



**Universidad Autónoma Metropolitana  
Unidad Iztapalapa  
Ciencias Básicas e Ingeniería  
Posgrado en Energía y Medio Ambiente**

“Integración de respuestas fisiológicas y bioquímicas como indicadores de vulnerabilidad ambiental en la anémona *Bunodosoma cavernatum* (Bosc, 1802) (Cnidaria: Anthozoa: Actinaria)”

---

## **T E S I S**

**Para obtener el grado de  
MAESTRO EN CIENCIAS (Energía y Medio Ambiente)**

**Que presenta:**

**Hbiol. Humberto Iñiqui Valdez Peralta.**

Matrícula: 2193802178

**Comité tutorial**

Directora: Dra. Xochitl Guzmán García

Asesora: Dra. Isabel Guerrero Legarreta

**Jurado**

Presidenta: Dra. Marcela Arteaga Silva

Vocal: Dr. Leobardo Manuel Gómez Oliván

Secretario: Dr. Juan Carlos Segoviano Ramirez

Iztapalapa, Ciudad de México. 29 de abril del 2022.

El Posgrado en Energía y Medio Ambiente de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa (UAM-I), pertenece al Padrón Nacional de Posgrados de Calidad del CONACyT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología). Así mismo, el CONACyT apoyo la realización de este proyecto mediante la beca de manutención **955749**.

La obtención de los organismos se llevó a cabo en el municipio de Tecolutla, Veracruz de acuerdo con los permisos oficiales otorgados por la SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales) Número de permiso: SGPA/DGVS/004013/18. Para el manejo y experimentación con los organismos se siguieron los ***“Lineamientos para la conducción ética de la investigación, docencia y la difusión en la División de Ciencias Biológicas y de Salud”*** aprobados por el Consejo Divisional de CBS de la UAM-I en su sucesión 8.10 del 18 de mayo de 2010.

El análisis para la obtención de resultados de esta tesis se llevó a cabo en el PIMVS (Predios o Instalaciones que Manejan Vida Silvestre) “CIDMIRA” (Centro de Investigación y Docencia para el Manejo Integral de los Recursos Acuáticos) con registro ante SEMARNAT DGVS-02594/1806, ubicado en el Laboratorio de Ecotoxicología del Departamento de Hidrobiología. Esta investigación contó con financiamiento de los proyectos: ***“Indicadores de Integridad Ecológica y Salud Ambiental”*** y ***“Biomoléculas activas de origen animal”*** de la UAM-I (2014-2021).

## **Agradecimientos**

Este proyecto no se hubiera realizado sin la visión, y dirección de la **Dra. Xochitl Guzmán García**. A ella agradezco primeramente la aceptación para dirigir este proyecto, la disposición de colaborar siempre y la aportación económica de reactivos y consumibles para llevar a cabo este proyecto. Gracias por todo lo que me ha enseñado en el ámbito académico y en el personal. Gracias por enseñarme tanto con pasión y cariño. Desde el fondo de mi corazón, siempre le agradeceré haber sido tan paciente a la hora de formarme. Usted me ha retado e inspirado tanto, con usted entendí que el límite solo lo ponía mi disciplina. Eternamente agradecido.

A la Dra. **Dra. Isabel Guerrero Legarreta** (UAM-I), por la revisión crítica del trabajo, por sus aportaciones y comentarios para el mejoramiento de este, invaluable son sus observaciones.

A los sinodales de este proyecto, quienes hicieron un espacio en su ajetreada agenda para revisar mi trabajo y aportar con perspectivas nuevas. A la **Dra. Marcela Arteaga** (UAM-I), y al **Dr. Leobardo Manuel Gómez Oliván** (UAEM) quienes sin conocerme aceptaron ser revisores y con ello me aportaron perspectivas sobre el desarrollo de mi trabajo. Finalmente, al **Dr. Juan Carlos Segoviano** (UANL) por la oportunidad de aprender bajo su dirección, y por los múltiples señalamientos que me ha hecho y que me han llevado a crecer como estudiante y como investigador. Gracias por retarme tanto.

A la **Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa**, que desde la licenciatura, me ha brindado el apoyo académico, intelectual y económico para vivir los años más hermosos e irrepetibles de mi vida.

Al **CONACyT** por el apoyo económico a través de la beca de manutención que permitió que culminaré mis estudios de maestría.

A la **Dra. Beatriz Silva Torres** y a el **Dr. Juan José Ambriz García**, que como coordinadores del Posgrado en Energía y Medio Ambiente (PEMA), me motivaron a ingresar, participar y continuar con mis estudios. Gracias por todo el apoyo y gestiones que hicieron para que este proyecto se llevará a cabo. A la **Mtra. Iseo González**, asistente del Posgrado, por su apoyo en el proceso administrativo para la asignación de la beca y procesamiento de trámites.

A mi team: **Juan, Victor, Ebe, Bryan, Misael, Greta, Anahí, Enrique, Hugo, Raúl, Salomón, Tars, Emanuel, María, Samuel, Gemelos, Jasive, Agonini, y Fernando** sin ustedes esto no hubiera sido posible. No hay manera de que comprendan todo el agradecimiento que siento por cada uno de ustedes. Gracias por sus abrazos de aliento y palabras que sanaban mis nervios y dudas, gracias por cada momento a su lado. Ser hijo único te da la facilidad de escoger a tu familia, y eso son para mí. Los quiero y los admiro mucho.

A mis amigos del laboratorio de Ecotoxicología-Histología: **Dalia, Alberto, Ivonne, Suleyma, y Vanessa**, jamás olvidaré los momentos de angustia, estrés y sobre todo alegría que compartimos a lo largo de los años. En especial a **Anahí y Fernando** que siempre han estado ahí para mí, atesoro su amistad como no tienen idea, *los dos siempre en mi equipo*. Muy en especial a la **Biol. Irma Hernández Calderas** ¿qué le voy a decir qué no sepa? Mire hasta donde llegamos Irmita, muchas gracias por siempre estar ahí, por siempre tener una palabra de aliento, gracias por todas las flores a mi trabajo. Pero sobre todo gracias por ser

tan TÚ, solo los que te conocemos sabemos la calidad de persona que eres Irmita, es usted un ángel.

Al **Dr. José Roberto Jerónimo Juárez** de UAM-I por todo lo que aprendí a su lado, aunque a veces devastado, estresado, con sueño y con mil pendientes, siempre me enseñó con una sonrisa y mucha pasión. Eres un genio Rob.

A la **Dra. Meztli Lucia Matadamas Guzmán** por su valiosa contribución en la enseñanza de diversas metodologías y conocimientos referentes al estrés ambiental. Gracias por enseñarme cosas que jamás pensé o imaginé.

Finalmente, quiero agradecer desde el fondo de mi alma **a mi familia** porque siempre me han inspirado, acompañado y porque nunca me han dejado solo. Sepan que los admiro mucho y todos los días agradezco por tenerlos a mi lado y las enseñanzas que me han dado. Sin tu resiliencia, carácter, pasión y cariño **Mamá** no habría llegado hasta aquí. Sin haber aprendido sobre tu perseverancia y valentía **Tío**, no habría logrado lo que logré. **Abu** sin tu amor no hubiera aguantado este camino. **Este logro es de ustedes y para ustedes.** Felicidades.

## Índice

<i>Introducción</i> .....	1
<i>Justificación</i> .....	9
<i>Pregunta de investigación</i> .....	10
<i>Objetivos</i> .....	11
Objetivo general .....	11
Objetivos particulares .....	11
<i>Materiales y métodos</i> .....	12
Área de estudio .....	12
Obtención de anémonas y manejo de muestra.....	13
Identificación taxonómica de la especie en estudio.....	14
Evaluación de respuestas fisiológicas y bioquímicas .....	15
Preparación del tejido .....	15
Análisis inmunohistoquímico de biomarcadores experimentales de exposición .....	16
Análisis morfológico y toma de Microfotografías .....	18
Integración del índice de vulnerabilidad .....	19
<i>Resultados</i> .....	22
Mantenimiento de los organismos y obtención de muestras .....	22
Identificación taxonómica de las anémonas recolectadas en Tecolutla, Veracruz .....	22
Descripción tisular de la anémona <i>Bunodosoma cavernatum</i> .....	24
Evaluación de biomarcadores de exposición .....	26
Índice de vulnerabilidad de la anémona <i>Bunodosoma cavernatum</i> .....	30
<i>Conclusiones</i> .....	46
<i>Referencias</i> .....	47
<i>Glosario 1</i> .....	65

## Índice de figuras

Figura 1. Sinergia entre los parámetros de vulnerabilidad. ....	2
Figura 2. Aspecto externo de <i>Bunodosoma cavernatum</i> . ....	4
Figura 3. Respuestas tisulares del Coral <i>Stylophora pistillata</i> . ....	5
Figura 4. Mapa de Tecolutla, Veracruz. ....	13
Figura 5. Características generales de <i>Bunodosoma cavernatum</i> . ....	22
Figura 6. Caracterización tisular de la parte oral, columna y disco pedio de la anémona. ...	25
Figura 7. Estructura tisular y diferenciación mediante técnicas especiales. ....	26
Figura 8. Inmunorreacción positiva de los marcadores CYP, proteínas HSP70 y Metalotioneínas (MTs) en diferentes tejidos de la anémona <i>Bunodosoma cavernatum</i> . ....	28

## Índice de tablas

Tabla 1. Características biológicas que estiman la sensibilidad de una especie.....	20
Tabla 2. Caracteres morfológicos que se asocian a la anémona.....	23
Tabla 3. Presencia de biomarcadores (inmunoreacción) en las biopsias obtenidas de la anémona <i>B. cavernatum</i> a las 8, 24, 48 , y 72 h. ....	29
Tabla 4. Valores asignados a los biomarcadores de exposición para calcular el índice inmunohistoquímico. ....	29
Tabla 5. Valores asignados a la características biológicas de <i>B. cavernatum</i> para obtener el parámetro de sensibilidad. ....	31
Tabla 6. Valor asignado al parámetro de capacidad adaptativa de <i>B. cavernatum</i> . ....	31
Tabla 7. Valores asignados a los parámetros de vulnerabilidad para construir el índice de vulnerabilidad. ....	32

## Resumen

Las zonas costeras de México poseen alto valor económico, sociopolítico y ecológico, y encuentran amenazadas por el cambio climático y la actividad antropogénica. Debido a esto, es necesario generar estudios de vulnerabilidad para estimar el impacto de estos factores en los organismos que habitan en ellas. El estudio de la vulnerabilidad de cualquier organismo depende del análisis de los parámetros de exposición, sensibilidad y capacidad adaptativa a través de procesos experimentales, teóricos o en combinación de ambos. En este trabajo, se propone la evaluación de la vulnerabilidad de la anémona *Bunodosoma cavernatum* a partir de la valoración de indicadores experimentales de exposición (respuestas fisiológicas y bioquímicas) e indicadores teóricos de exposición, sensibilidad y capacidad adaptativa ante el estrés ambiental y cambio climático. La identificación taxonómica de las anémonas se realizó con claves taxonómicas específicas. La caracterización tisular se hizo con las tinciones Hematoxilina-Eosina y Tricrómica de Mallory. El indicador experimental de exposición fue evaluado experimentalmente utilizando respuestas fisiológicas y bioquímicas con los siguientes biomarcadores de exposición: citocromo P450 (CYP), la proteína de choque térmico (HSP70), y metalotioneínas (MTs) que fueron utilizados para obtener un índice inmunohistoquímico. También se usó el aumento de temperatura (2 °C) como indicador teórico de exposición. La sensibilidad se evaluó con la dependencia del hábitat, interacciones interespecíficas, dependencia de desencadenantes ambientales, umbral ambiental y endemismo. Por último, la capacidad adaptativa fue evaluada con la limitación de dispersión de la especie. Los parámetros de vulnerabilidad fueron categorizados con valores numéricos del 1 al 3 (baja a alta vulnerabilidad). Dichos valores numéricos fueron promediados para obtener un índice vulnerabilidad final. Los datos morfofisiológicos indicaron que la especie empleada en este estudio es *Bunodosoma cavernatum*. El análisis tisular permitió caracterizar el tejido muscular y epitelial acompañado de cnidocitos, mesoglea y la presencia de fibras de colágeno. El parámetro de exposición tuvo un valor de 2, esto indica que *B. cavernatum* se encuentra dentro la categoría de exposición moderada. Los indicadores teóricos de sensibilidad presentan valor de 1, lo que indica baja sensibilidad. La capacidad adaptativa presentó un valor de 3, lo que colocó a la anémona en categoría de baja adaptación. El índice de vulnerabilidad calculado a partir de los parámetros indicaron que *B. cavernatum* presentó vulnerabilidad ambiental moderada (2). La integración de las respuestas fisiológicas y bioquímicas con indicadores teóricos, es una alternativa valiosa para la evaluación y seguimiento de los ecosistemas amenazados por la actividad antropogénica y el cambio climático.

**Palabras clave:** *Bunodosoma cavernatum*, cambio climático, estrés ambiental, inmunohistoquímica, vulnerabilidad.

## Abstract

The coastal areas of Mexico have high economic, sociopolitical, and ecological value, and are threatened by climate change and anthropogenic activity. Due to this, it's necessary to generate vulnerability studies to estimate the impact of these factors on the organisms that inhabit them. The study of the vulnerability of any organism depends on the analysis of the parameters of exposure, sensitivity and adaptive capacity through experimental, theoretical processes or a combination of both. In this work, the evaluation of the vulnerability in the sea anemone *Bunodosoma cavernatum* is proposed based on the evaluation of experimental indicators of exposure (physiological and biochemical responses) and theoretical indicators of exposure, sensitivity and adaptive capacity to environmental stress and climate change. The taxonomic identification of the anemones was carried out with specific taxonomic keys. Tissue characterization was performed with Hematoxylin-Eosin and Mallory's trichrome stains. The experimental indicator of exposure was experimentally evaluated using physiological and biochemical responses with the following biomarkers of exposure: cytochrome P450 (CYP), heat shock protein (HSP70), and metallothioneins (MTs) that were used to obtain an immunohistochemical index. Temperature increase (2°C) was also used as a theoretical indicator of exposure. Sensitivity was assessed with habitat dependence, interspecific interactions, environmental trigger dependence, environmental threshold, and endemism. Finally, adaptive capacity was assessed with species dispersal limitation. Vulnerability parameters were categorized by assigning numerical values from 1 to 3 (low to high vulnerability). These numerical values were averaged to obtain a final vulnerability index. Morphophysiological data indicated that the species used in this study is *Bunodosoma cavernatum*. Tissue analysis allowed to characterize the muscular and epithelial tissue accompanied by cnidocytes, mesoglea and the presence of collagen fibers. The exposure parameter had a value of 2, this indicates that *B. cavernatum* is in the category of moderate exposure. The theoretical sensitivity indicators have a value of 1, which stated low sensitivity. The adaptive capacity presented a value of 3, which placed the anemone in a category of low adaptation. The vulnerability index calculated from the parameters indicated that *B. cavernatum* presented moderate environmental vulnerability (2). The integration of physiological and biochemical responses with theoretical indicators is a valuable alternative for the evaluation and monitoring of ecosystems threatened by anthropogenic activity and climate change.

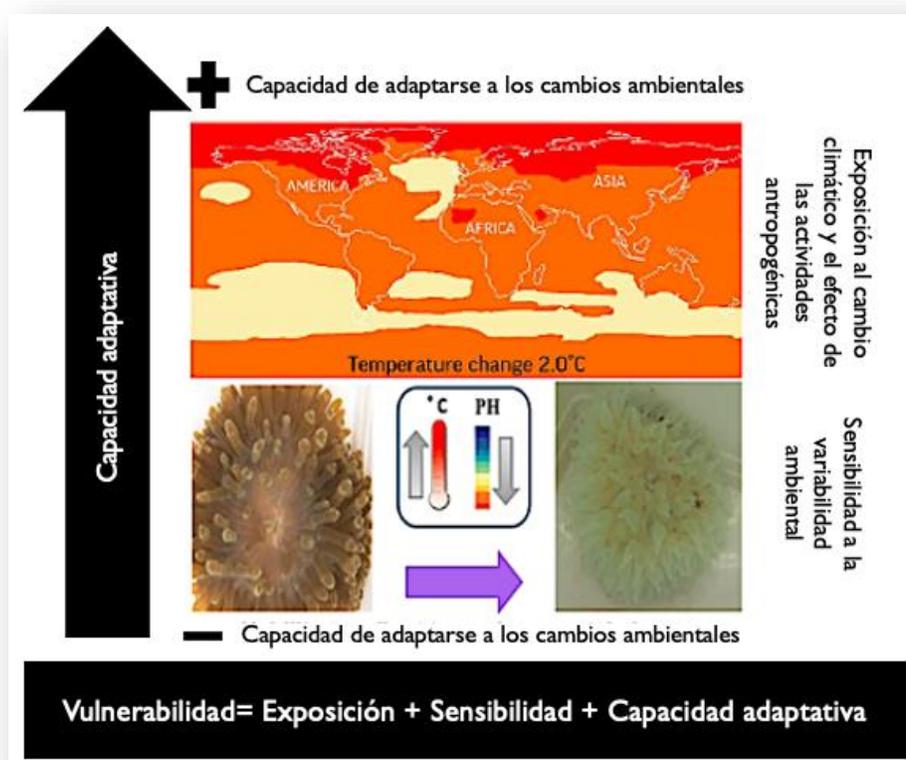
**Keywords:** *Bunodosoma cavernatum*, climate change, environmental stress, immunohistochemistry, vulnerability.

