



EVALUACIÓN DE LA ANTROPIZACIÓN USANDO A LOS MOLUSCOS COMO PARÁMETRO

Brian Urbano^{1*}
Deneb Ortigosa²
Jorge Garcés Salazar³
Jazmín Aristeo-Hernández⁴
Marbella González-Liano⁵
Laura Regina Álvarez-Cerrillo⁶
Erika Alarcón¹
Raquel Hernández⁷

Citlalli Martínez¹
Etelvina Sánchez¹
Pamela Tapia¹
Eunice Molina Garduño¹
Lina Romero¹
Sofía Peláez¹
Elizabeth Galindo¹
Daniela Coca¹
Martha Reguero⁸

¹ Laboratorio de Malacología, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México.

² UMDI-SISAL, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.

³ Laboratorio de Pesquerías Artesanales, Departamento de Sustentabilidad, El Colegio de la Frontera Sur, Campeche, Camp.

⁴ Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.

⁵ Posgrado en Ciencias del Mar. Laboratorio de Sedimentología, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México

⁶ Posgrado en Manejo de Recursos Acuáticos. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa.

⁷ Posgrado en Ciencias Biológicas. Laboratorio de Genética y Ecología, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México.

⁸ Laboratorio de Malacología, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México.

* Autor para correspondencia: maclen55@yahoo.com

Resumen

Los efectos antropogénicos suelen ser evaluados mediante su impacto en la biota en un área determinada. Diversos métodos se han propuesto para evaluar el impacto del hombre utilizando bacterias, insectos, plantas y vertebrados principalmente. Poco se ha abordado en México el uso de los moluscos como indicadores de actividad humana, aún cuando se ha reportado la alta susceptibilidad de este grupo ante cualquier perturbación y con la ventaja de ser un filo que vive en todos los ambientes. En este trabajo se desglosan algunas de las metodologías aplicadas a diversos grupos del filo *Mollusca* bajo estudio en la “Colección Malacológica Dr. Antonio García-Cubas” y en la materia optativa de Malacología de la Facultad de Ciencias, UNAM.

Introducción

El filo Mollusca es el segundo grupo animal más diverso; los moluscos ocupan todos los hábitats del planeta y la diversidad de historias de vida, patrones corporales y tolerancia a diferentes ambientes los vuelve un grupo heterogéneo en cuanto a las técnicas y métodos utilizados para su estudio. Actualmente se agrupan en ocho clases, de las cuales para México básicamente son desconocidas Monoplacophora, Solenogastres y Caudofoveata (Burciaga-Cifuentes, 2015) y de la clase Scaphopoda existen pocos trabajos (Saldaña-Monroy, 2012). En el caso de la clase Cephalopoda, tienen poca relación con el impacto antrópico, salvo quizás lo que se puede inferir por la disminución de los volúmenes de pesca (Salinas-Zavala *et al.*, 2006).

Los moluscos, particularmente las especies continentales, son considerados el grupo de mayor susceptibilidad a la extinción debido a factores antropogénicos como la contaminación y pérdida del hábitat (Ricciardi y Rasmussen, 1999; Ricciardi *et al.*, 1998; Dudgeon *et al.*, 2006; Ponder y Lindberg, 2008); por ello se suelen usar como indicadores de antropización, particularmente a partir de la comparación de faunas de zonas urbanas con faunas de zonas protegidas o de escaso desarrollo urbano o comparar zonas protegidas *versus* zonas

contaminadas, dañadas o modificadas por el hombre. Las comparaciones de biotas involucran el uso de estimadores de diversidad biológica y/o la presencia de especies introducidas; las técnicas usadas para ese tipo de muestreos incluyen el uso de cuadros, cuadrantes y transectos en muestreos con área (útiles cuando las condiciones ambientales lo permiten y para obtener densidades poblacionales). En otros muchos casos, la distribución, tamaño de los organismos y objetivos del trabajo obligan a utilizar muestreos aleatorios estratificados, con o sin área, usando el tiempo como unidad de esfuerzo de muestreo. En estos estudios, el trabajo taxonómico al menor nivel posible se vuelve esencial para poder tener una buena comparación de las faunas. Para conocer las relaciones ecológicas se recomienda realizar los análisis estadísticos echando mano de la paquetería informática que se considere pertinente (*STATISTICA, Primer, R, GRAPHER, PAST*, entre otras).

También se suelen comparar algunas especies usando otro tipo de técnicas, como la morfometría geométrica o la cromatografía para la búsqueda de metales pesados o compuestos químicos, y el análisis de cariotipos. El objetivo de esta sección es exponer un panorama general de las experiencias a las que el grupo de trabajo relacionado con el Laboratorio de Malacología del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM, se ha enfrentado en el estudio de estos organismos.

Evaluación del efecto humano sobre las babosas marinas

Las actividades humanas generan una gran cantidad de desechos sólidos y líquidos que afectan, de manera directa o indirecta, a la biodiversidad. Muchos tienen como destino final el océano; donde, por ejemplo, afectan de manera directa al coral y reducen potencialmente la disponibilidad de recursos alimentarios para algunas especies de babosas, perturbando la diversidad y abundancia de estos organismos.

