 ±3.35 (78)	9.67 ±6.87 (100)
Antraceno	33.12 ±27.94 (100)	67.70 ± 55.60 (100)	23.95 ±22.14 (92)	24.86 ±18.28 (93)	29.96 ±24.42 (87)	37.42 ±19.4 (100)	24.24 ±19.1 (89)	41.26 ±48.48 (100)
Fluoranteno	23.3 ±17.59 (83)	11.68 ±9.35 (27)	19.82 ±15.3 (100)	52.76 ±32.39 (93)	35.96 ±38.08 (87)	14.6 ±20.65 (33)	13.44 ±17.2 (78)	52.42 ±54.32 (86)
Pireno	13.7 ±6.95 (100)	9.28 ±10.52 (73)	15.50 ±9.75 (85)	6.05 ±5.84 (86)	29.88 ±39.9 (100)	3.24 ±4.58 (100)	11.12 ±9.89 (67)	20.39 ±31.40 (100)
Benzo(a) antraceno	6.28 ±15.97 (92)	4.31 ±6.28 (91)	2.43 ±2.21 (38)	1.41 ±1.7 (86)	3.70 ±3.6 (67)	19.69 ±22 (100)	6.86 ±12.8 (56)	10.25 ±15.62 (57)

Criseno	1.32 ±1.58 (50)	2.87 ±5.2 (82)	11.78 ±15.68 (23)	1.66 ±1.87 (36)	7.06 ±5.51 (33)	9.06 ±6.49 (67)	15.76 ±0 (11)	4.37 ±7.58 (64)
Benzo(b) fluoranteno	0.81 ±1.03 (67)	5.13 ±3.48 (36)	7.80 ±16.97 (69)	1.39 ±1.9 (93)	2.36 ±2.67 (87)	8.87 ±8.09 (100)	1.51 ±2.44 (44)	4.47 ±6.51 (93)
Benzo(k) fluoranteno	7.42 ±9.3 (17)	1.70 ±0.25 (36)	ND	6.51 (7)	0.92 (7)	6.79 ±5.61 (100)	0.4 (11)	19.08 ±26.19 (14)
Benzo(a) pireno	5.6 ±2.38 (75)	12.06 ±4.22 (27)	21.1 ±49.53 (69)	2.88 ± 16.99 (100)	5.87 ±6.57 (93)	29 ±8.12 (67)	5.84 ±4.28 (78)	12.74 ±13.36 (86)
Benzo(ghi) perileno	1.06 ±0.94 (33)	6.36 ±2.19 (82)	2.33 ±1.55 (38)	1.82 ±1.58 (36)	3.13 ±2.38 (53)	0.89 ±0.19 (100)	3.68 ±3.89 (33)	3.78 ±4.84 (71)
Dibenzo(ah) antraceno	5.56 ±2.89 (25)	3.38 ±3.59 (64)	52.94 ±79.19 (31)	4.26 ±4.22 (43)	19.27 ±17.93 (13)	ND	58.24 ±78.3 (22)	10.72 ±5.40 (29)
Indeno(123cd) pireno	4.98 ±3.22 (92)	20.69 ±18.60 (82)	7.97 ±6.22 (85)	4.71 ±3.85 (86)	7 ±5.89 (93)	4.21 ±2.75 (100)	26.93 ±29.1 (44)	7.51 ±7.67 (100)

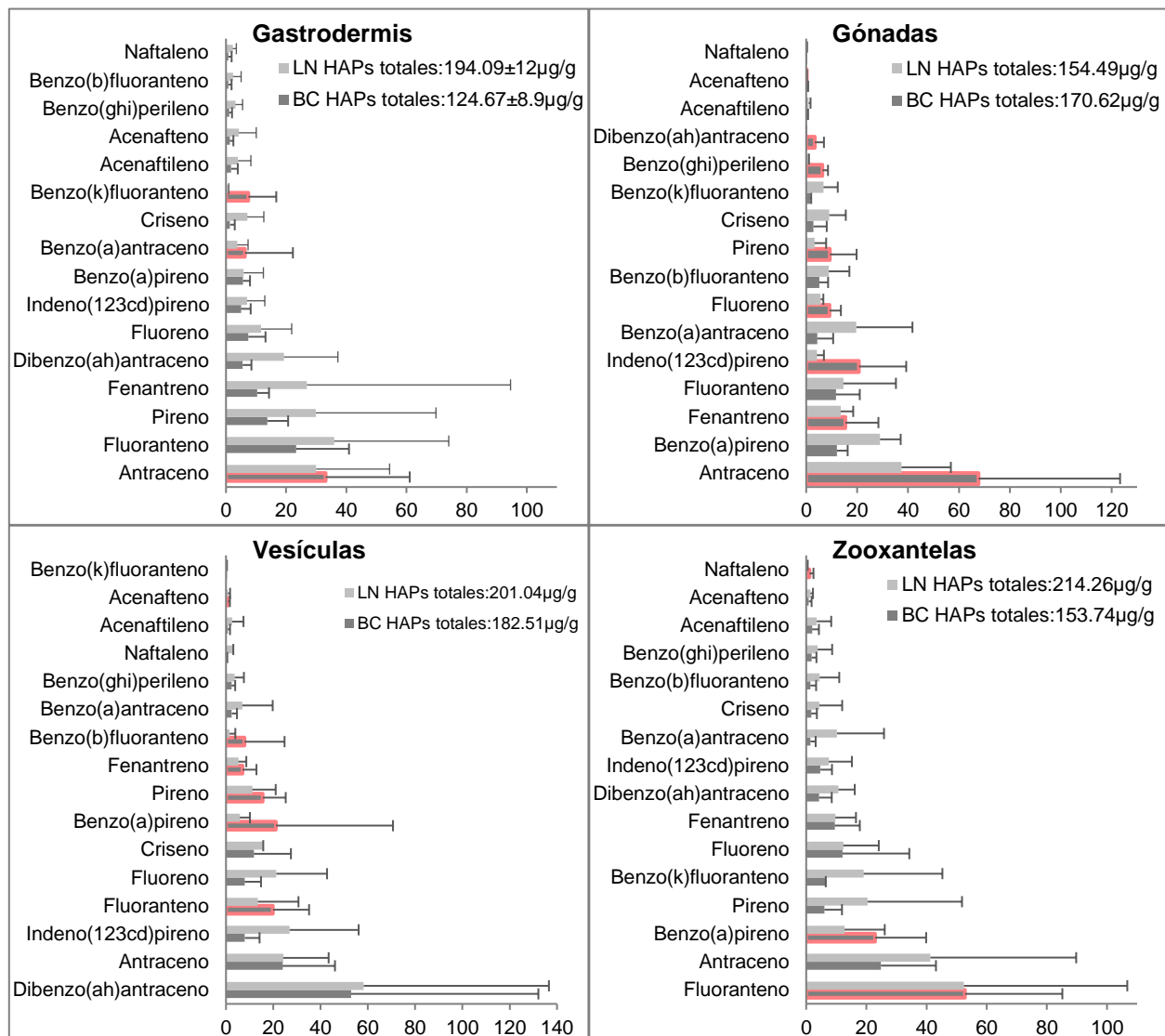


Figura 10. Concentración promedio de HAPs individuales en los 4 tejidos analizados para ambos sitios de estudio. Se presenta la concentración promedio de HAPs totales por tejido para BC y LN. En contorno rojo se enmarcan los compuestos que tuvieron mayor concentración para Laguna Bacalar Chico.

Debido a la variación particular de cada xenobiótico, y con el fin de detectar diferencias en los patrones de absorción de contaminantes por sitio y tejido, para cada contaminante, se realizaron ANDEVAS individualmente.

En el caso de BC, existieron diferencias significativas para los HAPs benzo(ghi)perileno e indeno(123cd)pireno. Esta concentración diferencial estuvo determinada por el tejido

de gónadas; que varió con respecto a la cuantificada en los tres tejidos restantes, gastrodermis ($p < 0.01$), vesículas ($p < 0.04$) y zooxantelas ($p < 0.008$). En el caso del antraceno, se identificaron diferencias en la acumulación que presentó el tejido de gónadas con respecto a la encontrada en vesículas ($p = 0.019$) y zooxantelas ($p = 0.015$).

Por otro lado el HAP dibenzo(ah)antraceno, presentó una concentración diferencial en el tejido de vesículas con respecto a la encontrada para gónadas ($p = 0.02$) y una ligera diferencia significativa con zooxantelas ($p = 0.054$). En relación a diferencias para los tejidos que albergan organismos fotosintéticos, se encontraron diferencias en la concentración del pireno en las zooxantelas, con aquella encontrada en gastrodermis ($p = 0.007$) y vesículas ($p = 0.009$). Este mismo panorama se encontró con el fluoranteno, cuya concentración en zooxantelas fue diferente y significativa con la encontrada en gastrodermis ($p = 0.017$) y ligeramente para gónadas ($p = 0.052$). Así, para Bacalar Chico 6 hidrocarburos presentaron diferencias significativas al menos entre 3 tejidos (Figura 11).

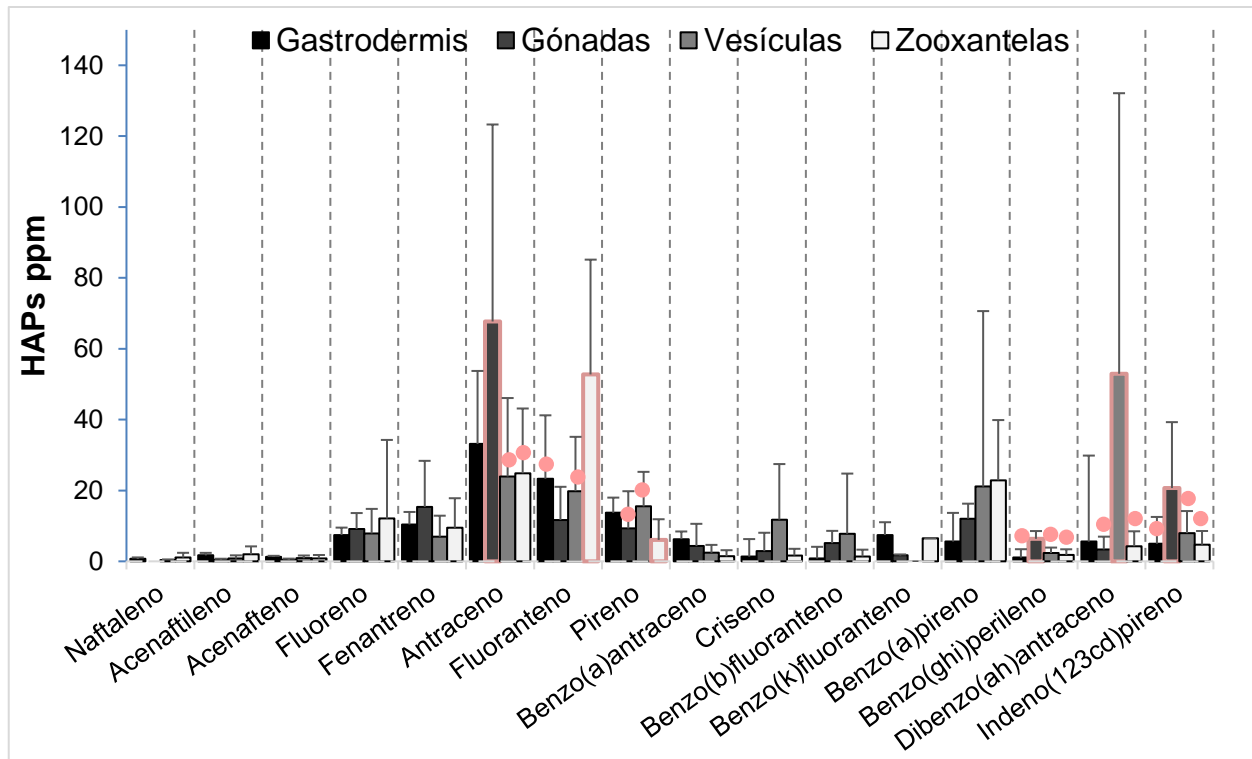


Figura 11. Concentración de HAPs individuales (ppm, peso seco) para cada tejido en BC. Las barras con contorno rojo representan diferencias significativas entre ese tejido y aquellos en los que la barra tiene un punto rojo en la parte superior.

Por su parte, los hidrocarburos detectados en los tejidos de medusas colectadas en Laguna Nichupté presentaron diferencias entre algunos tejidos, en menor medida que aquellos en Bacalar Chico. Se encontraron diferencias significativas en la concentración de benzo(a)antraceno entre el tejido de gastrodermis y gónadas ($p=0.032$), para fenantreno hubieron diferencias entre el tejido de vesículas y gónadas ($p=0.013$). Por su parte la concentración de indeno(123cd)pireno presentó diferencias entre la concentración de vesículas con respecto a la cuantificada en gastrodermis ($p=0.020$) y zooxantelas ($p=0.030$).

Las diferencias significativas en LN fueron menos que para el sitio de BC, ya que sólo existieron para 3 hidrocarburos y en 2 de estos casos, las diferencias fueron únicamente entre 2 tejidos (Figura 12). El único HAP que presentó diferencias en la concentración

por tejidos para ambos sitios fue el indeno(123cd)pireno. Sin embargo, para BC el tejido con concentración diferencial con respecto a los demás tejidos fue la gastrodermis diferente a gónadas, vesículas y zooxantelas; en el caso de LN las diferencias de este hidrocarburo las presentó la concentración en el tejido de vesículas con respecto a la cuantificada en gastrodermis y zooxantelas.

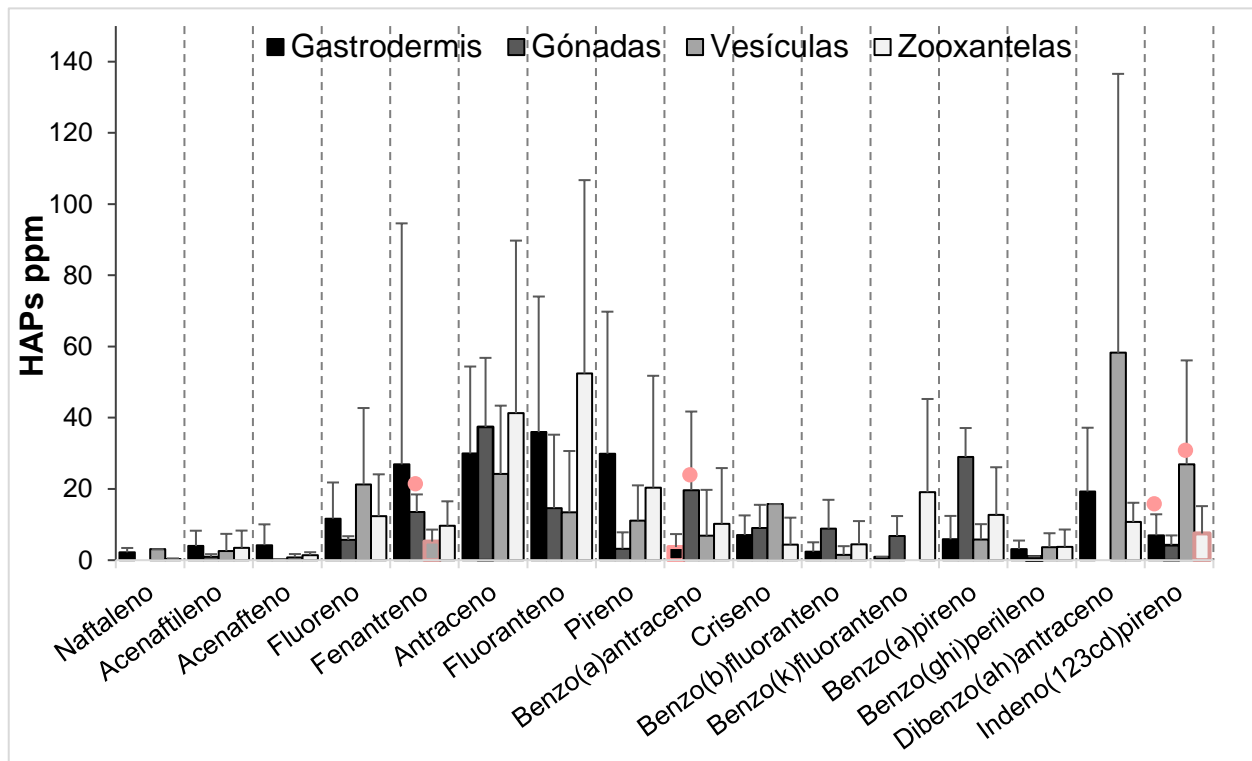


Figura 12. Concentración de HAPs individuales (ppm, peso seco) para cada tejido en LN. Las barras con contorno rojo representan diferencias significativas entre ese tejido y aquellos en los que la barra tiene un punto rojo en la parte superior.

Biomarcador de estrés oxidativo Glutación-S-Transferasa (GST)

d) Glutación-S-Transferasa

Se cuantificó la actividad del biomarcador GST como parte del mecanismo de detoxificación de contaminantes en los 4 tejidos de la medusa *Cassiopea* spp. De forma

general, la concentración de GST presentó valores superiores para el tejido de vesículas, seguido por la gastrodermis, para ambos sitios (Tabla VI).

Tabla VI. Concentración promedio de GST (mg/g), se presenta desviación estándar de las muestras. Datos para los 4 tejidos analizados de *Cassiopea* spp. en los dos sitios de estudio.

Tejido	Bacalar Chico	Laguna Nichupté
Gastrodermis	38.82 ±10.74	35.20 ±3.16
Gónadas	28.06 ±18.75	7.45 ±7.54
Vesículas	49.45 ±23.58	43.20 ±29.78
Zooxantelas	32.44 ±13.21	17.12 ±9.81

- Sitios

De acuerdo con los análisis de varianza, la concentración del biomarcador de estrés oxidativo fue diferente entre Bacalar Chico y Laguna Nichupté ($F=6.61$, $p=0.01$), esto analizando todas las muestras de tejido procesadas para el biomarcador.

Respecto a diferencias entre sitios para cada tejido particular, se encontró que el biomarcador GST es sintetizado de forma diferencial por sitio para los tejidos de gónadas ($p=0.007$) y zooxantelas ($p=0.001$).

- Tejidos

Para identificar diferencias de concentración de GST por tejido, se realizaron análisis de varianza, encontrando diferencias para el total de las muestras ($F=11.77$, $p<0.001$).