## **Introducción**

Existen cinco presiones principales sobre la biodiversidad; la pérdida y degradación del hábitat, la contaminación, la sobreexplotación (uso insostenible), las especies exóticas invasoras y el cambio climático (Berry et al., 2013). El cambio climático es la amenaza directa más significativa para la mayoría de las especies acuáticas, ya que produce el calentamiento y acidificación de los océanos, y eventualmente la pérdida de ecosistemas como los arrecifes de coral (Wolff et al., 2018). Éstos, se caracterizan por la presencia de un grupo de animales conocidos como cnidarios, asociados a sistemas altamente vulnerables a una amplia gama de estresores derivados de la actividad antropogénica y el cambio climático (Hoegh-Guldberg et al., 2017; Van Hooidonk et al., 2016). A medida que continúa el cambio climático se proyectan mayores impactos, mientras que las respuestas adaptativas de los ecosistemas y las especies pueden retrasarse. Por lo tanto, es necesario identificar hasta qué punto puede aumentar la vulnerabilidad de las especies o de los ecosistemas (Berry et al., 2013).

El Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (IPCC) (2014) define la vulnerabilidad como “la predisposición de una especie a verse afectada negativamente”. Aunque actualmente no existe un consenso en la literatura científica con respecto a la definición de "vulnerabilidad de la especie", generalmente se acepta que está en función de factores tanto intrínsecos como extrínsecos. Para la evaluación de la vulnerabilidad a menudo se consideran los siguientes parámetros: sensibilidad, exposición y la capacidad adaptativa (Foden et al., 2013; Williams et al., 2008). La sensibilidad se define como el grado en que una especie se ve afectada adversamente por cambios en el ambiente, mientras que, la exposición es la fase en la cual un sistema u organismo se encuentra en relación o contacto

con fuentes de estrés o presiones diferentes, mientras que, la capacidad adaptativa se refiere al potencial, capacidad o habilidad de un sistema para ajustarse a satisfactoriamente a los cambios climáticos (Ayeni, 2018; Dagnino et al., 2008; Wong et al., 2014) (figura 1). Los parámetros de vulnerabilidad (sensibilidad, exposición y capacidad adaptativa) utilizan diferentes criterios y enfoques divergentes para identificar los efectos derivados del estrés ambiental (Foden et al., 2013; Pacifici et al., 2015; Schloss et al., 2012).

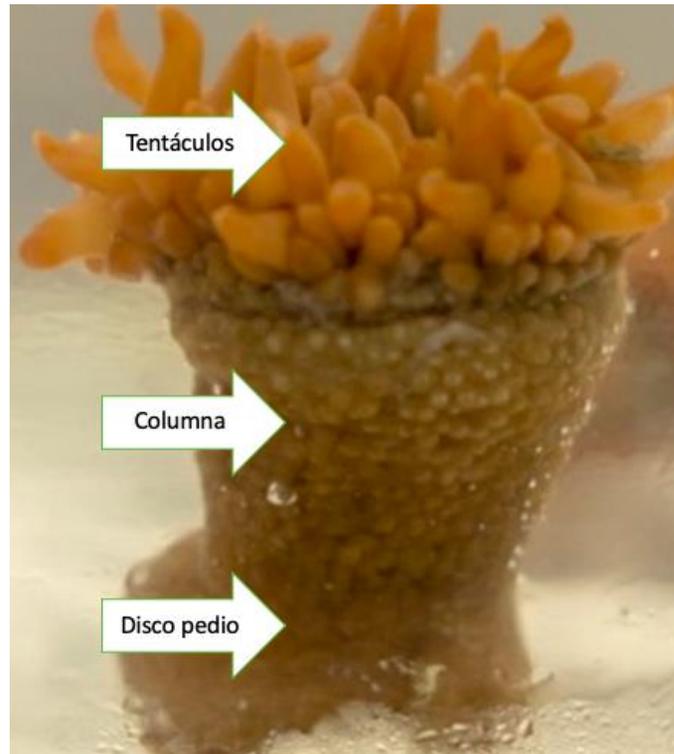


**Figura 1. Sinergia entre los parámetros de vulnerabilidad.** Modificada de Farag et al., (2018). Adaptada por Valdez-Peralta et al., (2021).

El estrés ambiental se define como la suma de todas las respuestas fisiológicas que ocurren cuando los organismos intentan establecer o mantener la homeóstasis, debido a la modificación de las condiciones ambientales óptimas de las especies o por la exposición a

contaminantes (Auro-de Ocampo & Ocampo-Camberos, 1999; Stevenson, 1996). Para el seguimiento de los cambios que produce el estrés ambiental se han propuesto organismos bioindicadores. Éstos, son propios o comunes de un medio ambiente, cuantifican la magnitud del estrés, las características del hábitat y el grado de exposición al estresor o el grado de respuesta ecológica a la exposición. El uso de bioindicadores permite una visión integral y retrospectiva de las cualidades del medio en el que se desarrollan los organismos acuáticos. Al seleccionar un bioindicador se deben tomar en cuenta, entre otras, las siguientes características: su relevancia biológica, relevancia social, sensibilidad a estresores, y su amplitud de respuesta a estresores y sitios (Van Hassel & Farris, 2006). Deben ser sensibles a los cambios que en su medio se presenten y ser capaces de ofrecer información sobre éstos, mismos que se relacionan y traducen directamente en su estructura o fisiología (Capó, 2007). Las anémonas son una nueva alternativa como organismo bioindicador para evaluar el efecto del estrés ambiental (Ellison et al., 2017; Miller et al., 2007). Las anémonas pertenecen al Phylum Cnidaria, y viven en sistemas generalmente asociados a arrecifes y aguas con características de transparencia y alta calidad (Petralia et al., 2014) (figura 2). Los cnidarios, se caracterizan por tener células urticantes llamadas cnidocitos, los cuales segregan toxinas, como las actinoporinas, citolisinas y hemolisinas (Madio et al., 2019). Las anémonas se han propuesto como organismos bioindicadores debido a su baja movilidad y capacidad de tolerancia al estrés (Vitale et al., 2020). Existen estudios donde se ha evaluado la estructura tisular y el efecto de variables fisicoquímicas con el uso de diversas ómicas empleando lotes de 5 a 12 organismos (Ellison et al., 2017; Gadelha et al., 2013; Gadelha et al., 2017; Hillyer et al., 2016). A pesar de existir evidencias del efecto del cambio climático en los cnidarios, la información acerca de los procesos fisiológicos, celulares y sus cambios derivados de la exposición a contaminantes y estrés ambiental es aun carente (Hillyer et al.,

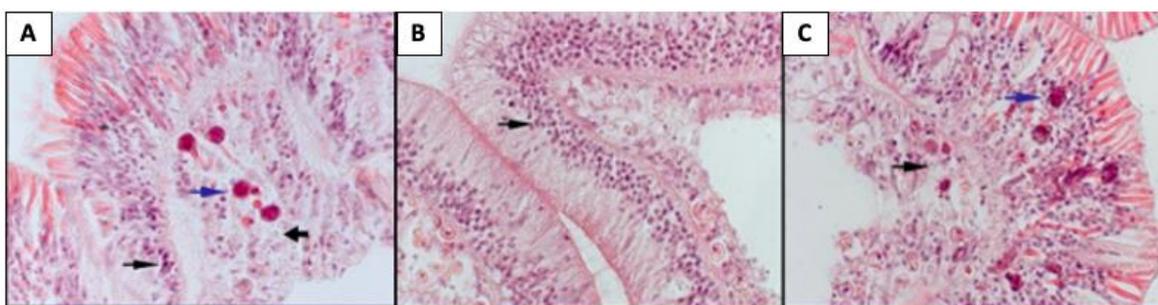
2016; McFall-Ngai et al., 2013; Miller et al., 2007). En los organismos biomarcadores, el estrés ambiental es evaluado de distintas maneras y enfoques, entre los que destacan las respuestas fisiológicas y bioquímicas (Boscolo Papo et al., 2014; Jerónimo-Juárez et al., 2020).



**Figura 2.** Aspecto externo de la anémona *Bunodosoma cavernatum*.

El estrés ambiental puede inducir cambios fisiológicos y bioquímicos en los organismos, afectando su salud. Debido a esto, se han propuesto modelos biológicos denominados biomarcadores que evalúan el efecto del estrés ambiental en la salud de los organismos (Frag et al., 2018; Jerónimo-Juárez et al., 2020; Marigómez et al., 2017). Los estudios de biomonitoring han sugerido evaluar biomarcadores que den cuenta de las respuestas biológicas asociadas al estrés ambiental, los biomarcadores pueden ser de exposición, efecto o sensibilidad (Forouhar-Vajargah *et al.*, 2019). Dentro de los biomarcadores propuestos, se encuentra la histopatología que permite caracterizar cambios tisulares en órganos y tejidos

blanco para evaluar los efectos del estrés ambiental. El análisis histopatológico permite estimar la exposición de los organismos, al evaluar las alteraciones tisulares derivadas del estrés ambiental, independiente de la variable de exposición o contaminante (Alfonso et al., 2020; Freschet et al., 2018; González-Orenga et al., 2020; Minkina et al., 2021; Marigómez et al., 2017; Forouhar-Vajargah et al., 2019; Nath et al., 2019; Lacroix et al., 2017). Los cnidarios presentan diversos tipos de respuestas tisulares que responden ante factores de estrés ambiental, y también se cree que hay varios tipos de respuestas aún por descubrir (Parisi et al., 2020). Se han realizado varios bioensayos con cnidarios donde se han observado las respuestas tisulares de estos organismos ante diversas fuentes de estrés como lo son: cambios de temperatura y contaminación por metales pesados (Downs et al., 2009; Dunn et al., 2002; Gadelha et al., 2013; Gadelha et al., 2013). Algunas de las respuestas tisulares reportadas son: hiper-eosinofilia, neoplasia, necrosis, picnosis, pérdida de la arquitectura celular, vacuolización generalizada, adelgazamiento de epitelios y citoplasma condensado, algunas de estas respuestas pueden ser observadas en la figura 3. Estas respuestas tisulares pueden ser reversibles o permanentes (glosario 1).



**Figura 3. Respuestas tisulares del Coral *Stylophora pistillata*.** A) La flecha azul indica necrosis celular en la epidermis y las flechas negras apuntan a células que se desintegran, como se indica por la hiper-eosinofilia. B) La flecha indica que la degradación celular de los núcleos redondeados es evidente por el aumento de la vacuolización. (C) Pérdida de arquitectura de las células gastrodémicas. La flecha negra denota picnosis. Tomada de Downs et al., (2009).

El estudio de respuestas fisiológicas y bioquímicas considera la activación o inhibición de distintos mecanismos celulares de autorregulación (Ogawa, 2014; Sarshad et al., 2021). Uno de los mecanismos celulares de autorregulación más importantes es la expresión de proteínas de estrés debido a que reflejan la exposición a diferentes componentes tóxicos, y sus efectos en los organismos vivos. Entre las proteínas asociadas al estrés están el citocromo P450 (CYP, por su abreviatura en inglés), las proteínas de choque térmico (HSP), y las metalotioneínas (MTs) (Boscolo Papo et al., 2014; Ellison et al., 2017; Johnstone et al., 2019; Rumahlatu et al., 2013). En anémonas, se ha estudiado el rol de la proteína CYP en la inducción de la actividad oxidasa de función mixta para evaluar los efectos del benzopireno (BAP) (Gómez-Gutiérrez & Guerra-Rivas, 2010). Por otro lado, el rol de la proteína HSP70 se ha estudiado en anémonas en condiciones extremas de salinidad, cambios de temperatura, pérdida de simbiosis y condiciones variantes de oxigenación (Dunn et al., 2004; Dunn et al., 2002; Ellison et al., 2017; Snyder & Rossi, 2004). También se ha evaluado la expresión de las metalotioneínas ante la presencia de metales pesados como el cadmio (Huang & Chen, 2007). La integración de respuestas fisiológicas y bioquímicas de un organismo con indicadores teóricos de referencia (atributos biológicos de referencia) como: la movilidad, la dependencia del hábitat, las interacciones interespecíficas, entre otras, permite estimar en diferentes niveles de organización biológica la salud del ecosistema y eventualmente su vulnerabilidad. Existen diferentes metodologías para el estudio de la vulnerabilidad, en algunas se considera la evaluación de indicadores teóricos, experimentales o una mezcla de ambos. Algunos de los indicadores más usados son: límites de tolerancia fisiológica por especie, tasa/capacidad de dispersión, cambios proyectados en hábitats o áreas climáticamente adecuadas, asociación con hábitats sensibles/restringidos, diversidad genética, tamaño de la población y migración (Berry et al., 2013). La evaluación de los

indicadores se puede utilizar para obtener puntajes, categorías o índices, que a menudo son más fáciles de interpretar y utilizar por los científicos y tomadores de decisión para el cuidado ambiental, permitiéndoles identificar especies en riesgo dentro de áreas de interés biológico (áreas naturales protegidas, reservas de la biosfera, etc.) (IUCN, 2019; Pacifici et al., 2015). Existen diversas metodologías semi-cuantitativas para evaluar las áreas de interés biológico, entre los que destacan la asignación de escalas colorimétricas y rangos numéricos (Cyrielle et al., 2020; Pacifici et al., 2015). Las escalas numéricas y colorimétricas han sido usadas para estimar la salud y vulnerabilidad de organismos, y sistemas acuáticos ante el cambio climático y estrés ambiental. Además, ofrecen la ventaja de ser de fácil comprensión para el público en general quienes identifican el riesgo o peligros por colores (rojo, amarillo o verde) o escalas numéricas relativamente sencillas (rangos de 1 a 10) (Galloway et al., 2007; Jerónimo-Juárez et al., 2020; Matadamas-Guzman et al., 2019; Ramírez-Trejo et al., 2019; Wolff et al., 2018).

Estimar la vulnerabilidad de las especies permite asociar parámetros teóricos y experimentales que reflejen el impacto antropogénico y factores globales de cambio en el sitio de estudio, coadyuvando a la toma de medidas de protección, remediación y legislación. Los estudios de vulnerabilidad constituyen herramientas que facilitan la integración de indicadores y parámetros de alta relevancia para el uso y regulación de zonas costeras. Las zonas costeras de México poseen alto valor económico, sociopolítico y ecológico. El desarrollo urbano, la falta de oportunidades de empleo y bienestar en las comunidades rurales se encuentran entre los más grandes problemas en la evaluación del riesgo y vulnerabilidad de las zonas costeras de México, debido a que propician polos de atracción y aceleran procesos de migración hacia los litorales lo cual modifica las variantes de estudio constantemente (Rivera-Arriaga, 2017). La población que migra hacia los litorales se

encuentra en aumento constante, lo cual afecta las zonas costeras de varias maneras, incluida la carga de nutrientes, la contaminación y la alteración del hábitat. Cada uno de estos efectos tienen consecuencias sobre los ecosistemas costeros, sobre la salud, y el bienestar económico de las poblaciones humanas que viven cerca de la costa (Solow, 2016). La zona costera de Tecolutla se encuentra localizada en la región norte de Veracruz, la cual ha sido categorizada como una de las tres regiones vulnerables del Golfo de México (Rivera-Arriaga, 2017). Específicamente en Tecolutla, Veracruz hay escasos reportes sobre la riqueza biológica y el estado de salud de los organismos acuáticos y no existe reporte sobre la vulnerabilidad de los organismos marinos del sistema. Así mismo, es una zona descuidada y desprotegida en materia de legislación ambiental y estudios de protección a los recursos acuáticos (Bonfil et al., 2021; Jerónimo-Juárez et al., 2020; Ramírez-Trejo et al., 2019; Rivera-Arriaga, 2017). Conocer el estatus de vulnerabilidad de los organismos en vida silvestre que tienen las zonas costeras mexicanas, permite obtener información sobre el estado de salud del ecosistema que facilita la toma de decisiones en materia de legislación, y remediación ambiental.

## **Justificación**

Las zonas costeras de México poseen alto valor económico, sociopolítico y ecológico, y algunas están categorizadas como de alta vulnerabilidad, tal es el caso de la zona Norte del estado de Veracruz. Debido a esto, es necesario realizar estudios que ayuden a medir el impacto del cambio climático y la actividad antropogénica en los organismos acuáticos de Tecolutla, Veracruz. En los programas de biomonitoreo se evalúan diferentes parámetros a través del uso de biomarcadores de exposición, efecto y sensibilidad, entre ellos están: valores morfométricos, aspectos macroscópicos, respuestas enzimáticas, evaluaciones tisulares y celulares, entre otros. Sin embargo, derivado de los efectos provocados por el cambio climático, la evaluación de la contaminación y estrés ambiental a través del biomonitoreo requiere sumar factores de vulnerabilidad que permitan integrar respuestas a diferentes niveles de organización biológica para establecer el potencial daño a corto, medio y largo plazo de una especie. La integración de respuestas fisiológicas y bioquímicas, y características biológicas permiten establecer valores de referencia para establecer una categoría de vulnerabilidad de una especie, y posibilita tomar decisiones en el establecimiento de planes de protección y manejo del organismo. Además, el grado de vulnerabilidad de una especie, puede utilizarse en combinación con otros índices biológicos, económicos y sociales para establecer la salud del sistema acuático, permitiendo establecer criterios de coordinación y participación de tomadores de decisiones sobre el acceso, conservación y legislación de los recursos acuáticos. En consecuencia, este trabajo busca estimar la vulnerabilidad de la anémona *Bunodosoma cavernatum* de Tecolutla, Veracruz y generar conocimiento que permita la conservación de la especie y el sistema.

## **Pregunta de investigación**

¿La integración de respuestas fisiológicas y bioquímicas como indicadores de exposición combinadas con indicadores teóricos de exposición, sensibilidad y capacidad adaptativa permitirá evaluar la vulnerabilidad de la anémona *Bunodosoma cavernatum* de Tecolutla, Veracruz?

## **Hipótesis**

Las respuestas fisiológicas y bioquímicas permiten estimar el efecto del estrés ambiental como parámetro de exposición, estas podrán asociarse con parámetros teóricos de exposición, sensibilidad y capacidad adaptativa para establecer la categoría de vulnerabilidad de la especie y eventualmente del sistema.

## Objetivos

### Objetivo general

Establecer la categoría de vulnerabilidad de la anémona *Bunodosoma cavernatum* de Tecolutla, Veracruz a través de la evaluación de indicadores experimentales (respuestas fisiológicas y bioquímicas) de exposición, integrados con indicadores teóricos de exposición, sensibilidad, y capacidad adaptativa.