La subclase Heterobranchia está conformada por una gran diversidad de organismos, todos ellos miembros de la Clase Gastropoda, su distribución es amplia, ya que se pueden encontrar en ambientes terrestres y los ecosistemas acuáticos y desde los polos hasta los trópicos (Thompson, 1979; Behrens, 2004). El grupo es tan variado, que sus integrantes se pueden clasificar según el tipo de alimentación que lleven: carnívoros, herbívoros, detritívoros. Esta diversidad de formas, modo de vida y ambientes son una gran oportunidad para utilizarlos como bioindicadores de contaminación, biomagnificación y otros efectos derivados de las actividades humanas. Se

han detectado varias afectaciones a este grupo de moluscos por causas antropogénicas. Por ejemplo, estudios existentes documentan casos en los que el aumento en la disponibilidad de nutrientes en un sistema acuático, origina el crecimiento desmedido de algas, así como de sus depredadores y un incremento desproporcionado de su población en etapas larvales, con una tasa alta de mortalidad (Rudman, 2001), asimismo una subsecuente bioacumulación de contaminantes (Jarvis *et al.*, 2015). Algunos organismos pueden ser susceptibles a contaminación por ruido causado por actividades humanas, como la liebre de mar (*Stylocheilus striatus*), en la que se observó un decremento en el desarrollo de embriones y un aumento en la mortalidad (Nedelec *et al.*, 2014).

Los heterobranquios con concha externa pueden ser recolectados de la misma manera que los caracoles con concha. Los métodos que se describen a continuación están enfocados en heterobranquios marinos con conchas internas o ausentes, comúnmente conocidas como babosas marinas, ya que, si se usan las metodologías tradicionales, la ausencia de concha causará que la parte blanda se dañe, haciendo muchas veces imposible la identificación.

El método directo se realiza a través del buceo (libre o con aparatos) o con muestreos intermareales, revisando minuciosamente en el sustrato las especies de las cuales los heterobranquios se alimentan (e.g. esponjas, algas, pastos marinos, ascidias, tunicados). Si se observan puestas de estos organismos, se debe hacer énfasis en la zona.

El método indirecto se usa para organismos de tallas pequeñas y consiste en recolectar trozos de los mismos sustratos que el método directo, se realiza el cepillado (cepillos de cerdas suaves) de la superficie y tamizar en una red de máximo 1 mm de luz de malla. Una vez recolectados, los sustratos se separan en charolas, de preferencia de color blanco y con suficiente agua de mar para cubrir la muestra en donde reposarán de 2 a 6 horas. Se recomienda revisar el material bajo un microscopio estereoscópico y realizar el registro fotográfico tanto en el hábitat, como durante la revisión de gabinete.

En ambos métodos es menester procesar, de manera rápida, los organismos obtenidos, ya que para su identificación es fundamental registrar los colores, la forma y disposición de caracteres externos, como los rinóforos o las branquias entre otros, pues se sabe que una vez fijados, algunas características se modifican (Carmona *et al.*, 2013). Ya identificados, los organismos son anestesiados con una solución de 10 g de

cloruro de magnesio disuelta en 500 ml de agua de mar, en donde deberán permanecer entre 2 y 8 horas, dependiendo del tipo y tamaño de organismo, para fijar posteriormente en alcohol etílico (96° G.L.). Se sugiere no usar formol, en caso de que se requieran estudios moleculares que puedan ser de ayuda para la corroboración de la identificación, así como estudios de determinación y cuantificación de contaminantes.

La composición específica nos brinda pistas sobre el grado de contaminación existente, ya que por la ausencia de su alimento podrían ya no habitar dichas zonas (e.g. ausencia de corales, esponjas, algas entre otros). Sin embargo, se ha registrado la presencia de nudibrancos en zonas contaminadas, excepto cuando son anóxicas (Breyer, 1968). El aumento de algas por la disponibilidad de descargas (Hong-Mei *et al.*, 2014) hace que la riqueza de especies de los grupos *Sacoglossa* o *Aplysidae* aumente, o por el contrario, la ausencia de especies de este grupo puede indicar la presencia de contaminantes (Suratissa y Rathnayake, 2017). Se ha estudiado el contenido de metales pesados en *Elysia crispata* en Veracruz (Dorantes-Mejía, 2010), aunque se puede examinar cualquier especie herbívora.

Evaluación del efecto humano sobre la fauna malacológica intersticial

Las playas son uno de los ambientes marinos más importantes para las comunidades de organismos microbentónicos (Cupul-Magaña y Téllez-Duarte, 1997). Se divide en tres secciones: supra, meso e infraplaya (Carranza, Edwards y Caso-Chávez, 1994). En el caso de la antropización, la meiofauna ha sido empleada para detectar y monitorear el impacto ambiental en sustratos duros y blandos, ya que responde a los cambios y perturbaciones naturales o inducidas (Granados-Barba, 2001; Yáñez-Rivera, 2004; Schönfeld *et al.*, 2012). En los sustratos blandos la meiofauna se distribuye entre 2 y 10 cm de profundidad (Danovaro *et al.*, 2004) según factores bióticos y abióticos (Riera *et al.*, 2009); en este caso, la estructura comunitaria se ve afectada por la presencia anómala de elementos traza y eutrofización (Borja-Pérez, 2000; Acosta *et al.*, 2002).

Las siguientes recomendaciones buscan estandarizar el muestreo en campo de este tipo de organismos. En principio, se debe establecer el plan de trabajo para el muestreo, éste debe considerar el área de estudio, tipo de sustrato, condiciones ambientales y equipo necesario; así como el número de muestras, sus réplicas y el fijado de las mismas en etanol al 70 % v/v (en caso de pertenecer a la parte de infra y meso playa), o en seco para muestras de supra playa.

En el sitio de muestreo se deben registrar: georreferencia de los puntos de muestreo y datos físico-químicos (i.e *pH*, temperatura, salinidad, velocidad del viento, velocidad de corriente, oleaje, mareas, entre otros). Además, se deben tomar muestras de agua para determinación de oxígeno disuelto y clorofila-a; datos que permitirán realizar inferencias sobre el impacto antrópico en la zona.