Paralelamente se analizó la concentración del biomarcador GST para cada uno de los tejidos y en cada sitio de estudio; se encontraron diferencias en Bacalar Chico para el tejido de vesículas con respecto a la encontrada en gónadas ($p=0.012$) y zooxantelas ($p=0.025$). Entre los demás tejidos en BC no hubo diferencias.

Por otro lado, en Laguna Nichupté existió un mayor número de diferencias entre la actividad del biomarcador GST. Se encontraron diferencias para gastrodermis con respecto a gónadas ($p < 0.001$) y zooxantelas ($p < 0.001$). Asimismo, se detectaron diferencias para el tejido de vesículas en comparación con la cuantificada en gónadas ($p = 0.0016$) y zooxantelas ($p = 0.0035$).

Al analizar las diferencias significativas entre los tejidos en ambos sitios, se encuentra que el tejido que determinó las diferencias fueron las vesículas (tabla VII).

Tabla VII. Diferencias significativas entre tejidos para BC y LN. El asterisco (*) representa diferencias significativas sólo para LN, y dos asteriscos (**) diferencias para esos tejidos para ambos sitios.

Gastrodermis	Gónadas	Vesículas	
*			Gónadas
	**		Vesículas
*		**	Zooxantelas

Factor de correlación HAPs-GST

Con el fin de determinar si existe una relación significativa entre la concentración de HAPs y la síntesis de GST en los tejidos de la medusa *Cassiopea* spp. se generaron varios modelos de correlación, empleando el método de Spearman para ambas localidades. En este caso, el factor de correlación (Rho) va de -1 a 1; los valores cercanos al cero no representan correlación. En algunos casos la correlación era notable, por lo que se adicionó un análisis para comprobar su significancia estadística, implementando el valor de probabilidad en cada caso.

La matriz general con las concentraciones que tuvieron muestras para analizar GST y HAPs, no tuvo una correlación significativa para la concentración total, ni para los compuestos individuales. Consiguientemente, se analizaron las matrices separadas por sitio y tejido.

Para el caso de BC, el modelo de Spearman no evidenció correlación significativa para el tejido de gastrodermis. Sin embargo existieron correlaciones notables pero no significativas en los que se detectó que la concentración de los xenobióticos induce la síntesis de GST; entre ellos estuvieron los hidrocarburos fenantreno ($Rho=0.52$, $p=0.08$) y antraceno ($Rho=0.52$, $p=0.08$). Además de estos, se encontró una correlación negativa para el benzo(b)fluoranteno ($Rho=-0.51$, $p=0.08$) lo que indica que la síntesis de GST se ve inhibida por el incremento del hidrocarburo (Figura 13a-c).

La correlación del antraceno con GST en ningún otro tejido de BC o LN fue notable o significativo. En las muestras de tejido de BC el compuesto se identificó en todos los tejidos, siendo menor para vesículas y zooxantelas y con valores superiores para gónadas. A pesar de ello la correlación con el GST sólo fue notable para el tejido gastrodérmico, corroborando los resultados de los ANDEVA en los que fue significativa su presencia entre los tejidos.

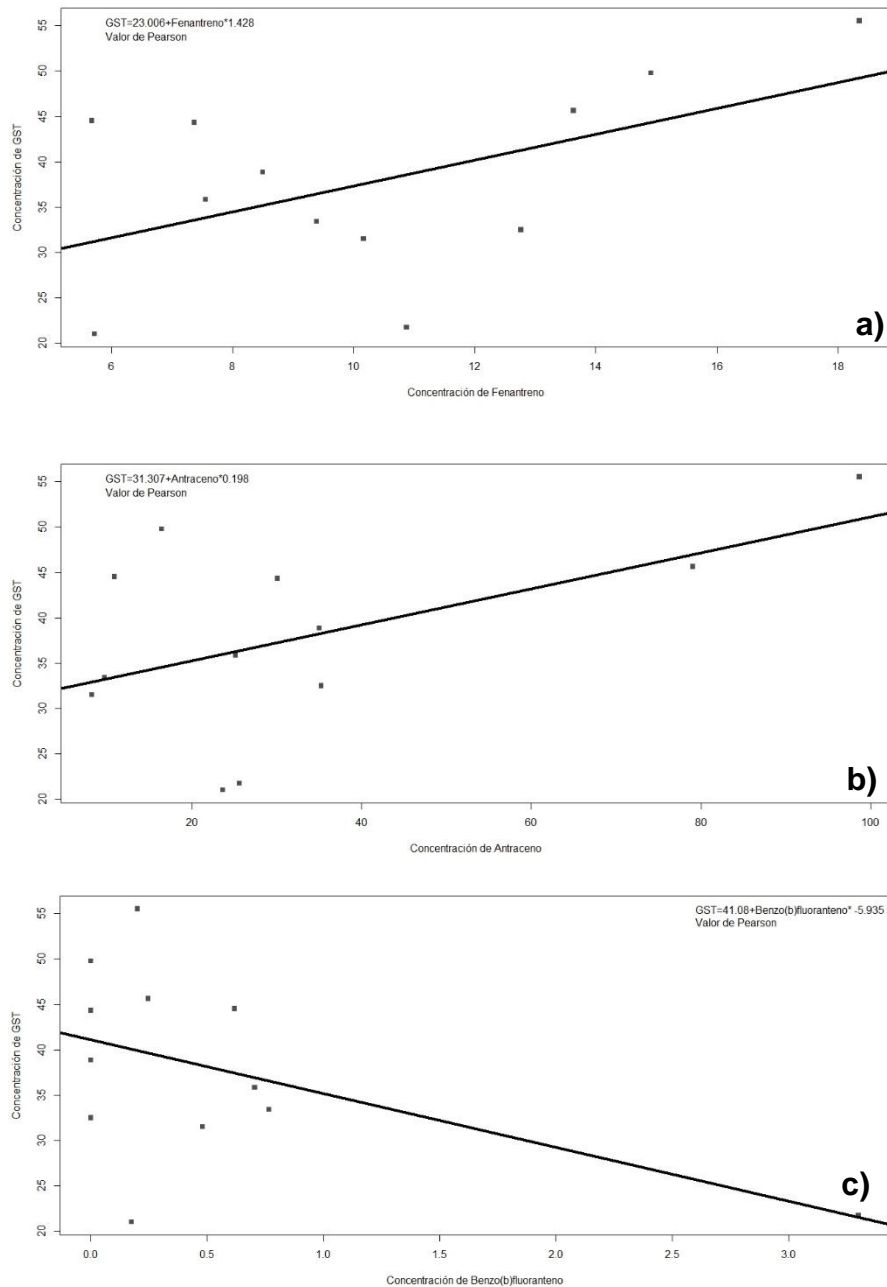


Figura 13 a-c. Modelos de correlación para el tejido de gastrodermis de las medusas *Cassiopea* colectadas en Bacalar Chico. Se presenta ecuación. a) Fenantreno, b) antraceno y c) benzo(b)fluoranteno.

Para el mismo sitio en el tejido de gónadas no existieron correlaciones positivas o negativas que fueran significativas. La correlación más cercana que implica un proceso de síntesis de GST como respuesta antioxidante, estuvo dada por el fluoreno (Rho=0.59, p=0.059) (Figura 14).

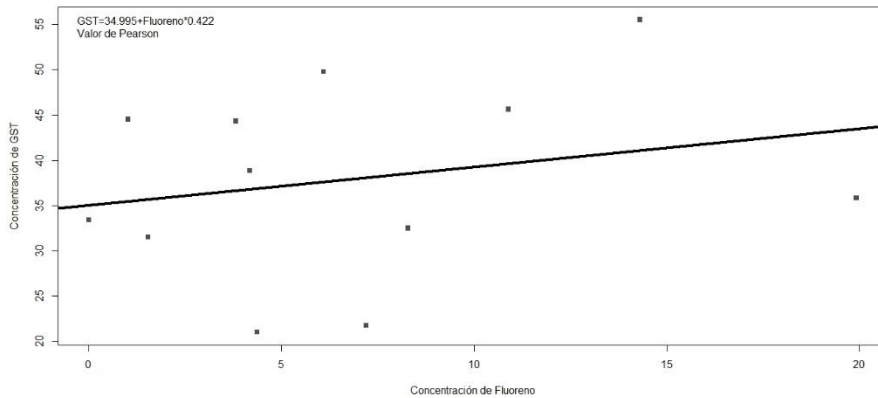


Figura 14. Modelo de correlación para el tejido de gónadas de las medusas *Cassiopea* colectadas en Bacalar Chico para fluoreno. Se presenta ecuación.

En el tejido de vesículas se encontró una correlación positiva de GST con el hidrocarburo indeno(123cd)pireno (Rho=0.63, p=0.02); además de una correlación, aunque no significativa con el criseno (Rho=0.5, p=0.08) (Figura 15a-b). Para las zooxantelas, existieron correlaciones positivas para el dibenzo(ah)antraceno (Rho=0.67, p=0.009) e indeno(123cd)pireno (Rho=0.57, p=0.03) (Figura 16a-b).

Este análisis de correlación fue complementario a los ANDEVA, los cuales demostraron evidencias de acumulación diferencial entre tejidos para el indeno(123cd)pireno, compuesto que resultó estar ligado a la generación de GST en los tejidos fotosintéticos correspondientes a zooxantelas y vesículas.

De acuerdo con los resultados, las bajas concentraciones de indeno(123cd)pireno estimulan la síntesis del biomarcador de estrés oxidativo en los tejidos fotosintéticos. Esto

no sucede para el tejido gastrodérmico, en el cual se cuantificaron valores para el hidrocarburo y el biomarcador cercanos a los tejidos de vesículas y zooxantelas.

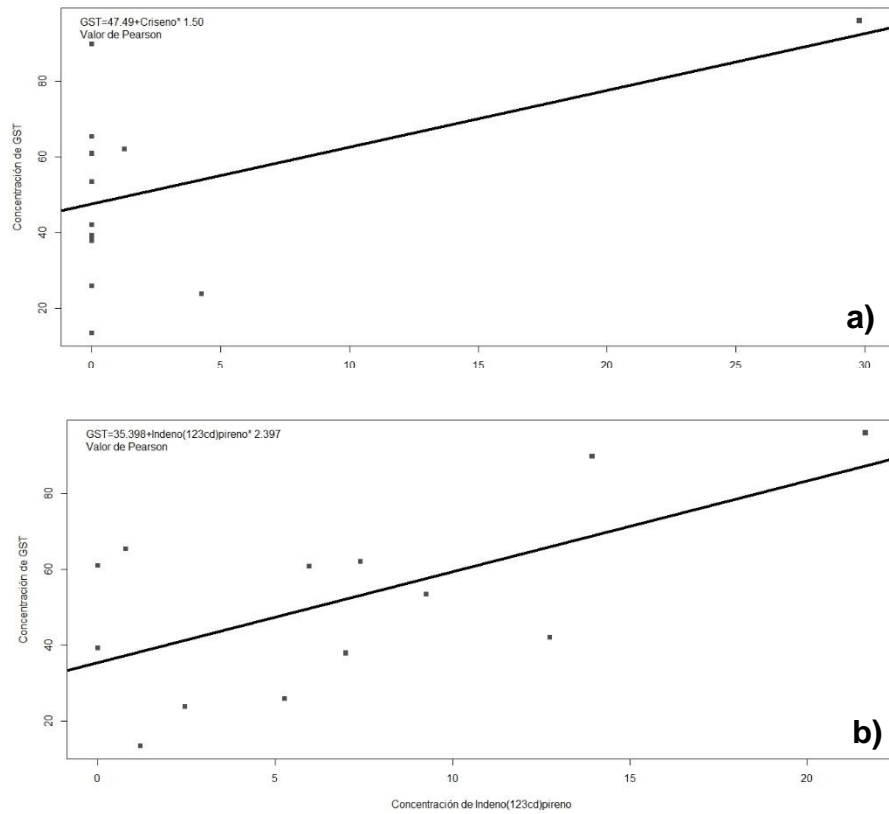


Figura 15 a-b. Modelo de correlación para el tejido de vesículas de las medusas Cassiopea colectadas en Bacalar Chico. Se presenta ecuación. a) Criseno, b) Indeno(123cd)pireno.

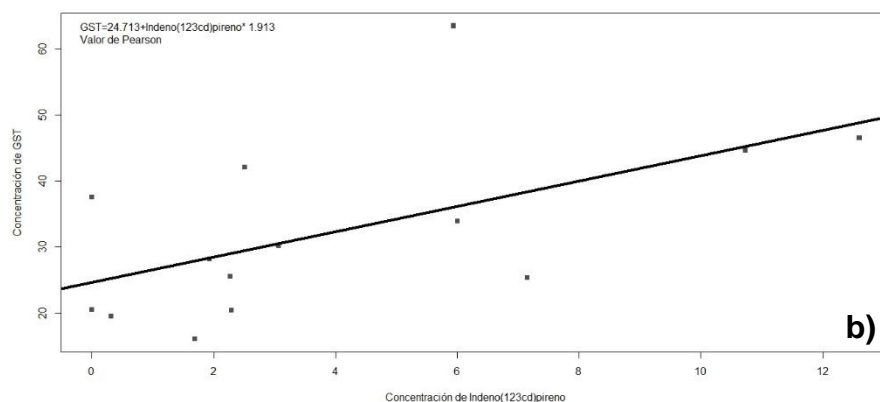
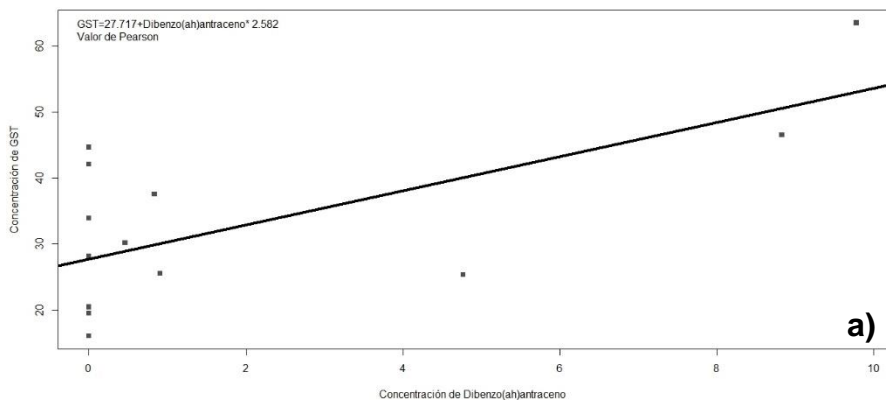
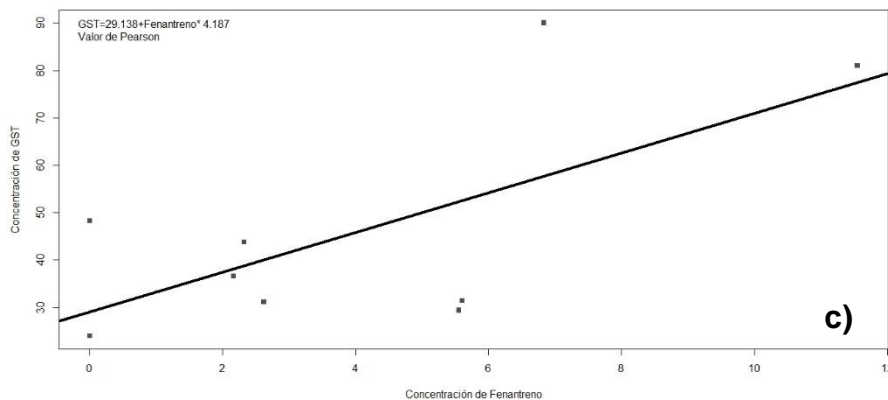
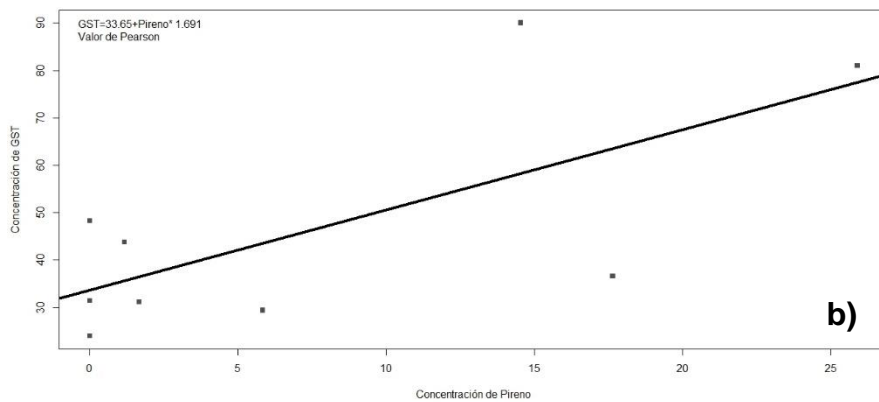
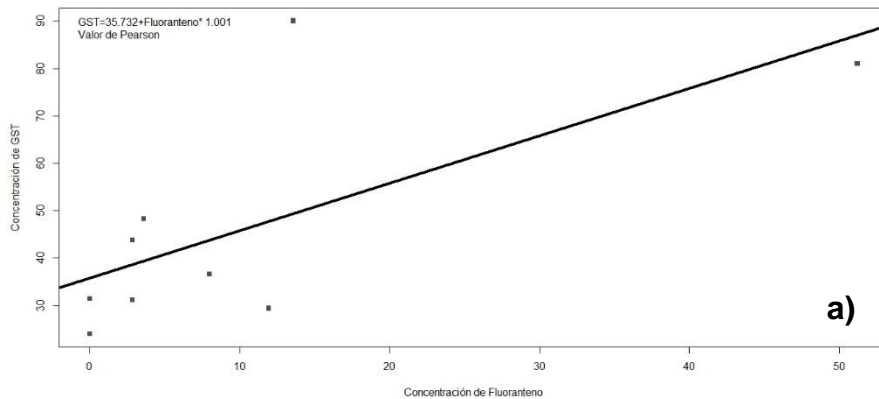


Figura 16 a-b. Modelo de correlación para el tejido de zooxantelas de las medusas *Cassiopea* colectadas en Bacalar Chico para el HAP fluoreno. Se presenta ecuación. a) Dibenzo(ah)antraceno, b) Indeno(123cd)pireno.