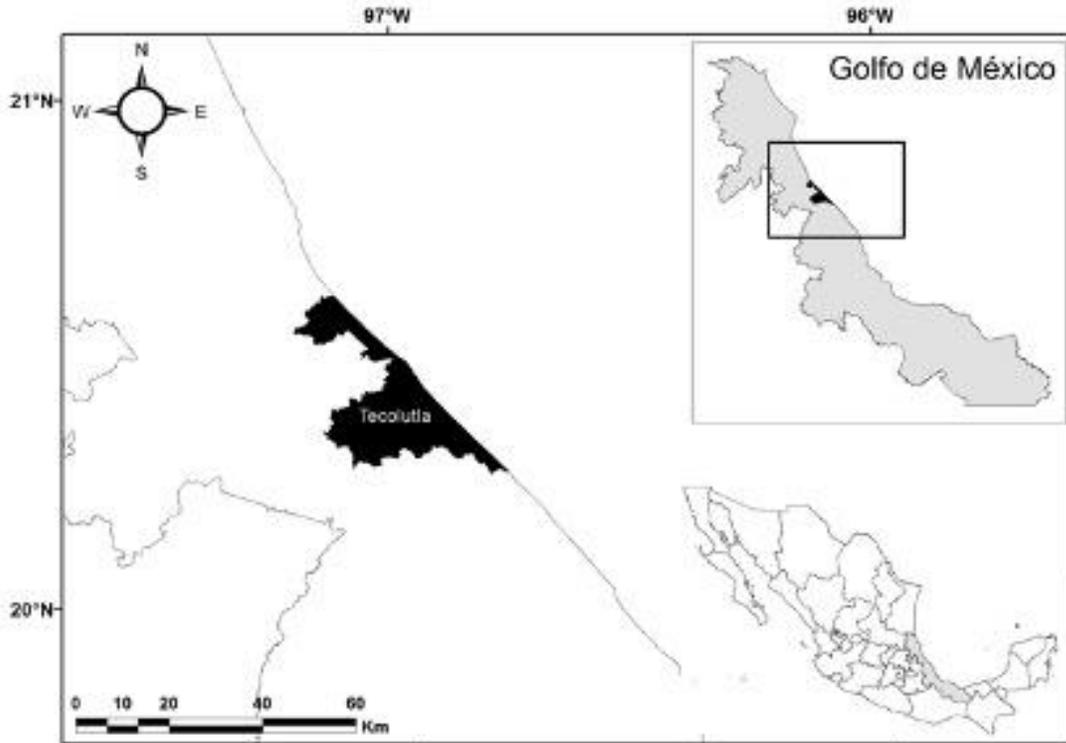
### Objetivos particulares

- Mantener a la anémona en condiciones controladas para realizar la descripción morfológica.
- Esclarecer la identidad taxonómica de la anémona con el fin de tener certeza de la especie del modelo experimental.
- Caracterizar a nivel tisular de tres regiones características de la anémona (tentáculos, columna y discopodio).
- Realizar la identificación de componentes celulares de la anémona a través del análisis histoquímico.
- Analizar mediante biomarcadores de exposición inmunohistoquímicos las respuestas fisiológicas y bioquímicas.
- Realizar una matriz de evidencias experimentales-teóricas para generar un índice de la vulnerabilidad de la especie.

## **Materiales y métodos**

### **Área de estudio**

Tecolutla es un municipio que se encuentra en la zona norte del estado de Veracruz, la cual ha sido categorizada como zona vulnerable (Rivera-Arriaga, 2017). Colinda al norte con Papantla, al sur con los municipios de Martínez de la Torre y San Rafael, al oeste con Gutiérrez Zamora y al este con el Golfo de México. El estudio se realizó en la zona conocida como la escollera la cual se encuentra entre los paralelos 20° 48' 02" N y -97° 01' 18" O (figura 4). Su actividad principal es la agricultura, pero también destaca su participación en la ganadería, pesca y turismo (López-Portillo et al., 2009). Si bien es una zona de alta riqueza biológica, no se cuenta con suficientes estudios sobre el tipo de fauna bentónica o sobre el estado de salud actual que guardan los organismos en esa zona. El Golfo de México se encuentra en una zona de transición, por lo tanto, la variabilidad estacional es menos pronunciada que en la mitad tropical sur. Debido a esto, el clima se divide en estaciones secas y lluviosas. La temperatura media anual en la zona de arrecifes es de 26 ° C (Jordán–Dahlgren, 2004).



**Figura 4. Mapa de Tecolutla, Veracruz.**

### **Obtención de anémonas y manejo de muestra**

Se obtuvieron de la pesca incidental 14 anémonas (de 2 a 3 cm de longitud). Posteriormente, los animales fueron trasladados en un recipiente de 20 litros con aireación y flujo constante (bomba de agua marca Lomas® y una bomba de aire marca Aqua Subal®) al Centro de Investigación y Docencia para el Manejo Integral de Recursos Acuáticos (PIMVS-CIDMIRA) de la UAM-I. En el laboratorio, las anémonas se colocaron en acuarios de 70 L con agua marina con salinidad de 32 g/L (previamente preparada con sal marina marca Instant Ocean®). El acuario contó con accesorios para control de la calidad del agua (Skimmer marca Haqos 300® y filtro marca Boyu®) y temperatura (termostato marca Boyu®). Los parámetros de control y mantenimiento fueron: salinidad de 32 g/L, pH de  $7 \pm 1$  y temperatura de  $23 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1$  (Schmoyer, 2014). Las anémonas se aclimataron mediante el

método de goteo para igualar la salinidad y se alimentaron con una mezcla de fitoplancton y zooplancton comercial (marca Reef snow®) de aproximadamente 0.5 g cada 72 h. Se realizaron cambios parciales de agua cada semana y se controlaron los parámetros fisicoquímicos diariamente (Schmoyer, 2014).

Dos anémonas fueron elegidas al azar para identificar el método más efectivo de anestesia para el manejo de los organismos. Se analizaron dos métodos: 1) mediante la exposición a la mezcla de sales de MgCl<sub>2</sub> con cristales de mentol (marca Sigma-Aldrich®, número de catálogo M-8266, grado reactivo MQ200) y 2) con la reducción gradual de temperatura (Spano & Flores, 2013). Se tomaron los parámetros morfométricos de las anémonas anestesiadas con la reducción gradual de temperatura a través del método de Deserti et al., (2012), el cual sugiere cruzar dos diagonales perpendiculares en la superficie basal del organismo (disco pedio) y calcular el valor medio de las diagonales con base a la siguiente fórmula:

$$Media (cm) = \frac{d1 + d2}{2}$$

De cada anémona, se obtuvo el diámetro del disco oral, columna y disco pedio mediante un vernier (marca CALIPER® de precisión 0.02 mm). Finalmente, se identificaron las características morfológicas externas de las anémonas: apariencia, número y arreglo de tentáculos, así como la presencia y disposición de las verrugas en la columna con ayuda de un microscopio estereoscópico (marca MOTIC®, modelo SMZ-161).

### **Identificación taxonómica de la especie en estudio**

La identificación taxonómica de las anémonas se determinó a partir de la observación de caracteres morfológicos diagnósticos propuestos para identificar a las anémonas

(Häussermann, 2004). Los caracteres empleados en tentáculos fueron: apariencia, número y disposición en el disco oral. En cuanto a la columna se tomó en cuenta la presencia o ausencia de verrugas y en el caso de que estuvieran presentes se consideró la distribución de estas en la columna. Con el análisis de estos caracteres y con las claves propuestas por Fotheringham et al., (1975) y González-Muñoz et al., (2013), se determinó la especie de la anémona de Tecolutla, Veracruz.

## **Evaluación de respuestas fisiológicas y bioquímicas**

### **Preparación del tejido**

Para la caracterización histológica de la anémona y buscando evitar el sacrificio de los organismos se utilizaron biopsias de los tentáculos, columna y disco pedio. Estos fueron colocados en cassettes histológicos marca Simport® modelo Histossete I. Los tejidos fueron fijados en solución Bouin por una semana con recambios cada 48 horas (Spano & Flores, 2013). Transcurrido ese tiempo se deshidrataron, aclararon e infiltraron en un procesador de tejidos marca Leica® modelo TP1020. Los tejidos fueron embebidos en un medio de parafina marca Paraplast® de Leica Microsystems (Número de catálogo EM-400), mediante un centro de inclusión marca Leica® modelo EG1140-H dejándose solidificar en una placa enfriadora marca Leica® modelo EG1140-C. Los tejidos se cortaron a un nivel de 5 µm con dos réplicas cada una mediante un micrótopo rotatorio marca Microm® modelo HM3156, haciendo especial énfasis en el tentáculo, la columna y el disco pedio. Una vez recuperados los tejidos en los portaobjetos, estos se colocaron en una estufa de secado marca Felisa® modelo 131 a 60°C durante 1 h. Para cubrir los tejidos se utilizó una solución a base de xilol y resina sintética de montaje marca Golden Bell® al 50% dejándose secar en una estufa Felisa®

modelo 131 por un periodo de 24 h. Transcurrido ese tiempo, las muestras se tiñeron de la siguiente manera:

1. Técnica de rutina: Hematoxilina y Eosina por tiempos estandarizados (Lillie & Fullmer, 1976) con el fin de reconocer los tejidos que componen a la anémona.
2. Histoquímica: Con la técnica Tricrómica de Mallory con el fin de diferenciar entre tejido muscular, mesoglea y fibras colágenas (Davenport Jr. & Ball, 1979; Glass, 1947).

### **Análisis inmunohistoquímico de biomarcadores experimentales de exposición**

Para evaluar la exposición, se utilizaron biopsias incluidas en parafina de la anémona *B. cavernatum* de Tecolutla, Veracruz. Las biopsias fueron tomadas y preparadas previamente en un estudio de regeneración por Matadamas-Guzmán et al., (2019), a las 8, 24, 48 y 72 h y facilitadas para que en este trabajo se evaluaran biomarcadores de exposición a través de la técnica inmunohistoquímica. Los biomarcadores empleados son citocromo P450 (CYP), las proteínas HSP 70, y las metalotioneínas (MTs). Los cortes tisulares fueron sometidos a un procesamiento histológico donde se desparafinaron en xileno antes de la hidratación mediante una serie graduada de etanol. Para recuperar el antígeno inducido por calor, utilizamos un recuperador (Diva Decloaker 20x DV2005, Biocare Medical®) diluido 1:20 con agua destilada en una olla a presión eléctrica digital (modelo DC2002, Biocare Medical®) a 25 PSI y 125 °C durante 5 min. Las preparaciones tisulares se lavaron con Tris buffer salino (TBS) (tampón de lavado automático, 40X, Biocare Medical®) y luego se enfriaron progresivamente a temperatura ambiente durante 20 min. Las peroxidasa endógenas se neutralizaron incubando las preparaciones tisulares con el bloqueador (bloqueador de peroxidasa endógena PX968G, Biocare Medical®) durante 5 min a

temperatura ambiente en una cámara incubadora (modelo RMIQ105, Biocare Medical®), para evitar fluctuaciones naturales de temperatura. La solución de bloqueo en exceso se eliminó por lavado en TBS. Posteriormente, todas las incubaciones se realizaron a temperatura ambiente. Las secciones seriadas se incubaron durante 45 min con 100 µL de los anticuerpos primarios dentro de la cámara de la incubadora, con las siguientes particularidades por anticuerpo:

- Para el citocromo P450, utilizamos el anticuerpo monoclonal de ratón CYP1A2 [15E2] (No. de catálogo de Genetex®: GTX84638), dilución 1:50.
- Para la proteína HSP70, se aplicaron 100 µL del anticuerpo en una dilución 1:20 (Hsp70 [3A3] antibody Rabbit polyclonal antibody anti-human. Genetex®, No. de catálogo: GTX25439).
- Para Metalotioneínas, se aplicaron 100 µL del anticuerpo en una dilución 1:10 (Metallothionein antibody [UC1MT] antibody mouse monoclonal antibody anti-rabbit/Genetex®, No. de catálogo: GTX12228).

Después de lavar en TBS, las secciones se incubaron con un polímero (EnVision + System-HRP, Polímero marcado (ratón) K4000, Agilent Dako®) que contenía anticuerpo secundario y estreptavidina durante 45 min. Luego, teñimos las preparaciones tisulares con diaminobencidina (DAB), usando 1 mL de tampón de sustrato y 50 µL de cromógeno (Dako Liquid DAB + Substrate Chromogen System K3465, Agilent Dako®) durante 10 min. Los cortes histológicos se tiñeron por contraste con hematoxilina (hematoxilina de Harris, Biocare Medical®) durante 5 min. Posteriormente, fueron sumergidas en agua amoniacal al 0.1% para lograr el viraje en los colorantes, para después ser deshidratadas gradualmente. Las muestras se montaron con una solución de resina de xileno sintético al 50%.

## **Análisis morfológico y toma de Microfotografías**

Cada preparación histológica se observó con un microscopio óptico marca Carl Zeiss® Primo Star acoplado a una cámara marca Canon® modelo Power Shot G10 y a un ordenador marca Toshiba® modelo Satellite, se realizó un barrido en tres objetivos 10x, 40x y 100x y se observaron 50 campos por preparación histológica, tomándose fotografías de las regiones objetivo: tentáculos (tipo de tejido muscular y células especializadas) columna y disco pedido (tipo de tejido muscular). Para columna y discopedio se observó qué tipo de músculo está presente y se reconoció su disposición alrededor de la cavidad gastrovascular. Estas preparaciones fueron analizadas en el software Canon® Utilities Remote Capture DC versión 3.1.0.5. Las fotomicrografías obtenidas se editaron mediante el software Carl Zeiss® AxiVs 40V versión 4.8.0.0.

Para la técnica inmunohistoquímica todos los portaobjetos se observaron bajo un microscopio óptico (Zeiss®, PrimoStar 176045) acoplado a una cámara digital (Canon®, Powershot G10). El inmunomarcaje se consideró positivo cuando la intensidad de la tinción fue mayor que el fondo observado en el control negativo. La especificidad de la inmunotinción se verificó incubando las secciones con un tampón fosfato salino (PBS) en lugar del anticuerpo primario específico. Esta validación se realizó para todos los anticuerpos en cada tejido. Para evitar el secado, las preparaciones se mantuvieron en una solución tampón. El programa IHC Profiler se utilizó para asignar una puntuación automatizada a las imágenes IHC y descartar cualquier diagnóstico erróneo por tinción de fondo mediante el uso de un perfil de píxeles computarizado basado en la deconvolución del color a través del programa J Image® desarrollado en los Institutos Nacionales de Salud (NIH, RRID: SCR\_003070). La puntuación de densidad óptica IHC para cada zona se asigna de la

siguiente manera: 3 para la zona positiva alta, 2 para la zona positiva, 1 para la zona positiva baja y 0 para la zona negativa (Udawatte et al., 2020; Varghese et al., 2014).

### **Integración del índice de vulnerabilidad**

La vulnerabilidad fue evaluada con los tres parámetros: sensibilidad, exposición y capacidad adaptativa. Para estimar la vulnerabilidad de la anémona *Bunodosoma cavernatum* al estrés ambiental y cambio climático se realizó una matriz de evidencias experimentales-teóricas, la cual integró el resultado del indicador experimental de exposición (índice inmunohistoquímico), la interpretación del posible aumento de temperatura y las características biológicas de la anémona que podrían limitar su sobrevivencia. La puntuación de cada indicador teórico es determinada por el investigador con base a estudios previamente publicados sobre la especie.

### **Integración de los indicadores teóricos y experimentales del parámetro de exposición**

La exposición se estableció con el uso de biomarcadores de exposición a través del procesamiento histológico de biopsias de anémona de mar para obtener un índice inmunohistoquímico de tres marcadores de estrés ambiental (HSP70, MTs y CYP) para demostrar la relación con el medio ambiente y sus posibles contaminantes (Jerónimo-Juárez et al., 2020). Este parámetro se complementa con el empleo de la magnitud de la temperatura con base en la metodología sugerida por Berry et al. (2013) donde se establece un rango arbitrario de 2 °C como límite máximo tolerable para los ecosistemas según el informe del IPCC (2014). Para obtener el valor final se usó la siguiente ecuación:

$$Exposición = \frac{[Indicador\ experimental\ (Indice\ inmunohistoquímico: IH) + indicator\ teórico]}{N_{indicadores}}$$

## Parámetro de sensibilidad

Para estimar la sensibilidad, se utilizaron los criterios utilizados por Böhm et al., (2016), Carantoña & Hernández, (2017) y Foden et al., (2013) donde las especies son evaluadas según sus características biológicas conocidas, ya que éstas podrían limitar la supervivencia de estas especies. Estas características son: dependencia del hábitat, interacciones interespecíficas, dependencia de desencadenantes ambientales, umbral ambiental y endemismo (Tabla 1).

**Tabla 1. Características biológicas que estiman la sensibilidad de una especie.**

Indicador	Significado
Umbral ambiental	Aquellas especies con tolerancias fisiológicas estrechas y dependientes de condiciones ambientales específicas (regímenes de temperatura, pH del agua o niveles de oxígeno)
Dependencia del hábitat	Esta dependencia puede estar relacionada con: 1) Distribución restringida a hábitats susceptibles al cambio climático; 2) Alto grado de dependencia de un hábitat especializado; 3) Dependencia de un microhábitat particular.
Dependencia de desencadenantes ambientales	Aquellas especies que pueden sufrir modificaciones en sus respuestas biológicas relacionadas con el medio (migración, puesta de huevos, hibernación). Algunas señales como la precipitación y la temperatura (incluida su interacción y los efectos acumulados) se verán afectadas por el cambio en las condiciones ambientales.
Interacciones interespecíficas	Dependencia de interacciones entre especies (relación depredador-presa, simbiosis), que pueden verse afectadas por las interrupciones generadas por el cambio ambiental.
Endemismo	Especies con poblaciones reducidas y distribución limitada, aisladas o fragmentadas.