Sustrato blando (arenas)

Se recomienda muestrear el primer centímetro del sustrato de toda el área elegida con el uso de una espátula para evitar daño en los organismos (Cupul-Magaña y Tellez-Duarte, 1997), ya que sus estructuras pueden romperse afectando así su identificación y estudio en laboratorio. En el caso de análisis de procesos geológicos se revisarán los primeros 15 centímetros del sustrato superficial (empleando un *nucleador* fabricado de material de PVC o metal, con un radio de 5 cm) ya que de acuerdo con la teoría, de esta manera se asume que los datos encontrados correspondan a una serie de eventos geológicos (e.g. erosión) y no sólo a lo más reciente (primer centímetro) (Rhoads, 1974).

Sustrato duro (rocas y ambientes coralinos)

Se realizará la fragmentación del sustrato recolectando la pedacería o se puede recolectar el material biológico adherido a la superficie por barrido (utilizando un cepillo metálico) o raspado (con ayuda de una espátula).

Análisis de laboratorio

Implica el lavado de las muestras con agua corriente (siempre y cuando no interfiera con tratamientos posteriores, como la elaboración y análisis de láminas delgadas), secado, determinación de color de la muestra, separación e identificación del material biológico obtenido en campo y almacenamiento del material. Este proceso debe ser homogéneo en todas las muestras. Para el caso de la identificación de grupos taxonómicos se recomienda realizar curvas de acumulación de morfotipos, para optimizar la cantidad de gramos de sustrato que debe ser revisado, el cual dependerá de cada una de las muestras.

En caso de que se encuentren valores bajos de oxígeno disuelto o de clorofila-a y éstos coincidan con una baja riqueza específica de moluscos (meiofauna intersticial), se asumirá que es a consecuencia de actividades humanas, ya que la fauna intersticial

no es resistente a condiciones anóxicas. De igual manera, la ausencia de un sustrato adecuado o la alteración de las condiciones físico-químicas del mismo, como cambio en el pH, modificación de la temperatura o de la salinidad en el sedimento y una mala calidad del agua intersticial por efecto antrópico, se verá reflejado en una baja diversidad de la fauna intersticial analizada en las láminas delgadas (porta objetos que contiene una cantidad de sustrato inmersa en una resina, dicha preparación es pulida para ser observada en un microscopio petrográfico y poder hacer diversas cuantificaciones), tanto de sustrato blando como duro, en supra, meso e infraplaya.

Evaluación del efecto humano sobre epibiontes de moluscos dulceacuícolas

El estudio de los moluscos dulceacuícolas (gasterópodos y bivalvos) se ha centrado en conocer las especies que habitan en estos cuerpos de agua continentales, realizando listados taxonómicos (Naranjo-García, 2003). Se sabe que los bivalvos suelen ser utilizados para determinar las cantidades de metales pesados u otras sustancias presentes en el agua y en cuanto a los gasterópodos, existen caracoles que buscan nuevos hábitats cuando la calidad del agua ya no es la requerida para su desarrollo (Phillips, 1977; Bonnail *et al.*, 2016).

Otros trabajos se han realizado sobre las interacciones que presentan estos invertebrados con otras especies, como algas, bacterias, nemátodos y protistas, en particular ciliados (Vega *et al.*, 2006); dichas asociaciones pueden ser de importancia biológica y ecológica, asimismo se utilizan como indicadores de calidad del agua. En el caso de los ciliados se han usado en distintos sistemas acuáticos como bioindicadores de mala calidad y sistemas acuáticos contaminados (Sládecek, 1981; Luna-Pabello, 2006).

Es por ello que un medio para medir antropización puede ser evaluar a los moluscos y sus ciliados asociados en función de la calidad del agua. Los gasterópodos hay que buscarlos entre la vegetación aledaña a las orillas del cuerpo de agua o bien sumergidos a pocos centímetros (-10 cm a -1 m); una vez localizados se procede a extraerlos con la mano y se colocan en recipientes lo suficientemente grandes para que los individuos queden cubiertos con agua del medio, estos recipientes deben tener orificios en la tapa para permitir la circulación de aire. Posteriormente, las muestras se depositan en acuarios con agua del medio y bombas de aire para mantener las condiciones de oxígeno en el agua y que no se estresen los animales ni los ciliados.

En el caso de los bivalvos, se realizan tamizados del sustrato aledaño a la orilla o cercano a la vegetación, con una red o tamiz de abertura de malla de 0.1 mm y usando el agua circundante con repeticiones de hasta cinco veces, siendo más exitosos en suelos limo-arcillosos. Una vez localizados los individuos, se toman las conchas y se siguen las mismas indicaciones que para los caracoles.

Ya en los acuarios, se deja aclimatar a los moluscos por 48 horas, luego se procede a localizar los ciliados que se encuentran en la superficie externa de la concha de estos animales, observándolos en un microscopio estereoscópico. Localizados los ciliados, se hace un raspado con ayuda de la navaja más fina posible y, con agujas de disección, se elimina la mayor cantidad de materia orgánica. Después se extrae el ciliado y se fija, posteriormente se realizan las distintas técnicas de tinción e impregnación para identificar a la especie de ciliado y corroborar si alguna de las especies presentes corresponden a bioindicadores de mala calidad del agua (e.g. algunos miembros de la familia Opercularidae como *Opercularia coarctata*) (Sládeček, 1981). A menudo para la identificación de los gasterópodos y bivalvos se requiere sacrificar al animal, primero se anestesian con cloruro de magnesio al 3 %, la cantidad se irá agregando de acuerdo con el tiempo que tarden los moluscos en anestesiarse, inicialmente se agregan 10 gotas de la solución de cloruro de magnesio (3 gramos por litro de agua); como mínimo el proceso tarda 3 hrs. Una vez anestesiado se retira el cloruro de magnesio y se coloca al individuo en etanol al 70 %.