Para LN, las correlaciones en el tejido de gastrodermis fueron muy bajas y no significativas. En el tejido de gónadas, se encontraron algunas correlaciones notables con diferentes HAPs, a pesar de lo cual no fueron significativas; para este tejido reproductivo, en la mayoría de los casos las correlaciones fueron negativas. Es decir, la síntesis de GST es inhibida por el incremento de HAPs; entre ellos estuvo la concentración de acenaftileno ($Rho = -0.97$, $p = 0.16$) y benzo(a)antraceno ($Rho = -0.89$, $p = 0.29$). El tejido de vesículas para LN presentó correlaciones positivas y significativas para los HAPs fluoranteno ($Rho = 0.68$, $p = 0.04$) y pireno ($Rho = 0.69$, $p = 0.04$). Además existieron correlaciones no significativas pero notables con otros compuestos como el

fenantreno ($Rho=0.66$, $p=0.054$) que tuvo valores significativos para su concentración diferencial entre tejidos para LN; además del benzo(a)antraceno ($Rho=0.6$, $p=0.08$), y benzo(b)fluoranteno ($Rho=0.61$, $p=0.07$) (Figura 17a-e). En el caso de las zooxantelas, este tejido no presentó correlaciones notables ni significativas para el sitio; la correlación más alta presentada fue para el acenafteno ($Rho=0.31$, $p=0.3$).



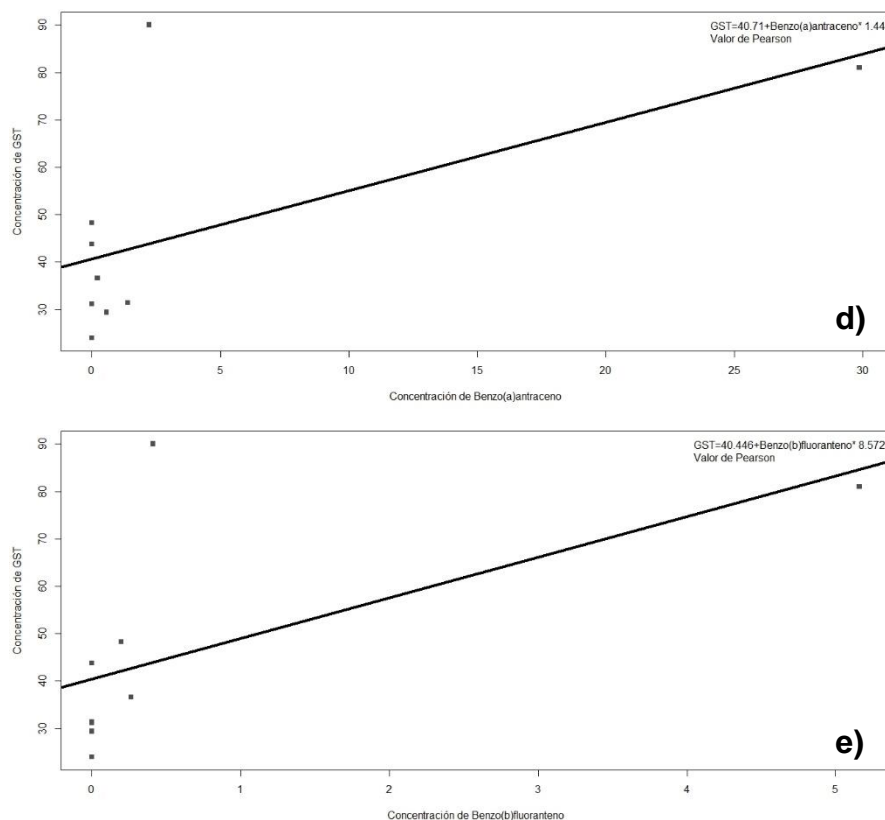


Figura 17 a-e. Modelo de correlación para el tejido de vesículas de las medusas *Cassiopea* colectadas en Laguna Nichupté para los HAPs a) fluoranteno, b) pireno, c) fenantreno, d) benzo(a)antraceno y e) benzo(b)fluoranteno.

Discusión

Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en agua y sedimentos

Los dos puntos de estudio, en los que se ubicó la medusa invertida tuvieron características paisajísticas similares. Las concentraciones de contaminantes en cada localidad de colecta fueron diferentes, y en ninguno se superaron los límites máximos permisibles de hidrocarburos en agua o sedimentos (NOAA, 1999); específicamente para el área en donde se realizaron las colectas. Ponce-Vélez y Botello (2005) cuantificaron

4.4 $\mu\text{g/L}$ de HAPs para agua en Laguna Bojórquez, sitio que forma parte del Sistema Lagunar Nichupté-Bojórquez; y un rango de 0.01-46 $\mu\text{g/L}$ para el total de la región del Caribe Mexicano. Los valores del presente estudio para HAPs en las muestras de agua colectadas, se encontraron apenas por debajo de los 0.01 $\mu\text{g/L}$ en ambos sitios, con lo cual se encuentran en el rango de las concentraciones de HAPs reportadas para la región del Caribe. Esto implica que los valores de criterios de calidad de la UNESCO (10 $\mu\text{g/L}$), USEPA (0.03 $\mu\text{g/L}$) y la Unión Europea (0.2 $\mu\text{g/L}$) se encontraron dentro de los límites máximos permisibles.

En lo que respecta a las cantidades de HAPs cuantificadas en sedimentos, los límites propuestos por la NOAA van de 4.02-44.8 $\mu\text{g/g}$ como valores de referencia con probabilidades de efecto tóxico bajo y medio en la fauna. Estudios previos conducidos en LN, reportaron un rango de 4-189 $\mu\text{g/g}$ (Ponce-Vélez y Botello 2005), lo que supera el índice ecológicamente recomendable. Sin embargo, la concentración de HAPs cuantificada particularmente en el punto de colecta dentro de LN, fue de apenas 0.26 $\mu\text{g/g}$ encontrándose por debajo de los valores encontrados en las guías de calidad de sedimentos.

A pesar de ello, al analizar cada uno de los HAPs individualmente se encontraron niveles alarmantes para algunos compuestos; para el caso de BC la concentración del hidrocarburo benzo(a)antraceno fue de 3.21 $\mu\text{g/g}$ lo cual de acuerdo con los criterios de calidad para sedimentos de la NOAA tiene una probabilidad del 92.6% de causar daños a la fauna marina. El mismo panorama de contaminación existió para los HAPs fluoreno (25% de probabilidad) y acenafteno y acenaftileno (14.3% de probabilidad para ambos). Con esto, las concentraciones de al menos 4 HAPs tienen posibilidades de causar daños

graves a la fauna que se encuentra en las estaciones muestreadas de los canales de Bacalar Chico (NOAA, 1999).

Asimismo en BC, Álvarez-Legorreta y Sáenz-Morales (2005) reportaron valores de HAPs en sedimentos de 5.05 y 33.39 $\mu\text{g/g}$ en estaciones cercanas al sitio de muestreo. En el presente trabajo se cuantificaron en promedio $3.66 \pm 5.83 \mu\text{g/g}$, siendo el benzo(a)antraceno el hidrocarburo predominante. No obstante, las condiciones ambientales en las estaciones muestreadas hace más de 10 años pueden haber cambiado. Además de las diferencias físicas entre un sitio con constante intercambio de agua salada entre la Bahía de Chetumal y la laguna arrecifal en el Mar Caribe; y las zonas resguardadas entre pequeños canales rodeados por manglar, sitios de donde fueron colectadas las muestras del presente estudio.

Un estudio más, realizado por Álvarez-Legorreta (2009) en la que se analizaron los HAPs en sedimentos de la bahía de Chetumal señaló como los HAPs predominantes el benzo(k)fluoranteno, benzo(b)fluoranteno y benzo(a)pireno con concentraciones promedio de 6.10 $\mu\text{g/g}$, 4.71 $\mu\text{g/g}$ y 3.47 $\mu\text{g/g}$. Las concentraciones de estos xenobióticos en el presente estudio fueron menores cuantificándose 0.1 $\mu\text{g/g}$, 0.01 $\mu\text{g/g}$ y 0.21 $\mu\text{g/g}$ respectivamente. La concentración superior para los hidrocarburos del presente estudio correspondió al benzo(a)antraceno, cuyas concentraciones para las estaciones muestreadas se encontraron entre 0.025 $\mu\text{g/g}$ -13.09 $\mu\text{g/g}$, con un promedio de $3.21 \pm 5.61 \mu\text{g/g}$.

La generación del benzo(a)antraceno se ha ligado a fábricas de gas, humo de cigarrillos, pirólisis de materia orgánica y descargas de aguas residuales de centros urbanos. El

arrastre por efecto de las lluvias y consecuente movilización a los canales de BC, pueden estar detonando su depositación en los sedimentos. Este HAP es considerado carcinogénico, mutagénico y genotóxico por lo que su presencia debe considerarse una amenaza, tanto para la fauna como para la población humana aledaña; además de los pescadores que visitan ocasionalmente la zona y los productos que comercializan. La concentración aquí reportada corresponde al contaminante, sin embargo también deben analizarse los metabolitos de descomposición por exposición al sol o metabolización en los organismos, ya que los metabolitos generados a partir de la asimilación del benzo(a)antraceno son más tóxicos que el HAP en su forma pura (Mastandrea, 2005).

Dentro de LN la medusa *Cassiopea* sólo se encontró en un único punto, sugiriendo condiciones fisicoquímicas particulares que conforman un microambiente ajeno al resto de la laguna que puede estar relacionado con un mayor recambio de agua en la zona; lo cual permite la permanencia de la medusa. Un ejemplo de ello fue la notable claridad del agua, muy superior al resto de los sitios visitados en el Sistema Lagunar Nichupté-Bojórquez (SLNB). Sin embargo, es necesario conducir más estudios de índole oceanográfica.

Es importante mencionar que los HAPs que estuvieron presentes en las muestras de sedimento de ambos sitios, mostraron concentraciones ligeramente más altas en LN pero sin diferencias significativas. Esto puede estar relacionado a la similitud de los puntos específicos donde se hicieron las colectas ya que son áreas someras rodeadas por mangles, someras y con baja turbidez.

Para el punto de colecta de sedimentos en Laguna Nichupté, al igual que en Bacalar Chico el hidrocarburo predominante fue el benzo(a)antraceno, el cual de acuerdo con la concentración encontrada ($0.70 \mu\text{g/g}$) tiene el 43.8% de probabilidades de causar daño a la fauna. En LN, se encontraron 4 compuestos en contraste con 15 HAPs identificados para BC. La poca diversidad de compuestos así como bajas concentraciones pueden deberse a la lejanía del sitio de muestreo con la zona hotelera de Cancún ya que el punto se encuentra en la entrada a la zona turística y cercano al canal Cancún, que funciona como fuente de recambio de agua con el Mar Caribe, lo cual puede estar diluyendo la concentración de contaminantes. Es así que la toxicidad del benzo(a)antraceno, podría estar ocasionando daños a diferentes especies.

La contaminación de los sistemas acuáticos puede ser puntual o extensa de acuerdo a las fuentes de contaminación. Respecto a esto, Carbajal-Pérez (2009) llevó a cabo un reporte sobre el SLNB, en el que se midieron diferentes contaminantes como nutrientes y metales traza en sedimentos, encontrando elevadas concentraciones de todos en Laguna Bojórquez y bajas concentraciones de los mismos en el área aledaña a donde las muestras fueron colectadas para el presente estudio. La retención de contaminantes orgánicos en sedimentos pueden ser acumulativos y persistentes con los años en sitios con baja energía, y su movilidad ser controlada por los regímenes de viento (Botello 2005); estas condiciones se sugieren para el punto específico donde se tomó la muestra; por otro lado en el lugar no hay flujos subterráneos de agua dulce ni descargas cloacales del complejo turístico de Cancún, debido a la lejanía con hoteles, y se encuentra cerca a una de las bocas de comunicación de la laguna del Mar Caribe favoreciendo la

preservación ecológica de ese punto geográfico y una baja acumulación de contaminantes.

Es probable que las condiciones ecológicas de la laguna, estén limitando las poblaciones de medusas a sitios donde las condiciones son propicias. La turbidez se ha ligado con la carencia de oxígeno disuelto, lo cual implica un problema para *Cassiopea* spp., ya que los pólipos que se asientan y hasta antes de la estrobilación, no han desarrollado la simbiosis con zooxantelas y por ende carecerán de oxígeno (Gamero-Mora, 2014). Además, en zonas eutroficadas predominan los sedimentos finos y fangosos, substratos donde Özgür y Öztürk (2008) mencionan que *Cassiopea* no puede colonizar.

A pesar de que afloramientos de *Cassiopea* se relacionan con el incremento de nutrientes en su medio, estos organismos dependen en gran medida de la penetración de la luz para mantener la simbiosis con las zooxantelas. Sin la cantidad de luz adecuada para la fotosíntesis, estos organismos no pueden persistir (Arai, 2001; Estes et al. 2003; Klein et al. 2016). Varios autores mencionan la luz como un factor crítico para el desarrollo de la medusa invertida. Un ejemplo de ello es el estudio conducido por Gamero-Mora (2014) en BC, donde en sitios con altas densidades de especies de zooplancton (alimento de *Cassiopea*), existieron bajas densidades de los organismos, en comparación con aquellos sitios iluminados y con bajas concentraciones de zooplancton. Esto se relaciona con lo mencionado por Mortillaro et al. 2009, quienes mencionan que las zooxantelas son capaces de dar a su hospedero más del 100% del carbono requerido; siendo sólo ciertos nutrientes esenciales los que ingieren a través del zooplancton.

El incremento de la turbidez en el agua se ha ligado con el grado de contaminación y eutroficación de los sistemas marinos. Son diferentes las referencias que enmarcan la degradación ecológica de la Laguna Nichupté, debido al desarrollo de la zona turística de Cancún (Collado-Vides et al. 1988; Arai, 2001; Próspero Villan, 2001; Carbajal-Pérez, 2009; Rubio-Maldonado et al. 2010; Calderón-Maya et al. 2014)

La concentración de contaminantes, incluidos los HAPs puede cambiar por eventod como la precipitación pluvial, sedimentación y descargas de aguas residuales aledañas, por lo que es necesario un muestreo dirigido a entender esta variabilidad temporal en ambos sitios de estudio, en conjunto con estudios de la dinámica de recambio de agua y sedimentaria. Ello además de incorporar el impacto antropogénico que se da en la costa y desencadena la degradación ecológica de los sistemas lagunares completos por efectos sinérgicos.

Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en Cassiopea spp.

Entre los trabajos revisados para el presente estudio, no se encontró alguno que cuantificara el biomarcador GST o la concentración de HAPs en medusas del género *Cassiopea*. Y menos aún con disecciones por tejido de organismos colectados en su medio natural.

Las concentraciones de HAPs se cuantificaron para 4 tejidos de la medusa invertida (gastrodermis, gónadas, vesículas y zooxantelas) en dos localidades de estudio (Laguna Bacalar Chico y Laguna Nichupté). En ellos, las concentraciones variaron de acuerdo al tejido, sitio e hidrocarburo.

La concentración de HAPs totales cuantificada para los 4 tejidos de la medusa *Cassiopea* fue superior en LN, en contraste con BC. Las concentraciones de HAPs cuantificadas en todos los tejidos, presentaron valores muy superiores a aquellos encontrados en agua y sedimentos por lo que se corrobora la bioacumulación de hidrocarburos en los tejidos de la medusa invertida *Cassiopea* spp.

Para el sitio de BC los tejidos que tuvieron mayores concentraciones de HAPs totales fueron las gónadas y zooxantelas mientras que en LN las mayores concentraciones correspondieron a zooxantelas y gastrodermis. Las elevadas concentraciones para zooxantelas pueden estar explicadas por la forma de la disección, que se llevó a cabo en la zona apical de los brazos orales, sección del organismo en donde se encuentra la mayor densidad de zooxantelas embebidas (Estes, et al. 2003) y donde se localizan las bocas orales secundarias y canales braquiales tanto de ingreso de alimento, como de salida de desechos; lo cual implica la presencia de HAPs por dos vías. Debido a la particular fisiología de la medusa invertida, es difícil separar la concentración de HAPs que corresponde al ingreso por captura de presas y aquella que corresponde a la detoxificación de los mismos. A pesar de ello, se puede afirmar que la principal fuente de ingreso de HAPs al organismo es por vía alimenticia y debido a que el tejido de zooxantelas de LN presentó los valores más altos de todas las matrices, podemos decir que la ingesta de presas contaminadas es superior en esta laguna que rodea la zona turística de Cancún.

La principal fuente de alimentación heterótrofa de la medusa invertida es a través de la caza de zooplancton, principalmente copépodos (Pitt et al. 2009; Gamero-Mora, 2014). Un estudio realizado por Almeda et al. (2013) encontró que estos organismos son

capaces de bioacumular en magnitudes de 2.5-10 veces la concentración de HAPs encontrados en la columna de agua. Asimismo se sabe que las medusas son hábiles competidores por el forrajeo de zooplancton, con la capacidad de ingerir grandes cantidades de alimento, llegando a modificar la composición de los ecosistemas marinos (Purcell et al. 2007; Condon et al. 2012). Debido a ello, la bioacumulación de HAPs es factible a partir de la captura de presas que han incorporado hidrocarburos en su sistema.

Con respecto a la concentración de HAPs en el tejido de gónadas, estos presentaron valores de concentración total de HAPs muy similares para ambos sitios. Al ser el segundo tejido en el que se cuantificaron valores superiores de HAPs, se comprueba que parte de la carga de contaminación que es metabolizada, se almacena en el tejido lipídico. Es importante mencionar que el ingreso de hidrocarburos al organismo también puede llevarse a cabo por difusión del agua circundante en la que pueden existir partículas de hidrocarburos; sin embargo el tejido de gónadas se encuentra rodeado por la mesoglea, tejido que tiene una composición de más del 90% de agua y actúa como barrera de defensa; debido a esto la vía de ingreso de HAPs es más factible sea a través del alimento y posterior transporte y metabolismo (Figura 18).

