



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

CONCENTRACIÓN DE CONTAMINANTES
Y EVALUACIÓN DE BIOMARCADORES
EN ESCALA ESPACIO-TEMPORAL
EN FAUNA MARINA DEL ÁREA
AFECTADA POR EL DERRAME
PETROLERO DE LIMA NORTE EN 2022

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS DEL MAR

SARA AMADA CARDENAS FARFAN

LIMA – PERÚ

2025

ASESOR

Dr. Edgar Cruz Acevedo

Co-ASESOR

Dr. Pedro Eduardo Romero Condori

JURADO DE TESIS

DR. JORGE LARRY TAM MALAGA

PRESIDENTE

DR. LANDER MERMA MORA

VOCAL

DRA. MARIA DEL CARMEN IGARZA TAGLE

SECRETARIO (A)

DEDICATORIA.

Dedicado sobre todo a Dios que es mi fortaleza,
a mis amados abuelos Tacna y Rodolfo,
a mis padres José e Ingrid y a mis tíos Farfán Alayo.

AGRADECIMIENTOS.

Agradezco a mis asesores el Dr. Edgar y el Dr. Pedro por sus consejos,
a la Dra. María Eguíluz por su apoyo y enseñanzas de biología molecular,
a mis profesores de la maestría la Dra. Diana Ochoa y el Dr. Jorge Cardich,
quienes han sido parte de esta investigación. A los estudiantes voluntarios del
Laboratorio de Biología Marina: Cristina, William, Fiorella y Dante, por su ayuda
para procesar las muestras de esta tesis. A mis amigos de los laboratorios de
Biogeociencias y Paleontología por su compañía y cariño.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO.

PROCIENCIA - Contrato PE501079372-2022

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Los egresados:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES
1.	CARDENAS FARFAN SARA AMADA

Pertencientes al programa de la **MAESTRÍA EN CIENCIAS DEL MAR**, autores del trabajo titulado: **Concentración de contaminantes y evaluación de biomarcadores en escala espacio-temporal en fauna marina del área afectada por el derrame petrolero de Lima norte en 2022**, el cual ha sido elaborado, sustentado y aprobado, según corresponda, para optar por el grado de **MAESTRA EN CIENCIAS DEL MAR** bajo la modalidad de **TESIS**.

En calidad de docentes asesores de la Universidad Peruana Cayetano Heredia:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES DEL DOCENTE	FACULTAD	NIVEL DE ASESORÍA
1.	CRUZ ACEVEDO EDGAR	FACI	ASESOR
2.	ROMERO CONDORI PEDRO EDUARDO	FACI	CO ASESOR

Declaramos que el contenido del presente documento es original y que las citas y referencias a otros autores cumplen con las normas académicas establecidas. En ese sentido, hacemos constar que:

- El documento presenta un porcentaje de similitud de **6%**, según el reporte emitido por el software **Turnitin®** (identificador de entrega: **2938484250**; fecha de entrega: **20-04-2026**).
- Tras una revisión detallada del reporte y del contenido del trabajo en cuestión, no se han identificado indicios de plagio.
- Se certifica que el documento respeta los principios de integridad académica y cumple con los requisitos institucionales de originalidad.

Lugar y fecha: **Lima, 20 de abril de 2026**



Firma del asesor
C.E.: 004579748
ORCID: 0000-0002-4748-1329



Firma del Co-asesor
N° DNI: 44009312
ORCID: 0000-0001-9947-3868

ÍNDICE

RESUMEN
ABSTRACT

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	OBJETIVOS	6
III.	HIPÓTESIS	7
IV.	MARCO TEÓRICO	8
V.	METODOLOGÍA.....	28
VI.	RESULTADOS	41
VII.	DISCUSIÓN	75
VIII.	CONCLUSIONES.....	94
IX.	RECOMENDACIONES.....	96
X.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97
XI.	ANEXOS	

RESUMEN

El derrame de petróleo del 15 enero de 2022 al norte de Lima, Perú, afectó a las comunidades marino costeras de la región. En este estudio se evaluó la variación espacio-temporal de la concentración de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y metales, componentes del petróleo, en músculo e hígado de peces (*Scartichthys gigas* y *Labrisomus philippii*) y en tejido blando de bivalvos (*Perumytilus purpuratus* y *Semimytilus algosus*), y su relación con los biomarcadores de efecto: Factor de Condición (FC), Índice Hepático (IH) e Índice Gonadal (IG) en el caso de los peces; y biomarcadores de exposición: metalotioneínas (MT), citocromo P450 3A (CYP3) y catalasas (CT) en *Perumytilus purpuratus*. Se realizaron cinco muestreos entre septiembre de 2022 y enero de 2024 en ocho playas, desde playa Caveró en Ventanilla (11.84°S) hasta playa Huacho (11.12°S). Los HAP se analizaron por “*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*” (QuEChERS) y por Cromatografía de Gases a Presión Atmosférica – Espectrometría de Masas en Tándem (APGC-MS/MS). Los metales se analizaron por la técnica de espectroscopía de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS), mientras que los biomarcadores de exposición por RT-qPCR. El naftaleno tuvo las más altas concentraciones en peces y bivalvos. Se observaron patrones de concentración temporales, pero no espaciales; se evidenció un aumento del naftaleno, el Fe, Zn y Al en peces *S. gigas* de playa Santa Rosa de enero 2023 a enero 2024. En *S. gigas*, el criseno, Ni, Cr y Fe se asociaron negativamente con el IH e IG, posiblemente relacionado con daños en las funciones hepáticas y la capacidad reproductiva, respectivamente. Las CAT y MT en *P. purpuratus* estuvieron asociadas positivamente al fenantreno, fluoreno, Cr, Zn y Ni

como respuesta a un mayor estrés oxidativo y mecanismos de detoxificación. Este estudio muestra los impactos negativos del derrame de petróleo en la fauna marina del norte de Lima a mediano plazo y resalta la necesidad de monitoreos continuos en el área.

PALABRAS CLAVE: Derrame de petróleo, organismo biomonitor, hidrocarburos aromáticos policíclicos, metales pesados, biomarcadores de efecto.

ABSTRACT

The January 15, 2022, oil spill north of Lima, Peru, impacted coastal marine communities in the region. This study assessed the spatio-temporal variation in the concentration of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and metals—major components of crude oil—in muscle and liver tissues of fish (*Scartichthys gigas* and *Labrisomus philippii*), as well as in the soft tissues of bivalves (*Perumytilus purpuratus* and *Semimytilus algosus*), and their relationship with effect biomarkers: Condition Factor (CF), Hepatic Index (HI), and Gonadosomatic Index (GI) in fish; and exposure biomarkers: metallothioneins (MT), cytochrome P450 3A (CYP3), and catalase (CAT) in *Perumytilus purpuratus*. Five sampling campaigns were conducted between September 2022 and January 2024 at eight beaches, ranging from Cavero beach in Ventanilla (11.84°S) to Huacho beach (11.12°S). PAHs were analyzed using “Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe” (QuEChERS) and Cromatografía de Gases a Presión Atmosférica – Espectrometría de Masas en Tándem (APGC-MS/MS), metals by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), and exposure biomarkers by RT-qPCR. Naphthalene exhibited the highest concentrations in both fish and bivalves. Temporal, but not spatial, concentration patterns were observed; notably, an increase in naphthalene, Fe, Zn, and Al was detected in *S. gigas* from Santa Rosa beach between January 2023 and January 2024. In *S. gigas*, dibenzo(a,h)anthracene, chrysene, Ni, Cr, and Fe were negatively associated with HI and GI, possibly related to impaired hepatic function and reduced reproductive capacity, respectively. In *P. purpuratus*, CAT and MT were positively associated with phenanthrene, fluorene, Cr, Zn, and Ni, reflecting responses to increased oxidative stress and detoxification mechanisms.

This study provides evidence of the negative impacts of the oil spill on marine fauna along the northern coast of Lima and underscores the need for continuous monitoring in the area.

KEYWORDS: Oil spill, biomonitor organism, polycyclic aromatic hydrocarbons, heavy metals, metallothioneins.

I. INTRODUCCIÓN

El uso de combustibles fósiles ha contribuido al desarrollo de las sociedades humanas. Sin embargo, su aprovechamiento ha ocasionado accidentes de derrames de petróleo de distintas magnitudes (Davis et al., 2019). Un derrame de petróleo puede ocurrir durante cualquier parte del proceso de extracción o transporte, por falla de equipos, colisiones, entre otras razones (ITOPF, 2024). Estas fallas causan el esparcimiento del crudo en los ecosistemas, ocasionando graves consecuencias ambientales tanto en zonas marinas como terrestres (Patin, 2013). El 15 de enero del 2022, durante las operaciones de descarga del Buque Tanque Mare Doricum, se produjo un derrame de petróleo crudo Buzios (Gravedad API = 28.57), en las instalaciones del Terminal Multiboyas N° 2, de la refinería La Pampilla S.A.A., a cargo de Repsol, en el distrito de Ventanilla en Lima, Perú (SPDA, 2022). Se vertieron alrededor de 11,900 barriles de petróleo al mar, equivalente a 1,565 toneladas de petróleo (1 Ton = 7.6 barriles de petróleo, según la Independent Petroleum Association of America), considerado un derrame de gran magnitud al superar las 700 toneladas (ITOPF, 2024). Días después, el 25 de enero, se registró un segundo derrame de 8 barriles de petróleo en el mismo terminal (Bocanegra et al., 2022). Según el Organismo de Evaluación y Fiscalización Ambiental (OEFA), el área impactada abarcó más de 7'000,000 m² de mar y más de 1'800,000 m² de costa, desde la costa frontal a la refinería La Pampilla en el distrito de Ventanilla (11°56'S, 077°11'O), hasta la playa Pescadores en el distrito de Huacho (11°44'S, 077°39'O), incluyendo 71 sitios contaminados entre playas, acantilados, puntas y otras formaciones costeras (OEFA, 2022^a). El petróleo alcanzó a tres áreas naturales protegidas: Reserva Nacional Sistema de Islas, Islotes y Puntas Guaneras

(RNSIIPG) Islas Cavinzas e Islotes Palominos, Islote Grupo de Pescadores y la Zona Reservada Ancón (Ministerio del Ambiente, 2022).

Por un lado, el petróleo crudo es un sustrato viscoso y pegajoso, que produce daños físicos al cubrir las capas protectoras de la superficie de un organismo. Por otro lado, el complejo de hidrocarburos disueltos puede afectar los sistemas fisiológicos y bioquímicos de los organismos vivos (Patín, 2013). El petróleo crudo es una mezcla de compuestos de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y no hidrocarburos, incluidos metales pesados y metaloides (Chinedu y Chukwuemeka, 2018). Los HAP y metales pesados son sustancias químicas cancerígenas dañinas para la salud humana y ambiental (Jiang et al., 2018). Ocasionan perturbaciones a diferentes niveles de organización, en los sistemas bioquímicos, celulares, histológicos, fisiológicos y poblacionales (Honda y Suzuki, 2020).

Cuando el petróleo entra al mar se emulsifica y/o diluye, facilitando que los animales marinos queden expuestos a compuestos derivados de éste (Aponte et al., 2022). Los compuestos ingresan a los seres vivos por difusión, absorción o ingestión, acumulando en ocasiones concentraciones muy superiores a las que hay en el agua o los sedimentos (Gan et al., 2021). Esto da lugar al proceso de bioacumulación, cuando la tasa de absorción de un contaminante excede la tasa de pérdida y se acumula en los organismos (Blowes et al., 2003). En el presente trabajo se evaluó la variación espacio-temporal de concentración de HAP y metales pesados asociados al derrame de petróleo de Lima en la fauna marina y los efectos causados a nivel molecular e individual.

I.1. Planteamiento del problema

Los derrames de petróleo en el mar generan efectos adversos sobre los ecosistemas marino-costeros, incluyendo la mortalidad de organismos, alteración de hábitats y bioacumulación de contaminantes en la cadena trófica (Peterson et al., 2003). Sus efectos negativos son multifactoriales, es decir, varios factores determinarán los daños ocasionados y posibles consecuencias. Por un lado, aspectos como el volumen del crudo, composición y ubicación del derrame del crudo (Fingas, 2013; Chuah et al., 2022) van a influir en el potencial del daño ecológico. Por otro lado, los factores abióticos, como el clima, las corrientes superficiales y la geomorfología (bahías, acantilados y playas extensas), influyen en la meteorización, dispersión y el almacenamiento en áreas de sedimentación del crudo, respectivamente (Teunen et al., 2021).

La dispersión del crudo de petróleo derramado en Ventanilla, Lima, tuvo la influencia de la Corriente Costera Peruana, corriente marina que se desplaza de sur a norte (Mogollón et al., 2023). Este factor planteó interrogantes sobre la variación espacial y temporal de la concentración de los contaminantes en los organismos marinos.

Se desconoce la variabilidad espacial y temporal de la concentración de los compuestos de petróleo en el ambiente y dentro de los organismos. Además, la evaluación de la concentración debe considerar las características de la biota afectada, ya que cada especie tiene su propio umbral de resistencia a los efectos bioquímicos producidos por la toxicidad del petróleo y sus propios mecanismos de detoxificación (Zhang et al., 2019a).

El desconocimiento sobre la variabilidad espacio-temporal de la concentración de contaminantes derivados del petróleo en la fauna marina, derramados al norte de Lima, y sobre los posibles efectos nocivos provocados en los organismos, sentaron las bases para plantear dos preguntas de investigación ¿Cómo varía espacial y temporalmente la concentración de contaminantes en la fauna marina de las áreas afectadas por el derrame de petróleo? y ¿Cuál es la relación entre los biomarcadores de efecto y exposición con la concentración de los contaminantes derivados del petróleo en los bivalvos?

I.2. Justificación del estudio

Los HAP y los metales pesados pueden ser absorbidos por los organismos en el medio marino, tendiendo a bioacumularse en sus tejidos y biomagnificarse a lo largo de la red trófica. Por lo que, las especies intermareales y bentónicas pueden desempeñar un papel clave como organismos biomonitores y proporcionar información sobre los efectos de la acumulación de contaminantes tanto a nivel molecular como a nivel de organismo (Suárez-Ulloa et al., 2013; Fernández-Tajes., 2011). El presente estudio permitirá comprender el impacto del derrame de petróleo en la fauna de los ecosistemas marino-costeros del norte de Lima a mediano plazo, al evaluar la concentración de contaminantes en gradientes espacio-temporales. Permitirá identificar los tipos de hidrocarburos y metales que se están acumulando en la biota, en un plazo de dos años después del derrame.