Se sabe que entre mayor sea la contaminación de los cuerpos de agua, hay especies de ciliados que se encontrarán en mayor cantidad, indicando que hay procesos de contaminación o cambios en la composición del agua, ya sea natural (eutrofización) y/o antropogénica.

Evaluación del efecto humano sobre los moluscos terrestres

En el caso de los moluscos terrestres y dulceacuícolas, es necesario tener una idea general de los organismos potenciales que se pueden encontrar en el lugar de muestreo y del material necesario de acuerdo con el tipo de ambiente (Naranjo, 2000). El esfuerzo de muestreo puede ser con cuatro personas durante tres horas en horarios nocturnos, en el caso de ejemplares noctívagos. Para la recolección de macromoluscos la técnica empleada es de búsqueda directa en rocas, oquedades y lugares donde exista acumulación de materia orgánica en descomposición; además, es ne-

cesario tomar en cuenta zonas donde la humedad sea alta y el organismo pueda evitar la pérdida de humedad. También se pueden colocar trampas nocturnas humedeciendo hojas de papel con agua corriente dentro de botellas de plástico de boca ancha colgadas con la boquilla hacia arriba a metro y medio de altura del suelo. Otra opción es colocar charolas y trapos humedecidos con cerveza entre la hojarasca. Una vez en el laboratorio, las conchas de macromoluscos deben ser lavadas para eliminar el exceso de sustrato y facilitar la identificación de los ejemplares utilizando una solución de agua desionizada/agua corriente en proporción 1:1, frotando suavemente la superficie de la concha con ayuda de un pincel de cerda suave para evitar maltratar la concha. A continuación se enjuagan con agua corriente para eliminar residuos de la solución.

Para obtener micromoluscos terrestres se debe tamizar el sustrato para su posterior revisión. Es importante inspeccionar la vegetación arbórea (Naranjo, 2000). Los micromoluscos se obtienen al filtrar los suelos por un tamiz de abertura de malla de 0.2 mm al chorro de agua. Cuando los suelos están secos y manejables, es recomendable revisarlos con ayuda de un microscopio estereoscópico; el exceso de suelo adherido a la concha de micromoluscos se puede remover utilizando un equipo de limpieza tal como un limpiador ultrasónico, agregando una solución de detergente para películas fotográficas, diluida con agua corriente 1:1, durante 10 segundos. Posteriormente, es necesario enjuagar con agua corriente y dejar secar para evitar la proliferación de microorganismos asociados a la humedad.

Los organismos vivos se colocan en una solución relajante (alcanfor, tabaco, extracto de clavo) hasta que se extienda el pie y para su conservación se ponen en etanol al 70 %.

Para poder comparar la variedad de especies existentes en diferentes zonas se suelen utilizar índices de diversidad aplicados a las comunidades, de esa manera se puede relacionar con los parámetros ambientales (Pérez *et al.*, 2005). Así, a partir de los valores de los índices de diversidad en series de tiempo largas puede inferirse alteración por influencia antrópica; por ejemplo, al abatirse drásticamente los valores de la riqueza específica o al cambiar las especies dominantes en un área previamente muestreada.

En el caso de los moluscos terrestres, es importante tomar en cuenta la pérdida del hábitat por influencia de actividades humanas, así como el cambio de uso de suelo de un ambiente silvestre o con vegetación original a cultivos agrícolas donde la vegetación se ha modificado (Correa-Sandoval, 2017), en especial aquellos en los que se

utilizan fertilizantes químicos o se lleva a cabo una tala inmoderada y aprovechamiento no sustentable de los recursos vegetales.

Evaluación del efecto humano sobre moluscos de la Clase Bivalvia

Existen distintas formas en las que los bivalvos responden a los cambios producidos por el hombre; puede ser a nivel individual o poblacional, además de que las manifestaciones se reflejan en el comportamiento, fisiología y la tolerancia de estas especies (Baqueiro-Cárdenas *et al.*, 2007). Las formas en que el hombre ha interferido en el ciclo natural de los bivalvos puede resumirse en los siguientes fenómenos: a) interacción directa con los organismos en cultivos para consumo y perlicultura; b) impactos por introducción de especies exóticas; c) contaminación; d) pérdida de diversidad biológica; e) construcción de presas; y f) degradación de vías navegables (Quinoñero y López, 2013). Todas las actividades antes mencionadas afectan gravemente el espacio y condiciones óptimas de vida para los bivalvos, ya que, al ser animales sedimentarios, no son capaces de alejarse de las perturbaciones; la falta de movilidad los hace más vulnerables a cualquier tipo de impacto en su ambiente, que otros moluscos. Además, al ser organismos filtradores, retienen una serie de contaminantes y metales pesados en sus tejidos, principalmente en el manto y branquias, como forma de protección a éstos. Así, la bioacumulación es una estrategia que puede ayudar a conocer el estado de salud de un cuerpo de agua, mediante el análisis de las partes blandas de un bivalvo (Baqueiro-Cárdenas *et al.*, 2007).

La regulación de entrada de especies ajenas a sitios con alta diversidad debe estar supervisada, todas aquellas transferencias potenciales (intencionadas y no intencionadas), deben ser estrictamente controladas, con el fin de eliminar los posibles riesgos de introducción a los medios acuáticos. Para iniciar la detección de especies nativas e introducidas (exóticas y oportunistas), es necesario hacer una lista de especies de la localidad de interés, pues por el desarrollo de cultivos en los bivalvos y su comercio, se han movido e introducido especies de distintas costas que podrían desplazar a las nativas. Una vez que se hayan detectado, se debe hacer un plan de manejo para eliminar a las especies foráneas (Mendoza *et al.*, 2014).