Presas contaminadas

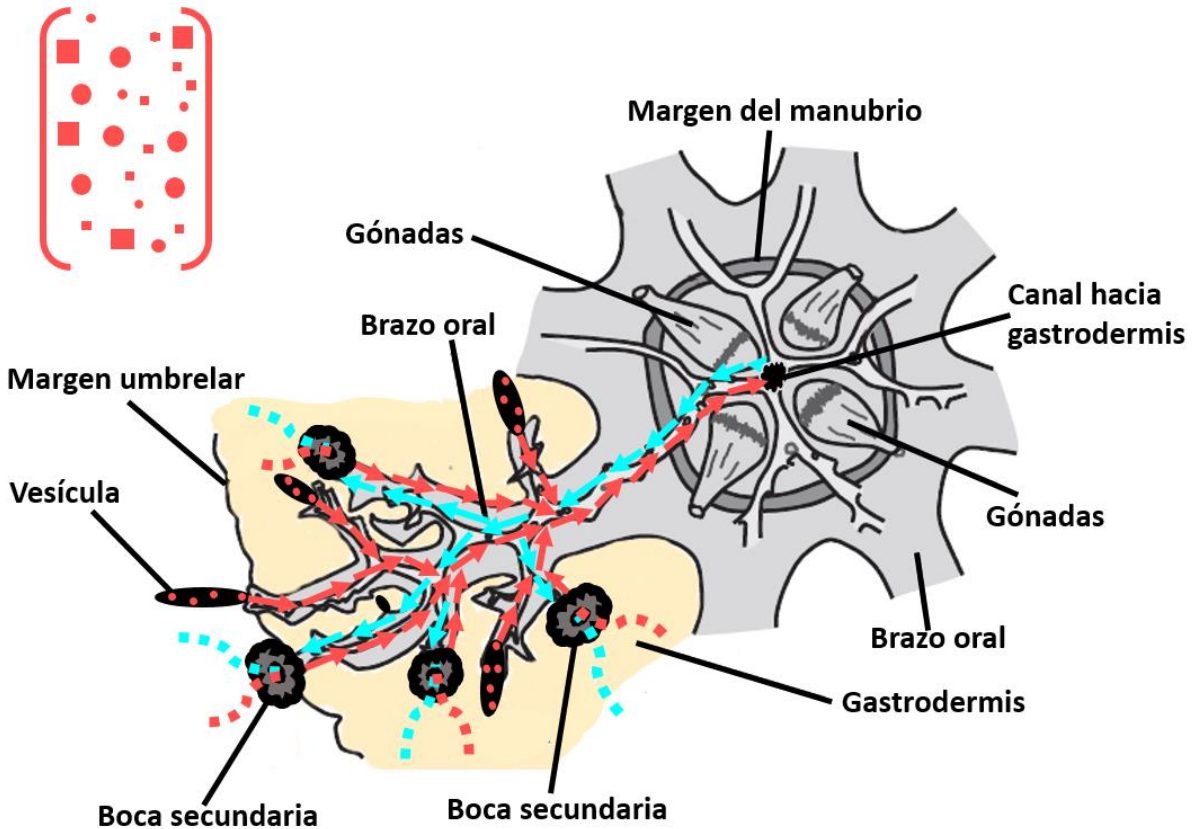


Figura 18. Esquema de la vía de ingreso de presas contaminadas (flechas rojas) y excreción de los contaminantes posterior a la metabolización (flechas azules) en la medusa invertida *Cassiopea* spp. Modificado de Hamlet et al. 2011.

Respecto a la acumulación de cada compuesto individual, en el presente trabajo los hidrocarburos antraceno y pireno se encontraron en todos los tejidos y en las mayores concentraciones, lo cual fue similar con lo publicado por Almeda et al. (2013a); este estudio ecotoxicológico conducido bajo condiciones de laboratorio, encontró que la medusa pelágica *Aurelia aurita* acumula principalmente criseno, fenantreno y pireno. En otro estudio, Almeda et al. (2013b) encontraron que los copépodos son capaces de bioacumular en mayores concentraciones fluoranteno y pireno, lo cual fortalece la hipótesis de que gran parte de la concentración de HAPs totales encontrada en *Cassiopea*, provenga de la captura de presas.

La diferencia en los hidrocarburos predominantes para cada trabajo se relaciona con la fuente de contaminación a la que los organismos son expuestos. Así, en condiciones controladas el origen de contaminación es puntual, agudo y sin degradación natural; mientras que en el caso de *Cassiopea* spp. del presente estudio, los organismos a partir de su entorno natural absorben los contaminantes que ya han sido degradados por luz solar, temperatura, factores bióticos y procesos industriales; lo que corresponde a condiciones naturales en el medio que habitan. Sin embargo, las diferencias en la acumulación de los HAPs mencionados en los estudios de Almeda y colaboradores, puede también estar relacionado con una detoxificación y absorción diferencial entre especies influenciado por sus ciclos de vida.

La Agencia de Protección al Ambiente de los Estados Unidos de América, (USEPA, por sus siglas en inglés) enmarca a 16 HAPs como prioritarios por su toxicidad. Dentro de esta matriz existen HAPs catalogados como carcinogénicos y mutagénicos por diferentes agencias de salud y protección al ambiente. Además de lo cual si el compuesto tiene una composición química de 6 anillos bencénicos, incrementa su toxicidad debido al gran peso molecular y elevado tiempo de permanencia. En el presente estudio se detectaron 2 HAPs que se ha comprobado son precursores carcinogénicos en animales y humanos, correspondiendo al dibenzo(ah)antraceno e indeno(123cd)pireno. De estos dos HAPs, las concentraciones más altas de toda la matriz analizada para los tejidos de *Cassiopea* spp. correspondieron al dibenzo(ah)antraceno.

El dibenzo(ah)antraceno tuvo la mayor concentración en las muestras de vesículas para ambos sitios; superiores a 50 µg/g; lo cual indica una prevalencia de este hidrocarburo por acumularse en los sacos vesiculares. Las vesículas son pequeños sacos que

cumplen funciones muy especializadas, dirigidas a la captura de presas. En estos organulos se aloja una importante cantidad de cnidocitos, las células urticantes y de caza de las medusas; los cuales son expelidos en bandas de mucus para atrapar a las presas. Posterior a la captura, las presas son predigeridas dentro de las vesículas por lisis enzimática para después ser enviadas por los canales braquiales hasta la gastrodermis, tejido encargado de la asimilación metabólica.

Así, la principal entrada de dibenzo(ah)antraceno al organismo es la captura de presas; es importante mencionar que en agua y sedimentos este compuesto no fue identificado, lo cual direcciona los resultados hacia la bioacumulación del xenobiótico en los tejidos de *Cassiopea spp* a partir del ingreso de alimento.

Por otro lado Gemmell et al. (2016) demostraron que pequeñas partículas de hidrocarburos pueden ser embebidas en el mucus excretado por las medusas, por lo cual existe una alta posibilidad de que en el proceso de predigestión del alimento, parte de los contaminantes se almacene y otra sea eliminada a través del mucus expulsado desde las vesículas; incrementando la carga de contaminantes en este tejido.

Por otro lado, el segundo HAP más abundante fue el indeno(123cd)pireno. De acuerdo con Irwin (1997), el peso molecular de este xenobiótico facilita su adhesión a la materia orgánica y permite bajos lapsos en la columna de agua. A pesar de esta característica del compuesto, en las muestras de agua colectadas en BC se detectaron 3.43 ng/L y en LN no fue detectado (Tabla I). Esto puede indicar la presencia del xenobiótico en los organismos zoopláncteres de la columna de agua o en la materia orgánica que se encuentra en disolución. A partir de las bajas concentraciones en las muestras de agua

y sedimentos, se reconoce la bioacumulación del HAP en los tejidos de la medusa invertida; principalmente en el tejido de vesículas en LN y gónadas en BC, ya que fueron los tejidos que superaron por más de 20 veces la concentración en el resto de las matrices tisulares.

Respecto a la presencia y cuantificación de cada hidrocarburo aromático policíclico, los resultados obtenidos en el trabajo de Almeda et al. (2013a) aportan información importante respecto a la concentración de HAPs. Sin embargo, la comparación de los resultados con el presente estudio no fue posible ya que en el trabajo de dichos autores los organismos fueron procesados en su totalidad, y la suma de los tejidos aquí analizados, no reflejará la cantidad total que pudo encontrarse en el organismo completo. Debido a la escasez de información con la que pueda ser comparado el presente estudio, se hizo una suma de la cantidad de los HAPs más representativos.

El trabajo de Almeda y colaboradores (2013a) detectó altas concentraciones de criseno; en las muestras de tejidos este hidrocarburo tuvo concentraciones altas; a pesar de que no estuvieron entre las tres más elevadas el contaminante fue detectado en concentraciones superiores a 10 $\mu\text{g/g}$ en el tejido de vesículas. El criseno fue detectado en sedimentos de ambos sitios siendo más alto en LN, lugar donde las concentraciones del hidrocarburo fueron similares entre los tejidos. En BC, la concentración de criseno tuvo variaciones entre los tejidos ya que la cantidad cuantificada para las vesículas superó 10 veces la encontrada en gastrodermis. La U.S. National Library argumenta que de acuerdo a las propiedades químicas y físicas del criseno, existe gran potencial de bioacumulación en los organismos debido a su fácil adhesión a partículas lipídicas y material orgánico; el tejido con mayor contenido graso en la medusa son las gónadas

(NLM, 2018). Sin embargo la concentración del criseno en vesículas superó aquella encontrada en gónadas; esto sostiene la hipótesis planteada para los demás hidrocarburos, en la cual el ingreso de contaminantes es a partir de la ingesta alimenticia. Por otro lado, la menor concentración de criseno en las medusas de BC, en contraste con LN implica que tienen menos disponibilidad del contaminante en las presas de las cuales se alimentan, o que poseen un sistema antioxidante más eficaz que les permite metabolizar este compuesto para eliminarlo de su organismo.

En el caso de BC, el indeno(123cd)pireno tuvo una correlación positiva para la síntesis de GST con los tejidos de vesículas y zooxantelas. Lo cual se relaciona con la función que estos cumplen y la necesaria conectividad de los mismos por medio de los canales braquiales. Sin embargo esto no ocurrió en los tejidos analizados de LN, quizás debido a que la concentración de este hidrocarburo fue superior. Al ser uno de los compuestos más tóxicos de la matriz analizada es probable que el umbral de respuesta para subsanar sus efectos adversos haya sobrepasado la acción de GST y sea combatida con algún otro mecanismo antioxidante en las medusas que viven en LN. En estos pueden estar involucrados los biomarcadores Glutación reducido (GPx) o Superóxido Dismutasa (SOD), que se han registrado en diferentes organismos marinos.

Por otro lado, se han hecho observaciones donde las zooxantelas son expelidas en bandas de mucus como respuesta al estrés, lo cual puede actuar como medio de expulsión de contaminantes. Esto es factible dada la composición de glucolípidos en el tejido mucoso de los cnidarios (Brown y Bythell, 2005; Klaus 2007). Así como a la alta cantidad de hidrocarburos alifáticos y petróleo crudo que se ha documentado se adhieren al mucus de la medusa luna *Aurelia aurita* (Almeda et al. 2013; Gemmell et al. 2016).

Debido a las condiciones del hábitat de las medusas, aguas someras con elevada radiación solar; estas han tenido que desarrollar estrategias que les permitan persistir. Una estrategia adicional a la generación de biomarcadores, es la síntesis del pigmento “Cassio Blue” que sólo ha sido detectado en estos organismos y que les permite atenuar los daños por la radiación. A su vez permite la realización de la fotosíntesis sin disminución aparente de la eficacia fotosintética de las zooxantelas. En otros cnidarios como las anémonas se ha documentado la existencia de pigmentos, proteínas y aminoácidos que protegen al organismo de la toxicidad que puede ocasionar la degradación de xenobióticos como los HAPs (Tarrant et al. 2014).

Referente a las diferencias encontradas entre los sitios, estas se corroboraron únicamente para los HAPs acenafteno y acenaftileno. Diferencia que esta ligada a mayores concentraciones de los dos compuestos en LN, lo cual resulta en daños para las medusas y otra fauna marina ya que se han catalogado como compuestos carcinogénicos y disruptores endócrinos.

Diferencias por tejido existieron en 8 HAPs, ya fuera para un solo sitio o en ambos. De estos, 5 de ellos [dibenzo(ah)antraceno, fluoranteno, Indeno(123cd)pireno, pireno y Bezo(a)antraceno] son considerados como los más tóxicos debido a su elevado peso molecular y su configuración de más de 4 anillos, lo que los hace menos solubles en agua y con mayor facilidad para permanecer adheridos en los tejidos de los organismos (Meador et al. 1995; Almeda et al. 2013).

Los sitios de estudio se encuentran amenazados por la expansión demográfica, desarrollo turístico y consecuente impacto antropogénico. Los canales de BC constituyen

la región fronteriza entre México y Belice; y esta región correspondiente a Belice se encuentra categorizada como parque nacional y reserva marina. En el plan de manejo se enlistan tres riesgos que amenazan la salud del ecosistema, la construcción del canal de navegación de BC, el cual da acceso al tráfico marítimo en la zona; el aumento demográfico de Chetumal y por último el desecho de aguas residuales de la ciudad de Chetumal (Grimshaw y Paz 2004). Este último criterio se considera como uno de los principales aportes de HAPs a la zona, razón por la cual la concentración de HAPs en un sitio con bajo desarrollo urbano en las zonas adyacentes, tuvo valores equiparables con el punto muestreado en LN.

La presencia de *Cassiopea* con notables concentraciones de HAPs en sus tejidos, apunta hacia el desarrollo de estrategias para lidiar con el estrés oxidativo que genera un ambiente contaminado. En varias partes del mundo se ha documentado la explosión demográfica de estas medusas por causantes antrópicos (Stoner et al. 2011). Su presencia en Bahía de Chetumal debe vigilarse ya que las condiciones del ecosistema son propicias para su desarrollo; y al necesitar substrato libre para asentarse, pueden llegar a competir con los pastos marinos por espacio. Esto, resultaría en el deterioro de la principal fuente de alimento del manatí, organismo emblemático para la Bahía de Chetumal, además de que esta área es crítica por funcionar como frontera entre México y Belice; y ser parte de la conservación del Sistema Arrecifal Mesoamericano (Álvarez-Legorreta y Sáenz-Morales 2005).

Glutación-S-Transferasa

Condiciones ambientales adversas como la contaminación del medio marino, promueve la síntesis de enzimas y proteínas que ayudan a mitigar el estrés oxidativo producido en

la biota. Para el caso de *Cassiopea* spp. en el presente trabajo se confirma la actividad del biomarcador Glutación-S-Transferasa en 4 tejidos de la medusa, incrementando el conocimiento sobre estos cnidarios, así como acerca de la función biológica que cumplen los tejidos de gastrodermis, gónadas, zooxantelas y vesículas.

Los sitios en los que se realizaron las colectas para llevar a cabo el presente estudio, fueron elegidos debido a la presión antropogénica disímil que impacta cada uno de ellos. Así, los resultados obtenidos para la respuesta del biomarcador de estrés oxidativo soportaron diferencias significativas entre sitios y tejidos; es decir que los organismos se encuentran expuestos a un estrés oxidativo diferencial.

Los tejidos con mayor concentración de GST fueron las vesículas y gastrodermis. La elevada cantidad de esta enzima como mecanismo de defensa en vesículas se explica dada la función que tienen como “organulos” que llevan a cabo la fotosíntesis además de la caza de zooplancton a través de cnidocitos. El proceso de la fotosíntesis implica la producción de radicales libres de oxígeno, lo cual requiere que los organismos que la llevan a cabo tengan mecanismos de defensa ante la oxidación (Verde y McCloskey, 1998; Richier et al. 2005). Dado que las vesículas contienen una elevada cantidad de zooxantelas, la elevada cantidad de GST es congruente con la función biológica que llevan a cabo. Además de la fotosíntesis, en este tejido se lleva a cabo la caza; lo que implica ingesta alimenticia y predigestión de las presas. Debido a la especial función de las vesículas se hace factible la posibilidad de que el compuesto GST tenga mayor presencia en este tejido con el fin de conjuguar compuestos electrofílicos para su excreción mediante el incremento de su solubilidad en agua; como es el caso de los HAPs.

Por otro lado, la gastrodermis es el tejido que se encarga del metabolismo digestivo, siendo razonable encontrar elevadas concentraciones de GST (Hyman, 1951; Gardiner 1978). En organismos superiores, como los peces se ha documentado a detalle el papel de GST como una enzima que conjuga compuestos electrofílicos para proteger a la célula de los efectos tóxicos de los xenobióticos, como lo es la peroxidación de la membrana lipídica; función que de acuerdo con los resultados aquí obtenidos es similar en la medusa invertida (Zanette et al. 2011).

De la misma forma, en peces se registran elevadas concentraciones de GST en el hígado, riñones y tracto gastrointestinal; al ser las principales fuentes de excreción de xenobióticos. Sin embargo en las medusas no existen órganos, por lo que el tejido gastrodérmico debe funcionar como sistema de desecho de los contaminantes, y por ende contar con sistemas antioxidantes que protejan a las células que lo componen (Hyman, 1951). Un trabajo efectuado por Verde y McCloskey (1998) da indicios sobre el papel de homeóstasis que lleva a cabo la gastrodermis. Estos autores documentaron la fagocitosis de zooxantelas senescentes y no activas, por medio de fosfatasa ácida dentro de la gastrodermis; lo cual requiere la síntesis de compuestos que limiten el potencial del estrés oxidativo.

La baja concentración de GST en las zooxantellas puede deberse a que son fagocitadas en la gastrodermis y no en los brazos orales, donde sólo están las zooxantelas funcionales. Una explicación alternativa puede ser el procedimiento de disección de los tejidos, ya que la cantidad de zooxantelas pudo verse diluida en el tejido de mesoglea que se compone principalmente de agua.

Sin embargo, el grupo medusa así como las estrategias de persistencia que tienen no ha recibido la debida atención por parte de la comunidad científica. Esto a pesar de la amplia tolerancia a la degradación ecológica de los océanos con la que cuentan. Este panorama es más inexplorado con respecto a la ruta metabólica que siguen los hidrocarburos aromáticos policíclicos una vez que ingresan a los organismos, se desconoce completamente la vía de ingreso, metabolismo y detoxificación de contaminantes.

Así, las medusas se han catalogado como organismos resistentes a variaciones ambientales de su entorno, tanto físicas como químicas. Debido a la residencia bentónica de *Cassiopea sp*, diversas especies de este Género se han incorporado dentro de estudios ecotoxicológicos por su fácil captura y permanente contacto con el medio acuoso y el bentos (Todd et al. 2006; Stoner et al. 2011; Epstein et al. 2016; Templeman y Kingsford, 2010; Templeman y Kingsford, 2015; Klein et al. 2016).

Los análisis tanto químicos como estadísticos fueron conducidos sobre los mismos tejidos, y los resultados arrojaron correlaciones notables o significativas para diferentes tejidos; lo cual implica un estrés oxidativo diferencial por tejido y sitio, dependiente del sitio y tejido en particular.