La evaluación de biomarcadores de exposición y efecto, a nivel molecular e individual, facilitará comprender los efectos a corto plazo, ya que evidencian

procesos de estrés oxidativo, daño en el ADN, alteraciones en la expresión génica y en la síntesis de proteínas de defensa (como metalotioneínas o citocromos P450), así como efectos en la condición corporal de los individuos. En conjunto, la evaluación de la concentración y los biomarcadores, ayudarán a vincular la exposición crónica con posibles consecuencias en la salud y resiliencia de las poblaciones marinas.

Este derrame de petróleo es la primera emergencia ambiental en una zona marino-costera de Perú y no se ha reportado una experiencia previa de un derrame de esta magnitud con el tipo de crudo de Buzios en ambiente marino en el mundo (Naciones Unidas, 2022). Esta investigación es la primera en la que se relaciona la concentración de HAP y metales con biomarcadores de exposición y efecto en especies del litoral peruano, las cuales se proponen como posibles biomonitoras en el contexto de un derrame petrolero en el medio marino peruano y proporcionará una línea base sobre la cual evidenciar sus consecuencias.

II. OBJETIVOS

II.1. Objetivo general

Describir la variación espacio-temporal en la concentración de hidrocarburos aromáticos policíclicos, metales pesados y biomarcadores de exposición y efecto en fauna marina de la zona afectada por el derrame de petróleo ocurrido en la costa norte de Lima en 2022.

II.2 Objetivos específicos

- Describir la variación espacio-temporal de la concentración de hidrocarburos aromáticos policíclicos y metales pesados en la fauna marina de la zona del derrame de petróleo ocurrido al norte de Lima en 2022.
- Cuantificar genes biomarcadores de exposición para el chorito *Perumytilus purpuratus*, como respuesta a la presencia de contaminantes derivados del petróleo.
- Analizar el grado de asociación la variación espacio-temporal de la concentración de contaminantes en la fauna evaluada con los biomarcadores de exposición y efecto.

III. HIPÓTESIS

En un derrame de petróleo en el mar, el crudo sufrirá procesos de meteorización y se irá dispersando por acción de las corrientes marinas. Algunos compuestos, como los HAP y metales pesados, se mantendrán en el ambiente marino, debido a la gran persistencia que les proveen sus estructuras químicas y características físicas, las cuales determinarán su biodisponibilidad y capacidad de bioacumularse en función del tiempo. Por otro lado, la Corriente Costera Peruana influenciará en la dispersión del crudo del petróleo, en un sentido desde el sur hacia el norte. Bajo este criterio en el presente estudio, se plantearon las siguientes hipótesis:

1. La fauna marina de la zona de estudio evidenciará una gradiente espacial en la concentración de contaminantes, de sur (mayores concentraciones) a norte (menores concentraciones) y una gradiente temporal con mayores concentraciones al inicio del monitoreo.
2. Existirá una asociación entre la concentración de contaminantes en los tejidos de las especies analizadas y la respuesta de los biomarcadores de exposición y de efecto.

IV. MARCO TEÓRICO

IV.1. Petróleo

IV.1.1. Composición del petróleo

El petróleo crudo es producto de restos de plantas y animales prehistóricos, enterrados en el lodo primitivo de pantanos, lagos y océanos. Durante muchos siglos, capas de lodo y desechos orgánicos fueron sometidos a enormes presiones y altas temperaturas, formando petróleo (IARC, 1989). Los principales elementos del petróleo son el carbono y el hidrógeno, en menor cantidad están presentes compuestos no hidrocarburos, llamados heteroátomos, que contienen en su estructura química predominantemente uno o más átomos de nitrógeno, azufre y oxígeno, denominados compuestos NSO. Además, contiene trazas de metales pesados, como cadmio (Cd), mercurio, plomo, vanadio y níquel, así como otros elementos metálicos (Posthuma, 1977; Marigómez, 2014; Figura 1). Los compuestos orgánicos e inorgánicos se encuentran en cantidades variables dependiendo del tipo de crudo de petróleo (Chuah et al., 2022). Sin embargo, la composición general sigue siendo bastante consistente entre las fuentes (Marigómez, 2014; Walters, 2020; Tabla 1).

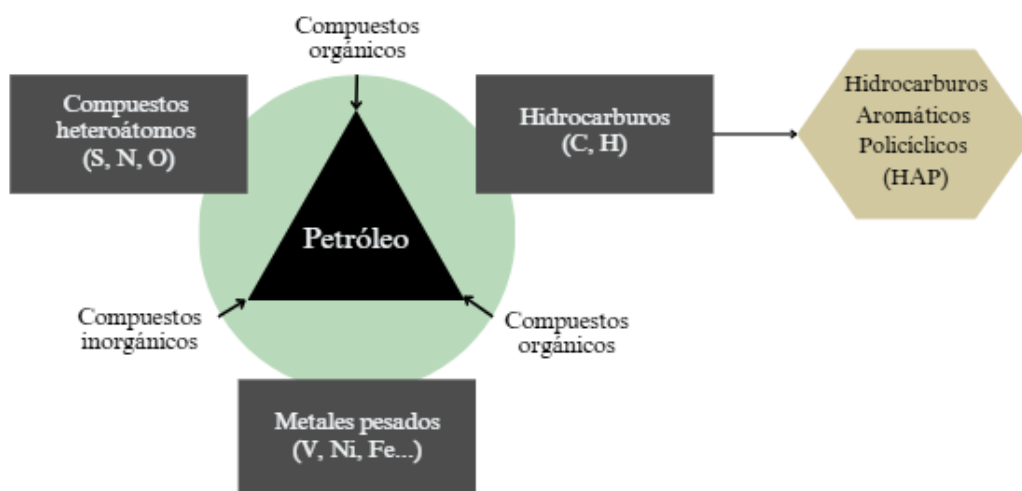


Figura 1. Composición química del petróleo. Adaptado de Eser, S. (2023).

Tabla 1. Porcentaje de elementos en el petróleo crudo (Walters, 2020).

Elemento	(% peso)
Carbono	84 – 87
Hidrógeno	11 – 14
Sulfuro	<0.1 – 8
Oxígeno	<0.1 – 1.8
Nitrógeno	<0.1 – 1.6
Metales	<0.1

La densidad del petróleo es expresada y categorizada en gravedad API en lugar de gravedad específica (Tabla 2). Ambos índices están inversamente relacionados. Los crudos ligeros son ricos en hidrocarburos parafínicos y de bajo punto de ebullición; los crudos pesados contienen mayores cantidades de moléculas de alto punto de ebullición, similares al asfalto, tienden a ser más viscosos, y contienen mayores cantidades de heteroátomos (Walters, 2020). La mayor parte del

petróleo son hidrocarburos (IARC, 1989). Los hidrocarburos están compuestos por carbono e hidrógeno y estructuralmente se clasifican en tres categorías: (1) compuestos alifáticos de cadena abierta o parafinas, (2) compuestos cíclicos o alicíclicos como los naftenos y (3) compuestos de anillos aromáticos (Patnaik, 2007; Figura 2).

Tabla 2. Categorías del petróleo por gravedad API, según Gary et al. (2007).

Categoría	Gravedad
Crudo ligero	API>38
Crudo medio	38>API>29
Crudo pesado	29>API>8.5
Crudo muy pesado	API<8.5

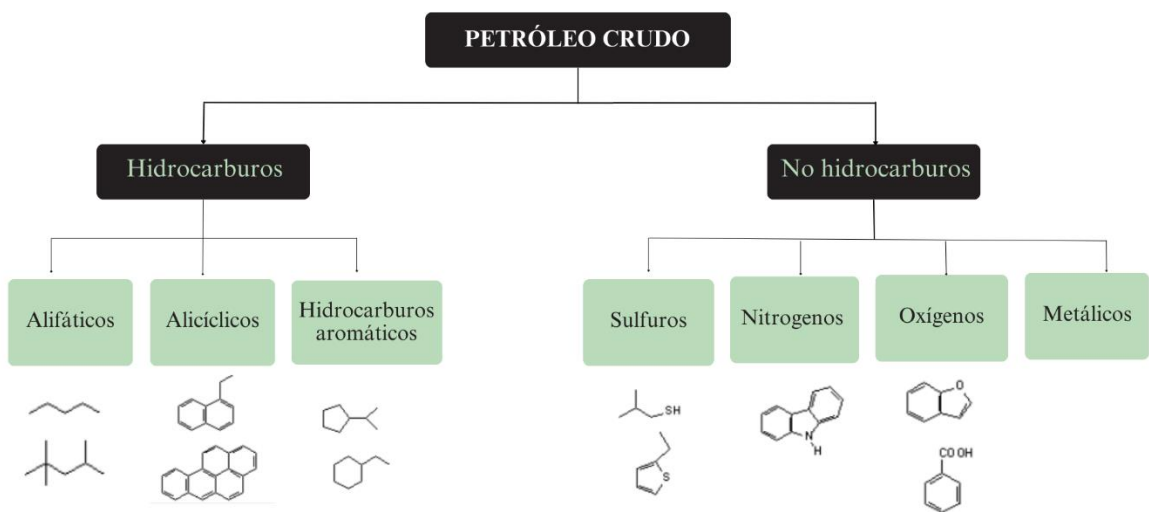


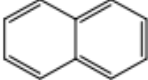
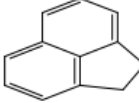
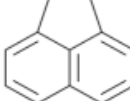
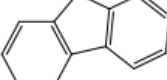

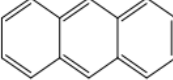
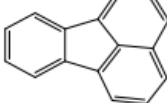
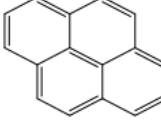
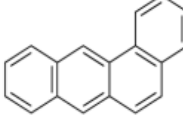
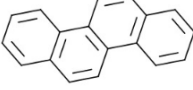
Figura 2. Estructuras químicas del petróleo crudo, adaptado de Neamah, (2014).

Los hidrocarburos aromáticos poseen anillos de benceno y cada anillo posee seis grupos de carbono-hidrógeno unidos a cada vértice de un hexágono (OIT,1998). Los hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP) están compuestos por más de dos anillos de benceno y se clasifican por el número de anillos

(OIT,1998). Los de bajo peso molecular (Low molecular weight; por sus siglas en inglés LMW) poseen de dos a tres anillos y se encuentran frecuentemente en fase gaseosa, los HAP de peso molecular medio (Medium molecular weight; por sus siglas en inglés: MMW) poseen cuatro anillos, generalmente están presentes en fase gaseosa y particulada, y los HAP de alto peso molecular (High molecular weight; por sus siglas en inglés: HMW) poseen cinco y seis anillos y se distribuyen principalmente en fase particulada (Tabla 3; Alexandrino et al., 2024).

Los HAP son sustancias químicas lipofílicas no polares que persisten en el ambiente durante períodos prolongados (Donnelly et al., 2010). Son tóxicos para la fauna marina, causando mortalidad o efectos subletales a nivel embrionario, fisiológico, metabólico y reproductivo (Price y Mager, 2020; Singh et al., 2023; Silva et al., 2024). El petróleo contiene más de 30 HAP, sin embargo, existen 16 HAP prioritarios designados por la Agencia de Protección Ambiental (Environmental Protection Agency; por sus siglas en inglés: EPA) de los Estados Unidos y siete de ellos son posibles carcinógenos humanos: Benzo(a)pireno, Benzo(a)antraceno, Benzo(b)fluoranteno, Benzo(k)fluoranteno, criseno, dibenzo(a)antraceno, indeno(1,2,3-cd)pireno (Tabla 3; USEPA 1993). De ellos, el benzo(a)pireno es el congénere más monitoreado debido a su toxicidad y persistencia, y ha sido ampliamente utilizado como contaminante modelo en ecotoxicología (Dellali et al., 2021). La Unión Europea en el reglamento 2023/915 establece criterios sobre los niveles máximos de HAP en alimentos marinos. Se detallan en la Tabla 4.

Tabla 3. Estructura química y peso molecular de los HAP. Traducido de Zango et al. (2020).

Compuesto	Abreviatura	Fórmula	N° de anillos de benceno	Estructura
Naftaleno	Naf	C ₁₀ H ₈	2	
Acenaftileno	Acl	C ₁₂ H ₈	2	
Acenafteno	Ace	C ₁₂ H ₁₀	2	
Fluoreno	Flu	C ₁₃ H ₁₀	2	
Fenantreno	Fen	C ₁₄ H ₁₀	3	
Antraceno	Ant	C ₁₄ H ₁₀	3	
Fluoranteno	Fla	C ₁₆ H ₁₀	4	
Pireno	Pir	C ₁₆ H ₁₀	4	
Benzo(a)antraceno	BaA	C ₁₈ H ₁₂	4	
Criseño	Cri	C ₁₈ H ₁₂	4	

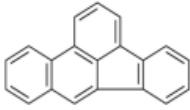
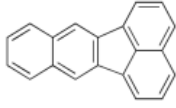
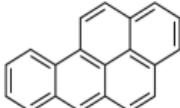

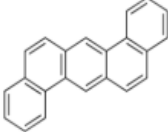
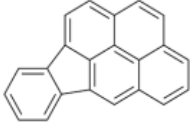
Benzo(b)fluoranteno	BbF	C ₂₀ H ₁₂	5	
Benzo(k)fluoranteno	BkF	C ₂₀ H ₁₂	5	
Benzo(a)pireno	BaP	C ₂₀ H ₁₂	5	
Benzo(ghi)perileno	BghiP	C ₂₂ H ₁₂	5	
Dibenzo(a,h)antraceno	DahA	C ₂₂ H ₁₄	5	
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	InP	C ₂₂ H ₁₂	5	

Tabla 4. Niveles máximos de HAP para alimentos marinos

HAP	Organismo	Nivel máximo (ug/kg)	Tejido
Benzo(a)pireno	Moluscos bivalvos	5.0	Completo
	Pescado	2.0	Músculo o completo
Sumatoria de: Benzo(a)pireno, benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno y criseno	Moluscos bivalvos	30.0	-
	Pescado	12.0	Completo o eviscerado

IV.1.2. Procesos de meteorización del petróleo en el mar

Al ingresar al ambiente marino, la composición química y propiedades físicas del petróleo comienzan a cambiar debido los procesos dinámicos del océano, durante ese proceso se le denomina “petróleo meteorizado” (National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine, 2022). En el agua de mar el petróleo original desaparece en unas pocas horas o días, a medida que se descompone en fracciones. En condiciones de contaminación a largo plazo, la forma dominante es aceite emulsionado y disuelto (Figura 3; Patin, 2013). En la Tabla 5 y Figura 4 se describen los principales procesos de meteorización.