La modificación de sistemas acuáticos naturales (como la construcción de presas y el dragado) resulta en cambios de la estructura comunitaria de éstos, generalmen-

te se eliminan las corrientes y flujos naturales, cambiando la riqueza y composición de especies. Para saber cómo se han afectado las comunidades, se pueden hacer muestreos en cuerpos de agua naturales y modificados, con el fin de comparar las diferencias en composición de especies (Pérez *et al.*, 2010).

Evaluación del efecto humano sobre quitones de zonas costeras

Los estudios que utilizan quitones como modelo para medir antropización son escasos, siendo las especies costeras las principales afectadas por el humano. El efecto puede ser cuantificable sobre su talla, biodiversidad, distribución y concha.

En el caso de captura de especies intermareales se ha registrado una disminución de tallas en los organismos. En México la especie intermareal comestible *Chiton articulatus* se extrae sin distinción de tallas (García-Ibáñez *et al.*, 2013), incluyendo estadios juveniles que no se han reproducido, por lo que se espera que las poblaciones disminuyan la talla reproductiva, en lugar de destinar su energía para crecimiento, como se ha observado en otros grupos acuáticos.

La extracción de especies de quitones puede modificar la diversidad de una región, ya que en vez de una sola especie, se llegan a consumir otras; en Guerrero, cuando *Chiton articulatus* no es suficiente, las personas que recolectan quitones utilizan otras especies para vender (García-Ibáñez *et al.*, 2013) y los epibiontes de los quitones, como balanos, lapas y algas (Álvarez-Cerrillo *et al.*, 2017) pueden representar una pesca incidental (*by-catch*) que también afectaría la diversidad biológica.

Recientemente los quitones se han propuesto como un indicador de cambio climático, debido a que sus placas se descalcifican como consecuencia de la acidificación del océano, un efecto derivado del cambio climático; sin embargo, para los quitones adultos, la acción del oleaje y las partículas en el agua podrían causar mayor efecto sobre las placas (Sigwart *et al.*, 2015).

Recolección de quitones

Para recolectar quitones intermareales es recomendable hacerlo durante marea baja. Los quitones se adhieren al sustrato, generalmente rocas, por lo que se sugiere usar un objeto plano (espátula o cuchillo) que permita hacer una palanca con la mano, este objeto se insertará debajo del cinturón (borde) del quitón y con un rápido mo-

vimiento se desprenderá sin lastimarlo. Para evitar que se enrosque sobre sí mismo hay que colocarlo en una superficie plana hasta que se adhiera.

Para sacrificarlos, primero se relajan en agua de mar, añadiendo un poco de agua corriente (~1/5 parte), de forma gradual se adicionan gotas de alcohol étílico al 70 o 96 %, en intervalos de varios minutos, observando que los quitones no se retraigan; la relajación puede durar entre 15 y 30 minutos y los ejemplares estarán listos cuando no opongan resistencia al ser manipulados (modificado de Ávila-Poveda, 2013).

Evaluación del efecto humano mediante el análisis de la forma

Una manera de medir el efecto de la antropización sobre los moluscos es mediante el estudio de la forma de la concha, ya que ésta se puede ver modificada durante su proceso de construcción (Vermeij, 2002; Watson *et al.*, 2012). También hay alteraciones en el tamaño de la concha de moluscos asociados a zonas perturbadas por factores antropogénicos (Flores y Cáceres, 1973; Kawai, 2003, Roy *et al.*, 2003). Los moluscos pertenecientes a la clase Bivalvia se han utilizado de manera exitosa como bioindicadores, principalmente por sus hábitos sedentarios, filtradores y por la facilidad con la que acumulan lo que filtran (Falfushynska *et. al.*, 2010), así que para ambientes marinos o dulceacuícolas se recomienda realizar el estudio en organismos de esta clase, aunque algunos gasterópodos también lo permiten, en especial los de hábitos filtradores.

Para visualizar cambios en la forma, de manera cuantitativa, se propone la utilización de la morfometría geométrica, ya que la tradicional describe la forma en cifras, con lo que pierde relación con la forma biológica, es decir no toma en cuenta las relaciones geométricas de las variables (Rohlf y Marcus, 1993). La morfometría geométrica, en biología, corresponde al estudio de la variación de las conformaciones biológicas y su covariación con otras variables, es una manera indirecta de estudiar los cambios ambientales y evolutivos que afectan a los organismos (Jaramillo-O., 2011; Zelditch, 2004).

La morfometría geométrica emplea coordenadas o *landmarks* que se ubican sobre la estructura biológica o su fotografía, los cuales marcan estructuras homólogas (presentes en todos los organismos a analizar) y que se establecen por su fácil ubicación, por ejemplo, aquellos situados en intersecciones de varias estructuras. También se pueden usar *semilandmarks*, que están definidos como curvas homólogas entre estructuras (Bookstein, 1991; Jaramillo-O., 2011; Zelditch, 2004).

Esta morfometría es un método que separa la forma del tamaño de los organismos (Zelditch, 2014); sin embargo, la variación ontogénica de la concha puede presentarse debido al crecimiento modular en algunos grupos de moluscos como los gasterópodos (Maynard-Smith *et al.*, 2010; Vermeij, 2015).

Es importante realizar un análisis lineal discriminante para discernir la cantidad de variación en la forma explicada por el tamaño. Aunado a esto, se recomienda analizar la historia de vida del organismo y también a lo largo del tiempo, comparando la población de la misma localidad en diferentes años, complementando esta información con material contenido en colecciones, asegurando cobertura temporal ya que al ser estructuras duras presentan poca o nula deformación de esta manera se pueden observar cambios al momento de presentarse el fenómeno de antropización.