Conclusiones

- Se encuentra una gran diversidad de HAPs en las muestras de agua y sedimentos de Bacalar Chico, sin diferencias significativas entre sitios.

- La concentración de HAPs en *Cassiopea* spp. fue superior en los tejidos de las medusas colectadas en la estación de Laguna Nichupté, correspondiendo a las zooxantelas el mayor promedio de concentración.
- En los tejidos de la medusa *Cassiopea* se encontraron diferencias significativas entre sitios para los HAPs acenafteno y acenaftileno.
- Se encontró una mayor concentración de criseno en gastrodermis y benzo(a)pireno en gónadas para Laguna Nichupté, así como de benzo(ghi)perileno en Bacalar Chico, demostrando diferencias en la acumulación de estos HAPs en los tejidos de cada sitio de estudio.
- La mayor concentración de GST correspondió al tejido de vesículas y la menor a gónadas, en ambos sitios.
- Para los tejidos de gastrodermis, vesículas y zooxantelas en Bacalar Chico y únicamente para el tejido de vesículas en Laguna Nichupté, existieron correlaciones significativas entre HAPs y GST.
- Se deben realizar más estudios para conocer la absorción de los hidrocarburos individuales en los tejidos y su función fisiológica; así como ampliar los sitios y la temporalidad de muestreo.

Bibliografía

- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. (ATSDR): Reseña Toxicológica de los Hidrocarburos aromáticos policíclicos. 1995. Atlanta, GA: Departamento de Salud y Servicios Humanos de EEUU, Servicio de Salud Pública; [Consultado 2016 abril 20]. <http://www.atsdr.cdc.gov/spl/previous/07list.html>.
- Almeda R, Wambaugh Z, Chai C, Wang Z, Hyatt C, Liu Z, Buskey E. 2013a. Interactions between zooplankton and crude oil: toxic effects and bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons. PLoS ONE. 8(6): e67212.
- Almeda R, Wambaugh Z, Chai C, Wang Z, Liu Z, Buskey E. 2013b. Effects of crude oil exposure on bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons and survival of adult and larval stages of gelatinous zooplankton. PLoS ONE. 8(10): e74476.
- Álvarez-Legorreta T. 2009. Contaminación acuática. En: El sistema ecológico de la bahía de Chetumal/Corozal costa occidental del Mar Caribe. Espinoza-Ávalos J, Islebe GA, Hernández-Arana HA (eds.). México: El Colegio de la Frontera Sur. p. 205-217.
- Álvarez-Legorreta T, Sáenz-Morales R. 2005. Hidrocarburos aromáticos policíclicos en sedimentos de la Bahía de Chetumal. En: Botello AV, Rendón-von Osten J, Gold-Bouchot G, Agraz-Hernández C. (eds.). Golfo de México, Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias. Universidad Autónoma de Campeche, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Ecología. 2da Edición. P. 299-310.
- Ben-Khedher S, Jebali J, Kamel N, Banni M, Rameh M, Jrad A y H Boussetta. 2013. Biochemical effects in crabs (*Carcinus maenas*) and contamination levels in the Bizerta Lagoon: an integrated approach in biomonitoring of marine complex pollution. Environmental Science and Pollution Research. 20: 2616-2631.

- Blackburn M, Mazzacano CAS, Fallon C y SH Black. 2014. Oil in our oceans. A review of the impacts of oil spills on Marine Invertebrates. 152 pp. Portland, Oregon. The Xerces Society for Invertebrate Conservation.
- Boero F, Bouillon J, Gravili C, Miglietta MP, Parsons T y Piraino S. 2008. Gelatinous plankton: irregularities rule in the world (sometimes). *Marine Ecology Progress Series*. 356: 299-310.
- Botello AV, Villanueva S, Díaz G. 1997. Petroleum pollution in the Gulf of Mexico and Caribbean Sea. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 153: 91-118.
- Botello AV. 2005. Características, composición y propiedades fisicoquímicas del petróleo, p. 261-268. En: A. V. Botello, J. Rendón-von Osten, G. Gold-Bouchot y C. Agraz-Hernández (Eds.). *Golfo de México Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias*, 2da Edición. Univ. Autón. De Campeche, Univ. Nal. Autón. de México, Instituto Nacional de Ecología. 696 p.
- Brown BE y Bythell JC. 2005. Perspectives on mucus secretion in coral reefs. *Marine Ecology Progress Series*. 296: 291-309.
- Buenfil-Friedman J. 2009. Adaptación a los impactos del cambio climático en los humedales costeros del Golfo de México. Vol. II. SEMARNAT-INE. 859 pp.
- Burgeot T, Bocquéné G, Porte C, Dimeet J, Santella RM, Dimeet J, Garcia de la Parra LM, Pftol-Leszkowicz A, Raoux C y F Galgani. 1996. Bioindicators of pollutant exposure in the northwestern Mediterranean Sea. *Marine Ecology Progress Series*. 131: 125–141.
- Calderón-Maya JR. 2014. Contaminación ambiental del sistema lagunar de Nichupté (Cancún-México). Congreso Nacional del Medio Ambiente. Disponible en:

<http://www.conama11.vsf.es/conama10/download/files/conama2014/CT%202014/1896711299.pdf>

- Carbajal-Pérez N. 2009. Hidrodinámica y transporte de contaminantes y sedimentos en el Sistema Lagunar de Nichupté-Bojórquez, Quintana Roo. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. CQ063. México D.F.
- Carrillo L, Palacios-Hernández E, Ramírez AM y JB Morales-Vela. 2009. Características hidrometeorológicas y batimétricas. En: El sistema ecológico de la bahía de Chetumal/Corozal costa occidental del Mar Caribe. Espinoza-Ávalos J, Islebe GA, Hernández-Arana HA (eds.). México: El Colegio de la Frontera Sur. p. 12-20.
- Chang-feng QU, Jin-ming S, Ning LI, Xue-gang LI, Hua-mao Y, Li-qin D. 2015. Jellyfish (*Cyanea nozakii*) decomposition and its potential influence on marine environments studied via simulation experiments. *Marine Pollution Bulletin*. 97: 199-208.
- Cheung CC, Zheng GJ, Li AMY, Richardson BJ y PKS Lam. 2001. Relationships between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbonds and antioxidative responses of marine mussels, *Perna viridis*. *Aquatic toxicology*. 52: 189-203.
- Collado-Vides L, Segura-Puertas L, Merino-Ibarra M. 1988. Observaciones sobre dos escifomedusas del género *Cassiopea* en la Laguna de Bojórquez, Quintana Roo, México. *Revista de Investigaciones Marinas*. 9(2): 21-27.
- Collins AG. 2009. Recent Insights into Cnidarian Phylogeny. *Smithsonian Contributions to the Marine Sciences*. 38: 139-149.
- Condon RH, Graham WM, Duarte CM, Pitt KA, Lucas CH, Steven HD, Haddock KR, Sutherland KL, Robinson KL, Dawson MN, *et al.* 2012. Questioning the Rise of Gelatinous Zooplankton in the World's Oceans. *BioScience*. 62: 160-167.

- Crain CM, Kroeker K, Halpern BS. 2008. Interactive and cumulative effects of multiple human stressors in marine systems. *Ecology Letters*. 11:1304-1315.
- Duysak O, Yilmaz AB, Mazlum Y. 2013. Metal Concentrations in Different Tissues of Jellyfish (*Rhopilema nomadica* Galil, 1990) in Iskenderun Bay, Northeastern Mediterranean. *Journal of Animal and Veterinarian Advances*. 12: 1109-1113.
- Echols BS, Smith AJ, Gardinali PR, Rand GM. 2016. The use of ephyrae of a scyphozoan jellyfish, *Aurelia aurita*, in the aquatic toxicological assessment of Macondo oils from the Deepwater Horizon incident. *Chemosphere*. 144:1893-1900.
- U.S. Environmental Protection Agency (EPA). 1993. Provisional guidance for quantitative risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons. EPA 600-R-93-089.
- Estes A, Kempf S y Henry R. 2003. Localization and quantification of carbonic anhydrase activity in the symbiotic scyphozoan *Cassiopea xamachana*. *Biological Bulletin*. 204: 278-289.
- Epstein HE, Templeman MA y Kingsford MJ. 2016. Fine-scale detection of pollutants by a benthic marine jellyfish. *Marine Pollution Bulletin*. 107(1): 340-346.
- Espinosa-Bouchot M. 2011. Plan para la recuperación ambiental de la Laguna Bojórquez. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Comisión Nacional del Agua. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. Memoria fotográfica SNIB-CONABIO proyecto No. HL001. México, D.F. 39 pp.
- Fernández-Linares LC, Rojas-Avelizapa NG, Roldán-Carrillo TG, Ramírez-Islas ME, Zegarra-Martínez HG, Uribe-Hernández R, Reyes-Ávila RJ, Flores-Hernández D y JM Arce-Ortega. 2006. Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados. Instituto Mexicano del Petróleo. México, D.F. 173 pp.

- Filimonova V, Goncalves F, Marques JC, De Troch M y AM Goncalves. 2016. Fatty acid profiling as bioindicator of chemical stress in marine organisms: A review. *Ecological indicators*. 67: 657-672.
- Fowler S, Teyssie JL, Cotret O, Danis B, Rouleau C y Warnau M. 2004. Applied radiotracer techniques for studying pollutant bioaccumulation in selected marine organisms (jellyfish, crabs and sea stars). *Nucleonika*. 49: 97-100.
- Gamero-Mora E. 2014. Aspectos ecológicos y variación morfológica de medusas invertidas (*Cassiopea Péron & Lesueur*, 1810) en distintos ambientes costeros del Caribe mexicano. [Tesis de Maestría]. México, D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Gardiner M. 1978. *Biología de los invertebrados*. Omega. 1ª edición. Traducción por: Cuello J y Vilageliu ML. España. 948 pp.
- Gasca R, Loman-Ramos L. 2014. Biodiversidad de Medusozoa (Cubozoa, Scyphozoa e Hydrozoa) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. Supl. 85: 154-163.
- Gemmell BJ, Bacosa HP, Liu ZF y Buskey EJ. 2016. Can Gelatinous Zooplankton Influence the Fate of Crude Oil in Marine Environments?. *Marine Pollution Bulletin*. 113: 483-487.
- Gibbons MJ y Richardson AJ. 2013. Beyond the jellyfish joyride and global oscillations: advancing jellyfish research. *Journal of Plankton Research*. 35: 929-938.
- Greenpeace. 2012. Impactos ambientales del petróleo. [Consultado 2016 abril 25]. http://www.greenpeace.org/mexico/global/mexico/report/2012/1/impactos_ambientales_petroleo.pdf.

- Grimshaw T y GM Paz. 2004. The revised Bacalar Chico National Park & Marine Reserve management plan. Green Reef Environmental Institute San Pedro Town. Belize, Central America. 196 pp.
- Guzmán-Martínez MC. 2009. Evaluación de la fototoxicidad y riesgo ecológico del antraceno, benzo[a]pireno y fluoranteno utilizando *Artemia franciscana* y algunos organismos de la zona arrecifal de Puerto Morelos y del complejo lagunar Bojorquez-Nichupté en Quintana Roo, bajo condiciones de laboratorio. [Tesis de doctorado]. [México (D.F.)]: Universidad Autónoma Metropolitana.
- Hamlet C, Santhanakrishnan A y LA Miller. 2011. A numerical study of the effects of bell pulsation dynamics and oral arms on the exchange currents generated by the upside-down jellyfish *Cassiopea xamachana*. *Journal of Experimental Biology*. 214: 1911-1921.
- Hanson N, M Halling y H Norin. 2013. Biomarkers for Environmental Monitoring. Suggestions for Norwegian monitoring programs. EnviroPlanning AB, Norwegian Environment Agency. 70pp. [Consultado 2016 septiembre 24]. <http://www.miljodirektoratet.no/Documents/publikasjoner/M88/M88.pdf>.
- Hayes JD, Flanagan JU e IR Jowsey. 2005. Glutathione Transferases. *Annual Review Pharmacology and Toxicology*. 45: 51-88.
- Holland BS, Dawson MN, Crow GL, Hofmann DK. 2004. Global phylogeography of *Cassiopea* (Scyphozoa: Rhizostomeae): molecular evidence for cryptic species and multiple invasions of the Hawaiian Islands. *Marine Biology*. 145: 1119-1128.
- Hopf JK y Kingsford MJ. 2013. The utility of statoliths and bell size to elucidate age and condition of a scyphomedusa (*Cassiopea sp.*). *Marine Biology*. 160: 951-960.
- Hyman H. 1951 *The invertebrates*. McGraw-Hill. New York.

- Irwin RJ. 1997. Environmental Contaminants Encyclopedia, PAHs Entry. National Park Service. [Consultado 2016 septiembre 24]. <https://nature.nps.gov/water/ecencyclopedia/assets/contaminant-pdfs/inden123.pdf>
- Jee JH y JC Kang. 2005. Biochemical changes of enzymatic defense system after phenanthrene exposure in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Physiology Research*. 54: 585-591.
- Jiao NZ, Chen DK, Luo YM, Huang XP, Zhang R, zhang HB, Jiang ZJ, Zhang F. 2016. Climate change and anthropogenic impacts on marine ecosystems and counter measurement in China. *Advances in Climate Change Research*. 6: 118-125.
- Kaviraj A, E Unlu, A Gupta y A El Nemr. 2014. Biomarkers of Environmental Pollutants. *BioMed Research International*. 2p.
- Klaus JS, Janse Ingmar, Heikoop JM, Sanford RA y Fouke BW. 2007. Coral microbial communities, zooxanthellae and mucus along gradients of seawater depth and coastal pollution. *Environmental Microbiology*. 9(5): 1291-1305.
- Klein SG, Pitt KA, Carroll AR. 2016. Reduced salinity increases susceptibility of zooxanthellate jellyfish to herbicide toxicity during a simulated rainfall event. *Environmental Pollution*. 209: 79-86.
- Lara-Lara JR, Arenas-Fuentes V, Bazán-Guzmán C, Díaz Castañeda V, Escobar-Briones E, García-Abad MC, Gaxiola-Castro G, Robles-Jarero G, Sosa Ávalos R, Soto-González LA, *et al.* 2008. Los ecosistemas marinos. En: *Capital natural de México*, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. p. 135-159.

- Lee RF. 1988. Glutathione S-transferase in marine invertebrates from Langesundfjord. Marine Ecology Progress Series. 46: 33-36.
- Lucas C y A Horton. 2014. Short-term effects of the heavy metals, Silver and copper, on polyps of the common jellyfish, *Aurelia aurita*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 461: 154-161.
- Lüchmann KH, Mattos JJ, Siebert MN, Granucci N, Dorrington TS, Bícigo MC, Taniguchi S, Sasaki ST, Daura-Jorge FG y ACD Bainy. 2011. Biochemical biomarkers and hydrocarbons concentrations in the mangrove oyster *Crassostrea brasiliana* following exposure to diesel fuel water-accommodated fraction. Aquatic Toxicology. 105: 652-660.
- Manduzio H, Rocher B, Durand F, Galap C, Leboulenger F. 2005. The point about oxidative stress in molluscs. Invertebrate Survival Journal. 2: 91-104.
- Mastandrea C, Chichizola C, Ludueña B, Sánchez H, Álvarez H, Gutiérrez A. 2005. Hidrocarburos aromáticos policíclicos. Riesgos para la salud y marcadores biológicos. Acta bioquímica clínica latinoamericana. 39(1): 27-36.
- Meador JP, Stein JE, Reichert WL y U Varanasi. 1995. Bioaccumulation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Marine Organisms. Reviews of environmental contamination and toxicology. 143: 79-165.
- Millennium Ecosystem Assessment (MEA). 2003. Ecosystems and human well-being., Washington D.C., USA: Island Press. [Consultado 2016 abril 20]. <http://www.millenniumassessment.org>.
- Morabito R, A Marino y G La Spada. 2013. Heavy metals affect regulatory volume decrease (RVD) in nematocytes isolated from the jellyfish *Pelagia noctiluca*. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A. 165: 199-206.

- Morabito R, Dossena S, La Spada G y A Marino. 2014. Heavy metals affect nematocysts discharge response and biological activity of crude venom in the jellyfish *Pelagia noctiluca* (Cnidaria, Scyphozoa). *Cellular Physiology and Biochemistry*. 34: 244-254.
- Mills C. 2001. Jellyfish blooms: are populations increasing globally in response to changing ocean conditions? *Hydrobiologia*. 451: 55-68.
- Muñoz-Vera A, García G, García-Sánchez A. 2015. Metal bioaccumulation pattern by *Cotylorhiza tuberculata* (Cnidaria, Scyphozoa) in the Mar Menor coastal lagoon (SE Spain). *Environmental Science Pollution Research*. 22: 19157–19169.
- Nellemann C, Corcoran E. 2006. Our precious coasts. Marine pollution, climate change and the resilience of coastal ecosystems. United Nations Environment Programme, GRIDArendal, Norway. 40p.
- Niggli W, Naumann MS, Struck U, Manasrah R y Wild C. 2010. Organic matter release by the benthic upside-down jellyfish *Cassiopea* spp. fuels pelagic food webs in coral reefs. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 384: 99-106. doi: 10.1016/j.jembe.2010.01.011.
- NOAA. 1999. Sediment Quality Guidelines developed for the National Status and Trends Program. National Ocean Service.
- Noreña-Barroso E, Zapata-Pérez O, Ceja-Moreno V, Gold-Bouchot G. 1998. Hydrocarbons and Organochlorine Compounds in Sediments from Bay of Chetumal, Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 61(1): 80-87.
- Oliva M, González de Canales ML, Gravato C, Guilhermino L y JS Perales. 2010. Biochemical effects and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Senegal sole

- (*Solea senegalensis*) from a Huelva estuary (SW Spain). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 73: 1842-1851.
- Özgür E y B Öztürk. 2008. A population of the alien jellyfish, *Cassiopea andromeda* (Forsskål, 1775) (Cnidaria: Scyphozoa: Rhizostomea) in the Ölüdeniz Lagoon, Turkey . *Aquatic Invasions*. 3(4): 423-428.
- Pauly D, William G, Libralato S, Morissette L, Deng-Palomares ML. 2009. Jellyfish in ecosystems, online databases, and ecosystem models. *Hydrobiologia*. 616: 67-85.
- Petróleos Mexicanos (PEMEX). 2014. Anuario estadístico. Disponible en: http://www.pemex.com/ri/Publicaciones/Anuario%20Estadistico%20Archivos/2014_ae_00_vc_e.pdf. [Consultado 2016 julio 16].
- Próspero Villan. 2001. Nichupté, una cloaca. *Novedades de Quintana Roo*. Repositorio digital de la UNESCO-Medio ambiente y desarrollo en regiones costeras e islas pequeñas. Disponible en: http://webarchive.unesco.org/20160804023233/http://www.unesco.org/csi/wise/nichupte_s.htm
- Purcell JE, Uye S, Lo WT. 2007. Anthropogenic causes of jellyfish blooms and their direct consequences for humans: a review. *Marine Ecology Progress Series*. 350: 153-174.
- Purcell JE. 2012. Jellyfish and ctenophore blooms coincide with human proliferations and environmental perturbations. *Annual Review of Marine Science*. 4: 209-235.
- Richardson AJ, Bakun A, Hays GC, Gibbons MJ. 2009. The jellyfish joyride: causes, consequences and management responses to a more gelatinous future. *Trends in Ecology and Evolution*. 24: 312-322.