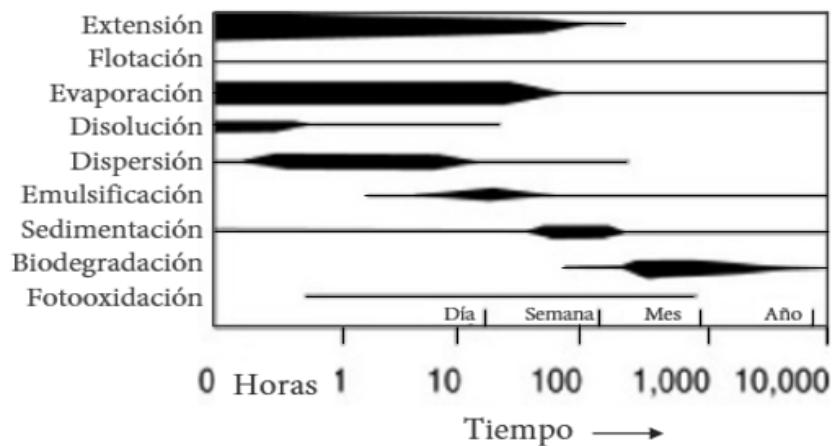


Figura 3. Procesos sobre una mancha de petróleo en función del tiempo. El grosor de la línea indica la magnitud relativa. Adaptado de Swan et al. (1994).

Tabla 5. Resumen de los procesos que afectan al petróleo en el mar. Fuente: National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (2022).

Proceso	Definición	Condiciones
Extensión en la superficie	Movimiento del petróleo en la superficie del mar que crea charcos delgados.	Los aceites de baja viscosidad se extienden más rápidamente que aquellos con alta viscosidad.
Dispersión y dilución	Cambios en las concentraciones de hidrocarburos derramados.	Las concentraciones disminuyen cuando el petróleo se mezcla con grandes volúmenes de agua.
Evaporación	Transferencia de sustancias más volátiles de la mancha de petróleo al aire por vaporización.	Favorecido por temperaturas cálidas, acción del viento y turbulencia.
Fotooxidación	Reacciones químicas que ocurren en el petróleo como resultado de la luz solar en presencia de oxígeno.	Petróleo en la superficie del mar, en la zona fótica y en las costas/playas.
Disolución	Transferencia de compuestos solubles en agua del petróleo al agua circundante.	Cuando hay alta fracción de compuestos solubles en agua en el petróleo derramado.
Emulsificación	Formación de una mezcla que consiste en pequeñas gotas de aceite y agua.	Por turbulencia y uso de dispersantes.
Biodegradación	Metabolismo y descomposición de compuestos orgánicos por microorganismos.	Cuando hay presencia de nutrientes como nitrógeno y fósforo y una amplia gama de microorganismos.
Sorción de partículas de minerales	Fijación de sustancias químicas orgánicas hidrófobas a superficies minerales.	Compuesto de alta hidrofobicidad y alto contenido mineral en el medio.

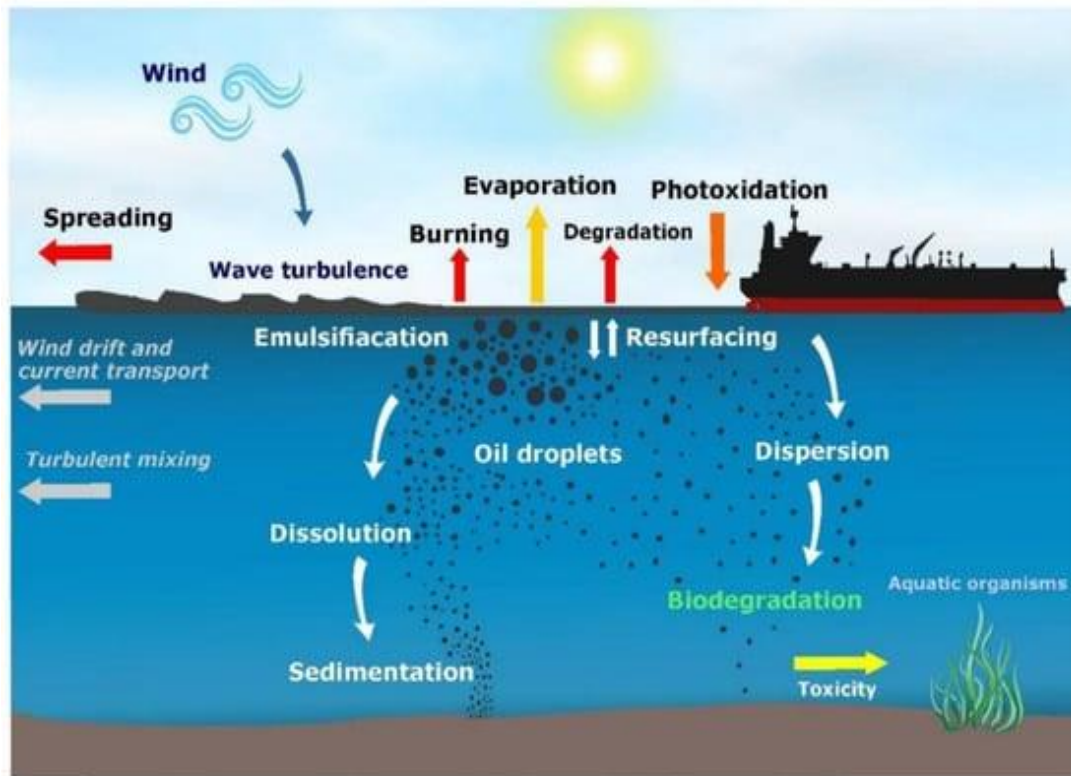


Figura 4. Transporte, meteorización y destino del petróleo derramado en el medio marino.
Fuente: Bacosa et al. (2022).

IV.2. Metales pesados

Los metales pesados son un grupo amplio de elementos químicos, algunos esenciales para el desarrollo de funciones fisiológicas, pero son tóxicos en altas concentraciones como el manganeso (Mn), hierro (Fe), Cobalto (Co), cobre (Cu), zinc (Zn) y Cromo (Cr) y otros son tóxicos, incluso en dosis bajas como el plomo (Pb), mercurio (Hg), níquel (Ni) y cadmio (Cd) y el metaloide arsénico (As; Jakimska, 2011; Pérez-Cadahía et al., 2008). En este estudio, se refiere a los metales pesados y el metaloide evaluado de manera general como “metales”, por practicidad. La toxicidad de los metales a menudo se relaciona con su capacidad para causar estrés oxidativo, al aumentar la generación de especies reactivas de

oxígeno y/o deteriorar las defensas antioxidantes (Oliveira et al., 2018). Los metales pesados son persistentes en el ambiente, contaminan las redes tróficas y generan problemas de salud (Wieczorek-Dąbrowska et al., 2013). La retención de metales en el cuerpo de un organismo depende de la especiación del metal y los mecanismos fisiológicos del organismo para la regulación y desintoxicación (Ali et al., 2019).

El crudo derramado al norte de Lima en enero 2022 contenía en su composición metales pesados (Tabla 6). La liberación de metales en el medio marino es un riesgo para la seguridad alimentaria, la Organización Mundial de la salud, la Unión Europea, entre otros organismos internacionales, así como la Autoridad Nacional de Sanidad e Inocuidad en Pesca y Acuicultura del Perú (SANIPES) han establecido niveles de concentración máximos de metales pesados en alimentos de origen marino (Tabla 7).

Tabla 6. Metales pesados en la composición del petróleo crudo derramado al norte de Lima.

Fuente: OEFA, 2022.

Metal	Concentración (ppm)
V	9.6
Ni	6.9
P	5
Na	3.5
Fe	1.2
Pb	1
Cd	1
Ca	0.8
Cu	0.7

Tabla 7. Niveles máximos permisibles de metales en alimentos de origen marino.

Metal pesado	Organismo	Nivel máximo (mg/kg)	Tejido	Fuente
Cadmio (Cd)	Moluscos bivalvos	1, 2	Completo	Comisión Europea, 2023; Codex Alimentarius Commission, 1995.
	Pescado	0.05, 0.3	Músculo o completo	SANIPES 2016; Comisión Europea 2023.
Plomo (Pb)	Moluscos bivalvos	1.5	-	Comisión Europea 2023; SANIPES 2016.
	Pescado	0.3	Completo o eviscerado	Codex Alimentarius Commission, 1995; Comisión Europea 2023; SANIPES 2016.
Arsénico (As; inorgánico)	Pescado	2	Entero o productos	Australia New Zealand Food Standards Code – Schedule 19.
	Moluscos bivalvos	5	-	SANIPES 2016.

IV.3. Principios de ecotoxicología

IV.3.1. Bioacumulación

La bioacumulación se caracteriza por la acumulación de compuestos químicos en el organismo a lo largo del tiempo. La Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) la define como la ingesta directa de la matriz atmosférica (bioconcentración) y la ingesta de alimentos. La bioacumulación ocurre cuando la eliminación es superada por la ingesta (Rajput et al., 2023). Sin embargo, la capacidad de bioacumulación de una sustancia varía considerablemente dependiendo de la especie del organismo, su etapa de desarrollo, las características ecológicas del sistema, además de las propiedades de la sustancia (Luoma, 1980). Los productos químicos bioacumulables son hidrofóbicos, es decir, tienen baja solubilidad en agua y son lipofílicos, lo que les permite almacenarse en el tejido adiposo donde el metabolismo es lento (Luoma, 1980). Los organismos acuáticos

están expuestos a los contaminantes químicos por dos vías: absorción, a través de las branquias y la piel, o por ingestión (Beiras, 2018). Cuando el contaminante es ingerido ocurre la biomagnificación, proceso donde la concentración de una sustancia química en un organismo va aumentando en niveles superiores de la cadena trófica. Los productores primarios absorben los contaminantes que están presentes en su entorno. Luego, un consumidor se come al productor y la concentración de la sustancia química se transfiere (Figura 5; Rosenfeld y Feng, 2011).

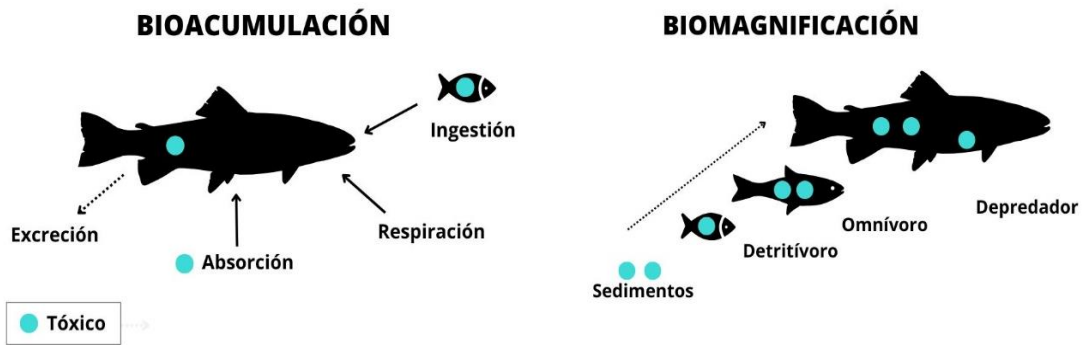


Figura 5. Esquema de bioacumulación y biomagnificación en los organismos marinos.

IV.3.2. Biomarcadores

Un biomarcador es una variación que se puede medir a distintos niveles dentro de un individuo (molecular, celular, fisiológico, incluyendo cambios conductuales) inducida por factores estresantes y deben demostrar una desviación del estado normal (Walker et al., 2001; Cotou et al., 2012). Se han utilizado ampliamente para establecer la conexión entre los niveles externos de exposición a contaminantes, los niveles internos de contaminación y los efectos adversos tempranos en los organismos (Kroon et al., 2017). El criterio de clasificación de

los biomarcadores más frecuentes, los agrupa en tres categorías: de exposición, de efecto y de susceptibilidad (Van der Oost et al., 2003).

IV. 3.2.1. Biomarcadores de exposición

Durante la exposición de contaminantes a un organismo, los primeros efectos medibles son a nivel molecular (Chahouri et al., 2023). Los biomarcadores de exposición indican que ha ocurrido una respuesta bioquímica temprana en un individuo después de la exposición a un contaminante (Kroon, et al., 2017). Los organismos vivos al estar expuestos a contaminantes dependen de procesos de biotransformación mediados por enzimas que conduce a cambios celulares en tres fases para convertir a los compuestos insolubles a solubles en agua: Fase I (CYP450), fase II (Metalotioneínas) y fase III (transportadores xenobióticos; Figura 6). Este proceso de biotransformación genera especies reactivas de oxígeno (ROS) aumentando la oxidación natural de las células, donde las células dependen de antioxidantes como la catalasa (Chahouri et al., 2023).

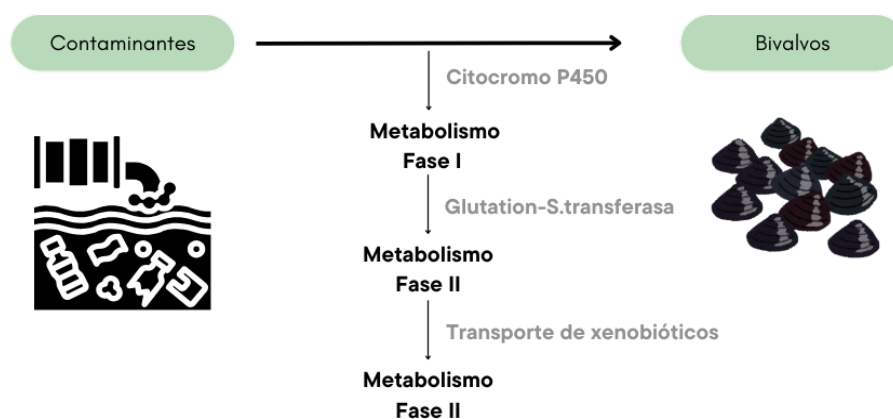


Figura 6. Fases de desintoxicación. Adaptado de Chahouri et al., (2023).

Las hemoproteínas del citocromo P450 (CYP450) están codificadas por uno de los grupos de genes más diversificados y desempeñan un papel importante en la biotransformación de xenobióticos (Zhang et al., 2019a). Están presentes en procariotas y eucariotas (Cunha et al., 2019). Las enzimas del citocromo P450 3A (CYP3A) se toman como la primera línea de defensa para evitar que el cuerpo acumule sustancias lipofílicas (Hegelund y Celander, 2003). En invertebrados, se han descrito homólogos del gen CYP3 en especies como el tunicado *Ciona* spp, poliquetos y el mejillón *Mytilus edulis* (Tian et al., 2014). Las Metalotioneínas (MT) son proteínas citosólicas de bajo peso molecular, ricas en cisteína y capaces de unirse a varios metales, como Cd, Cu, Ni, Pb y Zn. (Le et al., 2016). Se encargan de mantener la homeostasis del Zn y Cu e intervienen en la desintoxicación de metales no esenciales y son barredores de radicales libres (Lemus et al., 2016). Actúan interceptando y uniendo iones metálicos a medida que son absorbidos por la célula y también mediante la eliminación de metales por ligandos (Kroon et al. 2017). En bivalvos, las MT se emplean como biomarcador de contaminación ambiental, al considerar que elevadas concentraciones de metales pesados inducen su expresión (Geret y Cosson, 2002). Se han utilizado ampliamente en estudios ecotoxicológicos en condiciones de campo y laboratorio (Le et al., 2016). La catalasa (CAT) es la enzima antioxidante que descompone el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) en agua y oxígeno. El H₂O₂ es un potente agente oxidante que puede causar daños celulares (Aladesanmi et al., 2017). La CAT es un biomarcador de defensa muy pertinente y sensible a los cambios del ambiente (Kourdali et al., 2022).