La recolección de los moluscos se hará de manera aleatoria, estratificada por tamaño y de preferencia, en diferentes épocas del año para tener indicios acerca de la influencia de otros factores ambientales que también afectan la forma, como el oleaje, la desecación o la temperatura. Después de la obtención de muestras, la ruta entre la toma de fotografías y la digitalización debe ser la más corta posible. Es recomendable que las fotografías sean tomadas con escala, a la misma distancia focal y centradas para evitar deformaciones. Para procesar las imágenes se recomienda utilizar el programa *Tps Util* para la colocación de *landmarks* y el paquete *Morpho J* para los análisis estadísticos necesarios debido al fácil acceso y la sencillez de la interfaz, sin embargo, existen diferentes programas para realizar morfometría geométrica como: *Morphologik* o la paquetería de R, *Geomorph*.

La morfometría geométrica permite realizar estudios de bajo costo con una muestra pequeña, observar cambios de forma a pequeña escala.

Evaluación del efecto humano sobre la diversidad genética de las poblaciones de moluscos

Tanto en los ambientes marinos como en los terrestres es posible evaluar la estructura genética de las poblaciones y, de esta manera, determinar una posible disminución en la diversidad genética relacionada con los efectos que la urbanización haya podido causar en tales sitios. Se requiere que los organismos hayan sido conservados en etanol para poder llevar a cabo la extracción de DNA. Ésta puede realizarse con métodos como el de fenol-cloroformo o bien utilizando algún kit de extracción para

tejido animal. Se emplea una pequeña muestra de tejido que se obtiene, en la mayoría de los moluscos, del pie, salvo en algunos bivalvos donde la muestra se obtiene del músculo aductor (Pereira *et al.*, 2011). En la actualidad se han desarrollado nuevos métodos menos invasivos para los individuos, en los que no se requiere tejido sino el mucus secretado por los moluscos (Palmer *et al.*, 2008).

Una vez que se obtiene el DNA se pueden utilizar distintos marcadores: isoenzimas, AFLPS, genes tanto nucleares como mitocondriales, microsatélites o SNPS. A partir de los datos genéticos obtenidos, es posible calcular parámetros tales como: diversidad genética a través de la heterocigosidad esperada, índice de fijación (FIS, FST) o el tamaño efectivo de la población (Toro y Caballero, 2005). Los estudios además deben incluir la comparación entre las poblaciones que se encuentran en zonas antropizadas con aquellas poblaciones que se encuentran en zonas conservadas, que pueden ser Áreas Naturales Protegidas como Reservas Ecológicas, Parque Nacionales o bien poblaciones que se encuentren en zonas aisladas de la huella antropogénica. Esta comparación puede aplicarse tanto en moluscos marinos como en terrestres.

Literatura citada

- Almeida, E. A., Bainy, A. C. D., Medeiros, M. H. G. y Di Mascio, P. (2003). Effects of trace metal and exposure to air on serotonin and dopamine levels in tissues of the mussel *Perna perna*. *Marine Pollution Bulletin*, 46, 1485-1490.
- Álvarez-Cerrillo, L. R., Valentich-Scott, P. y Newman, W. A. (2017). A remarkable infestation of epibionts and endobionts of an edible chiton (Polyplacophora: Chitonidae) from the Mexican tropical Pacific. *The Nautilus*, 131, 87-96.
- Ávila-Poveda, O. H. (2013). Annual change in morphometry and in somatic and reproductive indices of *Chiton articulatus* adults (Mollusca: Polyplacophora) from Oaxaca, Mexican Pacific. *American Malacological Bulletin*, 31, 65-74.
- Baqueiro-Cárdenas, E. R., Borabe, L., Goldaracena, C. G. y Rodríguez-Navarro, J. (2007). Los moluscos y la contaminación. Una revisión. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 78, 1-7.
- Behrens, D.W. (2004). Pacific coast nudibranchs, supplement II: new species to the Pacific coast and new information on the oldies. *Proceeding of California Academy of Sciences*, 55, 11-54.
- Bonnail, E., Sarmiento, A. M., DelValls, T. A., Nieto, J. M. y Riba, I. (2016). Assessment of metal contamination, bioavailability, toxicity and bioaccumulation in extreme metallic environments (Iberian Pyrite Belt) using *Corbicula fluminea*. *Science of the Total Environment*, 544, 1031-1044.
- Bookstein, F. L. (1991). *Morphometric tools for landmark data: geometry and biology*. Nueva York: Cambridge University Press.
- Borja, A., Franco, J. y Pérez, V. (2000). A marine biotic index to establish the ecological quality of soft-bottom benthos within European estuarine and coastal environments. *Marine Pollution Bulletin*, 40, 1100-1114.
- Burciaga Cifuentes, L. M. (2015). *Revisión de la sistemática y distribución de las clases Solenogastres, Caudofoveata y Monoplacophora (Mollusca Cuvier, 1795) en México*. México: Seminario de titulación, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Carmona, L., Pola, M., Gosliner, T. M. y Cervera, J. L. (2013). The end of a long controversy: systematics of the genus *Limenandra* (Mollusca: Nudibranchia: Aeolidiidae). *Helgoland Marine Research*, 68, 37-48.