- Richardson BJ, Mak E, De Luca-Abbott SB, Martin M, McClellan K, y PKS Lam. 2008. Antioxidant responses to polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides in green-lipped mussels (*Perna viridis*): Do mussels “integrate” biomarker responses? *Marine Pollution Bulletin*. 57: 503-514.
- Richier S, Furla P, Plantivaus A, Mele PL y Allemand D. 2005. Symbiosis-induced adaptation to oxidative stress. *The Journal of Experimental Biology*. 208: 277-285.
- Rubio-Maldonado E, Murad-Robles M y Rovira-Sanroque JV. 2010. Crisis ambiental en la costa de Quintana Roo como consecuencia de una visión limitada de lo que representa el desarrollo sustentable. *Argumentos (Méx)*. 23(63): 161-185.
- Segura-Puertas L y M Damas-Romero. Variación estacional de la comunidad de medusas (Cnidaria) en la Laguna Bojórquez, Cancún, México. 1997. *Hidrobiológica* (7): 59-64.
- Stoner EW, Layman CA, Yeager LA, Hassett HM. 2011. Effects of anthropogenic disturbance on the abundance and size of epibenthic jellyfish *Cassiopea* spp. *Marine Pollution Bulletin*. 62: 1109-1114.
- Tarrant AM, Reitzel AM, Kwok CK y MJ Jenny. 2014. Activation of the cnidarian oxidative stress response by ultraviolet radiation, polycyclic aromatic hydrocarbons and crude oil. *The Journal of Experimental Biology*. 217: 1444-1453.
- Templeman MA, Kingsford MJ. 2010. Trace element accumulation in *Cassiopea* spp. (Scyphozoa) from urban marine environments in Australia. *Marine Environmental Research*. 69(2): 63-72.
- Templeman MA, Kingsford MJ. 2012. Variation in soft tissue chemistry among scyphozoan and cubozoan jellyfishes from the Great Barrier Reef, Australia. *Hydrobiologia*. 690: 279-290.

- Templeman MA, Kingsford MJ. 2015. Predicting aqueous copper and zinc accumulation in the upside-down jellyfish *Cassiopea maremetens* through the use of biokinetic models. *Environmental Monitoring Assessment*. 187: 416.
- Todd BD, Thornhill DJ, Fitt WK. 2006. Patterns of inorganic phosphate uptake in *Cassiopea xamachana*: a bioindicator species. *Marine Pollution Bulletin*. 52: 515-521.
- Tuvikene A. 1995. Responses of fish to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Annales Zoologici Fennici*. 32: 295-309.
- Vasseur P y C Cossu-Leguille. 2003. Biomarkers and community indices as complementary tools for environmental safety. *Environmental International*. 28: 711-717.
- West EJ, Pitt KA, Welsh DT, Koop K, Rissik D. 2009. Top-down and bottom-up influences of jellyfish on primary productivity and planktonic assemblages. *Limnology and Oceanography*. 54: 2058-2071.
- Zanette J, Alves de Almeida E, Zaccaron da Silva A, Guzenski J, Ferreira JF, Di Mascio P, Freire-Marques MR y AC Dias-Bainy. 2011. Salinity influences glutathione S-transferase activity and lipid peroxidation responses in the *Crassostrea gigas* oyster exposed to diesel oil. *Science of the Total Environment*. 409: 1976-1983.
- Zhang JF, Sun YY, Shen H, Liu H, Wang XR, Wu JC y YQ Xue. 2015. Antioxidant response of *Daphnia magna* exposed to no. 20 diesel oil. *Chemical Speciation & Bioavailability*. 16: 139-144.

ANEXO-Artículo sometido

Evaluación de HAPs y GST como biomarcador de estrés oxidativo en la medusa *Cassiopea* spp. en dos Sistemas Lagunares de Quintana Roo, México

Meléndez-Rosas Rebeca^{1, 2}, Álvarez-Legorreta Teresa¹, Gasca-Serrano Rebeca^{1 y}
Carrillo-Bibriezca Laura¹

¹El Colegio de la Frontera Sur

Av. Centenario km 5.5, CP 77014, Chetumal, Quintana Roo, México

²COSTASALVAJE, A.C.

Bld. Las Dunas 160, CP 22880, Ensenada, Baja California, México

Evaluación de HAPs y GST en *Cassiopea* spp. en Quintana Roo, México

Rebeca Meléndez Rosas, La Paz, B.C.S., rmelendez@ecosur.edu.mx,
rebek15_90@hotmail.com, 0456121328212

Título: Evaluación de HAPs y GST como biomarcador de estrés oxidativo en la medusa *Cassiopea* spp. en dos Sistemas Lagunares de Quintana Roo, México.

Abstract: The ecological degradation of the marine environment is evident due to the contamination by anthropogenic activities. The marine water bodies act as reservoir of different pollutants including polycyclic aromatic hydrocarbons PAHs which have cytotoxic, carcinogenic and mutagenic effects for the marine biota including the jellyfish. Due to the importance of jellyfish and PAHs, was analyzed the concentration of 16 PAHs in 4 tissues (gastrodermis, gonads, vesicles and oral arms) of *Cassiopea* spp. and the enzymatic biomarker Glutathione-S-Transferase (GST), one of the physiological responses of organisms as a defense mechanism against the generation of reactive oxygen molecules induced by PAHs.

The organisms were collected in Nichupte Lagoon and Bacalar Chico, the highest average concentrations of PAHs corresponded to gonads and zooxanthellae. The analysis of variance did not show differences by site or tissue for the totality of PAHs analyzed, Differences per site existed for acenaphthene ($p = 0.04$) and acenaphthylene ($p = 0.01$). Differences were also found for specific individual compounds by tissue. The GST biomarker had differences between sites and tissues ($p = 0.01$), finding the highest concentration in the vesicles for both study sites. Significant correlations between GST and PAHs were found in 6 contaminants.

The variation of contaminants and biomarker between tissues of *Cassiopea*, makes necessary the realization of ecotoxicological studies, in order to increase knowledge about the function per tissue and the mechanisms that allow jellyfish to persist in contaminated environments.

Keywords: Contamination, hydrocarbons, oxidative stress, gastrodermis, zooxanthellae.

Introducción

El impacto antropogénico y el cambio climático, han originado la alteración del equilibrio natural de los ecosistemas marinos (Condon et al. 2012). Con ello, los estudios ecológicos se han dirigido a grupos con rápida adaptación a la reestructuración de los hábitats, como las medusas; Phylum Cnidaria, Subphylum Medusozoa (Purcell 2012). La Clase Scyphozoa se ha documentado como la más tolerante a cambios en su ambiente (Arai 2001; Mills 2001). Dentro de esta Clase se agrupa al Género *Cassiopea* Péron y Lesueur, 1809, organismos que viven en simbiosis con dinoflagelados del Género *Symbiodinium* en regiones tropicales, con fondos arenosos rodeados por ecosistemas de pasto y manglar, como el Caribe Mexicano.

El Caribe Mexicano ha sufrido la alteración ecológica de sus ecosistemas debido al turismo y la explotación de sus recursos naturales (Collado-Vides et al. 1998), que conlleva el vertimiento de una amplia gama de contaminantes (Filimonova et al. 2016), entre los que encontramos a los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) (MEA 2003; Nellemann y Corcoran 2006).

La generación excesiva de HAPs ocasiona su permanencia continua en los océanos debido a la extracción petrolera, circulación de embarcaciones, desechos industriales y combustión de materia orgánica (Almeda et al. 2013a). Estos compuestos tienen efectos citotóxicos, genotóxicos, carcinogénicos y mutagénicos (Mastandrea et al. 2005), debido a la bioacumulación y biomagnificación (Almeda et al. 2013a; Echols et al. 2016).

Debido a la rapidez con la cual se modifica la dinámica natural de los ecosistemas, es necesario identificar cómo inciden los contaminantes dentro de los organismos. El Género *Cassiopea* se han incorporado dentro de estudios ecotoxicológicos (Templeman y Kingsford 2010), cuantificando también biomarcadores químicos como la respuesta

fisiológica de los organismos para resistir y subsanar las repercusiones del estrés oxidativo (Hayes et al. 2005).

Los biomarcadores se han empleado en el monitoreo de HAPs en peces, crustáceos y bivalvos. Dentro de estos el GST se evalúa como indicador de exposición a HAPs, ya que participa en la biotransformación de xenobióticos electrofílicos, facilitando su excreción (Zhang et al. 2004; Hayes et al. 2005; Jee y Kang 2005; Lüchmann et al. 2011).

El desconocimiento de la contaminación por HAPs en el Caribe Mexicano, enmarca la necesidad por llevar a cabo investigaciones sobre la contaminación marina y sus implicaciones para la biota (Álvarez-Legorreta 2009). En México los trabajos sobre *Cassiopea sp.* se limitan a la ecología básica (Collado-Vides et al. 1998; Gamero-Mora, 2014), dejando un vacío sobre los biomarcadores y HAPs en el Caribe Mexicano.

Por esto el presente estudio evalúa la actividad de GST como biomarcador de exposición a HAPs en cuatro tejidos de *Cassiopea spp.* en dos sitios con diferente grado de presión antropogénica. Lo cual, permitirá avanzar en el conocimiento de los mecanismos que favorecen el éxito ecológico de las medusas en sitios contaminados.

Materiales y Métodos

La colecta de la medusa *Cassiopea spp.* se realizó al Norte de Laguna Nichupté (LN) en Cancún, que recibe el impacto de una infraestructura hotelera y Laguna Bacalar Chico (BC) en Xcalak, un sistema de canales que comunica la Bahía de Chetumal con el Mar Caribe, y donde no existen asentamientos humanos (figura 1).

Trabajo de campo

En diciembre de 2016 se realizó una colecta de 15 medusas por localidad, en Laguna Bacalar Chico (BC) los organismos fueron capturados por medio de buceo libre en cinco estaciones de muestreo. En Laguna Nichupté (LN), los organismos se colectaron con una

red de mano en una única estación, debido a la ausencia de organismos en sitios reportados (Collado-Vides et al. 1998; Espinosa-Bouchot, 2011). Se realizó un esfuerzo por localizar otras poblaciones de *Cassiopea*; sin embargo no se logró. Los organismos se transportaron vivos con agua del sitio, para su inmediata disección.

En cada estación se tomaron los parámetros físicoquímicos del agua *in situ* por medio de una sonda multiparamétrica HORIBA U-10; se tomaron muestras de sedimentos por medio de una draga de acero inoxidable y muestras de agua en una botella de cristal de 4 l. Las muestras se transportaron en frío dentro frascos de vidrio.

El material empleado para colecta, almacenamiento y análisis de las muestras fue lavado previamente por medio de solventes grado cromatográfico. Todos los procedimientos se condujeron en el laboratorio de Química de ECOSUR-Unidad Chetumal.

Laboratorio

Disección de los organismos

Los organismos se disectaron en cuatro tejidos: gastrodermis, gónadas, vesículas (apéndices vesiculares) y zooxantelas (zona apical de brazos orales) (figura 2). Las muestras 112 para cuantificación de GST se almacenaron a -60°C ; mientras que las 92 muestras para la cuantificación de HAPs se congelaron a -20°C para ser secadas en la liofilizadora LABCONCO-FreeZone 4.5®, durante 24 h.

Cuantificación de HAPs

La concentración de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en agua, sedimentos y tejidos, se cuantificó siguiendo la metodología de CARIPOL/IOCARIBE (1986). Se analizaron 16 HAPs definidos por la Agencia de Protección al Ambiente Estadounidense (USEPA, por sus siglas en inglés) como de toxicidad prioritaria: naftaleno, acenafteno, acenaftileno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno,

criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k,j)fluoranteno, benzo(a)pireno, indeno(123)pireno, dibenzo(ah)antraceno, y benzo(ghi)perileno. Adicionalmente se cuantificó la materia orgánica en sedimentos, empleando el método por calcinación.

Cuantificación del biomarcador

La cuantificación de Glutación-S-Transferasa (GST) se llevó a cabo por el método de Habig et al. (1974) adaptado al método espectrofotométrico. La actividad de GST fue leída en un espectrofotómetro Genesys 10uv Thermo® en celdas de cuarzo de 1 ml.

Estadísticos

Se realizaron Análisis de Varianza (ANDEVA) para comparar las concentraciones obtenidas para HAPs y GST por sitio y tejido; se generaron modelos de correlación para el biomarcador GST y la concentración de HAPs empleando el método de Spearman. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo en el programa R-studio.

Resultados

Los resultados de BC se reportan en promedio (\bar{x}) ya que las muestras procesadas correspondieron a 5 sitios; mientras que para LN el resultado se basó en un solo sitio. En BC la temperatura superficial del agua fue de $28.5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.9$, pH de 8 ± 0.2 , oxígeno disuelto fue de $9.8\text{ mg/l} \pm 0.2$, la salinidad (ppm) de 38 ± 0.1 y materia orgánica de $11.99\% \pm 2.66$. Para LN la temperatura fue de $28.2\text{ }^{\circ}\text{C}$, el pH de 8.4, el oxígeno disuelto de 5.5 mg/l , la salinidad (ppm) de 31 y la materia orgánica de 8.14 %.

Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs)

Agua

En BC se detectaron 4 HAPs, acenaftileno (3.08 ng/l), fluoranteno ($2.5\text{ ng/l} \pm 1.04$), benzo(a)pireno ($5.37\text{ ng/l} \pm 3.76$) e Indeno(123cd)pireno (3.4 ng/l). En LN se detectaron los compuestos benzo(a)pireno (2.64 ng/l) y fluoranteno (4.12 ng/l). La concentración total

para BC correspondió a 8.88 ng/l \pm 4.08 y para LN fue de 6.75 ng/l. La concentración de HAPs en agua fue superior para BC, sin encontrarse diferencias ($p > 0.4$).

Sedimentos

Los análisis de HAPs en sedimento detectaron 15 compuestos para BC y 4 para LN. En BC las concentraciones promedio correspondieron a acenaftileno (0.023 \pm 0.020 μ g/g), acenafteno (0.009 μ g/g), fluoreno (0.008 \pm 0.001 μ g/g), fenantreno (0.018 \pm 0.017 μ g/g), antraceno (0.081 \pm 0.058 μ g/g), fluoranteno (0.007 \pm 0.004 μ g/g), pireno (0.028 \pm 0.011 μ g/g), benzo(a)antraceno (3.219 μ g/g \pm 5.61), criseno (0.028 \pm 0.005 μ g/g), benzo(b)fluoranteno (0.011 \pm 0.002 μ g/g), benzo(k)fluoranteno (0.100 μ g/g \pm 0.142), benzo(a)pireno (0.218 μ g/g \pm 0.140), benzo(ghi)perileno (0.060 μ g/g), dibenzo(ah)antraceno (0.02 \pm 0.009 μ g/g), indeno(123cd)pireno (0.034 \pm 0.012 μ g/g). Para LN se detectaron los compuestos benzo(a)antraceno (0.707 μ g/g), criseno (0.014 μ g/g), benzo(a)pireno (0.009 μ g/g) e indeno(123cd)pireno (0.032 μ g/g). En BC, se cuantificó una concentración promedio para HAPs totales de 3.66 μ g/g \pm 5.83 en pe y 0.76 μ g/g para LN. No existieron diferencias entre sitios ($p = 0.67$) o hidrocarburos individuales ($p < 0.2$).

Concentración de HAPs en tejidos

La concentración de HAPs en las muestras de tejidos de BC fue más alta que en muestras de agua y sedimentos; corroborando la bioacumulación en *Cassiopea*. La concentración total de HAPs para los 4 tejidos fue de 122.86 μ g/g \pm 78.85; mientras que por tejido correspondió a gónadas (136.45 μ g/g \pm 71.16), zooxantelas (134.73 μ g/g \pm 61.18), vesículas (115.40 μ g/g \pm 116.47) y gastrodermis (104.66 μ g/g \pm 55.51).

En gastrodermis la concentración predominante correspondió al antraceno (33.12 μ g/g \pm 27.94) y fluoranteno (23.3 μ g/g \pm 17.59). Las gónadas tuvieron mayor concentración de antraceno (67.7 μ g/g \pm 55.6) e Indeno(123cd)pireno (20.69 μ g/g \pm 18.69). Las vesículas

exhibieron altas concentraciones de dibenzo(ah)antraceno ($52.94 \mu\text{g/g} \pm 79.19$) y antraceno ($23.95 \mu\text{g/g} \pm 22.14$); mientras que zooxantelas de fluoranteno ($52.76 \mu\text{g/g} \pm 32.39$) y antraceno ($24.86 \mu\text{g/g} \pm 18.28$).

La cuantificación de HAPs en las medusas de LN, tuvo una concentración total para los 4 tejidos de $145.98 \pm 124 \mu\text{g/g}$. La concentración por tejido correspondió a zooxantelas ($172.66 \mu\text{g/g} \pm 131.04$), gastrodermis ($155.32 \mu\text{g/g} \pm 144.80$), gónadas ($136.76 \mu\text{g/g} \pm 38.33$) y vesículas ($91.96 \mu\text{g/g} \pm 84.82$).