IV.3.2.2. Biomarcador de efecto

Se evidencian a través de alteraciones bioquímicas, fisiológicas u otro tipo, medibles en los tejidos o fluidos corporales de un organismo, que son asociados con deterioro de la salud (Van der Oost et al, 2003). Los índices somáticos, son biomarcadores de efecto que reflejan la condición de los peces determinada por la morfología (Kroon et al., 2017). El Factor de condición (FC) se utiliza para evaluar la condición general de peces basándose en que los que tienen mayor peso o longitud, presentan una mejor condición (Cifuentes et al., 2012). El Índice hepatosomático (IH), se utiliza para identificar posibles enfermedades hepáticas (Kroon et al., 2017) y el Índice gonadosomático (IG) o índice gonadal, se utiliza como indicador de condición reproductiva (Kroon et al., 2017).

IV.3.2.3. Biomarcadores de susceptibilidad

Es la capacidad inherente o adquirida de un organismo para responder a la exposición de un contaminante, incluidos los cambios en los receptores que alteran la susceptibilidad de un organismo a esa exposición (Van der Oost et al., 2003).

IV.3.3. Bioindicador y biomonitor

En la comunidad científica existen diferentes enfoques para definir a los bioindicadores y biomonitores, por lo que suele no estar clara la definición y diferencia entre ambos términos (Markert et al., 2003). En la Tabla 8 se describe la diferencia de ambos términos según distintos autores.

Tabla 8. Diferencias entre la definición de organismo bioindicador y biomonitor.

Biomonitor	Bioindicador
Son especies que cuantitativamente reflejan los impactos antropogénicos, generalmente la concentración de contaminantes (Lopes et al., 202)	Especies que modifican sus funciones vitales en respuesta a un contaminante y por su presencia y/o abundancia nos informan sobre la salud ambiental (Lower y Kendall, 1990).
Es un organismo o una comunidad que contiene información sobre los aspectos cuantitativos de la calidad del medio ambiente. Un biomonitor siempre es un bioindicador (Markert et al., 2003).	Organismos cuyo contenido de contaminantes y/o estructura morfológica, histológica o celular informan sobre alteraciones cualitativas del medio ambiente. Un bioindicador no necesariamente es un biomonitor (Markert et al., 2003).
Cuando se obtiene información cuantitativa sobre el estado del medio ambiente, se refiere a biomonitores (Hassan et al. 2020).	Cuando se estudia la salud del medio ambiente y la calidad de los cambios que se están produciendo, nos referimos a bioindicadores (Hassan et al. 2020).

Este estudio se refiere a las especies como organismos biomonitores, porque cumplen con el rol de brindar información cuantitativa a través de la concentración de contaminantes en diferentes periodos temporales. Un buen bioindicador/biomonitor debe ser sésil o sedentario con una amplia distribución espacial, fácil de identificar y recolectar, tener buena sensibilidad a los contaminantes, no estar en la lista de especies en peligro de extinción, con anatomía y biología conocida (Chahouri et al., 2023). Los peces son biomonitores clave para la evaluación de los ecosistemas acuáticos porque son ubicuos y tienen influencia en la red trófica (Kroon et al. 2017). Los peces de roca residentes permanecen en el mismo lugar por varios años, y son considerados como especies ideales para evaluar los efectos de estresores (Marti et al., 1999). *Labrisomus philippii* (Perciformes:

Labrisomidae) de nombre común “trambollo”, es un pez bentónico-litoral que habita en la costa rocosa intermareal y submareal, está distribuido en el Pacífico sureste desde Paita, Perú (7°S) hasta Coquimbo, Chile (30°S). Es carnívoro, generalista y eurífago, se alimenta preferentemente de invertebrados (Iannacone, 2011; Montenegro y Gonzáles, 2012; Figura 7). *Labrisomus philippii* es sedentario, vive en aguas someras de aproximadamente 5 a 6 metros de profundidad por lo que podría ser empleada para estudios de monitoreo de contaminantes (Montenegro y Gonzáles, 2012). Posee un marcado dimorfismo sexual, donde el macho, de mayor tamaño, tiene un tono anaranjado de fondo, manchas café y puntos azulados, mientras que, la hembra es de un tono color café claro y gruesas franjas reticuladas café oscuro. Los machos poseen una talla máxima de 35 cm y las hembras de 27 cm (Méndez-Abarca y Pepe-Victoriano, 2020).

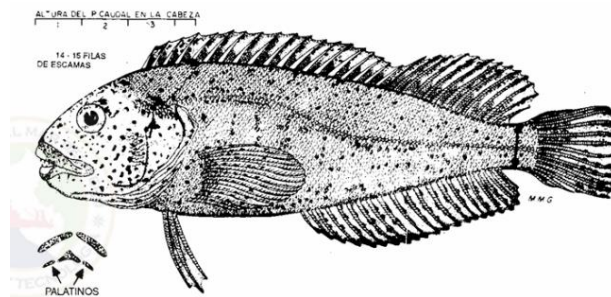


Fig. 353 *Labrisomus philippii* (S.) “Trambollo”

Figura 7. Pez *Labrisomus philippii*. Fuente: Chirichigno y Velez, 1998.

Scartichthys gigas (Perciformes: Blenniidae) de nombre común “borrachito”, es una especie considerada endémica del océano Pacífico Suroriental, su distribución se describió desde Guayaquil, Ecuador, hasta Valdivia, Chile y posteriormente se extendió a Panamá (Méndez-Abarca y Mundaca, 2016; Figura 8). Habita ambientes intermareales rocosos entre 0-10 m de profundidad (Iannacone et al. 2012). Existe

una discordancia sobre si es herbívora u omnívora, porque gran parte de su dieta son las algas, pero también puede incluir restos de invertebrados (Mendéz-Abarca y Mundaca, 2016; Berrios y Vargas, 2004). Muestra un patrón de coloración altamente variable entre individuos, algunos machos juveniles adaptan su coloración al entorno dominado por algas para establecer territorios reproductivos antes de alcanzar la madurez sexual (Mendéz-Abarca y Mundaca, 2016).

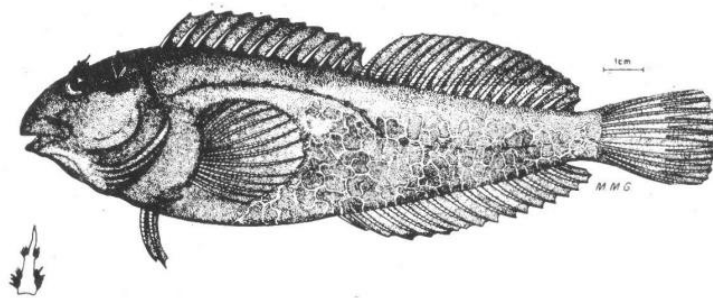


Figura 8. Pez *Scartichthys gigas*. Fuente: Chirichigno y Velez, 1998.

Los invertebrados marinos son ampliamente utilizados como biomonitores/bioindicadores por ser organismos filtradores que se alimentan de nutrientes suspendidos del medio acuático y acumulan altos niveles de contaminantes ambientales (Palmer et al., 2022). Por ser organismos sésiles, están permanentemente expuestos a dichas sustancias (Salamanca et al., 2004). En el intermareal peruano coexisten dos especies de bivalvos: *Perumytilus purpuratus* y *Semimytilus algosus*. Ambos demuestran una zonificación distinta, *P. purpuratus* se expande en las zonas superiores de las rocas, por lo contrario, *S. algosus* forma una estructura en las zonas más bajas de las rocas (Tokeshi et al., 1989). *Perumytilus purpuratus* es uno de los mejillones más comunes en el intermareal rocoso del sur este del pacífico en Sudamérica, desde Ecuador hasta el estrecho de Magallanes, extendiéndose hasta la costa atlántica de Santa Cruz, Argentina. Forma

densas matrices tridimensionales para incrementar su protección frente al efecto mecánico de las olas (Figura 9). Se le considera un ingeniero ecosistémico por ser capaz de mantener una alta diversidad de especies asociadas en los hábitats en que puede ser encontrado (Guíñez y Castilla, 1999). Esta especie es dioica, el manto femenino es marrón y el manto del macho es amarillo (Montenegro et al., 2010).



Figura 9. Colonia de *Perumytilus purpuratus*. Fotografía: Sara Cárdenas

Semimytilus algosus es nativo de la costa del Pacífico de América del Sur, y sus rangos de distribución van desde Manta, Ecuador ($0^{\circ}56'S$, $80^{\circ}92'O$) hasta el Golfo de Arauco, Chile ($37^{\circ}12'S$, $73^{\circ}20'W$) (Osorio y Bahamonde 1968). Posee una concha alargada; interiormente nacarado con aductores anteriores presentes y aductores y retractores posteriores continuos; placa de bisagra sin dientes y superficie externa lisa con anillos concéntricos e irregulares desde el umbo hasta el borde posterior (Figura 10; Bigatti et al., 2014). La especie es hermafrodita simultánea con gónadas masculinas y femeninas ubicadas en los tejidos del manto en lados opuestos del cuerpo (diferentes mitades de la concha): el manto gris violeta contiene gónadas femeninas y el manto blanquecino contiene gónadas masculinas (Lubosny, 2020). En su rango nativo, *S. algosus* es reproductivamente activo

durante todo el año, se observan reclutas durante todo el año y hay un pico reproductivo durante los meses de verano (Bigatti et al., 2014).



Figura 10. *Semimytilus algosus*. Fotografía: Instituto de Fomento Pesquero de Chile.

V. METODOLOGÍA

V.1. Diseño de estudio

Se seleccionaron ocho playas al norte de Lima. Partiendo desde playa Caveró, la más cercana al punto de derrame, avanzando por la línea de costa hacia el norte: Bahía Blanca, playa Santa Rosa, playa de Ancón, Pasamayo, Chancay, playa Paraíso y Huacho, con el fin de construir una gradiente espacial (Figura 11, Tabla 9). Se realizaron cinco monitoreos siguiendo una gradiente temporal, desde septiembre 2022 hasta enero 2024 (Tabla 10).

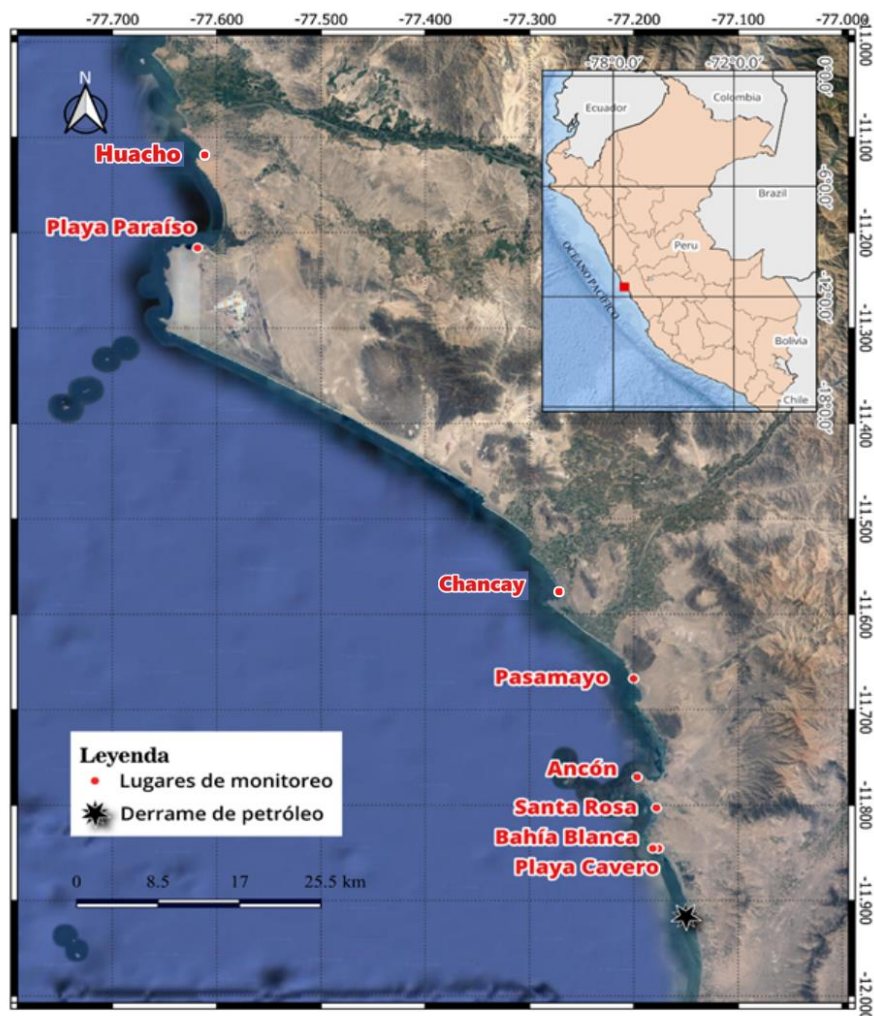


Figura 11. Mapa de las playas monitoreadas de sur a norte: Playa Caveró, Bahía Blanca, playa Santa Rosa, playa de Ancón, Pasamayo y playa Paraíso.

Tabla 9. Coordenadas de los lugares de monitoreo

N°	Lugar	Latitud	Longitud	Distancia aproximada respecto al derrame de petróleo
1	Playa Cavero	-11.845404	-77.17632	7.9 Km
2	Bahía Blanca	-11.845319	-77.181786	9.3 Km
3	Santa Rosa	-11.802854	-77.178327	12.4 Km
4	Ancón	-11.770614	-77.196795	15.8 Km
5	Pasamayo	-11.667394	-77.200278	28.2 Km
6	Chancay	-11.575138	-77.272037	41.3 Km
7	Playa Paraíso	-11.2159508	-77.6183996	92.4 Km
8	Huacho	-11.122500	-77.617237	104.3 Km

Tabla 10. Fechas de las salidas de monitoreo.

Monitoreo	Fecha	Meses post derrame de petróleo
Primer monitoreo	15 y 16 de septiembre 2022	08 meses
Segundo monitoreo	18 y 19 de enero 2023	12 meses
Tercer monitoreo	05 y 06 de mayo 2023	16 meses
Cuarto monitoreo	12 y 13 de septiembre 2023	20 meses
Quinto monitoreo	24 y 25 d enero 2024	24 meses

V.1.1. Población

Como objetos de estudio se escogieron a los peces tramboyo (*Labrisomus philippii*) y borrachito (*Scartichthys gigas*) y a los choritos intermareales *Semimytilus algosus* y *Perumytilus purpuratus*, debido a su amplia distribución en el litoral de Perú.