- Cano Otalvaro, J. (2011). *Caracterización morfométrica de Anadara tuberculosa y A. similis en la Costa Pacífica Colombiana*. Santiago de Cali, Colombia: Tesis Licenciatura, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas. Universidad del Valle.
- Carranza-Edwards, A. y Caso-Chávez, M. (1994). Zonificación del perfil de playa. *Anales del Centro de Ciencias del Mar y Limnología. Universidad Nacional Autónoma de México*, 2, 26-32.
- Correa-Sandoval, A., Rodríguez-Castro, R., Venegas-Barrera, C. S., Horta-Vega, J. V., Barrientos-Lozano, L. y Rodríguez-Castro, J. H. (2017). Diversidad y zoogeografía de los moluscos terrestres de la sierra de Tamaulipas, México. *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)*, 33, 76-88.
- Cupul-Magaña, L. A. y Téllez-Duarte, M. A. (1997). Variaciones espaciotemporales de la fauna macro bentónica de una playa arenosa y su relación con los cambios del perfil de playa y el tamaño de grano de los sedimentos, en Playa Pelicano. Baja California. *Ciencias Marinas*, 23, 419-434.
- Danovaro, R., Dell'Anno, A. y Pusceddu, A. (2004). Biodiversity response to climate change in a warm deep sea. *Ecology Letters*, 7, 821-828.
- Dorantes-Mejía, C. P. (2010). *Elysia crispata (Mollusca: Sacoglossa: Elysiidae) como biomonitor de contaminación en tres arrecifes del Sistema Arrecifal Veracruzano*. México: Tesis, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Dudgeon, D. A. H., Arthington, M. O., Gessner, Z. I., Kawabata, D. J., Knowler, C., Lévêque, R. J., Naiman, A.-H., Prieur-Richard, D., Soto, M. L., Stiassny, J. y Sullivan, C. A. (2006). Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological Reviews*, 81, 163-182.
- Falfushynska, H. I., Gnatyshyna, L. L., Farkas, A., Vehovszhy, Á., Gyori, J. y Stoliar, O. B. (2010). Vulnerability of biomarkers in the indigenous mollusk *Anodonta cygnea* to spontaneous pollution in a transition country. *Chemosphere*, 81, 1342-1351.
- Flores, C. y Cáceres, R. (1973). La familia Neritidae (Mollusca: Archaeogastropoda) en las aguas costeras de Venezuela. *Boletín del Instituto Ocenográfico de Venezuela de la Universidad de Oriente*, 12, 3-13.
- Franco, J., Borja, A., Solaun, O. y Pérez, V. (2002). Heavy metals in molluscs from the Basque Coast (Northern Spain): results from an 11-year monitoring program. *Marine Pollution Bulletin*, 44, 956-976.
- García-Ibáñez S., Flores-Garza, R., Flores-Rodríguez, P., Violante-González, J., Valdés-González, A. y Olea-de la Cruz, F. G. (2013). Diagnóstico pesquero de *Chiton*

- articulatus* (Mollusca: Polyplacophora) en Acapulco, México. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 48, 293-302.
- Galtsoff, P. S. (1964). The American oyster *Crassostrea virginica* Gmelin. *US Department of the Interior Fishery Bulletin*, 64, 1-480.
- Granados-Barba, A. (2001). *Los poliquetos bénticos de la región petrolera del suroeste del Golfo de México: Estructura comunitaria de impacto ambiental*. México: Tesis, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Hong-Mei, L., Hong-Jie, T., Xiao-Yong, S., Chuan-Song, Z. y Xiu-Lin, W. (2014). Increased nutrient loads from the Changjiang (Yangtze) River have led to increased Harmful Algal Blooms. *Harmful Algae*, 39, 92-101.
- Jaramillo-O. N. (2011). Morfometría geométrica: principios teóricos y métodos de empleo. En Triana Chávez, O., Mejía Jaramillo, A. M. y Gómez Palacio, A. M. (Eds.), *Fronteras de investigación en enfermedades infecciosas. Modelo enfermedad de Chagas* (pp. 69-87). Antioquia: Universidad de Antioquia
- Jarvis T. A., Capo, T. R. y Bielmyer-Fraser, G. K. (2015). Dietary metal toxicity to the marine sea hare, *Aplysia californica*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C. Toxicology & Pharmacology*, 174-175, 54-64.
- Kawai, K. (2003). Effect of wave action on shell shape of marine snail *Nerita plicata* and oil spill on marine coastal environment. *South Pacific Study*, 23, 15-20.
- Kendall, D. G. (1981). The statistics of shape. En: Barnett, V. (Ed.), *Interpreting multivariate data* (pp. 75-80). Nueva York: Wiley.
- Luna-Pabello, V. M. (2006). *Atlas de ciliados y otros microorganismos frecuentes en sistemas de tratamiento aerobio de aguas residuales*. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Marigomez, I., Kortabitarte, M. y Dussart, G. B. J. (1998). Tissue-level biomarkers in sentinel slugs as cost-effective tools to assess metal pollution in soils. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 34, 167-176.
- Maynard-Smith, R., Burian, R. M., Kauffman, S., Alberch, P., Campbell, J., Goodwin, B., Lande, R., Raup, D. y Wolpert, L. (2010). Developmental constraints and evolution: A perspective from the Mountain Lake Conference on Developmental and Evolution. *The Quarterly Review of Biology*, 60, 265-287.
- Mendoza, R., Ramírez-Martínez, C., Aguilera, C. y Meave del Castillo, M. E. (2014). Principales vías de introducción de las especies exóticas. En Mendoza, R. y Koleff, P.