Para obtener el valor final del parámetro se usó la siguiente ecuación:

$$Sensibilidad = \frac{\Sigma(\text{valor de los indicadores})}{N_{\text{indicadores}}}$$

### **Parámetro de capacidad adaptativa**

La capacidad adaptativa se determinó a través de la limitación intrínseca de dispersión de la especie, es decir la movilidad. Debido a que las especies con bajo potencial de dispersión a largas distancias son propensas a tener una capacidad limitada de adaptación, ya que es poco probable que puedan moverse en respuesta a un ambiente cambiante (Foden et al., 2013).

### **Obtención del valor numérico de vulnerabilidad**

Cada uno de los parámetros de vulnerabilidad fue categorizado mediante la asignación de valores numéricos que van del 1 al 3 de acuerdo a su vulnerabilidad relacionada con el cambio climático y estrés ambiental. Los valores asignados para vulnerabilidad fueron: 1 para baja, 2 para moderada y 3 para alta. Finalmente, se utilizó un método analítico simple donde se sumaron y promediaron los valores obtenidos por parámetro para obtener un índice de vulnerabilidad final (Carantoña & Hernández, 2017).

$$Vulnerabilidad = \frac{Exposición + Sensibilidad + Capacidad\ adaptativa}{N_{\text{parámetros}}}$$

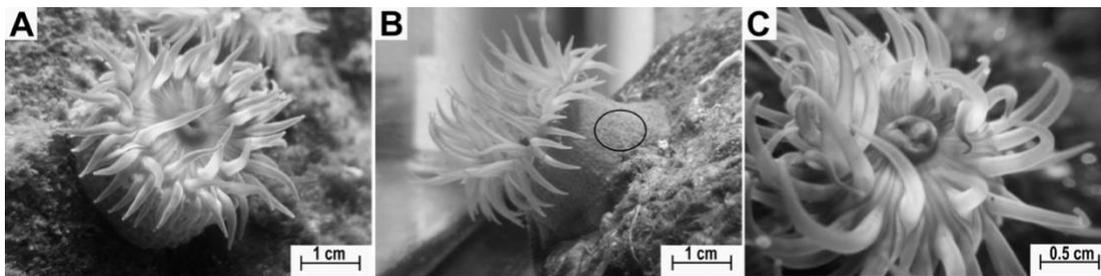
## Resultados

### Mantenimiento de los organismos y obtención de muestras

Utilizando los parámetros de confinamiento: salinidad de 32 g/L, pH de 7 y temperatura de 23 °C, no se presentó mortalidad durante el periodo de confinamiento, ni alteraciones en la morfología o comportamiento de los organismos. Con respecto al tipo de anestesia usada para el manejo de los organismos y la obtención de muestras, la reducción gradual de temperatura fue el adecuado. Con la reducción gradual de temperatura se conservó la morfología oral del organismo, así mismo la inhibición a los estímulos fue total. Por otro lado, se descartó el método de la mezcla de sales de MgCl<sub>2</sub> con cristales de mentol, ya que con esta técnica se observó la secreción de mucosidad excesiva, respuesta positiva ante estímulos externos y la pérdida de morfología oral.

### Identificación taxonómica de las anémonas recolectadas en Tecolutla, Veracruz

Las anémonas obtenidas en Tecolutla, Veracruz presentan tentáculos ordenados alrededor de la cavidad oral (Figura 5A). Por su morfología, los tentáculos se clasificaron como cónico-lisos (Figura 5C) y presentaron un color de marrón amarillento a rojizo.



**Figura 5. Características generales de *Bunodosoma cavernatum*.** A. Presenta cinco ciclos de tentáculos en el disco oral. B. En la columna (círculo) se observan hileras de verrugas. C. Los tentáculos presentan morfología cónica-lisa.

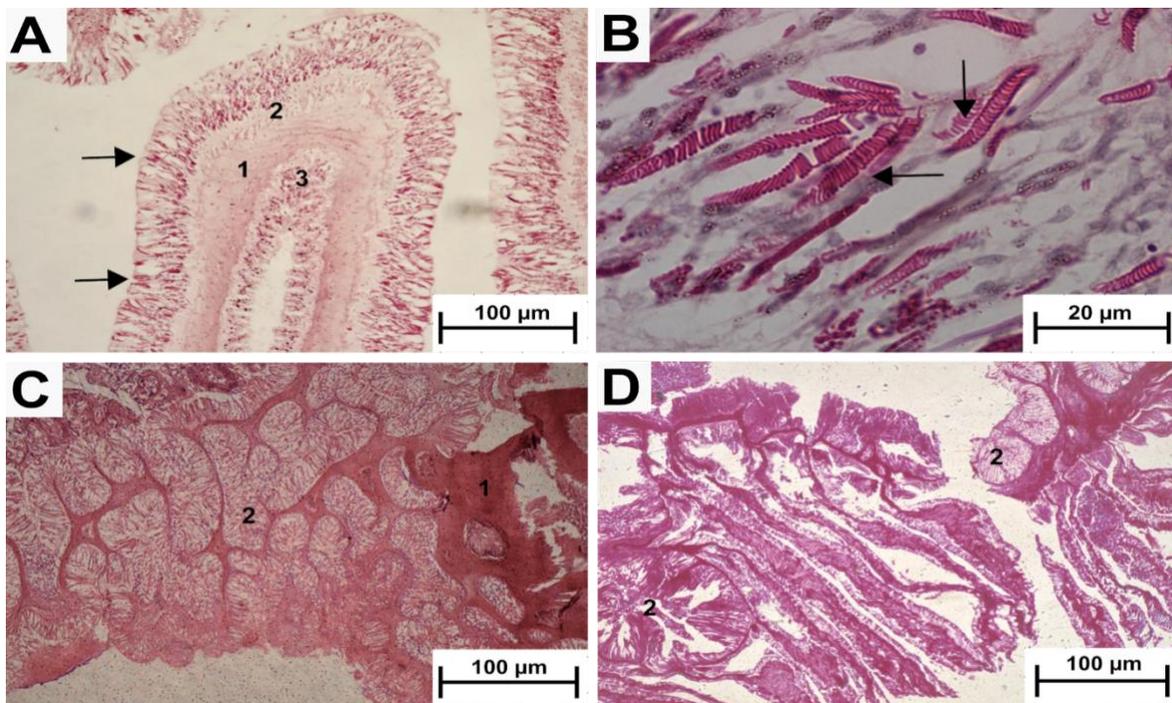
Por otro lado, en la columna se observan verrugas con contorno redondeado y dispuestas en hileras longitudinales (Figura 5B). En el disco pedio y columna se observaron de color marrón claro pasando por tonalidades naranjas, rojizas-amarillas y hasta de color verde olivo. Los parámetros morfométricos obtenidos fueron: de 20 a 38 mm de diámetro en el disco oral, una longitud de los tentáculos de entre 3 y 15 mm, diámetro de la columna de 15 a 17 mm y en el discopedio se observó un diámetro de 10 a 13 mm (Tabla 2). Estos fueron comparados con lo reportado por González-Muñoz et al. (2013) y se observan en la tabla 2. Los caracteres taxonómicos que se observaron en la anémona de Tecolutla, Veracruz, fueron: presencia de  $\approx 96$  tentáculos dispuestos en cinco coronas en la cavidad oral y presencia de verrugas dispuestas en 90 hileras longitudinales.

**Tabla 2. Caracteres morfológicos que se asocian a la anémona**

Carácter Morfológico	Parámetros morfométricos	
	<i>Bunodosoma cavernatum</i>	reportados por González-Muñoz et al. (2013)
Número de tentáculos	91-97	92
Número de ciclos de tentáculos	5	5
Número de hileras con verrugas en la columna	90	90
Diámetro disco oral	17-23 (mm)	13-22 (mm)
Diámetro columna	15-18 (mm)	15-18 (mm)
Diámetro del disco pedio	12 -20 (mm)	10-18 (mm)

### **Descripción tisular de la anémona *Bunodosoma cavernatum***

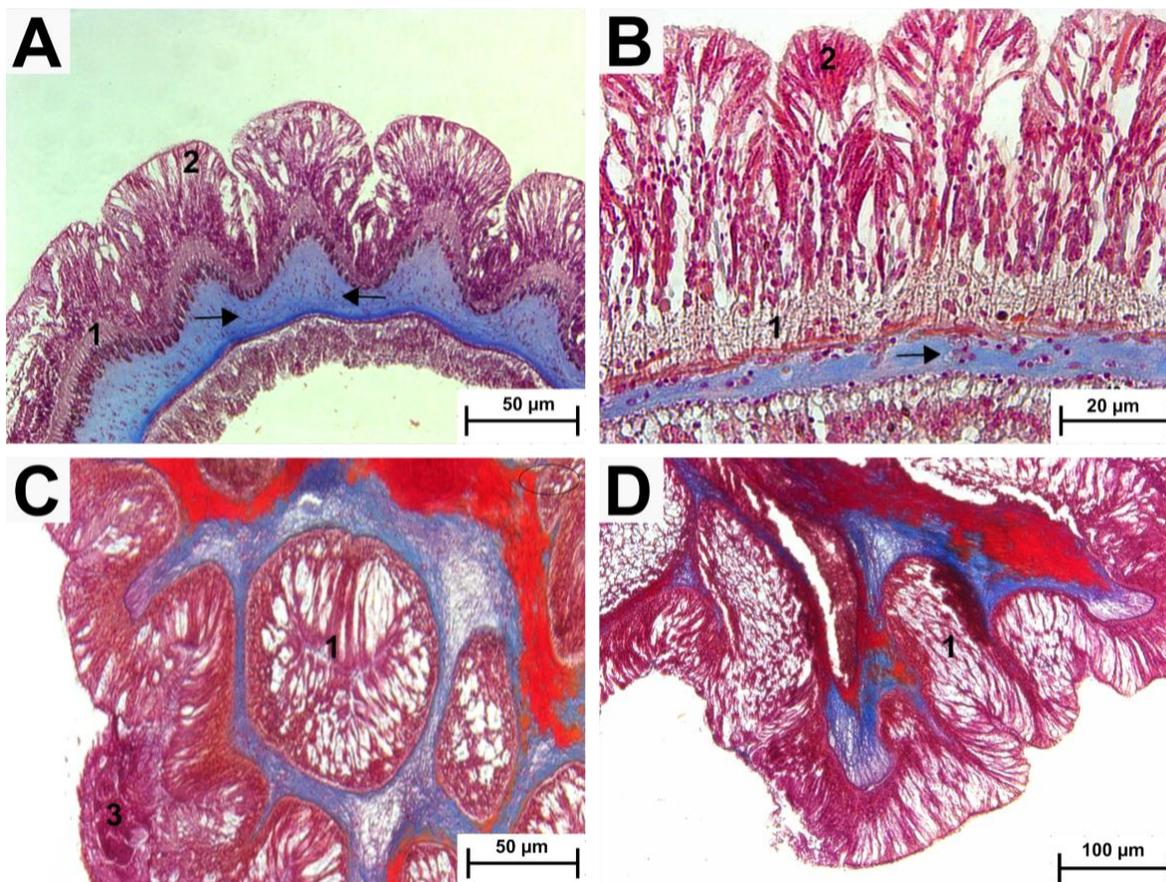
La caracterización histológica permitió observar los tejidos y células características que conforman el disco oral, tentáculos, columna y el disco pedio. En la zona oral se observó tejido muscular organizado en paquetes de fibras musculares longitudinales, estas fibras están relacionadas con la función del movimiento para la retracción de los tentáculos (figura 6A). En los tentáculos se observaron células especializadas como espirocistos y nematocistos (figura 6B). En la columna de la anémona se observaron fibras musculares longitudinales y parieto-basilar. La columna presenta además, músculos retractores relacionados con la contracción de la anémona (figura 6C). Finalmente, en el disco pedio se observaron fibras musculares longitudinales y basilares (figura 6D).



**Figura 6. Caracterización tisular de la parte oral, columna y disco pedio de la anémona.** A. Corte transversal de un tentáculo, se observa conformado por una capa externa de células especializadas (flechas), una mesoglea como tejido de soporte (1), tejido muscular para el movimiento de los cnidocitos (2) y una cubierta interna epitelial (3). B. Presencia de cnidocitos tipo espirocistos (flechas) en un tentáculo. C. La estructura semicompacta de la columna está formada por tejido muscular (2) que rodea en su totalidad a la mesoglea (1) que aísla a la cavidad gastrovascular, estos músculos se especializan en la retracción y en el soporte de la anémona. D. La estructura de soporte y fijación al sustrato de la anémona, el disco pedio, presenta tejidos musculares (2) que coadyuvan en el movimiento. Tinción H-E.

Por otro lado, la técnica histoquímica permitió observar los tejidos y la distribución del colágeno que conforman el disco oral, tentáculos, columna y el disco pedio. En la zona oral se observó tejido muscular organizado en paquetes de fibras musculares longitudinales sobre una cama de colágeno en la parte interna del tentáculo (Figura 7A). En los tentáculos se observaron células especializadas (cnidocitos) en la parte apical, con el colágeno dando soporte al músculo longitudinal, donde también se pueden observar zooxantelas (flecha) embebidas en las fibras de colágeno (Figura 7B). En la columna de la anémona se observaron fibras musculares longitudinales acompañadas de fibras de colágeno (Figura 7C). En el disco

pedio se observaron las fibras de colágeno acompañando a los paquetes musculares basales (Figura 7D).



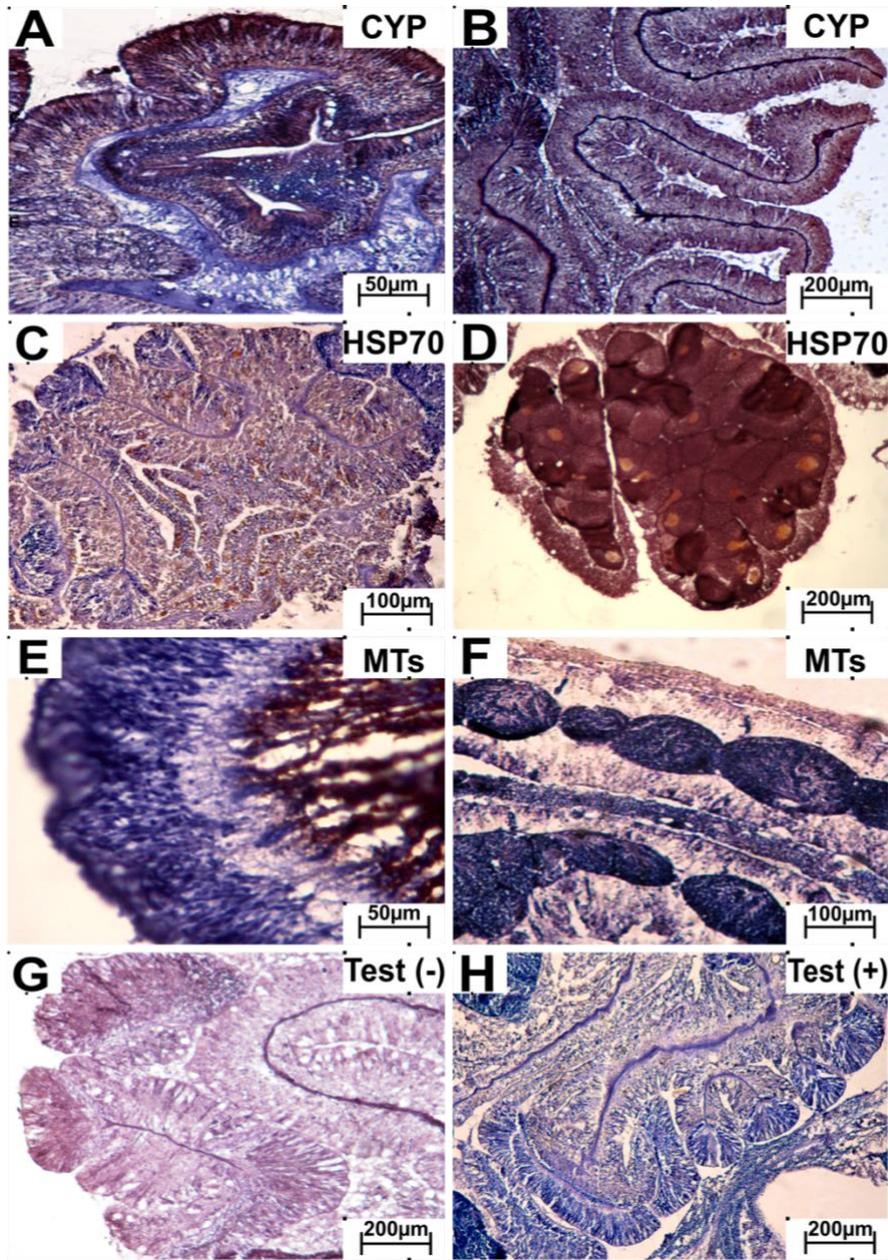
**Figura 7. Estructura tisular y diferenciación mediante técnicas especiales.** A y B) Corte longitudinal del tentáculo, se aprecia tejido muscular (1) que da soporte a los cnidocitos, estructuras especializadas de los cnidarios. Este tejido muscular descansa sobre una capa de fibras de colágena (azul), donde se pueden apreciar embebidas las zooxantelas (flechas). C) Acercamiento de la columna orientada hacia la epidermis, se aprecian tejido musculares (1) rodeados de fibras de colágena (azul) y tejido conectivo/mesoglea (rojo). Estas fibras dan soporte y retracción a la anémona. En la epidermis podemos observar una verruga (3) elemento característico de la especie. D) El disco pedio muestra tejidos musculares (1) a la periferia, en el centro concentra fibras de colágena (azul) y tejido conectivo/mesoglea (rojo) que dan soporte desde abajo a la cavidad gastrovascular. Tinción Tricrómica de Mallory.

### **Evaluación de biomarcadores de exposición**

Se observó inmunorreacción positiva de tres biomarcadores de exposición específicos en los mesenterios y folículos germinales (Tabla 3). Los resultados se describen a continuación:

- CYP: La inmunorreacción positiva del anticuerpo CYP se observó en el citoplasma de las células epiteliales del mesenterio (Figura 8A y 8B).
- HSP70: El marcador HSP70 se observó en el citoplasma y algunos núcleos epiteliales en los mesenterios y folículos germinales (Figura 8C y 8D).
- Metalotioneínas (MTs): La presencia inmunohistoquímica de MT se observó en el citoplasma del epitelio del mesenterio y en los folículos germinales (Figura 8E y 8F).