V.1.2. Muestra

En cada monitoreo se procuró adquirir entre 3 y 8 peces por playa dependiendo de la disponibilidad y aproximadamente 50 choritos de cada especie por playa para los análisis de HAP y metales; mientras que para los análisis de los biomarcadores de exposición se tomaron 5 choritos *Perumytilus purpuratus* por playa (Tabla 11).

En el Anexo 1 se detalla el número de especies que se recolectaron en cada fecha y sitio de monitoreo. Todas las muestras de peces y choritos fueron compradas a pescadores locales y siguieron una cadena de frío dentro de un *cooler* desde la playa hasta llegar al laboratorio, donde se conservaron en una refrigeradora a -20°C.

Tabla 11. Muestras para los análisis de HAP, metales y biomarcadores de exposición y efecto.

Especies	HAP y metales	Biomarcadores de exposición	Biomarcadores de efecto
Trambollo (<i>Labrisomus philippii</i>)	✓	✓	x
Borrachito (<i>Scartichthys gigas</i>)	✓	✓	x
Choritos (<i>Semimytilus algosus</i>)	✓	x	x
Choritos (<i>Perumytilus purpuratus</i>)	✓	✓	✓

x: No se realizó el análisis; ✓: Se realizó el análisis.

V.2. Procedimientos y técnicas

V.2.1. Registro de datos para peces y choritos

Se midió la longitud total, longitud estándar de los peces (Figura 12) y peso total, peso eviscerado, peso del hígado y de gónadas. Los datos se registraron en una plantilla (Anexo 2), para calcular los índices somáticos. Se separaron los tejidos para los análisis de HAP y metales (Figura 13).

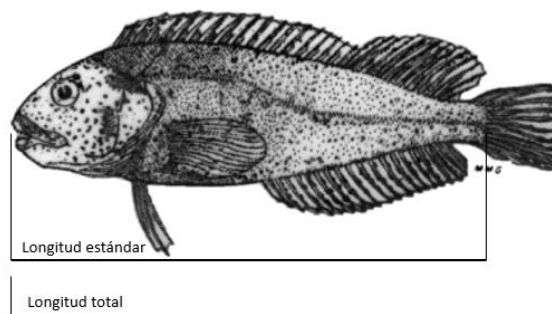


Figura 12. Medidas morfométricas tomadas para peces.
Ilustración editada de Saez y Pequeño (2009).

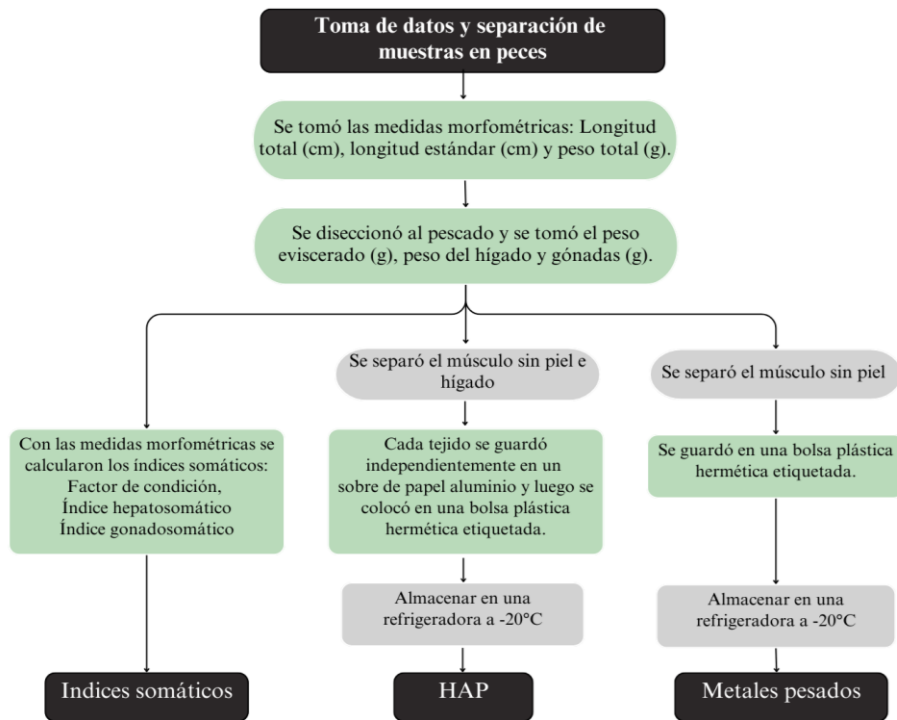


Figura 13. Flujograma de trabajo para toma de datos morfométricos y separación de tejido para el análisis de HAP y metales en peces.

En choritos se midió la longitud total, altura valvar, ancho de concha (Figura 14), peso total y peso de las valvas. Los datos se registraron en una plantilla de datos (Anexo 3) para calcular el índice de condición (biomarcador de efecto) y se separó el tejido blando para los análisis de HAP, metales y biomarcadores de exposición (CAT, CYP3A y MT). En la Figura 15 se muestra el flujograma de trabajo.

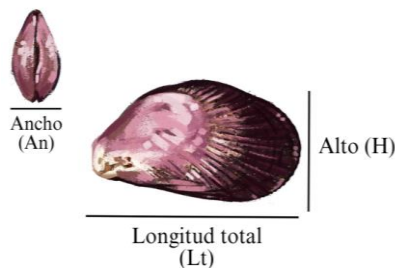


Figura 14. Medidas morfométricas de los choritos.

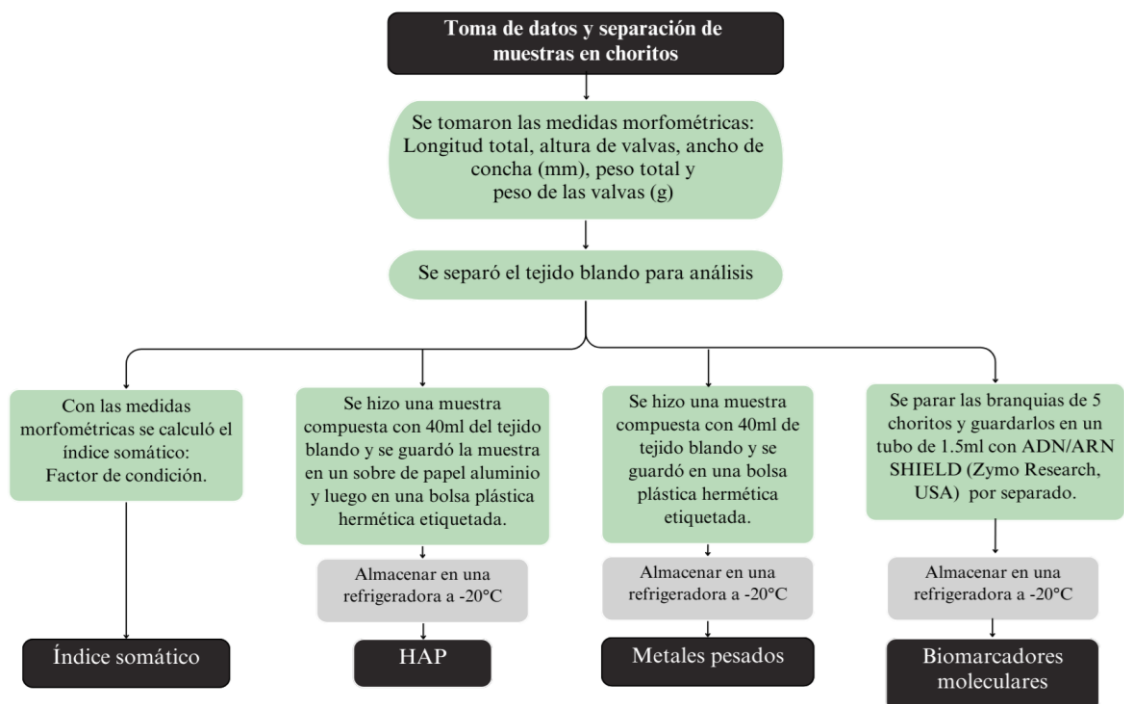


Figura 15. Flujograma de trabajo para toma de datos morfométricos y separación de tejido para el análisis de HAP, metales y biomarcadores en choritos.

V.2.2. Biomarcadores de exposición

V.2.2.1. Toma de muestras

La expresión de biomarcadores de exposición se midió solo para *Perumytilus purpuratus*. Desde las playas de recolección los choritos se conservaron en hielo hasta llegar al laboratorio de Biología Marina de la UPCH. Con un bisturí se cortaron las branquias de ambas valvas y se guardaron en microtubos de 1.5 ml con 500 ml de *DNA/RNA SHIELD*, (Zymo Research, USA) medio líquido para conservar la integridad genética. Las muestras se guardaron a -20°C . Cabe mencionar que el grupo “tratado” en este estudio fueron las muestras de choritos *P. purpuratus* de las playas afectadas por el derrame de petróleo (Santa Rosa, Ancón y Paraíso), mientras que el grupo “control” fueron *P. purpuratus* mantenidos en

agua de mar procesada sin contaminantes en el Laboratorio de Ecofisiología acuática del Instituto del Mar del Perú (IMARPE), procedentes de Paracas, Ica.

V.2.2.2. Extracción de ARN

Se realizó la extracción ARN del tejido branquial de *Perumytilus purpuratus* empleando el KIT Direct-zol ARN Miniprep - TRIzol® In. RNA Out, (Zymo Research, USA; Anexo 4). Se tomó 1 µL de ARN para medir la pureza y la concentración empleando el equipo NanoDrop (Thermo Fischer Scientific, USA). La pureza obtenida se comparó con la ratio de absorbancia (260/280 nm y 260/230), en la Tabla 12 se muestran los valores indicativos.

Tabla 12. Valores indicativos de la calidad del ARN.

Ratio	Valor	Pureza
260/280	2.0-2.2	ARN de pureza óptima
	>1.7	ARN pureza aceptable
	<1.7	ARN contaminado con compuestos aromáticos
260/230	>2	ARN de pureza óptima
	<1.8	ARN contaminado con sales, carbohidratos, fenoles
	<1.5	ARN altamente contaminado con sales, carbohidratos, fenoles

V.2.2.3. Diseño de primers

Se diseñaron los *primers* a partir del transcriptoma de *P. purpuratus*. El ARN de tres choritos de la playa Santa Rosa fueron liofilizados usando GenTegraARN (GenTegra, USA) siguiendo el protocolo del proveedor para enviarlas a secuenciar y ensamblar en el laboratorio Novogene, USA.

Mediante revisión bibliográfica se identificaron los genes empleados como biomarcadores de exposición para HAP y metales en otras especies de bivalvos de la familia Mytilidae. Se identificó a las metalotioneínas, catalasa y CYP3A y como gen de referencia a β -actina. En la base de datos Genbank se buscaron dichos genes, en el Anexo 5 se detalla la lista de los números de acceso. Posteriormente, las secuencias identificadas en el Genbank fueron comparadas con los genes anotados como similares del transcriptoma del *P. purpuratus* usando el software *Geneious*® para identificar similitudes y se empleó la herramienta de generación de *primers* (Tabla 13). Se seleccionaron los pares de *primers* que cumplieron los requisitos para el análisis de PCR en tiempo real (Anexo 6).

Tabla 13. *Primers* empleados en el estudio.

Nombre primer	Secuencia	Tm (°C)	Tamaño del amplicón (bp)
Catalasa (CAT)	F: 5'ACACAACCTTTGGTCAAGCCG'3	60.5	86
	R: 5'AGGTACACCAGCCTGTTTGG'3	62.6	
Citocromo P450 3A (CYP3A)	F: 5'CGAAGTACTCCGCCTTTACG'3	60	133
	R: 5'GGAATTTCTGTGGACAGCACAG'3	61	
Metalotioneínas (MT)	F: 5'GGTTGTCGATGTGGTGAAGCC'3	64	110
	R: 5'CCAGTGCAACCAACTCCACA'3	63.3	
β-actina	F: 5'-RCAAGAAATGTCAACCGCCGCT-3'	64	153
	R: 5'-TGGATACCAGCAGATTCCATACC-3'	60	

V.2.2.4. Síntesis de ADNc

La síntesis de ADN complementario (ADNc) se hizo empleando el kit *GoScript Reverse Transcription System* (Promega, USA). Se utilizó una cantidad entre ~1000 ng de ARN total para las reacciones. El protocolo se detalla en el Anexo 7.

V.2.2.5. PCR en tiempo real

El análisis de PCR en tiempo real (RT-qPCR) a partir del cDNA se empleó el kit *iTaq Universal SYBR Green Supermix* (Bio Rad, USA; Anexo 8). El SYBR Green, es un colorante que emite luz solo cuando se une al ADN bicatenario, permite la detección de ADN de forma independiente de la secuencia (Figura 16). Esto significa que, cuando se forman fragmentos de PCR específicos e inespecíficos, se medirán de igual forma. Por eso, para visualizar la PCR inespecífica, se realizó un análisis de la curva de fusión, ya que los diferentes fragmentos suelen aparecer como picos de fusión distintos. Solo se utilizaron para el análisis los conjuntos de *primers* que produjeron un único pico de fusión (Lekanne Deprez et al., 2002).

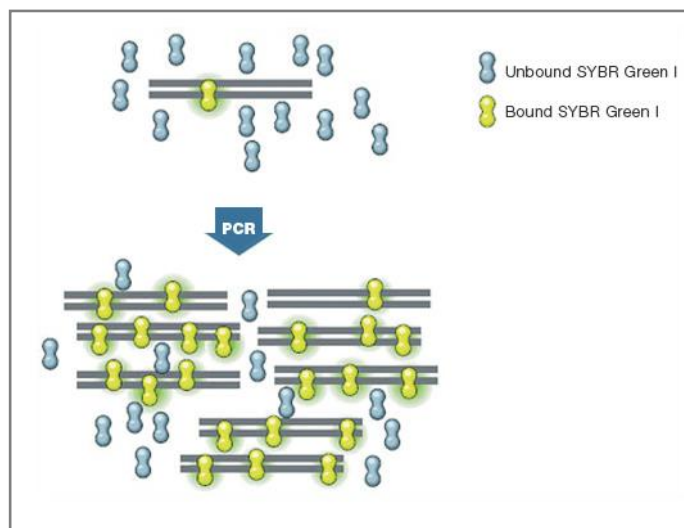


Figura 16. Principio de acción del colorante fluorescente SYBR Green (Bio-Rad Lab., 2016).