- (Coords.), *Especies acuáticas invasoras en México* (pp. 43-73). México: Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad, 308 pp.
- Munshi-South, J., Zolnik, C. P. y Harris, S. E. (2016). Populations genomics of the Anthropocene: urbanization is negatively associated with genome-wide variation in white-footed mouse populations. *Evolutionary Applications*, 9, 546-564.
- Naranjo-García, E. (2003). Moluscos continentales de México: dulceacuícolas. *Revista de Biología Tropical*, 51, 495-506.
- Nedelec, S. L., Radford, A. N., Simpson, S. D., Nedelec, B., Lecchini, D. y Mills, S. C. (2014). Anthropogenic noise playback impairs embryonic development and increases mortality in a marine invertebrate. *Scientific Reports*, 4, 1-4.
- Palmer, A. N. S., Styan, C. A. y Shearman, D. C. A. (2008). Foot mucus is a good source for non-destructive genetic sampling in Polyplacophora. *Conservation Genetics*, 9, 229-231.
- Pereira, J. C., Chaves, R., Bastos, E., Leitão, A. y Guedes-Pinto, H. (2011). An efficient method for genomic DNA extraction from different molluscs species. *International Journal of Molecular Sciences*, 12, 8086-8095.
- Pérez, C., Alfonsi, S. K., Salazar, M., Nirchio, C., Zuñiga, O. y Gómez, J. A. (2010). *La biodiversidad y los exóticos acuáticos*. Venezuela: Fondo Editorial de la Universidad de Oriente.
- Phillips, D. J. (1977). The use of biological indicator organisms to monitor trace metal pollution in marine and estuarine environments-a review. *Environmental Pollution*, 13, 281-317.
- Ponder, W. y Lindberg, D. R. (Eds.), *Phylogeny and Evolution of the Mollusca*. University of California Press, Berkeley.
- Quiñonero Salgado, S. y López Soriano, J. (2013). Moluscos dulceacuícolas invasores del Delta del Ebro, Cataluña, España. *Spira*, 5, 59-71.
- Rhoads, C. D. (1974). Organism-sediment relations on the muddy sea floor. *Marine Biology Annual Review*, 12, 263-300.
- Riera, R., Monterroso, O., Rodríguez, M., Pérez, O., Ramos, E., González, M. y Durán, C. (2009). *La directiva marco del agua (DMA/2000/60/CE) como herramienta para determinar la calidad de las masas de agua y de los fondos marinos de la isla de Tenerife. I Jornadas nacionales de seguridad y contaminación marina*. Escuela Técnica Superior de Náutica, Máquinas y Radioelectrónica Naval, 1-26.

- Ricciardi, A. y Rasmussen, J. B. (1999). Extinction rates of North American freshwater fauna. *Conservation Biology*, 13, 1220-1222.
- Ricciardi, A., Neves, R. J. y Rasmussen, J. B. (1998). Impending extinctions of North American freshwater mussels (Unionoida) following the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) invasion. *Journal of Animal Ecology*, 67, 613-619.
- Rohlf, J., y Marcus, F. (1993). A revolution in morphometrics. *Trends in Ecology and Evolution*, 8, 129-132.
- Rudman, W. B. (2001). (March 22) Mass mortality. In Sea Slug Forum. Australian Museum, Sydney. Recuperado de <http://www.seaslugforum.net/factsheet/mass-mort>
- Saldaña Monroy, Enrique (2012). *Revisión sistemática de la clase Scaphopoda (Mollusca, Scaphopoda) en México*. México: Tesis, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Salinas-Zavala, C. A., Camarillo-Coop, S., Mejía-Rebollo, A., Rosas-Luis, R., Ramos-Castillejos, J., Ramírez-Rojo, R., Arizmendi, D., Bazzino, G., Dimante-Velázquez, N. y Markaida, U. (2006). *Studies of the jumbo squid (Dosidicus gigas d'Orbigny, 1835) in Mexico: Fishery, ecology and climate* (pp. 35-41). En: Olson, R. J. y Young, J. & W. (Eds.), *The role of squid in open ocean ecosystems*. Global Ocean Ecosystem Dynamics, globec, Honolulu.
- Schönfeld J., Alve, E., Geslin, E., Jorissen, F., Korsun, S., Spezzaferri, S. y Members of the fobimo group. (2012). The fobimo (FORaminiferal Bio-MONitoring) initiative-Towards a standardised protocol for soft-bottom benthic foraminiferal monitoring studies. *Marine Micropalontology*, 94-95, 1-13.
- Sigwart J. D., Green, P. A. y Croft, S. B. (2015). Functional morphology in chitons (Mollusca, Polyplacophora): influences of environment and ocean acidification. *Marine Biology*, 162, 2257-2264.
- Sládeček, V. (1981). Indicator value of the genus *Opercularia* (Ciliata). *Hydrobiologia*, 79, 229-232.
- Suratissa, D. M. y Rathnayake, U. (2017). Effect of pollution on diversity of marine gastropods and its role in trophic structure at Nasese Shore, Suva, Fiji Islands. *Journal of Asia-Pacific Biodiversity*, 10, 192-198.
- Thompson T. E. (1976). *Biology of the Opisthobranch Molluscs*, vol. I. Londres: The Ray Society.

- Toro, M. A. y Caballero, A. (2005). Characterization and conservation of genetic diversity in subdivided populations. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 360, 1367-1378.
- Vega, I. A., Damborenea, M. C., Gamarra-Luques, C., Koch, E., Cueto, J. A. y Castro-Vazquez, A. (2006). Facultative and obligate symbiotic associations of *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda, Ampullariidae). *Biocell*, 30, 367-375.
- Vermeij, G. J. (2002). Characters in contexts: Molluscan shells and the forces that mold them. *Paleobiology*, 28, 21-54.
- Vermeij, G. J. (2015). Fobidden phenotypes and the limits of evolution. *Interface Focus*, 5(6), 1-13.
- Yáñez-Rivera, B. (2004). *Estructura comunitaria de los poliquetos asociados a rocas de coral muerto en la Isla Cozumel, Quintana-Roo*. México: Tesis, Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Watson, S. A., Peck, L. S., Tyler, P. A., Southgate, P. C., Tan, K. S., Day, R. W. y Morley, S. A. (2012). Implications for global change and ocean acidification. *Global Change Biology*, 18, 3026-3038.
- Zelditch, M. L., Swiderski, D. L., Sheets, H. D. y Fink, W. L. (2004). *Geometric morphometrics for biologists: a primer*. Nueva York: Elsevier Academic.