La contratinción e intensidad de reacción se comparó con tejidos de anémonas tratados como testigos positivos, donde fue evidente la inmunorreacción para los tres marcadores. En la figura 5H se muestra solo el testigo positivo para HSP70, sin embargo, los otros dos marcadores mostraron el mismo comportamiento.



**Figura 8. Inmunorreacción positiva de los marcadores CYP, proteínas HSP70 y Metalotioneínas (MTs) en diferentes tejidos de la anémona *Bunodosoma cavernatum*.** A) y B) Mesenterios que muestra inmunorreacción positiva para CYP en el citoplasma de las células epiteliales. C) Mesenterios que muestra la inmunorreacción en el epitelio en color marrón para el marcador de HSP70. D) Folículos germinales con positividad para HSP70 en la región epitelial. E) Mesenterio positivo para el marcador de MTs. F) Folículo germinal con inmunorreacción para el marcador de MTs. G. Sección del tracto digestivo empleado como control negativo en donde no hay inmunorreacción. H. Control positivo para el anticuerpo HSP70 con tinción marrón en el citoplasma de células epiteliales que indica la inmunorreacción. Todas las secciones fueron contrateñidas con Hematoxilina de Harris.

En la tabla 3 se muestra un resumen de la inmunorreacción que presentaron los tres marcadores de estrés ambiental analizados. De los tres marcadores empleados los que presentaron mayor positividad entre los tejidos fueron citocromo P450 a partir de las 8 horas en ambos tejidos con intensidad baja. Las proteínas HSP70 tuvieron positividad en folículos germinales a partir de las 8 h y en mesenterios a las 48 h. Mientras que en las metalotioneínas ambos tejidos fueron positivos a partir de las 48 h.

**Tabla 3. Presencia de biomarcadores (inmunorreacción) en las muestras obtenidas de la anemona *B. cavernatum* a las 8, 24, 48 , y 72 h.**

Órgano	Inmunomarcador	Inmunorreacción (+ o -)	Intensidad
Mesenterios	CYP	De 8 a 72 h	Baja positividad
	HSP70	De 48 a 72 h	
	MT	De 48 a 72 h	
Folículos germinales	CYP	De 8 a 72 h	Baja positividad
	HSP70	De 8 a 72 h	
	MT	De 48 a 72 h	

CYP - Citocromo P450  
HSP 70 – Proteínas de estrés térmico  
MTs – Metalotioneínas

Considerando la relación entre inmunorreacción y órgano se estableció un índice inmunohistoquímico (Tabla 4).

**Tabla 4. Valores asignados a los biomarcadores de exposición para calcular el índice inmunohistoquímico.**

Biomarcador	Presencia de inmunorreacción	Valor asignado a cada biomarcador
CYP	(+)	1
HSP70	(+)	1
MTs	(+)	1

**Índice inmunohistoquímico (IH) = 3**

CYP - Citocromo P450  
HSP 70 – Proteínas de estrés térmico  
MTs - Metalotioneínas  
(+) Reacción positiva

## **Índice de vulnerabilidad de la anémona *Bunodosoma cavernatum***

### **Parámetro de exposición**

#### **Indicador experimental**

El número medio de marcadores inmunohistoquímicos positivos observados en la anémona de mar a través del índice inmunohistoquímico (Tabla 4) colocan a la anémona con un valor de 3.

#### **Indicador teórico**

La temperatura promedio anual en la zona arrecifal de Veracruz es de 26 °C (Jordán Dahlgren, 2004). Por lo tanto, un aumento proyectado de 2 °C no representaría un problema importante para la anémona de mar (Gadelha et al., 2017). En consecuencia, se asignó 1 como valor.

### **Valor del parámetro de exposición**

Después de promediar los valores obtenidos de los indicadores experimental (3) y teórico (1), se obtuvo un valor de 2. En consecuencia, coloca a *B. cavernatum* con una exposición moderada.

### **Parámetro de sensibilidad**

*B. cavernatum* es una especie de amplio nicho (valor de 1) y distribución (valor de 0) (Fautin, 2013). Por otro lado, es fisiológicamente vulnerable a los cambios de temperatura, por lo que se le asigna un valor de 1 (Gadelha et al., 2017). Una misma temperatura puede desencadenar varios procesos, incluida la pérdida del simbionte. La simbiosis es la interacción más relevante en los cnidarios y puede verse afectada por el cambio climático y el estrés ambiental (valor 2) (Richier et al., 2006). Finalmente, *B. cavernatum* no depende mucho de los desencadenantes ambientales, excepto en algunos casos de la temperatura que sirve como

señal para la reproducción (Parisi et al., 2020). Estas respuestas colocan a *B. cavernatum* con baja sensibilidad (Tabla 5).

**Tabla 5. Valores asignados a la características biológicas de *B. cavernatum* para obtener el parámetro de sensibilidad.**

Indicador	Interpretación en <i>B. cavernatum</i>	Valor asignado	Valor de sensibilidad
Dependencia del hábitat	Especie con un amplio nicho	1	Baja sensibilidad (1)
Endemismo	Especie de amplia distribución	0	
Umbral ambiental	Las anémonas son vulnerables a la temperatura.	1	
Interacciones interespecíficas	Cuando la anémona de mar pierde el simbiote, hay un gasto energético significativo para mediar en sus respuestas bioquímicas.	2	
Dependencia de desencadenantes ambientales	A veces, la temperatura sirve como señal para la reproducción.	1	

### Parámetro de capacidad adaptativa

*B. cavernatum* es un animal semisésil, por lo que tiene muy poca movilidad. Por ello, se le asignó un valor de 3 porque casi no tendrá capacidad de adaptación (Tabla 6).

**Tabla 6. Valor asignado al parámetro de capacidad adaptativa de *B. cavernatum*.**

Indicador	Interpretación en <i>B. cavernatum</i>	Valor de capacidad adaptativa
Limitación intrínseca de la dispersión	Las anémonas son semisésiles	Baja capacidad adaptativa (3)

### Vulnerabilidad de la anémona *B. cavernatum*

De acuerdo a los parámetros utilizados la exposición fue moderada, la sensibilidad fue baja y la capacidad adaptativa (Tabla 7). Estos elementos permitieron determinar que la vulnerabilidad de la anémona *B. cavernatum* es moderada ante el estrés ambiental y cambio climático.

**Tabla 7. Valores asignados a los parámetros de vulnerabilidad para construir el índice de vulnerabilidad.**

Parámetro de vulnerabilidad	Indicador	Escala	Valor asignado	Vulnerabilidad anémoma
Exposición	Cambio de temperatura de 2°C (7)	Riesgo menor (1) Riesgo medio (2) Riesgo alto (3) Sin exposición (0)	1	Exposición moderada (2)
	Índice inmunohistoquímico	Un marcador positivo (1) Dos marcadores positivos (2) Tres marcadores positivos (3)	3	
Sensibilidad	Umbral ambiental	No presenta vulnerabilidad fisiológica (0) Baja vulnerabilidad fisiológica (1) Moderada vulnerabilidad fisiológica (2) Alta vulnerabilidad fisiológica (3)	1	Sensibilidad baja (1)
	Dependencia de un hábitat	Especie generalista (0) Especie poco especializada (1) Especie moderadamente especializada (2) Especie altamente especializada (3)	1	
	Dependencia de señales ambientales	Nula dependencia(0) Baja dependencia(1) Moderada dependencia (2) Alta dependencia (3)	1	
	Dependencia de interacciones inter-específicas	Nula dependencia (0) Baja dependencia (1) Moderada dependencia (2) Alta dependencia (3)	2	
	Endemismo	Especie no endémica (0) Especie endémica (3)	0	
Capacidad adaptativa	Potencial de dispersión	Alta movilidad (1) Moderada movilidad (2) Baja movilidad (3)	3	Capacidad adaptativa baja (3)
<b>La anémoma presenta vulnerabilidad ambiental moderada (2)</b>				

## Discusión

Para la realización de la observación y caracterización morfológica se empleó un acuario con las siguientes condiciones controladas: salinidad de 32 g/L, pH de  $7 \pm 1$  y temperatura de  $23 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1$ . Los acuarios se han utilizado con el fin de describir procesos biológicos (ciclo de vida), observar comportamiento y controlar variables que causen efectos sobre los organismos de estudio. Estos dispositivos se han empleado en diversos trabajos científicos de ecotoxicología y farmacología (Brown et al., 2017; Thoré et al., 2021; Wang, 2018; Cleal et al., 2020). Cuando se trabaja con organismos vivos, es necesario conocer tanto la biología del animal, como los parámetros fisicoquímicos del agua porque estos permiten minimizar las variaciones del medio y asegurar la sobrevivencia de los animales de estudio (Gagliardi et al., 2015; Kellner et al., 2018; Takehana et al., 2020; Thoré et al., 2021). Para este trabajo, los parámetros fisicoquímicos del agua a los que fueron mantenidas las anémonas de Tecolutla son los recomendados para cnidarios (Schmoyer, 2014). Se ha reportado que la anémona *Bunodosoma cavernatum* es de tipo eurihalino por lo que se adapta a distintas concentraciones de sales (Kasschau et al., 1980). En otros trabajos estas anémonas se han mantenido en condiciones experimentales con un rango de salinidad de 26 hasta 32 g/L y a una temperatura desde 20 hasta 26  $^\circ\text{C}$  (Ellington, 1982; Kasschau et al., 1984). Por lo tanto, las anémonas de la especie *B. cavernatum* pueden sobrevivir amplios rangos de salinidad y temperatura, lo cual las convierte en un modelo experimental fácil de mantener. En cuanto a la alimentación, se ha sugerido que para corales blandos y anémonas se suministre alimento comercial (Schmoyer, 2014). Específicamente, la anémona *B. cavernatum* ha sido alimentada con porciones pequeñas almejas o camarones (1 g) cada 96 h en condiciones experimentales (Ellington, 1982; Kasschau et al., 1980). Con la anémona de Tecolutla, el

emplear este tipo de alimento propuesto por Ellington (1982) y Kasschau *et al.*, (1980) produjo un exceso de mucosidad, por lo que se decidió eliminar ese alimento y utilizar el alimento comercial (mezcla de fitoplancton y zooplancton (Matadamas-Guzmán *et al.*, 2019). Con esta mezcla se obtuvieron resultados positivos debido a que no hubo mortalidad, ni desarrollo de mucosidad u otros cambios fisiológicos aparentes. Por lo anterior, recomendamos que en estudios posteriores con esta especie de anémona se alimente con la mezcla de fitoplancton y zooplancton, esto trae la ventaja de tener alimento al alcance por ser comercial y elimina la necesidad de constantemente tener camarón o almeja fresca en refrigeración.

Debido a la diversidad de métodos de anestesia en estos organismos se realizó una estandarización para conocer el método ideal. Para la anémona *B. cavernatum*, de los dos métodos de anestesia probados, la de reducción gradual de temperatura resultó ser la óptima. Esta técnica se ha recomendado por Spano & Flores (2013) en el manejo de anémona. Por el contrario, el método que incluye la mezcla de  $MgCl_2$  con cristales de mentol, que también se ha reportado como método de anestesia, inhibe el trabajo experimental subsecuente con las anémonas. Esto es debido a que tuvieron una reacción fisiológica no esperada pese a que los reportes de este método indican que es el adecuado y los parámetros fisicoquímicos del agua fueron apropiados (Gomes *et al.*, 2011). La anestesia por mezcla de  $MgCl_2$  con cristales de mentol no fue exitosa debido a que la anémona presentó contracción de los tentáculos en el procedimiento, además el organismo mantuvo una respuesta ante cualquier estímulo, lo cual se puede deber a la diferencia de temperatura, en este caso entre el acuario y la mezcla de  $MgCl_2$  (Gadelha *et al.*, 2017). Debido a esto, y con base en el presente trabajo, se recomienda disminuir la temperatura en el agua donde se mantiene a la anémona para que esta se relaje.

Por otro lado, en estudios con organismos vivos, es importante seguir los lineamientos de ética cuando se realiza una investigación como esta. En este trabajo se emplearon los criterios de manejo y experimentación aprobados por el Consejo Divisional de CBS de la UAM-I en “*Lineamientos para la conducción ética de la investigación, docencia y la difusión en la División de Ciencias Biológicas y de Salud*”. Así mismo, se emplearon biopsias para evitar el sacrificio del organismo, que permitieron una recuperación tisular. Esos resultados forman parte de otra investigación con relevancia en el estudio de la regeneración muscular en metazoos (Matadamas-Guzmán et al., 2019).

Diversas características en las anémonas (forma, número de tentáculos y músculos o el tamaño de cnidocitos) varían entre especies incluso del mismo género, por lo cual una interpretación correcta requiere de experiencia y de información suficiente que permita identificar todas estas variables (England, 1987). En este estudio, se observaron tentáculos y disco oral totalmente extendidos, además de una columna cilíndrica y ancha, los caracteres observados y el estudio de la anémona en un ambiente controlado permitieron obtener la identidad taxonómica de la especie. En este caso, la anémona de Tecolutla corresponde a la especie *Bunodosoma cavernatum*. La distribución de esta especie se ha reportado desde la costa norte de Venezuela, pasando por el Golfo de México hasta el Atlántico Norte (Fautin, 2013). Estudios realizados por otros autores sobre la distribución de este género, han evidenciado registros en ciertas zonas de Veracruz y de la península de Yucatán (De la Cruz Francisco et al., 2017). Sin embargo, dentro del estado de Veracruz no se menciona el municipio de Tecolutla como lugar de distribución de esta especie; esta información se suma a los registros que tiene el propio municipio de Tecolutla sobre su diversidad biológica, en donde no se enlista la presencia de esta anémona (Coordinación Estatal de Medio Ambiente, 2007; López-Portillo et al., 2009). La importancia de conocer la identidad taxonómica de una

especie radica en la contribución al acervo biológico de una región y consecuentemente a incentivar su conservación a través de programas de protección. Además, con la ayuda de estudios posteriores, generar información sobre su función en el ecosistema y sus propiedades biotecnológicas. Debido a que estas propiedades podrían generar un área de oportunidad para la población de Tecolutla, Veracruz, a través del aprovechamiento sostenible. En el caso de Tecolutla, diversos son los esfuerzos que se realizan para conocer la identidad de otros organismos acuáticos del sistema, tales como peces y bivalvos (Jerónimo-Juárez *et al.*, 2020; Ramírez-Trejo *et al.*, 2019; Inoue *et al.*, 2020; Hernández-Sánchez *et al.*, 2020; Bonfil *et al.*, 2021).

El análisis histológico de un organismo permite obtener respuestas que se pueden asociar a su estado basal o a estresores ambientales (Prasad *et al.*, 2008). Diversos son los trabajos que hacen descripciones histológicas en anémonas con fines únicamente taxonómicos. Consecuentemente, la caracterización basal de los tejidos toma relevancia, para poder comparar e interpretar cambios histopatológicos en diversas investigaciones (Boscolo Papo *et al.*, 2014; Dodd *et al.*, 2018; Usheva *et al.*, 2006). Estas mismas lesiones no han sido caracterizadas del todo en cnidarios (Galloway *et al.*, 2007). Gadelha *et al.*, (2013) describen lesiones en la membrana celular, desintegración de ovocitos y tejidos ováricos asociadas a la exposición a disruptores endocrinos. También se han documentado los efectos de la exposición a metales en la anémona *Actinia equina* donde se exhibió necrosis de tentáculos, filamentos mesenteriales, gastrodermis y músculos retractores. Además de la pérdida de células mucosas y vacuolación (Gadelha *et al.*, 2013). En esta anémona no se realizó un estudio histopatológico.

La descripción tisular de cada órgano corresponde con la descrita en otros trabajos para *B. cavernatum* (González-Muñoz *et al.*, 2013). En los tentáculos se identificaron músculos

longitudinales ectodérmicos que proveen movimiento y soporte a los cnidocitos (Gomes et al., 2011). En la columna y disco pedio se identificaron músculos retractores fuertes y restringidos, músculos parietobasilares y basilares bien desarrollados a los cuales se le han asociado funciones de sostén estructural y a la retracción del organismo (Barzansky & Lenhoff, 1974). La retracción muscular está asociada a los procesos hidrodinámicos de los cnidarios para responder al ambiente (Koehl, 1977b). El análisis tisular permitió describir la presencia de tejido muscular, epitelial y mesoglea que en cnidarios funge como tejido conectivo (Koehl, 1977a). La mesoglea se forma a partir de glucoproteínas de la familia del colágeno, la mesoglea puede ser un factor que contribuya al establecimiento de una forma morfológica particular de células adherentes (Barzansky & Lenhoff, 1974). En la especie *B. cavernatum* se observaron células especializadas, llamadas cnidocitos. Los cnidocitos observados son del tipo espirocistos, basitricos, *p*-mastigoforos y holotricos (Anderson et al., 2004; González-Muñoz et al., 2013; McKay & Anderson, 1988). En este trabajo no se caracterizaron las toxinas de la anémona, pero se ha reportado que pueden ser neurotóxicas y citotóxicas. Esto es importante, ya que poseen efectos antiinflamatorios, antitumorales, y antibacterianos, por lo que son de interés terapéutico (Madio et al., 2019; Rocha et al., 2011). Por otro lado, los análisis histoquímicos se realizan como un complemento del análisis histológico. La histoquímica tiene como fin evidenciar compuestos químicos en los tejidos (Lillie & Fullmer, 1976). En este trabajo se empleó la tinción Tricrómica de Mallory porque esta técnica permite diferenciar entre tejido muscular, mesoglea y fibras de colágeno (Davenport Jr. & Ball, 1979). El análisis histoquímico en la anémona de Tecolutla permitió evidenciar la presencia de fibras gruesas de colágeno derivadas de la mesoglea en toda la anémona. El colágeno se define a menudo como uno de los componentes específicos de las matrices extracelulares de metazoos y es sintetizado por las células epiteliomusculares

epidérmicas (Singer, 1974). El colágeno tipo IV se ha descrito en los primeros animales multicelulares ramificados, esponjas y cnidarios. Las fibras de colágeno columnar están dispuestas para formar capas: las fibras de cada capa tienen la misma orientación longitudinal, mientras que las de las capas adyacentes muestran una disposición ortogonal aproximada (Exposito et al., 2008). El colágeno tiene gran interés biotecnológico, ya que sirve para generar compuestos sintéticos similares a la seda y para la fabricación de prótesis sintéticas de interés biomédico (Yang et al., 2013). Así mismo, la histoquímica nos puede ayudar a evidenciar estrés ambiental a través de la localización de metabolitos secundarios como lo son los aminoácidos, ácidos grasos, enzimas y lípidos. Estos metabolitos derivan de procesos fisiológicos cuando el organismo trata de autorregularse (Viant, 2007). La localización de estos metabolitos puede revelarse con diversas tinciones como lo son: ácido peryódico-reactivo de Schiff, acetato de cobre con ácido rubeánico y sudán negro entre otras (Badria & Aboelmaaty, 2019). La presencia de estos metabolitos se ha reportado ante diversos agentes de estrés ambiental como lo son salinidad, temperatura, contaminantes y el blanqueamiento (Ellington, 1982; Farag et al., 2018; Hillyer et al., 2016; Lu et al., 2020; Kasschau et al., 1984; Kasschau et al., 1980; Williams et al. 2021; Pryor et al., 2021).