V.2.2.6. Análisis de expresión genética

La expresión relativa de los genes de interés se cuantificó empleando la metodología del $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (Livak y Schmittgen, 2001). Los valores de Ct se

obtuvieron para cada gen biomarcador (Metalotioneínas, catalasas y CYP3A) con el análisis RT-qPCR y se normalizaron contra el gen de referencia B-actina. Primero, se calculó el ΔCt como la diferencia entre el Ct del gen de interés y el Ct del gen de referencia para cada muestra. Luego, se calculó el $\Delta\Delta Ct$ como la diferencia entre el ΔCt del grupo tratado y el ΔCt del grupo control. Por último, los niveles de expresión relativa se calcularon el método: $2^{-\Delta\Delta Ct}$

V.2.3. Biomarcadores de efecto

- El factor de condición (FC) se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$CF = \frac{\text{peso cuerpo}}{\text{Largo}} \times 100$$

- El índice hepatosomático (IH) o índice hepático se estima mediante la ecuación:

$$IH = \frac{\text{peso hígado}}{\text{peso cuerpo}} \times 100$$

- El índice gonadosomático (IG) o índice gonadal se calcula con la siguiente ecuación:

$$IG = \frac{\text{peso gónada}}{\text{peso cuerpo}} \times 100$$

V.2.4. Cuantificación de hidrocarburos aromáticos policíclicos

Los tejidos de peces (músculo e hígado) y de choritos (tejido blando) se almacenaron en sobres de papel aluminio los cuales se limpiaron previamente de la siguiente manera: usando una campana de extracción de gases de laboratorio, el papel aluminio se limpió con 1ml de acetona y 1 ml de hexano. Luego se le dio forma de sobre para almacenar las muestras de tejidos y se reservó en una bolsa plástica hermética a -20°C. El Laboratorio de Control de Calidad y Seguridad Alimentaria (LACCSA) del CITE acuícola de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, realizó el análisis de HAP, el cual está basado en el método de extracción por “*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*” (QuEChERS) y la técnica Cromatografía de Gases a Presión Atmosférica – Espectrometría de Masas en Tándem (APGC-MS/MS) para la identificación y cuantificación de los analitos empleando el equipo Waters-Agilent APGC V2.0/78980B (Leyva-Morales et al. 2025). Los compuestos analizados fueron los 16 HAP (Tabla 3) considerados como prioritarios para el monitoreo ambiental (Adhikari et al., 2016).

V.2.5. Identificación y cuantificación de metales

Las muestras de tejido congelado se colocaron en placas Petri para ser secadas en el equipo liofilizador Labconco, modelo 18L (Kansas, USA), a una presión de vacío entre 0,022-0,070 mbar. La temperatura del colector estuvo a -56 °C. Las muestras fueron secadas mediante la siguiente rampa de temperatura: -15 °C, por 10 h; luego a 0,5 °C/min, hasta 5 °C por 15 h; finalmente, 0,5 °C/min hasta 25 °C, por 5 h. Se empleó el equipo liofilizador del Laboratorio de Análisis instrumental,

Área Funcional de Investigaciones en Acuicultura del Instituto del Mar del Perú. Luego se trituraron con un mortero de piedra ágata.

El análisis de identificación y cuantificación de metales se realizó mediante la técnica espectroscopía de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS; Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer), en el *Institut de Physique du Globe de Paris*, de Francia (Figura 17). Se midió la concentración del plomo, cadmio, cobre, cromo, hierro, níquel, zinc, manganeso, vanadio y aluminio y el metaloide arsénico, en el músculo de peces y tejido blando de chorritos.



Figura 17. Imágenes del proceso de liofilización de las muestras de tejidos.

V.3. Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se trabajaron con el software RStudio (R Studio Core Team 2025). Se realizó estadística descriptiva con los datos de las concentraciones de HAP y metales empleando la función “cenfit”; paquete “NADA” (Lee y Helsel, 2020). Las bases de datos de ambos contaminantes se sometieron a pruebas de normalidad. Los datos tuvieron una distribución no normal según la prueba de Shapiro-Wilks ($p < 0.05$; función “shapiro.test”).

Para la base de datos de peces se compararon las concentraciones de HAP y metales utilizando el Análisis Permutacional Multivariado de Varianza (PERMANOVA; Anderson, 2017) de la función “adonis2”, paquete “vegan” (Oksanen et al., 2020) para lo que se consideraron como factores los sitios y fechas de monitoreos. Sin embargo, para esta comparación no se encontraron diferencias significativas por lo que se realizó un segundo PERMANOVA para comparar las concentraciones de contaminantes, considerando únicamente el factor temporal. Se aplicó una prueba *post hoc* (función “pairwise.adonis”, paquete “Pairwise Adonis”) para determinar entre que fechas de monitoreo existieron diferencias. Luego se usó el análisis de Porcentaje de Similitud Acumulado (SIMPER: función “simper”, paquete “vegan”) para calcular cuales fueron los tipos de contaminantes que contribuyeron más a las diferencias observadas entre los monitoreos.

En *P. purpuratus* y *S. algosus* se obtuvo solo un dato por sitio y fecha de monitoreo para las concentraciones de HAP y metales, por lo que para determinar si existieron diferencias entre los resultados de concentraciones de los contaminantes en ambas especies, se sometió a la prueba de Análisis de Similitudes (ANOSIM) de 2 factores sin réplicas (Monitoreo y especies), usando el software Past5 (Hammer et al., 2001); este análisis se realizó solo para las fecha y sitios de monitoreo. No se observaron diferencias significativas y se usaron las bases de datos de *P. purpuratus* y *S. algosus* juntas para el análisis de concentraciones de HAP, para lo que se aplicó la prueba PERMANOVA de dos factores y luego SIMPER.

Se hizo un análisis de redundancia (RDA; Oksanen et al., 2020; función “rda”, paquete “vegan”) para evaluar la asociación entre los HAP y los índices somáticos:

FC, IG e IH de *S. gigas*. El modelo incluyó nueve HAP: acenafteno, acenaftileno, antraceno, benzo(a)pireno, criseno, dibenzo(a,h)antraceno, fluoreno, naftaleno y fenantreno, los otros fueron excluidos porque el Factor de Inflación de la Varianza (VIF, por sus siglas en inglés) superaron el valor de 10. Asimismo, se hizo un RDA para evaluar la asociación de metales e índices somáticos en *S. gigas*. En el modelo excluyó al Zn porque el valor de VIF supero a 10.

Respecto a *P. purpuratus* se evaluaron relaciones lineales entre la concentración de HAP y el IC. Algunos HAP mostraron una colinealidad perfecta entre ellos y se eliminaron. Se optó por construir modelos de regresión lineal múltiple que incluyeron combinaciones de HAP con baja correlación entre sí y cuyo VIF no superó el valor de 5 (Hair et al., 2010), quedando: Acenafteno, acenaftileno y Benzo(k)fluoranteno. De igual manera, se realizó un modelo lineal múltiple para evaluar la relación entre el IC y metales en *P. purpuratus*. Algunos metales mostraron una colinealidad perfecta, por lo que se seleccionaron V, Ni y Al. La asociación de HAP y metales en tejido blando de *P. purpuratus* con los biomarcadores de exposición (CAT, MT y CYP3A), se hizo con modelos lineales. Debido a la alta colinealidad entre algunas concentraciones de metales y HAP y que el número de muestras es reducido, se optó por construir modelos de regresión lineal múltiples con combinaciones de dos a tres variables. Por último, se realizó el análisis de correlación bivariada de Pearson de la expresión génica de catalasas y metalotioneínas con la sumatoria de los HAP y metales que tuvieron una relación significativa en sus respectivos modelos lineales.

VI. RESULTADOS

VI. 1. Hidrocarburos aromáticos policíclicos en fauna marina

El 66% de muestras de *S. gigas* y *L. philippii* superaron los Niveles Máximos (NM) para el reglamento 2023/915 de la Unión Europea y SANIPES en benzo(a)pireno en septiembre 2022, en enero 2023 el 71%, en septiembre 2023 el 40% y en enero 2024 el 11%. Mientras que, el 50% superó los NM de Σ_4 HAP en septiembre 2022 y en enero 2023 el 57%. En los monitoreos posteriores (mayo 2023, septiembre 2023 y enero 2024) ningún individuo superó los NM.

VI. 1.1. Hidrocarburos aromáticos policíclicos en *Scartichthys gigas*

Los 16 HAP analizados estuvieron presentes en las muestras de *S. gigas*. Aparentemente, las concentraciones de LMW-PAH (naftaleno, acenaftileno, fluoreno) fueron mayores en hígado que en músculo (Tablas 13 y 14), sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticas significativas (chi-cuadrado = 0.2, $p = 0.7$). No existieron diferencias en las concentraciones de HAP en el músculo de *S. gigas* entre sitios de las mismas fechas de monitoreo (PERMANOVA, Pseudo F= 1.26; g. l. = 7, 13; $p = 0.22$; Tabla 15). Las concentraciones de HAP de los monitoreos del año 2023, no presentaron diferencias ($p > 0.05$). Sin embargo, sí existieron diferencias entre enero 2023 y enero 2024 (g. l. = 3, 16; Pseudo F = 1.93; $p = 0.029$); los HAP que aportaron a la disimilitud fueron el naftaleno, fluoreno y benzo(a)pireno (SIMPER; Tabla 16). En enero 2023, los HAP con mayores concentraciones promedio en músculo fueron naftaleno (19.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$), seguido del benzo(a)pireno (10.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Un año después, en enero 2024, se observó un aumento en la concentración promedio de los LMW-PAH, naftaleno (37.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$),

fluoreno (12.9 µg/kg) y fenantreno (10.3 µg/Kg), mientras que el HMW-PAH, benzo(a)pireno, disminuyó a 0.67 µg/kg (Figura 18 y 19).

Tabla 13. Concentraciones de HAP (µg/Kg) en músculo de *Scartichthys gigas*.

HAP	Bahía blanca	Santa Rosa	Huacho	Ancón	Santa Rosa	Playa Cavelero	Pasamayo
	Ene-23	May-23	Sep-23	Sep-23	Ene-24	Ene-24	Ene-24
Acenafteno	<LD - 1.9 1.36 ± 0.34	<LD - 1.2 1.3 ± 0.18	2.7	2.4	<LD - 2.1 0.52 ± 1.04	1.9 - 2.6 2.27 ± 0.47	2.7 - 3.6 3.14 ± 0.63
Acenaftileno	<LD - 2.4 1.82 ± 0.42	<LD - 1.6	<LD	<LD	<LD	<LD	2.1 - 2.9 2.5 ± 0.62
Antraceno	<LD - 10.4 7.68 ± 1.42	<LD - 10.4	<LD	11.3	<LD	0 - 9.3 4.63 ± 6.55	<LD
Benzo(a)antraceno	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Benzo(a)pireno	<LD - 28.1 10.64 ± 8.04	0.9 - 1.5 1.25 ± 0.28	1.9	2.3	0 - 1.8 0.46 ± 0.92	<LD - 2.3 1.14 ± 1.6	0.9 - 1 0.96 ± 0.03
Benzo(b)fluoranteno	<LD - 12.9 6.06 ± 3.62	0.8 - 1.2 1.02 ± 0.23	1.9	2.5	0 - 1.9 0.47 ± 0.95	<LD - 2.1 1.07 ± 1.51	<LD
Benzo(ghi)perileno	<LD - 0.4 0.37 ± 0.01	<LD - 0.6	<LD	0.7	0 - 0.8 0.82 ± 0.02	<LD - 0.9 0.42 ± 0.48	<LD
Benzo(k)fluoranteno	<LD - 8.21 3.72 ± 3.01	1.0 - 1.6 1.36 ± 0.35	2.4	2.5	<LD - 1.5 0.37 ± 0.74	<LD - 2.1 1.04 ± 1.47	0.8 - 0.9 0.82 ± 0.05
Criseno	<LD - 2.2	<LD	2.1	2.6	<LD - 2.9 0.73 ± 1.45	<LD - 1.8 0.92 ± 1.3	0 - 2.1 1.03 ± 1.46
Dibenzo(a,h)antraceno	<LD	<LD - 0.2	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Fluoranteno	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	2.1 - 10.3 6.18 ± 5.82	5.2 - 8.3 6.75 ± 2.22
Fluoreno	<LD - 13.1 7.31 ± 1.93	8.5 - 9.6 9.35 ± 0.73	8.7	<LD	<LD - 34.4 8.59 ± 17.18	<LD - 38.4 19.2 ± 27.1	<LD - 44.1 22.0 ± 31.2
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	<LD - 0.4 0.35 ± 0.04	<LD - 0.5	<LD	0.7	<LD - 0.9 0.43 ± 0.49	<LD - 0.8 0.38 ± 0.54	<LD
Naftaleno	<LD - 70.2 19.9 ± 0.43	35.1 - 44.2 41.12 ± 5.18	74.6	81.7	<LD - 73.4 18.3 ± 36.7	69.9 - 74.3 72.7 ± 3.08	54.4 - 63 58.7 ± 6.06
Fenantreno	<LD - 8.1 3.38 ± 3.33	<LD	<LD	<LD	<LD - 36.7 9.18 ± 18.36	<LD - 45.7 22.9 ± 32.3	<LD
Pireno	<LD	<LD	<LD	<LD	0 - 8.2 2.06 ± 4.11	0 - 9.5 4.73 ± 6.6	4.8 - 8.9 6.86 ± 2.84
∑4HAP: Benzo(a)pireno, Benzo(a)antraceno, Benzo(b)fluoranteno y Criseno	2.25 - 32.96 12.31 ± 12.7	1.7 - 4.11 2.83 ± 1.2	5.95	7.5	0 - 6.6 0.9 ± 1.86	0 - 6.25 3.13 ± 4.4	0.99 - 3.01 2 ± 1.4

*Concentración mínima – máxima y concentraciones promedio ± desviación estándar, <LD: menor al límite de detección.

Tabla 14. Concentración de HAP en hígado ($\mu\text{g}/\text{kg}$) de *Scartichthys gigas*.

HAP*	Bahía Blanca Ene-2023	Veces > músculo	Santa Rosa Ene-2024	Veces > músculo
Naftaleno	478.38	6.8	299.76	6.8
Acenaftileno	7.79	3.2	4.31	2.7
Acenafteno	3.8	2	2.24	1.8
Fluoranteno	76.76	5.8	9.13	0.9
Fenantreno	28.1	3.4	<LD	-
Antraceno	16.31	1.5	<LD	-
Fluoranteno	<LD	-	<LD	-
Pireno	<LD	-	<LD	-
Benzo(a)antraceno	<LD	-	<LD	-
Criseno	<LD	-	<LD	-
Benzo(b)fluoranteno	<LD	-	<LD	-
Benzo(k)fluoranteno	<LD	-	1.23	0.7
Benzo(a)pireno	<LD	-	1.12	0.7
Dibenzo(a,h)antraceno	<LD	-	<LD	-
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	<LD	-	<LD	-
Benzo(ghi)perileno	<LD	-	<LD	-

Tabla 15. Comparación pareada de los resultados de la PERMANOVA.