Los HAPs con mayores concentraciones correspondieron en gastrodermis al fluoranteno ($35.96 \mu\text{g/g} \pm 38.08$) y antraceno ($29.96 \mu\text{g/g} \pm 24.42$); antraceno ($37.42 \mu\text{g/g} \pm 19.40$) y benzo(a)pireno ($29 \mu\text{g/g} \pm 8.12$) para gónadas, dibenzo(ah)antraceno ($58.24 \mu\text{g/g} \pm 78.33$) e indeno(123cd)pireno ($26.93 \mu\text{g/g} \pm 29.18$) en el caso de vesículas y fluoranteno ($52.42 \mu\text{g/g} \pm 54.32$) y antraceno ($41.26 \mu\text{g/g} \pm 48.48$) en zooxantelas. La concentración total promedio de los 16 HAPs analizados para los 4 tejidos de Cassiopea, fue menor para BC en comparación con LN, $157.88 \pm 25.1 \mu\text{g/g}$ y $190.79 \pm 25.8 \mu\text{g/g}$, sin existir diferencias entre sitios o tejidos ($p > 0.05$).

Los ANDEVA detectaron diferencias por sitio para los HAPs acenafteno ($F=4.39$, $p=0.04$) y acenaftileno ($F= 5.91$, $p= 0.01$) con concentraciones superiores en LN, $1.66 \pm 1.77 \mu\text{g/g}$ y $2.76 \pm 1.31 \mu\text{g/g}$ respectivamente. Los ANDEVA entre sitios por tejido, presentaron diferencias en gastrodermis para el criseno ($F=6.02$, $p=0.03$), con valores en LN de $7.06 \mu\text{g/g}$ y $1.32 \mu\text{g/g}$ para BC. En gónadas existieron diferencias para el benzo(a)pireno ($F=10.18$, $p=0.04$) y benzo(ghi)perileno ($F=17.44$, $p=0.001$). Para el primer contaminante se detectaron $29 \mu\text{g/g}$ en LN y $12.06 \mu\text{g/g}$ en BC; mientras que para el segundo se cuantificaron $0.89 \mu\text{g/g}$ para LN y $6.35 \mu\text{g/g}$ en BC (Tabla I).

Los ANDEVA por compuesto tuvieron diferencias para los HAPs benzo(ghi)perileno e indeno(123cd)pireno; la concentración en gónadas varió con respecto a gastrodermis ($p < 0.01$), vesículas ($p < 0.04$) y zooxantelas ($p < 0.008$). Para el antraceno, se identificaron diferencias en gónadas con respecto a vesículas ($p = 0.019$) y zooxantelas ($p = 0.015$). El dibenzo(ah)antraceno, presentó una concentración diferencial entre vesículas y gónadas ($p = 0.02$), así como una ligera diferencia con zooxantelas ($p = 0.054$). Además se encontraron diferencias en la concentración del pireno en zooxantelas, con aquella en gastrodermis ($p = 0.007$) y vesículas ($p = 0.009$). El fluoranteno en zooxantelas fue diferente a la encontrada en gastrodermis ($p = 0.017$) y ligeramente con gónadas ($p = 0.052$). Para LN se encontraron diferencias en benzo(a)antraceno entre gastrodermis y gónadas ($p = 0.032$), para fenantreno hubieron diferencias en el tejido de vesículas y gónadas ($p = 0.013$); y la concentración indeno(123cd)pireno en vesículas presentó diferencias con respecto a la cuantificada en gastrodermis ($p = 0.020$) y zooxantelas ($p = 0.030$).

Biomarcador de estrés oxidativo Glutación-S-Transferasa (GST)

Glutación-S-Transferasa

La actividad del biomarcador GST en BC y gastrodermis (38.82 ± 10.74 mg/g), gónadas (28.06 ± 18.75 mg/g), vesículas (49.45 ± 23.58 mg/g) y zooxantelas (32.44 ± 13.21 mg/g). En LN se cuantificó en gastrodermis (35.20 ± 3.16 mg/g), gónadas (7.45 ± 7.54 mg/g), vesículas (43.20 ± 29.78 mg/g) y zooxantelas (17.12 ± 9.81 mg/g). Los ANDEVA mostraron diferencias entre sitios ($F = 6.61$, $p = 0.01$) y tejidos ($F = 11.77$, $p < 0.001$). Diferencias por sitio y tejido, se encontraron en los tejidos de gónadas ($p = 0.007$) y zooxantelas ($p = 0.001$). Diferencias por sitio se encontraron en BC para el tejido de vesículas con respecto a gónadas ($p = 0.012$) y zooxantelas ($p = 0.025$). En LN se encontraron diferencias para gastrodermis con respecto a gónadas ($p < 0.001$) y

zooxantelas ($p < 0.001$). Asimismo, se detectaron diferencias para vesículas en comparación con la cuantificada en gónadas ($p = 0.0016$) y zooxantelas ($p = 0.0035$).

Factor de correlación HAPs-GST

La correlación de Spearman entre GST y HAPs, no detectó correlaciones significativas para la concentración total o compuestos individuales. En gastrodermis en BC existieron correlaciones notables para el fenantreno ($Rho = 0.52$, $p = 0.08$), antraceno ($Rho = 0.52$, $p = 0.08$) y negativa para el benzo(b)fluoranteno ($Rho = -0.51$, $p = 0.08$); así como en gónadas para el fluoreno ($Rho = 0.59$, $p = 0.059$); ninguna de estas fue significativa.

En vesículas se encontró una correlación de GST con el indeno(123cd)pireno ($Rho = 0.63$, $p = 0.02$); además de una correlación, aunque no significativa con el criseno ($Rho = 0.5$, $p = 0.08$). Para las zooxantelas, existieron correlaciones significativas para el dibenzo(ah)antraceno ($Rho = 0.67$, $p = 0.009$) e indeno(123cd)pireno ($Rho = 0.57$, $p = 0.03$).

Para LN, las correlaciones en gastrodermis y zooxantelas no fueron notables o significativas. En el tejido de gónadas, se encontraron correlaciones notables para el acenaftileno ($Rho = -0.97$, $p = 0.16$) y benzo(a)antraceno ($Rho = -0.89$, $p = 0.29$), sin ser significativas. En el tejido de vesículas se encontraron correlaciones significativas para el fluoranteno ($Rho = 0.68$, $p = 0.04$) y pireno ($Rho = 0.69$, $p = 0.04$). Además existieron correlaciones no significativas pero notables para el fenantreno ($Rho = 0.66$, $p = 0.054$), benzo(a)antraceno ($Rho = 0.6$, $p = 0.08$), y benzo(b)fluoranteno ($Rho = 0.61$, $p = 0.07$).

Discusión

Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en agua y sedimentos

Los sitios de colecta tuvieron características paisajísticas similares, y en ninguna localidad se superaron los criterios de calidad de la UNESCO ($10 \mu\text{g/L}$), USEPA ($0.03 \mu\text{g/L}$) o la Unión Europea ($0.2 \mu\text{g/L}$) para HAPs en agua. Ponce-Vélez y Botello (2005)

reportaron una concentración en agua de 0.01-46 µg/L para el Caribe Mexicano, rango en el que se encontraron los valores de este estudio (0.01 µg/L).

En sedimentos, los límites propuestos por la NOAA para HAPs van de 4.02-44.8 µg/g como valores de referencia con probabilidades de efecto tóxico bajo y medio en la fauna. Ponce-Vélez y Botello (2005), reportaron un rango de 4-189 µg/g superando el índice ecológicamente recomendable en LN; mientras que la concentración de HAPs del presente estudio fue de 0.26 µg/g, valor inferior a las guías de calidad de sedimentos. En BC Álvarez-Legorreta y Sáenz-Morales (2005) reportaron valores de HAPs en sedimentos de 5.05-33.39 µg/g en estaciones cercanas al sitio de muestreo. En el presente trabajo se cuantificaron en promedio 3.66 ± 5.83 µg/g. Otro estudio realizado por Álvarez-Legorreta (2009) de HAPs en sedimentos de la bahía de Chetumal señaló como los HAPs predominantes el benzo(k)fluoranteno, benzo(b)fluoranteno y benzo(a)pireno con concentraciones promedio de 6.10 µg/g, 4.71 µg/g y 3.47 µg/g. Las concentraciones de estos xenobióticos en el presente trabajo fueron menores, cuantificándose 0.1 µg/g, 0.01 µg/g y 0.21 µg/g, respectivamente. No obstante, las condiciones ambientales de hace más de 10 años pueden haber cambiado debido al intercambio de agua entre la Bahía de Chetumal y la laguna arrecifal del Mar Caribe.

A pesar de que los índices para la concentración promedio de HAPs no fueron excedidas, algunos HAPs mostraron altas concentraciones. En BC la concentración de 4 HAPs tuvieron probabilidades de causar efectos tóxicos a la fauna, de acuerdo con los criterios de calidad para sedimentos de la NOAA correspondiendo a benzo(a)antraceno (92.6%), fluoreno (25%) y acenafteno y acenaftileno (14.3%) en ambos casos (NOAA, 1999). En LN, el benzo(a)antraceno tuvo un 43.8% de probabilidades de causar daños a la fauna.

La generación de benzo(a)antraceno se ha ligado a fábricas de gas, humo de cigarrillos, pirólisis de materia orgánica y descargas de aguas residuales de centros urbanos. El arrastre por efecto de las lluvias y consecuente movilización a los canales de BC, pueden detonar su depositación en sedimentos. Este HAP es considerado carcinogénico, mutagénico y genotóxico por lo que su presencia amenaza la fauna (Mastandrea, 2005). La poca diversidad de compuestos y bajas concentraciones para HAPs en LN pueden deberse a la lejanía del sitio de muestreo con la zona turística de Cancún y a una alta tasa de recambio de agua con el Mar Caribe. Es probable que las condiciones ecológicas de LN limiten las poblaciones de medusas a sitios donde las condiciones son propicias (Próspero 2001; Carbajal-Pérez 2009), ya que la turbidez de LN implica la carencia de oxígeno disuelto en la columna de agua, conllevando un problema para *Cassiopea* spp., ya que los pólipos que se asientan y hasta antes de la estrobilación, no han desarrollado la simbiosis con zooxantelas y requieren oxígeno (Gamero-Mora 2014). A pesar de que afloramientos de medusas se relacionan con altas concentraciones de nutrientes, *Cassiopea* depende de la luz para mantener la fotosíntesis de las zooxantelas simbiotes (Estes et al. 2003; Klein et al. 2016).

Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en *Cassiopea* spp.

Entre los trabajos revisados para el presente estudio no se encontró ninguno que cuantificara el biomarcador GST o la concentración de HAPs en medusas del género *Cassiopea* o sus tejidos. Las concentraciones de HAPs variaron por tejido, sitio e hidrocarburo. La concentración de HAPs totales cuantificada para los 4 tejidos de la medusa *Cassiopea* fue superior en LN, en contraste con BC. Las concentraciones de HAPs en tejidos corroboraron la bioacumulación de HAPs en *Cassiopea* spp.

En BC los tejidos con mayores concentraciones de HAPs totales fueron las gónadas y zooxantelas mientras que en LN las mayores concentraciones correspondieron a zooxantelas y gastrodermis. Las elevadas concentraciones para zooxantelas pueden deberse a la forma de la disección, llevada a cabo en la zona apical de los brazos orales, sección del organismo en donde se encuentra la mayor densidad de zooxantelas embebidas (Estes et al. 2003) y donde se localizan las bocas orales secundarias y canales braquiales tanto de ingreso de alimento como de salida de desechos; lo cual implica la presencia de HAPs por dos vías. Debido a la particular fisiología de la medusa invertida, no fue posible separar la concentración de HAPs que corresponde al ingreso de alimento y aquella que corresponde a la detoxificación de los mismos. A pesar de ello, se puede sugerir que la principal fuente de ingreso de HAPs al organismo es por vía alimenticia; y debido a los altos valores de HAPs en zooxantelas de LN, es posible que la ingesta de presas contaminadas sea superior en Laguna Nichupté.

La principal fuente de alimentación heterótrofa de la medusa invertida, son los copépodos (Gamero-Mora, 2014), organismos que son capaces de bioacumular 2.5-10 veces la concentración de HAPs encontrados en la columna de agua Almeda et al. (2013b). Debido a ello, la bioacumulación de HAPs es factible a partir de la captura de presas que han incorporado hidrocarburos en su sistema (figura 3). La concentración de HAPs en gónadas fue similar entre sitio, sugiriendo que parte de los contaminantes metabolizados, se adhieren al tejido lipídico.

En el presente trabajo los HAPs antraceno y pireno se encontraron en todos los tejidos y en las mayores concentraciones, lo cual fue similar a lo publicado por Almeda et al. (2013a); este estudio conducido bajo condiciones de laboratorio, encontró que la medusa pelágica *Aurelia aurita* acumula principalmente criseno, fenantreno y pireno. En otro

estudio, Almeda et al. (2013b) encontraron que los copépodos son capaces de bioacumular en mayores concentraciones fluoranteno y pireno, lo cual fortalece la hipótesis de que los HAPs encontrados en *Cassiopea*, provienen de las presas.

La diferencia en los HAPs predominantes para cada trabajo se relaciona con la fuente de contaminación a la que los organismos son expuestos. Así, en condiciones controladas la contaminación es puntual, aguda y sin degradación natural; mientras que en el caso de *Cassiopea* spp. del presente estudio, los organismos absorben los contaminantes degradados por radiación solar, temperatura, factores bióticos y procesos industriales propios del medio. También, estas diferencias pueden deberse a una detoxificación y absorción diferencial entre especies.

La Agencia de Protección al Ambiente de los Estados Unidos de América, (USEPA, por sus siglas en inglés) enmarca a 16 HAPs como prioritarios por su toxicidad. En el presente estudio se detectaron elevadas concentraciones de dibenzo(ah)antraceno e indeno(123cd)pireno, los cuales se ha comprobado tienen efectos carcinogénicos en animales y humanos. El dibenzo(ah)antraceno tuvo concentraciones superiores a 50 µg/g en vesículas para ambos sitios; lo cual indica su prevalencia por acumularse en las vesículas. Estas, son pequeños sacos que cumplen funciones dirigidas a la captura de presas y en las que se aloja una importante cantidad de cnidocitos como mecanismo de defensa. Posterior a la captura, las presas son predigeridas dentro de las vesículas por lisis enzimática para después ser enviadas por los canales braquiales hasta la gastrodermis, tejido encargado de la asimilación metabólica (Figura 3). Así, la principal entrada de dibenzo(ah)antraceno al organismo es la captura de presas; ya que en agua y sedimentos este compuesto no fue identificado, lo cual sugiere la bioacumulación del xenobiótico en los tejidos de *Cassiopea* spp a partir de las presas.

Por otro lado el indeno(123cd)pireno, de acuerdo con Irwin (1997) tiene un peso molecular que facilita su adhesión a la materia orgánica y bajos lapsos en la columna de agua. Sin embargo, en las muestras de agua de BC se detectaron 3.43 ng/L y en LN no fue detectado. Esto puede indicar su bioacumulación en organismos zoopláncteres de la columna de agua o en la materia orgánica que se encuentra sedimentada. Así, se reconoce la bioacumulación de indeno(123cd)pireno en *Cassiopea*; principalmente en el tejido de vesículas en LN y gónadas en BC, tejidos que superaron por más de 20 veces la concentración del resto de las matrices tisulares. El trabajo de Almeda et al (2013a) reportó concentraciones de 0.12 µg/g de criseno en tejidos; en las muestras de este estudio fueron superiores a 10 µg/g en vesículas. Sin embargo, en BC la concentración de criseno en vesículas superó 10 veces la encontrada en gastrodermis y gónadas; lo cual sostiene la hipótesis del ingreso de contaminantes a partir de las presas.

En el caso de BC, el indeno(123cd)pireno tuvo una correlación positiva para la síntesis de GST con los tejidos de vesículas y zooxantelas. Lo cual se relaciona con la función que estos cumplen y conectividad de los mismos por medio de los canales braquiales. Sin embargo, esto no ocurrió en los tejidos analizados de LN, quizás debido a que la concentración de este hidrocarburo fue superior y al ser uno de los compuestos más tóxicos de la matriz es probable que el umbral de respuesta para subsanar sus efectos adversos haya sobrepasado la acción de GST y sea combatida con otro mecanismo antioxidante como el glutatión reducido (GPx) o superóxido dismutasa (SOD). Por otro lado, se han hecho observaciones donde las zooxantelas son expelidas en bandas de mucus como respuesta al estrés, que puede actuar como mecanismo de expulsión de contaminantes. Esto es factible ya que se ha documentado una alta cantidad de hidrocarburos adheridos al mucus de la medusa luna (Brown y Bythell, 2005; Klaus 2007).

Diferencias entre sitios, se encontraron para los HAPs acenafteno y acenaftileno, con mayores concentraciones en LN; lo cual puede resultar en daños carcinogénicos y disrupción endócrina para las medusas y otra fauna marina.

Los sitios de estudio se encuentran amenazados por la expansión demográfica, desarrollo turístico y consecuente impacto antropogénico. Los canales de BC constituyen la región fronteriza entre México y Belice; cuya área correspondiente a Belice se encuentra categorizada como parque nacional y reserva marina. En el plan de manejo se enlistan tres riesgos que amenazan al ecosistema, la construcción del canal de navegación de BC, el aumento demográfico de Chetumal y el desecho de aguas residuales de la ciudad de Chetumal (Grimshaw y Paz 2004). Este último se considera como uno de los principales aportes de HAPs a la zona, razón por la cual la concentración de HAPs en un sitio con bajo desarrollo urbano en las zonas adyacentes, tuvo valores equiparables con el punto muestreado en LN. La concentración de HAPs en BC debe vigilarse ya que esta área es crítica por ser la frontera entre México y Belice; y ser parte del Sistema Arrecifal Mesoamericano (Álvarez-Legorreta y Sáenz-Morales 2005).

Glutación-S-Transferasa

Condiciones ambientales adversas como la contaminación del medio marino, promueven la síntesis de enzimas y proteínas que ayudan a mitigar el estrés oxidativo producido en la biota. Para el caso de *Cassiopea* spp., en el presente trabajo se confirma la actividad del biomarcador Glutación-S-Transferasa en 4 tejidos de la medusa, incrementando el conocimiento acerca de la función biológica que cumplen los tejidos de gastrodermis, gónadas, zooxantelas y vesículas.

Los sitios en los que se realizaron las colectas para llevar a cabo el presente estudio, fueron elegidos debido a la presión antropogénica disímil que impacta cada uno de ellos.

Así, los resultados obtenidos para la respuesta del biomarcador de estrés oxidativo soportaron diferencias significativas entre sitios y tejidos.