El estrés ambiental también puede ser evaluado a través del biomarcador inmunohistoquímico, al observar su activación, concentración y expresión mediante biomarcadores proteínicos como lo son CYP, MT y HSP70 (Rumahlatu et al., 2013). El diagnóstico del estrés ambiental a través de biomarcadores proteínicos se ha utilizado en diferentes organismos como lo son los bivalvos, equinodermos y peces (Boscolo Papo et al., 2014; Hashimoto et al., 2012; Jerónimo-Juárez et al., 2020; Johnstone et al., 2019). Particularmente en anémonas, el inmunomarcaje se ha empleado para identificar y analizar las toxinas propias del organismo, para así localizar su distribución y sitio de acción (Basulto

et al., 2006; Delgado et al., 2010; Rojko et al., 2016). Sin embargo, no hay estudios donde se reporte el uso de la inmunohistoquímica como herramienta diagnóstica de estrés ambiental en anémonas. Por consiguiente, el trabajo realizado toma relevancia porque demuestra la presencia de tres biomarcadores de estrés ambiental.

Los anticuerpos aplicados a *B. cavernatum* mostraron inmunorreacción positiva a proteínas HSP70, metalotioneínas (MTs) y citocromo P450 (CYP) en los mesenterios y folículos germinales. Dentro de la cavidad gastrovascular de las anémonas se encuentran los mesenterios, los cuales se consideran “libres” debido a que pueden proyectarse fuera de la cavidad de la anémona para lograr funciones como digestión externa, competencia y defensa, por lo cual tienen contacto con la posible contaminación del entorno de la anémona (Basulto et al., 2006). Los folículos germinales han sido reportados como tejidos sensibles ante el estrés ambiental en diversos organismos invertebrados, por lo cual una inmunorreacción en esta zona es probable (Gadelha et al., 2013; Shikina et al., 2015). Los biomarcadores utilizados en este trabajo, es decir, las proteínas HSP70, metalotioneínas (MTs) y citocromo P450 (CYP) se expresan cuando las células están sujetas a estímulos, como el estrés por cambio de temperatura, estrés oxidativo, metales pesados y el combate ante diferentes patógenos (Downs et al., 2002). Otros estudios con enfoque bioquímico en las anémonas utilizaron al biomarcador CYP para evaluar los efectos del benzopireno (BAP), un hidrocarburo aromático policíclico (PAH) donde se observó su rol en la inducción de la actividad oxidasa de función mixta (Gómez-Gutiérrez & Guerra-Rivas, 2010). Por otro lado, el rol de la proteína HSP70 se ha estudiado en anémonas en diversos contextos como lo son: condiciones extremas de salinidad, cambios de temperatura, pérdida de simbiosis y condiciones variantes de oxigenación (Dunn et al., 2004; Dunn et al., 2002; Ellison et al., 2017; Snyder & Rossi, 2004). Mientras que, se ha reportado la presencia de metalotioneínas

en la anémona *Aiptasia pulchella*, donde se menciona su expresión que tiene esta proteína de estrés ante la presencia de metales pesados como el cadmio (Huang & Chen, 2007). Estos estudios han reflejado que estos biomarcadores son idóneos para evaluar el nivel de exposición ambiental del organismo, lo que permite generar escalas semicuantitativas que pueden ser usadas en modelos de vulnerabilidad. Jerónimo-Juárez (2020) propone el uso de un índice inmunohistoquímico dentro de un modelo de vulnerabilidad, el cual relaciona la expresión de los biomarcadores observados entre el número de órganos analizados, para así demostrar la relación que existe entre el marcador inmunohistoquímico y los estresores a los que se asocia. El índice inmunohistoquímico permitió evidenciar mediante una escala la exposición de los organismos al estrés ambiental. En este trabajo, el índice inmunohistoquímico tuvo valor de 3 indicando una alta exposición. Diferentes estudios donde se han empleado estos biomarcadores indican posible exposición del organismo a hidrocarburos, cambios de temperatura y metales pesados, entre otros factores de estrés. El uso del índice inmunohistoquímico dentro de un modelo de vulnerabilidad permite eventualmente predecir algunos efectos del cambio climático.

Los efectos del cambio climático en la diversidad biológica están cada vez más bien documentados y se han desarrollado muchos métodos para evaluar la vulnerabilidad de las especies a los cambios climáticos, tanto en curso como proyectados en las próximas décadas. Para minimizar las pérdidas de biodiversidad global, los conservacionistas deben identificar aquellas especies que probablemente sean más vulnerables a los impactos del cambio climático (Pacifi et al., 2015). Los rasgos que comúnmente hacen que una especie sea vulnerable al cambio climático incluyen capacidades de dispersión limitadas, tasas de reproducción lentas, hábitat especializado, requisitos dietéticos, distribución restringida y rareza y tolerancias fisiológicas estrechas, mientras que los hábitats potencialmente

vulnerables incluyen áreas intermareales, y pastizales. Saber qué hace a una especie vulnerable y dónde se encuentran las especies vulnerables puede ser muy útil cuando los profesionales necesitan evaluar la vulnerabilidad de especies para las que solo se dispone de conocimientos básicos sobre su biología y ecología.

La vulnerabilidad depende del estudio de tres componentes: la exposición, la sensibilidad ante alguna presión específica y la capacidad adaptativa (Berry et al., 2013; Carantoña & Hernández, 2017; Foden et al., 2013). Estos componentes pueden evaluarse en diferentes niveles, desde el ecosistémico hasta por especie como en este caso (Thomas et al., 2019). Los índices de vulnerabilidad son indicadores cuantitativos de la vulnerabilidad relativa de las especies. Los datos derivados de los enfoques anteriormente mencionados, y de las evaluaciones de vulnerabilidad basadas en rasgos conocidos (TVA), se pueden usar para obtener puntajes, categorías o índices, que a menudo son más fáciles de interpretar y utilizar para los científicos y los profesionales para identificar especies en riesgo dentro de sus países. Nosotros formulamos un indicador del tipo TVA, debido a que este tipo de indicadores usan las características biológicas de las especies como predictores del riesgo de extinción o daño irreparable debido al cambio climático y perturbaciones ambientales, a menudo en combinación con estimaciones de exposición (Fordham et al., 2013). Los métodos típicamente implican seleccionar rasgos relacionados con la sensibilidad (por ejemplo, describiendo típicamente la especialización ecológica, las interacciones interespecíficas) y la adaptabilidad (es decir, la dispersión y la adaptabilidad fenotípica) y puntuar cada uno de acuerdo con las observaciones o el juicio de expertos (Pacifi et al., 2015). Una limitación de este tipo de índices es que no proporcionan ninguna medida directa del impacto esperado en las especies (por ejemplo, reducciones de rango, probabilidad de extinción, disminución de la población).

En este trabajo se evaluaron los tres componentes de la vulnerabilidad a través del uso de enfoques teóricos y experimentales (Tabla 7). El enfoque propuesto incluye el empleo de la inmunohistoquímica y la integración de respuestas conocidas en el organismo para así constituir con los componentes de la vulnerabilidad. El índice de vulnerabilidad propuesto en este trabajo está conformado por un sistema de puntuación basado en la integración de tres categorías con igual ponderación entre ellas: Sensibilidad, Capacidad adaptativa y Exposición (Carantoña & Hernández, 2017). La sensibilidad fue la categoría a la que se le otorgó mayor preponderancia, conformada por un total de cinco criterios, en comparación con la exposición con dos criterios y la capacidad adaptativa a la que se le asignó uno.

La exposición se estableció utilizando la metodología sugerida por Berry et al., (2013), quienes construyeron límites arbitrarios en función del aumento de temperatura de 2 °C proyectado por el IPCC (2014). El parámetro teórico que señala el IPCC y los valores establecidos en la evaluación de las respuestas fisiológicas (la presencia o ausencia de inmunoreacción de los biomarcadores) permitieron asignar un valor al parámetro de exposición. En este trabajo, se evaluó la expresión de los biomarcadores citocromo P450, las proteínas HSP 70, y las metalotioneínas para crear un índice inmunohistoquímico con la presencia o ausencia de la reacción antígeno-anticuerpo (Jerónimo-Juárez et al., 2020). Con el indicador teórico de temperatura y el índice inmunohistoquímico se determinó que la anémona tiene una exposición moderada (2) al estrés ambiental. Gracias a este planteamiento se evalúa el impacto de la posible presencia de diversos contaminantes o fuentes de estrés ambiental a los que está expuesto el organismo y se analizan diferentes escenarios climáticos que potencialmente podrían modificar la dinámica en la que se desenvuelve el organismo (Alfonso et al., 2020; Berry et al., 2013; Wolff et al., 2018).

La sensibilidad es el grado en que un sistema o una especie se ve afectado por el estrés ambiental (Dagnino et al., 2008). Para evaluar la sensibilidad del organismo, relacionamos cinco aspectos: Dependencia de un hábitat especializado, tolerancia ambiental, la dependencia a detonantes ambientales, dependencia a Interacciones inter-específicas y el endemismo. Seleccionamos estas variables dado que numerosos estudios sobre vulnerabilidad demostraron que las respuestas de los organismos a las perturbaciones dependen de sus características biológicas (Cyrielle et al., 2020; Strain et al., 2012). Particularmente los indicadores que seleccionamos colocaron a la anémona con baja sensibilidad ante el estrés ambiental, dónde la relación interespecífica entre anémona y simbionte toma un peso particular (Dunn et al., 2004; Pryor et al., 2021). La utilización, en nuestro estudio, de un conjunto de rasgos biológicos que se sabe que responden positiva o negativamente a las perturbaciones ambientales, permite monitorear mejor el efecto de las actividades antropogénicas y del cambio climático en especies bentónicas (Cyrielle et al., 2020; Foden et al., 2013; Pacifici et al., 2015).

Por último, la capacidad adaptativa se define como la habilidad de una especie o sistema para hacer frente al impacto ambiental con una alteración mínima (Dagnino et al., 2008). Nosotros utilizamos el potencial de dispersión del organismo como criterio para evaluar este parámetro, esto con la finalidad de poder integrar el potencial o la capacidad de una determinada especie para adaptarse a estas variaciones o contener o minimizar los posibles efectos del estrés ambiental (Böhm et al., 2016; Carantoña & Hernández, 2017; Foden et al., 2013). Obtuvimos un resultado de baja capacidad de dispersión debido a que las anémonas son animales semi-sésiles y no podrán dispersarse lo suficiente, por lo cual sufrirán una mayor exposición al estrés (Daly et al., 2017; Foden et al., 2013).

Los datos del modelo de vulnerabilidad aplicados en el sistema acuático de Tecolutla, Veracruz, indicaron que las anémonas están expuestas a diversos contaminantes, a pesar de que su factor de vulnerabilidad es moderado. En consecuencia, es evidente que los datos generados en este tipo de estudios deben de ser tomados en cuenta para la toma de decisiones por parte de la autoridad en materia de legislación y protección al medio ambiente dentro del sistema. Este trabajo propuso una alternativa metodológica para evaluar la vulnerabilidad de la anémona *Bunodosoma cavernatum* a partir de indicadores experimentales y teóricos, sentando una base para la investigación y protección de organismos posiblemente vulnerados por el cambio climático y la actividad antropogénica. Todos los factores que constituyen este índice de vulnerabilidad tienen la misma influencia, cuando en realidad es probable que algunos factores sean más importantes que otros y que la importancia de cada uno pueda variar significativamente. Además, algunas de las suposiciones que hacemos al estimar los parámetros de vulnerabilidad puede que resulten en subestimaciones de los porcentajes de organismos que no pueden alcanzar un hábitat adecuado. Así mismo, suponemos que existirán hábitats y climas adecuados para el establecimiento, la supervivencia y la reproducción entre las regiones de clima actual y futuro (Dormann, 2007; Schloss et al., 2012). Sin embargo, en general, este enfoque prepara el escenario para una cuantificación más avanzada de la importancia relativa de cada factor en el futuro a medida que documentamos y comprendemos más sobre los efectos climáticos y ambientales en diferentes especies (Laidre et al., 2008). El análisis de la vulnerabilidad de organismos acuáticos a través de rasgos conocidos y respuestas inmunohistoquímicas representan una herramienta para la evaluación y monitoreo de los recursos acuáticos y ecosistemas amenazados por la actividad antropogénica y el cambio climático, presentando así una nueva perspectiva para la evaluación integral de los recursos naturales. Es relevante hacer notar que este trabajo es

la primera contribución de este tipo sobre cnidarios en México, además de ser el primer estudio sobre anémonas en el área de Tecolutla, Veracruz, contribuyendo al conocimiento de los recursos naturales de este sistema y zonas costeras de México.

## Conclusiones

Los resultados de este trabajo nos permiten concluir lo siguiente:

- La anémona de Tecolutla, Veracruz, responde favorablemente al confinamiento con los siguientes parámetros: salinidad de 32 g/L, pH 7 y 23 °C, permitiendo encontrar condiciones fisiológicas idóneas.
- Los resultados del estudio morfológico demostraron caracteres particulares de la especie *Bunodosoma cavernatum*.
- La caracterización tisular demostró gran cantidad de tejido muscular y mesoglea, y agregados de células especializadas a lo largo de los tentáculos. Además, permitió identificar diferentes estructuras tisulares como lo son músculos retractores, basilares, parietobasilares y longitudinales, lo que contribuye a ampliar el conocimiento básico sobre esta especie.
- El estudio histoquímico reveló presencia de fibras de colágeno asociadas al movimiento de la anémona, lo cual permite evidenciar la condición hidrodinámica del organismo, así como los procesos fisiológicos adaptativos que puede tener el organismo.
- La expresión inmunohistoquímica de proteínas HSP70, metalotioneínas y citocromo P450 en la anémona corresponden a respuestas moleculares generadas a través de la exposición a estrés ambiental. De acuerdo con estos marcadores se asume la presencia de diferentes agentes de estrés ambiental presentes en el sistema de Tecolutla, tales como metales e hidrocarburos.
- Los parámetros de exposición, sensibilidad y capacidad adaptativa indicaron que la anémona *B. cavernatum* presenta una vulnerabilidad ambiental moderada.

## Referencias

- Alfonso, S., Gesto, M., & Sadoul, B. (2020). Temperature increase and its effects on fish stress physiology in the context of global warming. *Journal of Fish Biology*, n/a(n/a). <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jfb.14599>
- Anderson, P. A. V, Thompson, L. F., & Money Penny, C. G. (2004). Evidence for a Common Pattern of Peptidergic Innervation of Cnidocytes. *The Biological Bulletin*, 207, 141–146. <https://doi.org/10.2307/1543588>
- Auro-de Ocampo, A., & Ocampo-Camberos, L. (1999). Diagnóstico del Estrés en Peces. *Vet. Méx*, 30(4), 337. <https://www.redalyc.org/pdf/423/42330411.pdf>
- Ayeni, A. O. (2018). Environmental Policies for Emergency Management and Public Safety. In A. N. Eneanya (Ed.), *Emergency and Disaster Management* (pp. 903–922). IGI Global. <https://doi.org/10.4018/978-1-5225-6195-8.ch042>
- Badria, F., & Aboelmaaty, W. (2019). Plant Histochemistry: A Versatile and Indispensable Tool in Localization of Gene Expression, Enzymes, Cytokines, Secondary Metabolites and Detection of Plants Infection and Pollution. *Acta Scientific Pharmaceutical Sciences*, 3, 88–100. <https://doi.org/10.31080/ASPS.2019.03.0318>
- Barzansky, B., & Lenhoff, H. M. (1974). On the Chemical Composition and Development Role of the Mesoglea of Hydra. *American Zoologist*, 14(2), 575–581. <http://www.jstor.org/stable/3882051>
- Basulto, A., Pérez, V. M., Noa, Y., Varela, C., Otero, A. J., & Pico, M. C. (2006). Immunohistochemical targeting of sea anemone cytolytic toxins on tentacles, mesenteric filaments and isolated nematocysts of *Stichodactyla helianthus*. *Journal of Experimental Zoology. Part A, Comparative Experimental Biology*, 305(3), 253–258.

<https://doi.org/10.1002/jez.a.256>

Berry, P., Ogawa-Onishi, Y., & McVey, A. (2013). The vulnerability of threatened species:

Adaptive capability and adaptation opportunity. *Biology*, 2(3), 872–893.