Comparación	F	Probabilidad	p_ajustada
enero 2023 vs mayo 2023	2.52	0.11	0.64
enero 2023 vs septiembre 2023	1.99	0.10	0.57
enero 2023 vs enero 2024	3.46	0.01	0.03
mayo 2023 vs septiembre 2023	2.20	0.20	1
mayo 2023 vs enero 2024	1.11	0.31	1
septiembre 2023 vs enero 2024	0.63	0.75	1

Tabla 16. Porcentaje de similitud (SIMPER) entre sitios de monitoreo.

Monitoreo 1	Monitoreo 2	Naftaleno %	Fluoreno %	Benzo(a)pireno %	Antraceno %	Fenantreno %
Ene-23	May-23	56.08	-	13.34	6.55	-
Ene-23	Sept-23	64.92	-	9.33	-	-
Ene-23	Ene-24	35.49	16.61	12.51	-	11.16
May-23	Sept-23	66.84	-	-	10.08	-
May-23	Ene-24	49.82	20.06	-	-	8.61
Sept-23	Ene-24	53.11	14.42	-	-	8.16

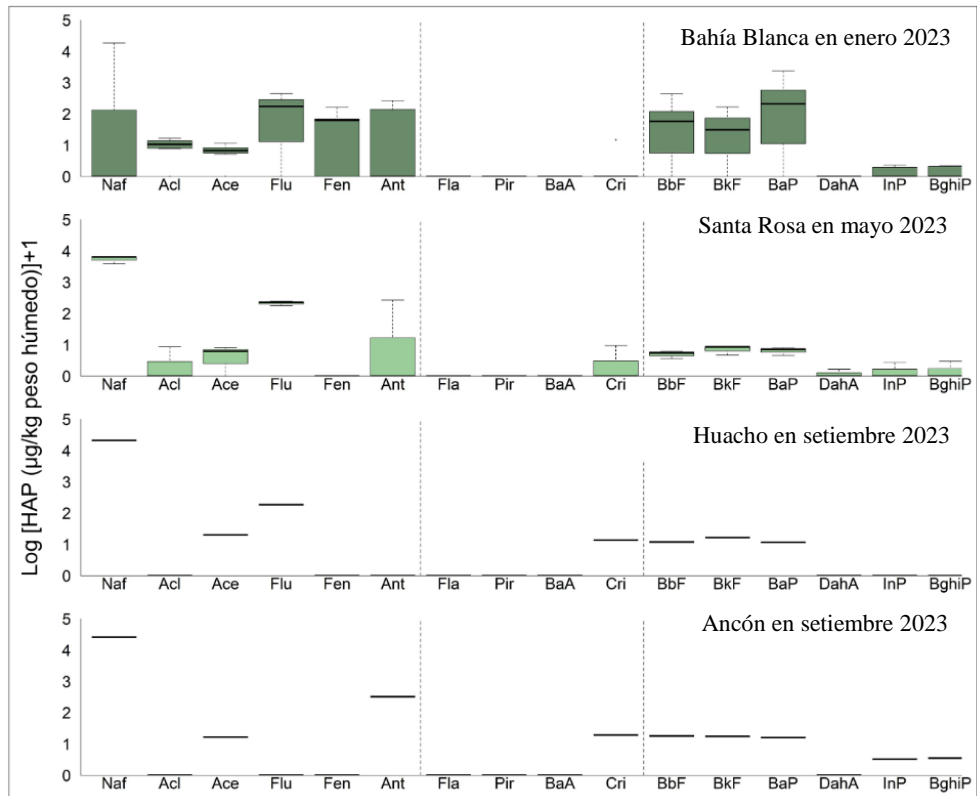


Figura 18. Concentraciones de HAP transformadas a Log (x+1) de músculo de *Scartichthys gigas* en los monitoreos del 2023. Las líneas punteadas agrupan de izquierda a derecha a los LMW-PAH, MMW-PAH y HMW-PAH. Naftaleno (Naf), acenaftileno (Acl), acenafteno (Ace), fluoreno (Flu), fenantreno (Fen), antraceno (Ant), fluoranteno (Flu), pireno (Pir), benzo(a)antraceno (BaA), criseno (Cri), benzo(b)fluoranteno (BbF), benzo(k)fluoranteno (BbF), benzo(a)pireno, dibenzo(ah)antraceno (DahA), Indeno(1,2,3-c,d)pireno (InP), Benzo(ghi)perileno (BghiP).

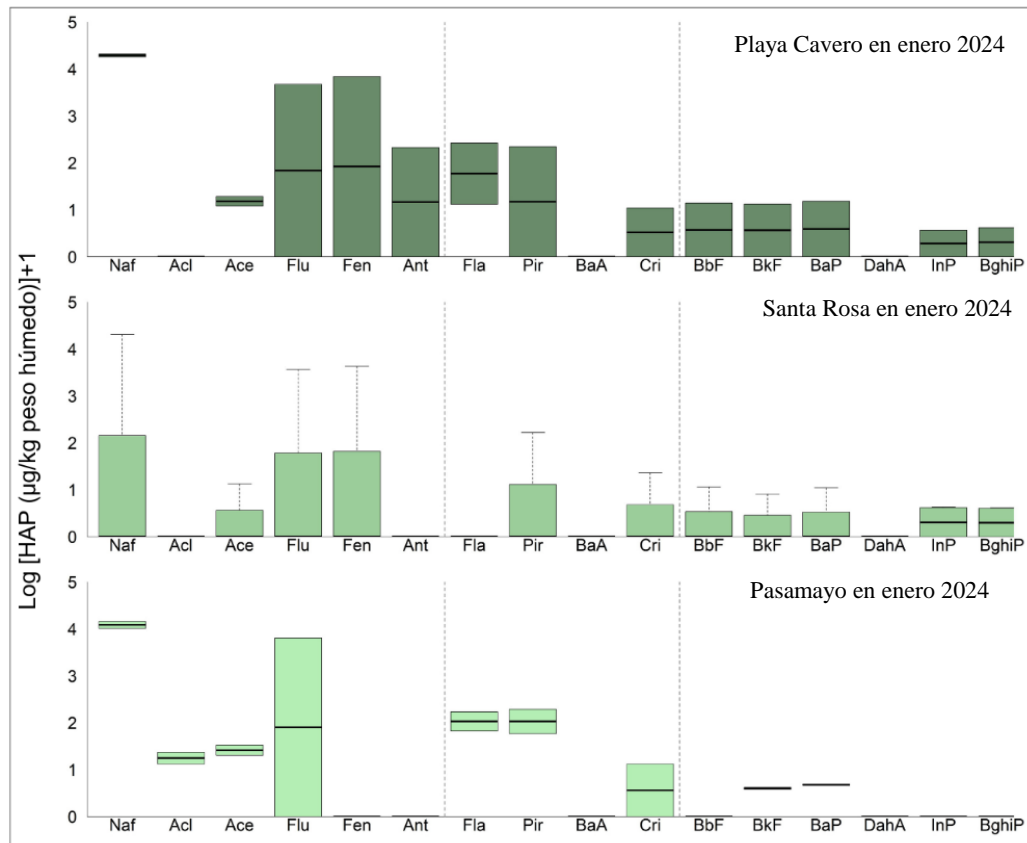


Figura 19. Concentraciones de HAP transformadas a Log (x+1) de *Scartichthys gigas* en enero de 2024. Naftaleno (Naf), acenaftileno (Acl), acenafteno (Ace), fluoreno (Flu), fenantreno (Fen), antraceno (Ant), fluoranteno (Flu), pireno (Pir), benzo(a)antraceno (BaA), criseno (Cri), benzo(b)fluoranteno (BbF), benzo(k)fluoranteno (BbF), benzo(a)pireno, dibenzo(ah)antraceno (DahA), Indeno(1,2,3-c,d)pireno (InP), Benzo(ghi)perileno (BghiP).

VI.1.2. Hidrocarburos aromáticos policíclicos en *Labrisomus philippii*

De los 16 HAP analizados, 15 fueron registrados en *L. philippii* (pireno tuvo valores < LD). Aparentemente, las concentraciones de LMW-PAH (naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno y antraceno) en *L. philippii* fueron mayores en hígado que en músculo, en el caso del naftaleno hasta por 18.9 veces más (Tabla 17), sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre estos tejidos (chi-cuadrado = 0.1, p = 0.8). Las concentraciones de HAP en el músculo de *L. philippii* (Tabla 18) fueron distintas entre las fechas de monitoreo (PERMANOVA, g. 1. = 2, 7; Pseudo F = 2.45; p = 0.03). Sin embargo, la prueba *post hoc* no mostró diferencias entre grupos (Tabla 19). Los HAP que se

diferenciaron entre los monitoreos de septiembre 2022 y septiembre 2023 (SIMPER, Tabla 20) fueron el naftaleno, benzo(a)pireno y fluoreno. Los individuos de *L. philippii* de Chancay en septiembre 2022 mostraron las mayores concentraciones de HMW-PAH, en comparación a los otros monitoreos, principalmente el benzo(a)pireno, con 22.36 µg/kg. Respecto a los LMW-PAH, el naftaleno tuvo la concentración más alta (26.9 µg/kg; Figura 20).

Tabla 17. Concentración de HAP en hígado de *Labrisomus philippii*.

HAP	Chancay Sep-22	Veces > músculo	Pasamayo Sep-23	Veces > músculo
Naftaleno	508.1	18.9	395.3	5.1
Acenaftileno	22.5	13.3	8.9	8.9
Acenafteno	2.2	4.3	3.6	1.1
Fluoreno	34.4	34.4	32.2	2.5
Fenantreno	38.8	38.8	35.4	35.4
Antraceno	12.5	1.2	1.4	2.7
Fluoranteno	<LD	-	<LD	-
Pireno	<LD	-	<LD	-
Benzo(a)antraceno	<LD	-	<LD	-
Criseno	<LD	-	<LD	-
Benzo(b)fluoranteno	<LD	-	<LD	-
Benzo(k)fluoranteno	<LD	-	<LD	-
Benzo(a)pireno	<LD	-	<LD	-
Dibenzo(ah)antraceno	0.27	0.9	<LD	-
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	<LD	-	<LD	-
Benzo(ghi)perileno	<LD	-	<LD	-

Tabla 18. Estadística descriptiva de las concentraciones de HAP ($\mu\text{g}/\text{kg}$) en músculo de *Labrisomus philippii*.

HAP	Chancay	Pasamayo	Ancón	Playa Cavero
	Sept-2022	Sept-2023	Sept-2023	Ene-24
Acenafteno	<LD - 0.6	2.6 - 3.4 2.82 \pm 0.51	2.4	<LD
Acenaftileno	<LD - 1.7 1.36 \pm 0.16	<LD	<LD	<LD
Antraceno	<LD - 10.2	<LD - 5.2 1.83 \pm 3.34	11.3	2.7
Benzo(a)antraceno	<LD - 2.60 2.57 \pm 0.03	<LD	<LD	<LD
Benzo(a)pireno	<LD - 22.3 10.01 \pm 7.43	2 - 3.1 2.36 \pm 0.77	2.3	<LD
Benzo(b)fluoranteno	<LD - 4.3 2.77 \pm 1.08	1.8 - 3.1 2.24 \pm 0.84	2.5	<LD
Benzo(ghi)perileno	<LD - 0.5 0.35 \pm 0.07	<LD	0.7	0.8
Benzo(k)fluoranteno	<LD - 7.2 3.77 \pm 1.79	2.4 - 3.8 2.86 \pm 0.98	2.5	<LD
Criseno	<LD - 1.7 1.16 \pm 0.37	1.9 - 2 1.95 \pm 0.09	2.6	<LD
Dibenzo(ah)antraceno	<LD - 0.3	<LD	<LD	<LD
Fluoranteno	<LD	<LD	<LD	1.6
Fluoreno	<LD	6.8 - 13 10.14 \pm 3.16	<LD	<LD
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	<LD - 0.4 0.39 \pm 0.03	<LD	0.7	0.8
Naftaleno	<LD - 26.9 24.19 \pm 2.09	<LD - 78 74.09 \pm 3.9	81.7	<LD
Fenantreno	<LD	<LD	<LD	<LD
Pireno	<LD	<LD	<LD	<LD
Σ_4 HAP: Benzo(a)pireno, Benzo(a)antraceno, Benzo(b)fluoranteno y Criseno	11.88 \pm 11.02	7 \pm 1.8	7.5	<LD

*Concentración mínima – máxima y concentraciones promedio \pm desviación estándar. LD: Límite de detección.

Tabla 19. Comparación pareada de los resultados de la PERMANOVA.

Comparación	F	Probabilidad	p ajustada
Sep-2022 vs Sep-2023	2.23	0.12	0.37
Sep-2022 vs Ene-2024	2.04	0.27	0.81
Sep-2023 vs Ene-2024	6.46	0.25	0.75

Tabla 20. Porcentaje de similitud (SIMPER) entre sitios de monitoreo.