Los tejidos con mayor concentración de GST fueron las vesículas y gastrodermis. La elevada cantidad de esta enzima como mecanismo de defensa en vesículas se explica dada la función que tienen como “organulos” que llevan a cabo la fotosíntesis además de la caza de zooplancton. El proceso de fotosíntesis implica la producción de radicales de oxígeno, lo cual requiere que los organismos tengan mecanismos de defensa ante la oxidación (Verde y McCloskey, 1998; Richier et al. 2005). Dado que las vesículas contienen una elevada cantidad de zooxantelas, la elevada cantidad de GST es congruente con la función biológica que llevan a cabo. En peces, se ha documentado la función de GST como una enzima que conjuga compuestos electrofílicos para proteger a la célula de los efectos tóxicos de los xenobióticos, como la peroxidación de la membrana lipídica; función que debe ser similar en la medusa invertida (Zanette et al. 2011).

En peces se registran elevadas concentraciones de GST en el hígado, riñones y tracto gastrointestinal; al ser las principales fuentes de excreción de xenobióticos. Sin embargo, en las medusas no existen órganos, por lo que el tejido gastrodérmico debe funcionar como sistema de desecho de los contaminantes, y por ende contar con sistemas antioxidantes que protejan a las células que lo componen (Hyman 1951).

La baja concentración de GST en las zooxantelas puede deberse al procedimiento de disección, ya que la cantidad de zooxantelas pudo verse diluida en el tejido de mesoglea que se compone principalmente de agua. Las medusas, así como las estrategias de persistencia que tienen no ha recibido la debida atención por parte de la comunidad científica, ya que se desconoce la ruta metabólica que siguen los HAPs, así como la vía de ingreso, metabolismo y detoxificación de los mismos.

A partir de los resultados obtenidos para la concentración de los HAPs de forma individual, así como del biomarcador de estrés oxidativo GST y la relación que algunos de ellos guardaron, se sostiene que existen diferencias entre la presencia y acumulación, dependiente del sitio y tejido en particular. Sin embargo, no se puede concluir si un sitio está más contaminado que el otro; por lo cual se recomienda ampliar los muestreos en tiempo y área.

Referencias

- Arai MN. 2001. Pelagic coelenterates and eutrophication: a review. *Hydrobiologia*. 451: 69-87.
- Almeda R, Wambaugh Z, Chai C, Wang Z, Hyatt C, Liu Z, Buskey E. 2013a. Interactions between zooplankton and crude oil: toxic effects and bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *PLoS ONE*. 8: e67212.
- Almeda R, Wambaugh Z, Chai C, Wang Z, Liu Z, Buskey E. 2013b. Effects of crude oil exposure on bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons and survival of adult and larval stages of gelatinous zooplankton. *PLoS ONE*. 8: e74476.
- Álvarez-Legorreta T. 2009. Contaminación acuática. En: El sistema ecológico de la bahía de Chetumal/Corozal costa occidental del Mar Caribe. Espinoza-Ávalos J, Islebe GA, Hernández-Arana HA (eds.). México: El Colegio de la Frontera Sur. p. 205-217.
- Álvarez-Legorreta T, Sáenz-Morales R. 2005. Hidrocarburos aromáticos policíclicos en sedimentos de la Bahía de Chetumal. En: Botello AV, Rendón-von OJ, Gold-Bouchot G, Agraz-Hernández C. (eds.). Golfo de México, Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias. Universidad Autónoma de Campeche, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Ecología. 2^{da} Edición. p. 299-310.

- Brown BE y Bythell JC. 2005. Perspectives on mucus secretion in coral reefs. *Marine Ecology Progress Series*. 296: 291-309.
- CARIPOL/IOCARIBE. 1986. Programa para el análisis de hidrocarburos del petróleo en sedimentos y organismos marinos. Subcomisión IOCARIBE/COI. Colombia, 22 p.
- Carbajal-Pérez N. 2009. Hidrodinámica y transporte de contaminantes y sedimentos en el Sistema Lagunar de Nichupté-Bojórquez, Quintana Roo. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. CQ063. México D.F.
- Collado-Vides L, Segura-Puertas L, Merino-Ibarra M. 1988. Observaciones sobre dos escifomedusas del género *Cassiopea* en la Laguna de Bojórquez, Quintana Roo, México. *Revista de Investigaciones Marinas*. 9: 21-27.
- Condon RH, Graham WM, Duarte CM, Pitt KA, Lucas CH, Steven HD, Haddock KR, Sutherland KL, Robinson KL, Dawson MN, *et al.* 2012. Questioning the Rise of Gelatinous Zooplankton in the World's Oceans. *BioScience*. 62: 160-167.
- Echols BS, Smith AJ, Gardinali PR, Rand GM. 2016. The use of ephyrae of a scyphozoan jellyfish, *Aurelia aurita*, in the aquatic toxicological assessment of Macondo oils from the Deepwater Horizon incident. *Chemosphere*. 144:1893-1900.
- U.S. Environmental Protection Agency (EPA). 1993. Provisional guidance for quantitative risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons. EPA 600-R-93-089.
- Estes A, Kempf S y Henry R. 2003. Localization and quantification of carbonic anhydrase activity in the symbiotic scyphozoan *Cassiopea xamachana*. *Biological Bulletin*. 204: 278-289.
- Espinosa-Bouchot M. 2011. Plan para la recuperación ambiental de la Laguna Bojórquez. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Comisión Nacional del Agua.

Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. Memoria fotográfica SNIB-CONABIO proyecto No. HL001. México, D.F. 39 pp.

Filimonova V, Goncalves F, Marques JC, De Troch M y AM Goncalves. 2016. Fatty acid profiling as bioindicator of chemical stress in marine organisms: A review. *Ecological indicators*. 67: 657-672.

Gamero-Mora E. 2014. Aspectos ecológicos y variación morfológica de medusas invertidas (*Cassiopea Péron & Lesueur*, 1810) en distintos ambientes costeros del Caribe mexicano. [Tesis de Maestría]. México, D.F. UNAM.

Grimshaw T y GM Paz. 2004. The revised Bacalar Chico National Park & Marine Reserve management plan. Green Reef Environmental Institute San Pedro Town. Belize, Central America. 196 pp.

Habig WH, Pabst MJ y WB Jakoby. 1974. Glutathione S-Transferases. *The Journal of Biological Chemistry*. 22: 7130-7139.

Hamlet C, Santhanakrishnan A y LA Miller. 2011. A numerical study of the effects of bell pulsation dynamics and oral arms on the exchange currents generated by the upside-down jellyfish *Cassiopea xamachana*. *Journal of Experimental Biology*. 214: 1911-1921.

Hayes JD, Flanagan JU e IR Jowsey. 2005. Glutathione Transferases. *Annual Review Pharmacology and Toxicology*. 45: 51-88.

Hyman H. 1951 *The invertebrates*. McGraw-Hill. New York.

Irwin RJ. 1997. Environmental Contaminants Encyclopedia, PAHs Entry. National Park Service. [Consultado 2016 septiembre 24]. <https://nature.nps.gov/water/ecencyclopedia/assets/contaminant-pdfs/inden123.pdf>

- Jee JH y JC Kang. 2005. Biochemical changes of enzymatic defense system after phenanthrene exposure in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Physiology Research*. 54: 585-591.
- Klaus JS, Janse Ingmar, Heikoop JM, Sanford RA y Fouke BW. 2007. Coral microbial communities, zooxanthellae and mucus along gradients of seawater depth and coastal pollution. *Environmental Microbiology*. 9: 1291-1305.
- Klein SG, Pitt KA, Carroll AR. 2016. Reduced salinity increases susceptibility of zooxanthellate jellyfish to herbicide toxicity during a simulated rainfall event. *Environmental Pollution*. 209: 79-86.
- Mastandrea C, Chichizola C, Ludueña B, Sánchez H, Álvarez H, Gutiérrez A. 2005. Hidrocarburos aromáticos policíclicos. Riesgos para la salud y marcadores biológicos. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*. 39: 27-36.
- Millennium Ecosystem Assessment (MEA). 2003. *Ecosystems and human well-being.*, Washington D.C., USA: Island Press. [Consultado 2016 abril 20]. <http://www.millenniumassessment.org>.
- Mills C. 2001. Jellyfish blooms: are populations increasing globally in response to changing ocean conditions? *Hydrobiologia*. 451: 55-68.
- Nellemann C, Corcoran E. 2006. Our precious coasts. Marine pollution, climate change and the resilience of coastal ecosystems. United Nations Environment Programme, GRIDArendal, Norway. 40p.
- NOAA. 1999. Sediment Quality Guidelines developed for the National Status and Trends Program. National Ocean Service.

- Noreña-Barroso E, Zapata-Pérez O, Ceja-Moreno V, Gold-Bouchot G. 1998. Hydrocarbons and Organochlorine Compounds in Sediments from Bay of Chetumal, Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 61: 80-87.
- Ponce Vélez, G., Botello, A. 2005. Niveles de hidrocarburos en el Golfo de México. En: Botello, V., Rendón von Osten, J., Gold-Bouchot, G., Agraz-Hernández, C. (Eds.), *Golfo de México contaminación e impacto ambiental: Diagnóstico y tendencias*. UACAM-UNAM-INECOL. México. p 269-298.
- Próspero V. 2001. Nichupté, una cloaca. *Novedades de Quintana Roo*. Repositorio digital de la UNESCO-Medio ambiente y desarrollo en regiones costeras e islas pequeñas. Disponible en: <http://webarchive.unesco.org/20160804023233/>
- Purcell JE, Uye S, Lo WT. 2007. Anthropogenic causes of jellyfish blooms and their direct consequences for humans: a review. *Marine Ecology Progress Series*. 350: 153-174.
- Richier S, Furla P, Plantivaus A, Mele PL y Allemand D. 2005. Symbiosis-induced adaptation to oxidative stress. *The Journal of Experimental Biology*. 208: 277-285.
- Templeman MA, Kingsford MJ. 2010. Trace element accumulation in *Cassiopea* spp. (Scyphozoa) from urban marine environments in Australia. *Marine Environmental Research*. 69: 63-72.
- Verde A y LR McCloskey. 1998. Production, respiration, and photophysiology of the mangrove jellyfish *Cassiopea xamachana* symbiotic with zooxanthellae: Effect of jellyfish size and season. *Marine Ecology Progress Series*. 168: 147-162.
- Zanette J, Alves de Almeida E, Zaccaron da Silva A, Guzenski J, Ferreira JF, Di Mascio P, Freire-Marques MR y AC Dias-Bainy. 2011. Salinity influences glutathione S-transferase activity and lipid peroxidation responses in the *Crassostrea gigas* oyster exposed to diesel oil. *Science of the Total Environment*. 409: 1976-1983.

Figura 1. Área de estudio. Al norte Laguna Nichupté y al sur Laguna Bacalar Chico.

Figure 1. Sampling area. In the north Nichupte Lagoon and to south Bacalar Chico Lagoon.

Figura 2. Estructuras morfológicas de *Cassiopea*. Vista longitudinal a la izquierda, y corte transversal de la umbrela a la derecha. Modificado de Hamlet et al. 2011.

Figure 2. Morphological structures of *Cassiopea*. Longitudinal axis to the left, and transversal cut of the umbrella to the right. Modified from Hamlet et al. 2011.

Figura 3. Esquema de la vía de ingreso de presas contaminadas (flechas rojas) y excreción de los contaminantes posterior a la metabolización (flechas azules) en la medusa invertida *Cassiopea* spp. Modificado de Hamlet et al. 2011.

Figure 3. Scheme of the entrance route of contaminated preys (red arrows) and excretion of pollutants after metabolization (blue arrows) in the inverted jellyfish *Cassiopea* spp. Modified from Hamlet et al. 2011.

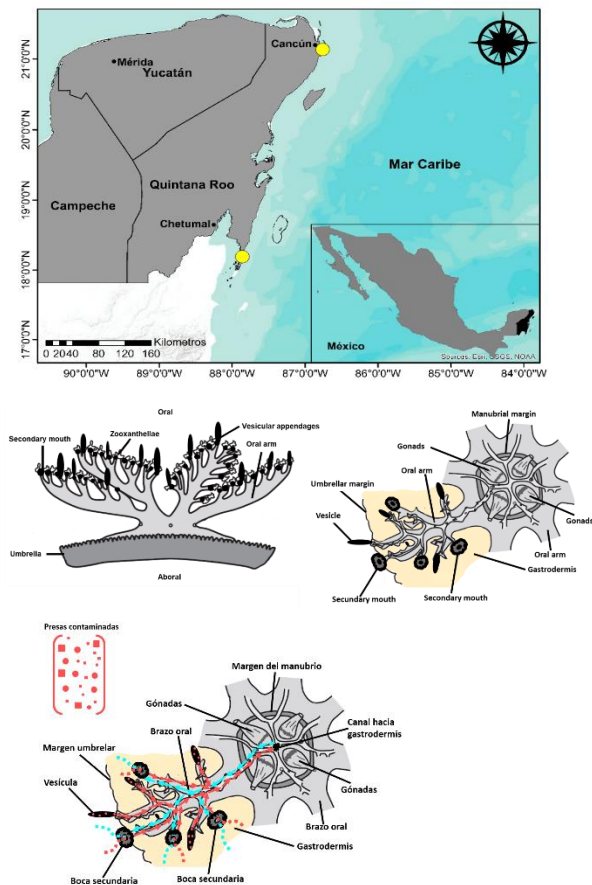


Tabla I. Concentraciones promedio y desviación estándar de la matriz de 16 HAPs ($\mu\text{g/g}$). En paréntesis se presenta el porcentaje de aparición de cada hidrocarburo en las muestras de tejido.

Table I. Average concentrations and standard deviation of the matrix of 16 PAHs ($\mu\text{g/g}$). In parentheses, the percentage of appearance per hydrocarbon in tissues is presented.

	Bacalar Chico				Nichupte Lagoon			
PAHs	Gastrodermis N=12	Gonads N=11	Vesicles N=13	Zooxanthellae N=14	Gastrodermis N=15	Gonads N=3	Vesicles N=9	Zooxanthellae N=14
Naphthalene	0.8 ±1.11 (50)	ND	0.38 ±0.16 (15)	1.07±1.34 (29)	2.22 ±1.21 (27)	0.30 ±0.06 (67)	3.09 ±0 (11)	0.35 ±0.16 (50)
Acenaphthylene	1.68 ±2.24 (83)	0.47 ±0.26 (45)	0.79 ±0.90 (62)	1.97 ±2.25 (100)	3.97 ±4.31 (87)	0.98 ±0.71 (100)	2.60 ±4.79 (56)	3.50 ±4.81 (93)
Acenaphthene	1.25 ±1.20 (58)	0.49 ±0.28 (55)	0.87 ±0.78 (31)	0.83 ±0.96 (64)	4.22 ±5.84 (60)	0.22 ±0.11 (67)	0.80 ±0.92 (33)	1.39 ±0.85 (64)
Fluorene	7.42 ±5.72 (92)	9.14 ±4.49 (73)	7.88 ±6.92 (77)	12.09 ±22.18 (100)	11.69 ±10.14 (100)	5.67 ±1.06 (100)	21.29 ±21.4 (44)	12.35 ±11.76 (100)
Phenanthrene	10.41 ±3.88 (100)	15.38 ±12.9 (100)	6.97 ±5.92 (85)	9.47 ± 8.35 (100)	26.89 ±67.70 (100)	13.54 ±4.92 (100)	5.24 ±3.35 (78)	9.67 ±6.87 (100)
Anthracene	33.12 ±27.94 (100)	67.70 ± 55.60 (100)	23.95 ±22.14 (92)	24.86 ±18.28 (93)	29.96 ±24.42 (87)	37.42 ±19.4 (100)	24.24 ±19.1 (89)	41.26 ±48.48 (100)
Fluoranthene	23.3 ±17.59 (83)	11.68 ±9.35 (27)	19.82 ±15.3 (100)	52.76 ±32.39 (93)	35.96 ±38.08 (87)	14.6 ±20.65 (33)	13.44 ±17.2 (78)	52.42 ±54.32 (86)
Pyrene	13.7 ±6.95 (100)	9.28 ±10.52 (73)	15.50 ±9.75 (85)	6.05 ±5.84 (86)	29.88 ±39.9 (100)	3.24 ±4.58 (100)	11.12 ±9.89 (67)	20.39 ±31.40 (100)
Benz(a) anthracene	6.28 ±15.97 (92)	4.31 ±6.28 (91)	2.43 ±2.21 (38)	1.41 ±1.7 (86)	3.70 ±3.6 (67)	19.69 ±22 (100)	6.86 ±12.8 (56)	10.25 ±15.62 (57)
Chrysene	1.32 ±1.58 (50)	2.87 ±5.2 (82)	11.78 ±15.68 (23)	1.66 ±1.87 (36)	7.06 ±5.51 (33)	9.06 ±6.49 (67)	15.76 ±0 (11)	4.37 ±7.58 (64)
Benzo(b) fluoranthene	0.81 ±1.03 (67)	5.13 ±3.48 (36)	7.80 ±16.97 (69)	1.39 ±1.9 (93)	2.36 ±2.67 (87)	8.87 ±8.09 (100)	1.51 ±2.44 (44)	4.47 ±6.51 (93)
Benzo(k) fluoranthene	7.42 ±9.3 (17)	1.70 ±0.25 (36)	ND	6.51 (7)	0.92 (7)	6.79 ±5.61 (100)	0.4 (11)	19.08 ±26.19 (14)

Benzo(a) pyrene	5.6 ±2.38 (75)	12.06 ±4.22 (27)	21.1 ±49.53 (69)	2.88 ± 16.99 (100)	5.87 ±6.57 (93)	29 ±8.12 (67)	5.84 ±4.28 (78)	12.74 ±13.36 (86)
Benzo(ghi) perylene	1.06 ±0.94 (33)	6.36 ±2.19 (82)	2.33 ±1.55 (38)	1.82 ±1.58 (36)	3.13 ±2.38 (53)	0.89 ±0.19 (100)	3.68 ±3.89 (33)	3.78 ±4.84 (71)
Dibenz(ah) anthracene	5.56 ±2.89 (25)	3.38 ±3.59 (64)	52.94 ±79.19 (31)	4.26 ±4.22 (43)	19.27 ±17.93 (13)	ND	58.24 ±78.3 (22)	10.72 ±5.40 (29)
Indeno(123cd) pyrene	4.98 ±3.22 (92)	20.69 ±18.60 (82)	7.97 ±6.22 (85)	4.71 ±3.85 (86)	7 ±5.89 (93)	4.21 ±2.75 (100)	26.93 ±29.1 (44)	7.51 ±7.67 (100)