<https://doi.org/10.3390/biology2030872>

Böhm, M., Cook, D., Ma, H., Davidson, A. D., García, A., Tapley, B., Pearce-Kelly, P., &

Carr, J. (2016). Hot and bothered: Using trait-based approaches to assess climate change vulnerability in reptiles. *Biological Conservation*, 204, 32–41.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biocon.2016.06.002>

Bonfil, R., Palacios-Barreto, P., Vargas, O. U. M., Ricaño-Soriano, M., & Díaz-Jaimes, P.

(2021). Detection of critically endangered marine species with dwindling populations in the wild using eDNA gives hope for sawfishes. *Marine Biology*, 168(5), 60.

<https://doi.org/10.1007/s00227-021-03862-7>

Boscolo Papo, M., Bertotto, D., Quaglio, F., Vascellari, M., Pascoli, F., Negrato, E.,

Binato, G., & Radaelli, G. (2014). Histopathology and stress biomarkers in the clam *Venerupis philippinarum* from the Venice Lagoon (Italy). *Fish & Shellfish Immunology*, 39(1), 42–50. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.04.016>

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.04.016>

Brown, A., Wright, R., Mevenkamp, L., & Hauton, C. (2017). A comparative experimental

approach to ecotoxicology in shallow-water and deep-sea holothurians suggests similar behavioural responses. *Aquatic Toxicology*, 191, 10–16.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.06.028>

Capó, M. A. (2007). *Principios de Ecotoxicología*. Editorial Tébar, S. L.

[http://books.google.com.pe/books?id=86oL\\_Ybnwn8C](http://books.google.com.pe/books?id=86oL_Ybnwn8C)

Carantoña, T., & Hernández, D. (2017). Indicador de vulnerabilidad de especie ante el

cambio climático en áreas naturales protegidas, Venezuela. *Terra Nueva Etapa*,

XXXIII(53), 75–103.

Cleal, M., Gibbon, A., Fontana, B. D., & Parker, M. O. (2020). The importance of pH: How aquarium water is affecting behavioural responses to drug exposure in larval zebrafish. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *199*, 173066.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pbb.2020.173066>

Coordinación Estatal de Medio Ambiente. (2007). *Área Natural Protegida del Fuerte. Programa de Manejo*. Secretaría de Desarrollo Regional. Tecolutla, Veracruz, México

Cyrielle, J. A. C., Desroy, N., Certain, G., Foveau, A., Labrune, C., & Vaz, S. (2020). Detecting adverse effect on seabed integrity. Part 1: Generic sensitivity indices to measure the effect of trawling on benthic mega-epifauna. *Ecological Indicators*, *117*(January), 106631. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106631>

Dagnino, A., Sforzini, S., Dondero, F., Fenoglio, S., Bona, E., Jensen, J., & Viarengo, A. (2008). A “Weight-of-Evidence” Approach for the Integration of Environmental “Triad” Data to Assess Ecological Risk and Biological Vulnerability. *Integrated Environmental Assessment and Management*, *4*(3), 314.  
[https://doi.org/10.1897/IEAM\\_2007-067.1](https://doi.org/10.1897/IEAM_2007-067.1)

Daly, M., Crowley, L. M., Larson, P., Rodríguez, E., Heestand Saucier, E., & Fautin, D. G. (2017). Anthopleura and the phylogeny of Actinioidea (Cnidaria: Anthozoa: Actiniaria). *Organisms Diversity & Evolution*, *17*(3), 545–564.  
<https://doi.org/10.1007/s13127-017-0326-6>

Davenport Jr., W. D., & Ball, C. R. (1979). Observations on the results of specific histochemical techniques and empirical staining methods on several tissue/organ types using a variety of fixing fluids. *Histopathology*, *3*(4), 321–327.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.1979.tb03013.x>

- de la Cruz Francisco, V., & González-Muñoz, R. (2019). *Las Anémonas Marinas de los Sistemas Arrecifales de Veracruz* (pp. 139–156).
- de la Cruz Francisco, V., Medrano, R., Flores, J., Estrada, R., González González, M., & Liliana, F. (2017). UNA APROXIMACIÓN A LA FLORÍSTICA Y FAUNÍSTICA DE LA COSTA ROCOSA EL PULPO, CAZONES, VERACRUZ, MÉXICO. *CICIMAR Oceanides*, 32, 39–58. <https://doi.org/10.37543/oceanides.v32i1.195>
- Delgado, L. M., Couve, E., & Schmachtenberg, O. (2010). GABA and glutamate immunoreactivity in tentacles of the Sea Anemone *Phymactis papillosa* (LESSON 1830). *Journal of Morphology*, 271(7), 845–852. <https://doi.org/10.1002/jmor.10838>
- Deserti, M., Zamponi, M., & Riestra, G. (2012). Las anémonas de mar (Cnidaria; Anthozoa; Actiniaria) de la plataforma continental uruguaya. *Revista Real Academia Galega de Ciencias*, 31, 115–136.
- Dodd, W., Tang, L., Lone, J.-C., Wimberly, K., Wu, C.-W., Consalvo, C., Wright, J. E., Pujol, N., & Choe, K. P. (2018). A Damage Sensor Associated with the Cuticle Coordinates Three Core Environmental Stress Responses in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 208(4), 1467–1482. <https://doi.org/10.1534/genetics.118.300827>
- Dormann, C. F. (2007). Promising the future? Global change projections of species distributions. *Basic and Applied Ecology*, 8(5), 387–397. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.baae.2006.11.001>
- Downs, C A, Fauth, J. E., Halas, J. C., Dustan, P., Bemiss, J., & Woodley, C. M. (2002). Oxidative stress and seasonal coral bleaching. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(4), 533–543. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)00907-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)00907-3)
- Downs, Craig A., Kramarsky-Winter, E., Woodley, C. M., Downs, A., Winters, G., Loya, Y., & Ostrander, G. K. (2009). Cellular pathology and histopathology of hypo-salinity

- exposure on the coral *Stylophora pistillata*. *Science of the Total Environment*, 407(17), 4838–4851. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.05.015>
- Dunn, S. R., Thomason, J. C., Le Tissier, M. D. A., & Bythell, J. C. (2004). Heat stress induces different forms of cell death in sea anemones and their endosymbiotic algae depending on temperature and duration. *Cell Death & Differentiation*, 11(11), 1213–1222. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401484>
- Dunn, Simon R., Bythell, J. C., Le Tissier, M. D. A., Burnett, W. J., & Thomason, J. C. (2002). Programmed cell death and cell necrosis activity during hyperthermic stress-induced bleaching of the symbiotic sea anemone *Aiptasia* sp. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 272(1), 29–53. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(02\)00036-9](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(02)00036-9)
- Ellington, W. R. (1982). Metabolic Responses of the Sea Anemone *Bunodosoma cavernata* (Bosc) to Declining Oxygen Tensions and Anoxia. *Physiological Zoology*, 55(3), 240–249. <https://doi.org/10.1086/physzool.55.3.30157888>
- Ellison, M. A., Ferrier, M. D., & Carney, S. L. (2017). Salinity stress results in differential Hsp70 expression in the *Exaiptasia pallida* and Symbiodinium symbiosis. *Marine Environmental Research*, 132, 63–67. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2017.10.006>
- England, K. W. (1987). Certain Actiniaria (Cnidaria, Anthozoa) from the Red Sea and tropical Indo-Pacific Ocean. In *Bulletin of the British Museum (Natural History). Zoology series*.
- Exposito, J.-Y., Larroux, C., Cluzel, C., Valcourt, U., Lethias, C., & Degnan, B. (2008). Demosponge and Sea Anemone Fibrillar Collagen Diversity Reveals the Early Emergence of A/C Clades and the Maintenance of the Modular Structure of Type

- V/XI Collagens from Sponge to Human. *The Journal of Biological Chemistry*, 283, 28226–28235. <https://doi.org/10.1074/jbc.M804573200>
- Farag, M., Meyer, A., Ezz, S., Salem, M., Giavalisco, P., Westphal, H., & Wessjohann, L. (2018). Comparative Metabolomics Approach Detects Stress-Specific Responses during Coral Bleaching in Soft Corals. *Journal of Proteome Research*, 17. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.7b00929>
- Fautin, D. G. (2013). *Hexacorallians of the World*. Hexacorallians of the World. <http://geoportal.kgs.ku.edu/hexacoral/anemone2/index.cfm>
- Foden, W. B., Butchart, S. H. M., Stuart, S. N., Vié, J. C., Akçakaya, H. R., Angulo, A., DeVantier, L. M., Gutsche, A., Turak, E., Cao, L., Donner, S. D., Katariya, V., Bernard, R., Holland, R. A., Hughes, A. F., O’Hanlon, S. E., Garnett, S. T., Şekercioğlu, Ç. H., & Mace, G. M. (2013). Identifying the World’s Most Climate Change Vulnerable Species: A Systematic Trait-Based Assessment of all Birds, Amphibians and Corals. *PLoS ONE*, 8(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065427>
- Fordham, D. A., Akçakaya, H. R., Araújo, M. B., Keith, D. A., & Brook, B. W. (2013). *Tools for integrating range change, extinction risk and climate change information into conservation management*. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.2013.00147.x>
- Forouhar Vajargah, M., Imanpoor, M. R., Shabani, A., Hedayati, A., & Faggio, C. (2019). Effect of long-term exposure of silver nanoparticles on growth indices, hematological and biochemical parameters and gonad histology of male goldfish (*Carassius auratus gibelio*). *Microscopy Research and Technique*, 82(7), 1224–1230. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jemt.23271>
- Freschet, G. T., Violle, C., Bourget, M. Y., Scherer-Lorenzen, M., & Fort, F. (2018).

Allocation, morphology, physiology, architecture: the multiple facets of plant above- and below-ground responses to resource stress. *New Phytologist*, 219(4), 1338–1352.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/nph.15225>

Gadelha, J., Ferreira, C., Soares, A. M. V. M., Pereira, M. L., & Morgado, F. (2013).

Histopathology of Zinc exposition in *Actinia equina* L. (Anthozoa, Actiniaria) .  
*Microscopy and Microanalysis*, 19(S4), 69–70.

<https://doi.org/10.1017/s1431927613000962>

Gadelha, J.R., Morgado, F., & Soares, A. M. V. M. (2013). Histology and histochemistry of

sea anemones in environmental contamination studies. *Microscopy and Microanalysis*, 19(S4), 57–58. <https://doi.org/10.1017/s1431927613000901>

Gadelha, Juliana Rodrigues, Jesus, F., Gomes, P. B., Osten, J. R. Von, Morgado, F., &

Soares, A. M. V. da M. (2017). Temperature Tolerance Test Exposition with  
Temperate Sea Anemone *Actinia equina*, a Climatic and Environmental Changes  
Simulation. *OALib*, 04(03), 1–24. <https://doi.org/10.4236/oalib.1103360>

Gagliardi, B. S., Long, S. M., Pettigrove, V. J., & Hoffmann, A. A. (2015). The

Parthenogenetic Cosmopolitan Chironomid, *Paratanytarsus grimmii*, as a New  
Standard Test Species for Ecotoxicology: Culturing Methodology and Sensitivity to  
Aqueous Pollutants. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 95(3),  
350–356. <https://doi.org/10.1007/s00128-015-1578-5>

Galloway, S. B., Work, T. M., Bochsler, V. S., Harley, R. A., Kramarsky Winters, E.,

McLaughlin, S. M., Meteyer, C. U., Morado, J. F., Nicholson, H., Parnell, P. G.,  
Peters, E. C., Reynolds, T. L., Rotstein, D., Sileo, L., & Woodley, C. (2007). Coral  
Disease and Health Workshop: Coral Histopathology II. *NOAA Technical  
Memorandum NOS NCCOS 56 and NOAA Technical Memorandum CRCP 4*, 84.

- Glass, B. (1947). Notes on Microscopical Technique for Zoologists. In *The Quarterly Review of Biology*. <https://doi.org/10.1086/395752>
- Gomes, P., Schama, R., & Solé-Cava, A. (2011). Molecular and morphological evidence that *Phymactis papillosa* from Argentina is, in fact, a new species of the genus *Bunodosoma* (Cnidaria: Actiniidae). *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 92. <https://doi.org/10.1017/S0025315411002049>
- Gómez-Gutiérrez, C. M., & Guerra-Rivas, G. (2010). Uptake and biochemical response to B[a]P in the sea anemone *Anthopleura elegantissima*. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 45(1), 42–48. <https://doi.org/10.1080/10934520903388715>
- González-Muñoz, R., Simões, N., Tello-Musi, J. L., & Rodríguez, E. (2013). Sea anemones (Cnidaria, Anthozoa, Actiniaria) from coral reefs in the southern Gulf of Mexico. *Zookeys*, 341, 77–106.
- González-Orenga, S., Llinares, J. V., Al Hassan, M., Fita, A., Collado, F., Lisón, P., Vicente, O., & Boscaiu, M. (2020). Physiological and morphological characterisation of *Limonium* species in their natural habitats: Insights into their abiotic stress responses. *Plant and Soil*, 449(1), 267–284. <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04486-4>
- Hashimoto, E. H., Kamogae, M., Vanzella, T. P., Cólus, I. M. S., Bracarense, A. P. F. R. L., Bittencourt-Oliveira, M. do C., Itano, E., Kuroda, E. K., Kato, H., Nagata, S., Ueno, Y., Harada, K. I., & Hirooka, E. Y. (2012). Biomonitoring of microcystin and aflatoxin co-occurrence in aquaculture using immunohistochemistry and genotoxicity assays. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55(1), 151–159. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132012000100019>

- Hernández-Sánchez, M., González-García, F., Rojas-Soto, O. R., & MacGregor-Fors, I. (2020). Density and habitat associations of the Altamira Yellowthroat *Geothlypis flavovellata* in Veracruz, Mexico: an endemic vulnerable species. *Bird Conservation International*, 30(3), 355–364. <https://doi.org/DOI: 10.1017/S0959270919000406>
- Hillyer, K. E., Tumanov, S., Villas-Bôas, S., & Davy, S. K. (2016). Metabolite profiling of symbiont and host during thermal stress and bleaching in a model cnidarian–dinoflagellate symbiosis. *Journal of Experimental Biology*, 219(4), 516–527. <https://doi.org/10.1242/jeb.128660>
- Inoue, K., Cummings, K., Tiemann, J., Miller, T., Johnson, N., Smith, C., & Randklev, C. (2020). A new species of freshwater mussel in the genus *Popenaias* Frierson, 1927, from the Gulf coastal rivers of central Mexico (Bivalvia: Unionida: Unionidae) with comments on the genus. *Zootaxa*, 4816, 457–490. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4816.4.3>
- IUCN Standards and Petitions Committee. (2019). Guidelines for Using the IUCN Red List Categories and Criteria. Version 14. IUCN Standards and Petitions Committee. *IUCN Red List*, 14(August), 1–60. <http://www.iucnredlist.org/documents/RedListGuidelines.pdf.%0ATHE>
- Jerónimo-Juárez, J. R., Matadamas-Guzman, M. L., Legarreta, I. G., Segoviano-Ramírez, J. C., Zarate-Hernández, M. D. R., Arteaga-Silva, M., & Guzmán-García, X. (2020). Tissue biomarkers as vulnerability indicators in the clam *Polymesoda caroliniana*. *Invertebrate Survival Journal*, 17(1), 198. <https://doi.org/10.25431/1824-307X/isj.v0i0.198>
- Johnstone, J., Nash, S., Hernandez, E., & Rahman, M. S. (2019). Effects of elevated temperature on gonadal functions, cellular apoptosis, and oxidative stress in Atlantic

- sea urchin *Arbacia punctulata*. *Marine Environmental Research*, 149(May), 40–49.  
<https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2019.05.017>
- Jordán–Dahlgren, E. (2004). Arrecifes coralinos del Golfo de México: caracterización y diagnóstico. *Diagnóstico Ambiental Del Golfo de México*, 555–572.
- Kasschau, M. R., Skaggs, M. M., & Chen, E. C. M. (1980). Accumulation of glutamate in sea anemones exposed to heavy metals and organic amines. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 25(1), 873–878. <https://doi.org/10.1007/BF01985623>
- Kasschau, M. R., Skisak, C. M., Cook, J. P., & Mills, W. R. (1984).  $\beta$ -Alanine metabolism and high salinity stress in the sea anemone, *Bunodosoma cavernata*. *Journal of Comparative Physiology B*, 154(2), 181–186. <https://doi.org/10.1007/BF00684143>
- Kellner, M., Porseryd, T., Porsch-Hällström, I., Borg, B., Roufidou, C., & Olsén, K. H. (2018). Developmental exposure to the SSRI citalopram causes long-lasting behavioural effects in the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *Ecotoxicology*, 27(1), 12–22. <https://doi.org/10.1007/s10646-017-1866-4>
- Koehl, M. A. . (1977a). Mechanical Diversity of Connective Tissue of the Body Wall of Sea Anemones. *Journal of Experimental Biology*.
- Koehl, M. A. . (1977b). Effects of Sea Anemones on the Flow Forces They Encounter. *Journal of Experimental Biology*, 69(1), 87–105. <https://doi.org/10.1242/jeb.69.1.87>
- Lacroix, C., Duvieilbourg, E., Guillou, N., Guyomarch, J., Bassoulet, C., Moraga, D., Chapalain, G., & Auffret, M. (2017). Seasonal monitoring of blue mussel (*Mytilus* spp.) populations in a harbor area: A focus on responses to environmental factors and chronic contamination. *Marine Environmental Research*, 129, 24–35.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2017.04.008>
- Laidre, K. L., Stirling, I., Lowry, L. F., Wiig, Ø., Heide-Jørgensen, M. P., & Ferguson, S.

- H. (2008). Quantifying the sensitivity of arctic marine mammals to climate-induced habitat change. *Ecological Applications*, 18(SUPPL.2), 97–125.  
<https://doi.org/10.1890/06-0546.1>
- Lillie, R. D., & Fullmer, H. M. (1976). *Histopathologic Technic and Practical Histochemistry*. McGraw-Hill Companies.
- López-Portillo, J. ., Lara-Domínguez, A. L., Martínez-González, A., & Vázquez-Lule, A. D. (2009). Caracterización del sitio de manglar Sontecomapan, en Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). In *Sitios de manglar con relevancia biológica y con necesidades de rehabilitación ecológica*.
- Lu, Y., Jiang, J., Zhao, H., Han, X., Xiang, Y., & Zhou, W. (2020). Clade-Specific Sterol Metabolites in Dinoflagellate Endosymbionts Are Associated with Coral Bleaching in Response to Environmental Cues. *MSystems*, 5.  
<https://doi.org/10.1128/mSystems.00765-20>
- Madio, King, G., & Undheim, E. (2019). Sea Anemone Toxins: A Structural Overview. *Marine Drugs*, 17, 325. <https://doi.org/10.3390/md17060325>
- Marigómez, I., Múgica, M., Izagirre, U., & Sokolova, I. M. (2017). Chronic environmental stress enhances tolerance to seasonal gradual warming in marine mussels. *PLOS ONE*, 12(3), e0174359. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174359>
- Matadamas-Guzmán, F. M., C.-, & Hernández, I., Márquez-Ramos, J. A., Valdez-Peralta, H.I., Cordero-Ramos, D.I., Guerrero-Legarreta, I., Segoviano-Ramírez, J.C., García-Barrientos, R., Guzmán-García, X. (2019). Cellular response after injury in sea anemone *Bunodosoma* sp. of Tecolutla Veracruz. *SEHIT 2019 MURCIA. XX Congreso de La Sociedad Española de Histología e Ingeniería Tisular*, 5.
- Matadamas-Guzman, M., Hernández-Calderas, I., Ramírez, J. C. S., & Guzmán-García, X.

- (2019). Histopathological Assessment of Organisms in Ecotoxicological Studies from Mexico. In L. M. Gómez-Oliván (Ed.), *Pollution of Water Bodies in Latin America: Impact of Contaminants on Species of Ecological Interest* (pp. 311–317). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-27296-8\\_17](https://doi.org/10.1007/978-3-030-27296-8_17)
- McFall-Ngai, M., Hadfield, M. G., Bosch, T. C. G., Carey, H. V, Domazet-Lošo, T., Douglas, A. E., Dubilier, N., Eberl, G., Fukami, T., Gilbert, S. F., Hentschel, U., King, N., Kjelleberg, S., Knoll, A. H., Kremer, N., Mazmanian, S. K., Metcalf, J. L., Nealson, K., Pierce, N. E., ... Wernegreen, J. J. (2013). Animals in a bacterial world, a new imperative for the life sciences. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *110*(9), 3229 LP – 3236. <https://doi.org/10.1073/pnas.1218525110>
- Mckay, M. C., & Anderson, P. A. V. (1988). Preparation and Properties of Cnidocytes from the Sea Anemone *Anthopleura elegantissima*. *The Biological Bulletin*, *174*, 47–53. <https://doi.org/10.2307/1541758>
- Miller, D. J., Hemmrich, G., Ball, E. E., Hayward, D. C., Khalturin, K., Funayama, N., Agata, K., & Bosch, T. C. G. (2007). The innate immune repertoire in Cnidaria - ancestral complexity and stochastic gene loss. *Genome Biology*, *8*(4), R59. <https://doi.org/10.1186/gb-2007-8-4-r59>
- Minkina, T. M., Fedorenko, A. G., Hassan, T. M., Fedorenko, G. M., Chaplygin, V. A., Chernikova, N. P., Nevidomskaya, D. G., & Sushkova, S. N. (2021). Morphological studies of *Typha Australis* under stress environmental factor. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *624*, 12210. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/624/1/012210>
- Nath, S., Matozzo, V., Bhandari, D., & Faggio, C. (2019). Growth and liver histology of *Channa punctatus* exposed to a common biofertilizer. *Natural Product Research*,

33(11), 1591–1598. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1428586>

Ogawa, D. R. (2014). The effects of climate change on the *Acropora aspera* holobiont .

*Department of Pharmacy and Molecular Sciences and the ARC Centre of Excellence for Coral Reef Studies , PhD thesis, 173.*

Pacifici, M., Foden, W. B., Visconti, P., Watson, J. E. M., Butchart, S. H. M., Kovacs, K.

M., Scheffers, B. R., Hole, D. G., Martin, T. G., Akçakaya, H. R., Corlett, R. T.,

Huntley, B., Bickford, D., Carr, J. A., Hoffmann, A. A., Midgley, G. F., Pearce-Kelly,

P., Pearson, R. G., Williams, S. E., ... Rondinini, C. (2015). Assessing species

vulnerability to climate change. *Nature Climate Change, 5*(3), 215–225.

<https://doi.org/10.1038/nclimate2448>

Parisi, M. G., Parrinello, D., Stabili, L., & Cammarata, M. (2020). Cnidarian immunity and

the repertoire of defense mechanisms in anthozoans. *Biology, 9*(9), 1–26.

<https://doi.org/10.3390/biology9090283>

Petralia, R. S., Mattson, M. P., & Yao, P. J. (2014). Aging and longevity in the simplest

animals and the quest for immortality. *Ageing Research Reviews, 16*, 66–82.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.arr.2014.05.003>

Prasad, G. A., Wang, K. K., Halling, K. C., Buttar, N. S., Wongkeesong, L.-M.,

Zinsmeister, A. R., Brankley, S. M., Westra, W. M., Lutzke, L. S., Borkenhagen, L.

S., & Dunagan, K. (2008). Correlation of histology with biomarker status after

photodynamic therapy in Barrett esophagus. *Cancer, 113*(3), 470–476.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/cncr.23573>

Pryor, S. H., Andrews, L., Kelaher, B. P., Tagliafico, A., & Scott, A. (2021). Ocean

temperature, but not acidification, causes sea anemone bleaching under a near-future

climate scenario. *Coral Reefs, 40*(2), 355–364. <https://doi.org/10.1007/s00338-021->

02050-9

- Ramírez-Trejo, V., Becerra-Amezcu, P., Hernández-Calderas, I., Romero, P. R., Vázquez-Botello, A., & Guzmán-García, X. (2019). Health Diagnosis of the Fish *Scomberomorus cavalla* from Tecolutla, Ver. México. In L. M. Gómez-Oliván (Ed.), *Pollution of Water Bodies in Latin America: Impact of Contaminants on Species of Ecological Interest* (pp. 291–310). Springer International Publishing.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-030-27296-8\\_16](https://doi.org/10.1007/978-3-030-27296-8_16)
- Richier, S., Sabourault, C., Courtiade, J., Zucchini, N., Allemand, D., & Furla, P. (2006). Oxidative stress and apoptotic events during thermal stress in the symbiotic sea anemone, *Anemonia viridis*. *FEBS Journal*, 273(18), 4186–4198.  
<https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2006.05414.x>
- Rivera-Arriaga, E. (2017). La vulnerabilidad costera: elementos para la construcción de su resiliencia. In *Vulnerabilidad de las zonas costeras de latinoamérica al cambio climático* (pp. 1–28). <https://www.redicomar.com/wp-content/uploads/2018/10/Vulnerabilidad-de-las-Zonas-Costeras-de-Latinoamérica-al-Cambio-Climático.pdf>
- Rocha, J., Peixe, L., Gomes, N., & Calado, R. (2011). Cnidarians as a Source of New Marine Bioactive Compounds—An Overview of the Last Decade and Future Steps for Bioprospecting. *Marine Drugs*, 9, 1860–1886. <https://doi.org/10.3390/md9101860>
- Rojko, N., Dalla Serra, M., Maček, P., & Anderluh, G. (2016). Pore formation by actinoporins, cytolysins from sea anemones. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1858(3), 446–456.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2015.09.007>
- Rumahlatu, D., Corebima, A. D., & Amin, M. (2013). Activation , Concentration , and

- Expression of Metallothionein-1 On Sea Urchin as Biomonitoring Heavy Metal Cadmium. *International Journal Of Engineering And Science*, 3(3), 6–12.
- Sarshad, A., Talei, D., Torabi, M., Rafiei, F., & Nejatkhah, P. (2021). Morphological and biochemical responses of *Sorghum bicolor* (L.) Moench under drought stress. *SN Applied Sciences*, 3(1), 81. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-03977-4>
- Schloss, C. A., Nuñez, T. A., & Lawler, J. J. (2012). Dispersal will limit ability of mammals to track climate change in the Western Hemisphere. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(22), 8606 LP – 8611. <https://doi.org/10.1073/pnas.1116791109>
- Schmoyer, L. (2014). *The New Reef Aquarium: Setup, Care and Compatibility : Guidance from an Aquarium Authority*.
- Shikina, S., Chung, Y. J., Wang, H. M., Chiu, Y. L., Shao, Z. F., Lee, Y. H., & Chang, C. F. (2015). Localization of early germ cells in a stony coral, *Euphyllia ancora*: potential implications for a germline stem cell system in coral gametogenesis. *Coral Reefs*, 34(2), 639–653. <https://doi.org/10.1007/s00338-015-1270-6>
- Singer, I. I. (1974). An electron microscopic and autoradiographic study of mesogleal organization and collagen synthesis in the sea anemone *Aiptasia diaphana*. *Cell and Tissue Research*, 149(4), 537–554. <https://doi.org/10.1007/BF00223031>
- Snyder, M. J., & Rossi, S. (2004). *Stress protein (HSP70 family) expression in intertidal benthic organisms: the example of Anthopleura elegantissima (Cnidaria: Anthozoa)*. <https://doi.org/10.3989/scimar.2004.68s1155>
- Spano, C., & Flores, V. (2013). Staining protocol for the histological study of sea anemones (Anthozoa: Actiniaria) with recommendations for anesthesia and fixation of specimens. *Lajar*, 41(5), 1019–1024.

- Stevenson, R. J. (1996). An Introduction to Algal Ecology in Freshwater Benthic Habitats. In R. J. Stevenson, M. L. Bothwell, & R. L. B. T.-A. E. Lowe (Eds.), *Aquatic Ecology* (pp. 3–30). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012668450-6/50030-8>
- Strain, E. M. A., Allcock, A. L., Goodwin, C. E., Maggs, C. A., Picton, B. E., & Roberts, D. (2012). The long-term impacts of fisheries on epifaunal assemblage function and structure, in a Special Area of Conservation. *Journal of Sea Research*, *67*(1), 58–68. <https://doi.org/10.1016/j.seares.2011.10.001>
- Takehana, Y., Zahm, M., Cabau, C., Klopp, C., Roques, C., Bouchez, O., Donnadiou, C., Barrachina, C., Journot, L., Kawaguchi, M., Yasumasu, S., Ansai, S., Naruse, K., Inoue, K., Shinzato, C., Scharl, M., Guiguen, Y., & Herpin, A. (2020). Genome Sequence of the Euryhaline Javafish Medaka, *Oryzias javanicus*: A Small Aquarium Fish Model for Studies on Adaptation to Salinity. *G3 Genes/Genomes/Genetics*, *10*(3), 907–915. <https://doi.org/10.1534/g3.119.400725>
- Thomas, L., López, E. H., Morikawa, M. K., & Palumbi, S. R. (2019). Transcriptomic resilience, symbiont shuffling, and vulnerability to recurrent bleaching in reef-building corals. *Molecular Ecology*, *28*(14), 3371–3382. <https://doi.org/10.1111/mec.15143>
- Thoré, E. S. J., Philippe, C., Brendonck, L., & Pinceel, T. (2021). Towards improved fish tests in ecotoxicology - Efficient chronic and multi-generational testing with the killifish *Nothobranchius furzeri*. *Chemosphere*, *273*, 129697. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129697>
- Udawatte, N. S., Kang, S. W., Wang, Y., Arumugam, T. V., & Seneviratne, C. J. (2020). Predictive Nephrotoxicity Profiling of a Novel Antifungal Small Molecule in Comparison to Amphotericin B and Voriconazole. In *Frontiers in Pharmacology*

- (Vol. 11, p. 511). <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2020.00511>
- Usheva, L., Vaschenko, M., & Durkina, V. (2006). Histopathology of the digestive gland of the bivalve mollusk *Crenomytilus grayanus* (Dunker, 1853) from southwestern Peter the Great Bay, Sea of Japan. *Russian Journal of Marine Biology*, *32*, 166–172. <https://doi.org/10.1134/S1063074006030047>
- Valdez-Peralta, H. I., Guerrero-Legarreta, I., Hernández-Caderas, I., Jerónimo-Juárez, J. R., Luis-Hernández, D. I. ., Matadamas-Guzmán, F. M., & Guzmán-García, X. (2021). Indicators of Environmental Vulnerability in the Sea Anemone *Bunodosoma Cavernatum* (Cnidaria: Anthozoa: Actinaria). *Toxi 2021 Global Summit on Toxicology and Applied Pharmacology*, 29–30.
- Van Hassel, J., & Farris, J. (2006). Freshwater Bivalve Ecotoxicology. In *Freshwater Bivalve Ecotoxicology*. Society of Environmental Toxicology & Chemistry. <https://doi.org/10.1201/9781420042856.ch1>
- Varghese, F., Bukhari, A. B., Malhotra, R., & De, A. (2014). IHC Profiler: An Open Source Plugin for the Quantitative Evaluation and Automated Scoring of Immunohistochemistry Images of Human Tissue Samples. *PLOS ONE*, *9*(5), e96801. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096801>
- Viant, M. (2007). Metabolomics of aquatic organisms: The new “omics” on the block. *Marine Ecology-Progress Series - MAR ECOL-PROGR SER*, *332*, 301–306. <https://doi.org/10.3354/meps332301>
- Vitale, D., Picó, Y., Spanò, N., Torreblanca, A., & Del Ramo, J. (2020). Carbamazepine exposure in the sea anemones *Anemonia sulcata* and *Actinia equina*: Metabolite identification and physiological responses. *Science of the Total Environment*, *744*, 140891. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140891>

- Wang, N. (2018). Increasing the reliability and reproducibility of aquatic ecotoxicology: Learn lessons from aquaculture research. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *161*, 785–794. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.06.044>
- Williams, A., Chiles, E., Conetta, D., Pathmanathan, J., Cleves, P., Putnam, H., Su, X., & Bhattacharya, D. (2021). Metabolomic shifts associated with heat stress in coral holobionts. *Science Advances*, *7*, eabd4210. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abd4210>
- Williams, S. E., Shoo, L. P., Isaac, J. L., Hoffmann, A. A., & Langham, G. (2008). Towards an Integrated Framework for Assessing the Vulnerability of Species to Climate Change. *PLOS Biology*, *6*(12), e325. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060325>
- Wolff, N. H., Mumby, P. J., Devlin, M., & Anthony, K. R. N. (2018). Vulnerability of the Great Barrier Reef to climate change and local pressures. *Global Change Biology*, *24*(5), 1978–1991. <https://doi.org/10.1111/gcb.14043>
- Wong, P. ., Losada, I. J., Gattuso, J.-P., Hinkel, J., Khattabi, A., McInnes, K. L., Saito, Y., & Sallenger, A. (2014). Coastal Systems and Low-Lying Areas. In: *Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part A: Global and Sectoral Aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.*
- Yang, Y. J., Choi, Y. S., Jung, D., Park, B. R., Hwang, W. B., Kim, H. W., & Cha, H. J. (2013). Production of a novel silk-like protein from sea anemone and fabrication of wet-spun and electrospun marine-derived silk fibers. *NPG Asia Materials*, *5*(6), e50–e50. <https://doi.org/10.1038/am.2013.19>

## Glosario 1

**Tabla 1. Glosario con términos histopatológicos irreversibles**

---

Daños tisulares irreversibles	
Necrosis	El término necrosis hace referencia a un espectro de cambios morfológicos que siguen a la muerte celular en el tejido vivo, derivados en gran parte de la acción degradativa progresiva de las enzimas sobre las células mortalmente lesionadas.
Picnosis	Es la condensación irreversible de la cromatina en el núcleo de una célula que experimenta necrosis o apoptosis.
Perdida de arquitectura tisular	Cambio en la distribución celular dentro de los tejidos .
Neoplasias	Masa anormal de tejido que aparece cuando las células se multiplican más de lo debido o no se mueren cuando deberían.

---

**Tabla 2. Glosario con términos histopatológicos reversibles**

---

Daños tisulares reversibles	
Cuerpos de inclusión de células eosinófilas/hipereosinofilia	Estructuras subcelulares anormales formadas como resultado de la infección viral o parasitaria. Puede ser señal de que una desintegración tisular está próxima.
Vacuolización	Es la formación de vacuolas o estructuras similares a vacuolas, dentro o adyacentes a las células. Comúnmente asociada con acumulación de lípidos.
Adelgazamiento de epitelios	Disminución del grosor epitelial.
Citoplasma condensado	Perdida de la morfología celular asociada a inflamaciones, sin llegar a ser picnosis.

---



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

# ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00092

Matrícula: 2193802178

Integración de respuestas fisiológicas y bioquímicas como indicadores de vulnerabilidad ambiental en la anémona *Bunodosoma cavernatum* (Bosc, 1802) (Cnidaria: Anthozoa: Actinaria).



Con base en la Legislación de la Universidad Autónoma Metropolitana, en la Ciudad de México se presentaron a las 14:00 horas del día 29 del mes de abril del año 2022 POR VÍA REMOTA ELECTRÓNICA, los suscritos miembros del jurado designado por la Comisión del Posgrado:

DRA. MARCELA ARTEAGA SILVA  
DR. LEOBARDO MANUEL GOMEZ OLIVAN  
DR. JUAN CARLOS SEGOVIANO RAMIREZ

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretario el último, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS (ENERGIA Y MEDIO AMBIENTE)

DE: HUMBERTO IÑAQUI VALDEZ PERALTA

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

**APROBAR**

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

HUMBERTO IÑAQUI VALDEZ PERALTA  
ALUMNO

REVISÓ

MTRA. ROSALÍA SERRANO DE LA PAZ  
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBI

  
DR. ROMAN LINARES ROMERO

PRESIDENTA

  
DRA. MARCELA ARTEAGA SILVA

DR. LEOBARDO MANUEL GOMEZ OLIVAN

SECRETARIO

  
DR. JUAN CARLOS SEGOVIANO RAMIREZ