Monitoreo 1	Monitoreo 2	Naf %	Flu %	BaP %	Ant %	BkF %
Sept-2022	Sept-2023	53.82	15.03	26.26	-	-
Sept-2022	Ene-24	28.67	7.86	21.16	14.09	-
Sept-2023	Ene-24	50.13	16.25	-	-	5.48

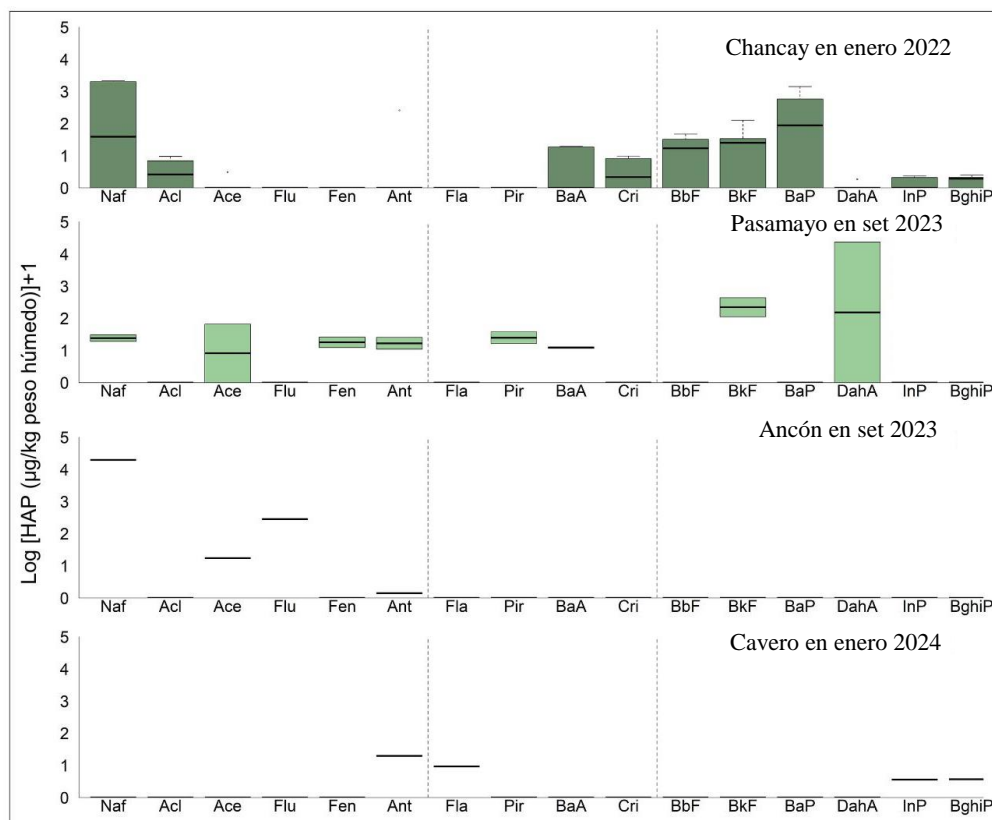


Figura 20. Concentraciones de HAP transformadas a Log (x+1) de *Labrisomus philippii*. Naftaleno (Naf), acenaftileno (Acl), acenafteno (Ace), fluoreno (Flu), fenantreno (Fen), antraceno (Ant), fluoranteno (Flu), pireno (Pir), benzo(a)antraceno (BaA), criseno (Cri), benzo(b)fluoranteno (BbF), benzo(k)fluoranteno (BkF), benzo(a)pireno, dibenzo(ah)antraceno (DahA), Indeno(1,2,3-c,d)pireno (InP), Benzo(ghi)perileno (BghiP).

VI.1.3. Hidrocarburos aromáticos policíclicos en choritos

No se observaron diferencias significativas en las concentraciones de HAP entre *P. purpuratus* y *S. algosus* (ANOSIM; $p = 0.907$), por lo que se tomaron las concentraciones de ambas especies en conjunto para las pruebas estadísticas. Se observaron diferencias significativas entre muestreos (PERMANOVA, g. l. = 10, 14; Pseudo F = 3.09; $p = 0.02$), sin embargo, la prueba *post hoc* no mostró los muestreos con diferencias significativas, posiblemente por contar con pocas mediciones por muestreo. Debido a estos resultados, se presentó solo estadística descriptiva en ambas especies.

VI.1.3.1. Hidrocarburos aromáticos policíclicos en *Perumytilus purpuratus*

Las concentraciones de LMW-PAH (antraceno y fenantreno), aumentaron de enero 2023 (<LD) a enero 2024 (47.03 y 61.24 $\mu\text{g}/\text{kg}$) en playa Santa Rosa. De igual manera, en playa Paraíso, en enero 2023 las concentraciones de antraceno y fenantreno estuvieron debajo del LD y un año después tuvieron valores de 27.83 y 43.07 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Los MMW-PAH, criseno y pireno, aumentaron ligeramente en sus concentraciones de un año a otro. Respecto a los HMW-HAP, benzo(a)pireno, benzo(b)fluoranteno y benzo(k)fluoranteno aumentaron ligeramente en la playa Santa Rosa, mientras que en playa paraíso disminuyeron sus concentraciones (Figura 21).

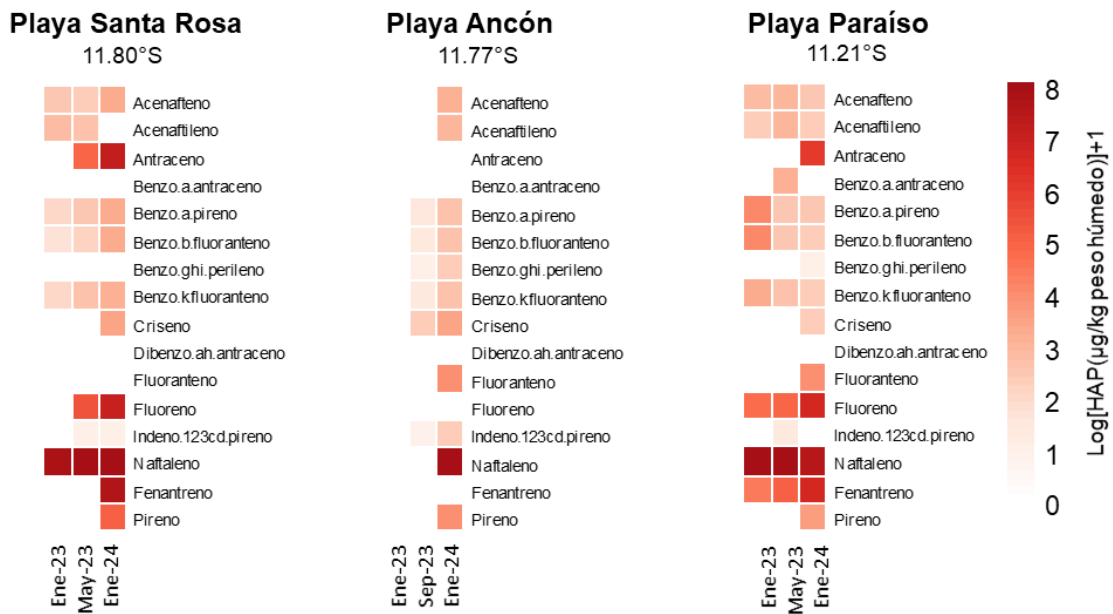


Figura 21. Concentraciones de HAP transformadas a $\text{Log}(x+1)$ en *Perumytilus purpuratus*.

VI. 1.3.2. Hidrocarburos aromáticos policíclicos en *Semimytilus algosus*

Las concentraciones de LMW-HAP en *S. algosus* disminuyeron en las playas Cavero y Paraíso de mayo 2023 a enero 2024. Principalmente, el naftaleno disminuyó en playa Cavero: en mayo 2023 tuvo 126.2 µg/kg y en enero 2024 16.5 µg/kg, mientras que en playa Paraíso en mayo 2023 tuvo 115,4 µg/kg y en enero 2024 bajó a 88.7 µg/kg. En playa Cavero, los MMW-HAP y HMW-HAP aumentaron sus concentraciones de mayo 2023 a enero 2024. Caso contrario a playa Paraíso, donde disminuyeron sus concentraciones desde mayo 2023 a enero 2024 (Figuras 22).

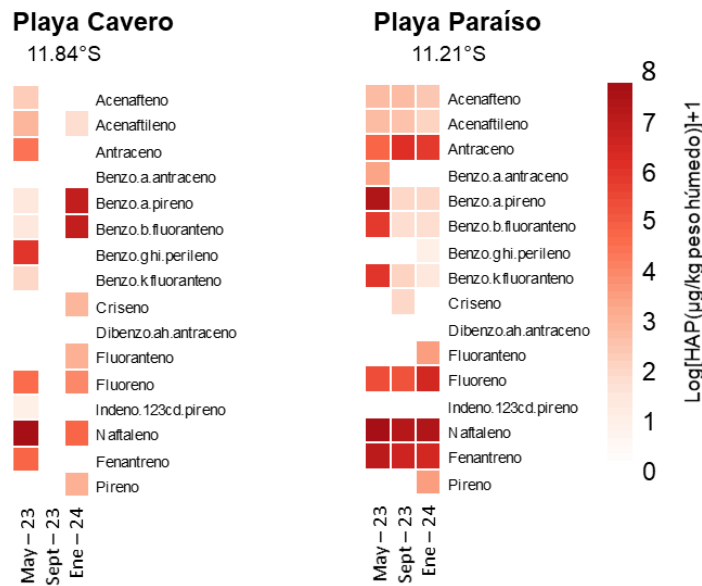


Figura 22. Concentración de HAP transformadas a Log (x+1) en *Semimytilus algosus*.

VI. 2. Concentración de metales en fauna marina

VI.2.1. Metales en *Scartichthys gigas*

Las concentraciones de metales en *S. gigas* (Tabla 21) tuvieron diferencias significativas en sitios y fechas de monitoreo (PERMANOVA, g. l. = 7, 28; Pseudo $F = 2.9$; $p = 0.002$). Sin embargo, la prueba post hoc no detectó entre qué muestreos se dieron dichas diferencias. Antes del ajuste de la probabilidad, se observaron probabilidades con $p < 0.05$, por lo que se consideró describir estas diferencias, concretamente entre enero 2023 y enero 2024 en Santa Rosa (Tabla 22; Figuras 23, 24 y 25). Los metales que aportaron más a las diferencias entre estos monitoreos (SIMPER, Tabla 23) fueron Fe, Al, Zn y Ni. En enero 2023 Fe, Al y Zn tuvieron una concentración promedio de 18.8, 4.16 y 16.03 ppm respectivamente, un año después, las concentraciones promedio fueron 32.53, 17.92, 22.55 ppm, respectivamente.

Tabla 21. Estadística descriptiva de las concentraciones de metales (ppm) en músculo de *Scartichthys gigas*.

Monitoreo Lugar / Metales	Enero 2023		Mayo 2023	Septiembre 2023			Enero 2024	
	Santa Rosa	Bahía Blanca	Santa Rosa	Huacho	Ancón	Playa Cavero	Pasamayo	Santa Rosa
V	0.015 ± 0.01 0.009 - 0.03	0.02 ± 0.008 0.01 - 0.03	0.04 ± 0.06 0.01 - 0.17	0.09 ± 0.12 0.02-0.22	0.02 ± 0.01 0.01 - 0.03	0.04 ± 0.02 0.028 - 0.051	0.021	0.03 ± 0.02 0.01 ± 0.08
Cr	0.31 ± 0.13 0.15 - 0.512	0.16 ± 0.1 0.10 - 0.41	0.47 ± 0.19 0.28 - 0.81	0.44 ± 0.20 0.27 - 0.65	0.34 ± 0.11 0.23 - 0.45	0.73 ± 0.36 0.47 - 0.98	0.752	0.67 ± 0.54 0.17 - 1.77
Mn	0.37 ± 0.1 0.3 - 0.56	0.9 ± 0.4 0.45 - 1.95	0.63 ± 0.17 0.36 - 0.9	1.04 ± 0.59 0.59 - 1.7	0.64 ± 0.30 0.4 - 0.97	0.61 ± 0.10 0.53 - 0.68	0.989	0.91 ± 0.65 0.39 - 2.29
Fe	18.8 ± 10.3 12.15 - 37.08	31.1 ± 24.9 11.04 - 87.67	22.15 ± 9.47 12.74 - 42.06	49.30 ± 14.72 40.57 - 66.3	29.86 ± 13.58 17.47 - 44.38	50.58 ± 4.92 47.1 - 54.06	32.002	32.53 ± 8.30 17.30 - 45.49
Ni	0.12 ± 0.005 0.11 - 0.12	0.12 ± 0.03 0.09 - 0.16	0.45 ± 0.31 0.24 - 1.13	0.23 ± 0.06 0.18 - 0.3	0.21 ± 0.03 0.19 - 0.25	1.03 ± 0.07 0.98 - 1.07	0.830	0.90 ± 0.16 0.59 - 1.15
Cu	0.6 ± 0.15 0.33 - 0.75	0.7 ± 0.16 0.48 - 1.02	0.80 ± 0.26 0.48 - 1.25	0.98 ± 0.09 0.88 - 1.05	0.75 ± 0.03 0.73 - 0.79	0.91 ± 0.21 0.76 - 1.05	0.815	0.83 ± 0.17 0.65 - 1.10
Zn	16.03 ± 1.8 13.4 - 17.47	17.4 ± 3.06 13.18 - 21.47	19.32 ± 7.86 13.2 - 36.2	26.34 ± 12.15 18.68 - 40.35	17.81 ± 4.25 14.75 - 22.67	19.98 ± 2.40 18.28 - 21.67	26.551	22.55 ± 6.31 17.14 - 33.44
As	1.4 ± 0.24 1.05 - 1.71	1.18 ± 0.17 0.82 - 1.38	1.46 ± 0.46 0.85 - 2.05	3.29 ± 1.51 2.08 - 4.97	2.03 ± 0.54 1.42 - 2.46	2.89 ± 2.14 1.37 - 4.4	1.264	1.39 ± 0.22 1.10 - 1.75
Cd	0.01 ± 0.003 0.006 - 0.01	0.028 ± 0.04 0.01 - 0.13	0.02 ± 0.01 0.01 - 0.04	0.02 ± 0.01 0.02 - 0.04	0.02 ± 0.00 0.02 - 0.03	0.02 ± 0.02 0.008 - 0.04	0.013	0.02 ± 0.00 0.01 - 0.03
Pb	0.07 ± 0.02 0.05 - 0.11	0.07 ± 0.03 0.052 - 0.13	0.14 ± 0.15 0.06 - 0.49	0.22 ± 0.14 0.07 - 0.35	0.09 ± 0.01 0.08 - 0.11	0.09 ± 0.05 0.05 - 0.12	0.055	0.07 ± 0.02 0.04 - 0.10
Al	4.16 ± 1.17 3.32 - 6.13	6.5 ± 8.6 2.37 - 27.93	16.02 ± 11.70 9.32 - 41.91	12.34 ± 4.22 8.07 - 16.5	11.70 ± 3.20 8.25 - 14.57	23.35 ± 7.62 17.96 - 28.74	7.878	17.92 ± 7.26 6.45 - 25.84

Tabla 22. Comparaciones pareadas (PERMANOVA) de las concentraciones de metales (ppm) en músculo de *Scartichthys gigas*.

Comparación	F	Probabilidad	p	p_ajustada
Santa Rosa enero 2023 vs Santa Rosa mayo 2023	3.94	0.282	0.014	0.392
Santa Rosa enero 2023 vs Huacho septiembre 2023	12.69	0.678	0.013	0.364
Santa Rosa enero 2023 vs Santa Rosa enero 2024	12.67	0.558	0.008	0.224
Huacho septiembre 2023 vs Santa Rosa enero 2024	2.55	0.241	0.049	1

Tabla 23. Porcentaje de similitud (SIMPER) entre monitoreos para el músculo de *Scartichthys gigas*.

Monitoreo 1	Monitoreo 2	Fe %	Al %	Zn %	Cu %	Ni %
Santa Rosa enero 2023	Santa Rosa mayo 2023	-	40.6	18.3	1.1	-
Santa Rosa enero 2023	Huacho septiembre 2023	58.7	15.9	18.9	0.8	-
Santa Rosa enero 2023	Santa Rosa enero 2024	42.3	35	16.7	-	2.1

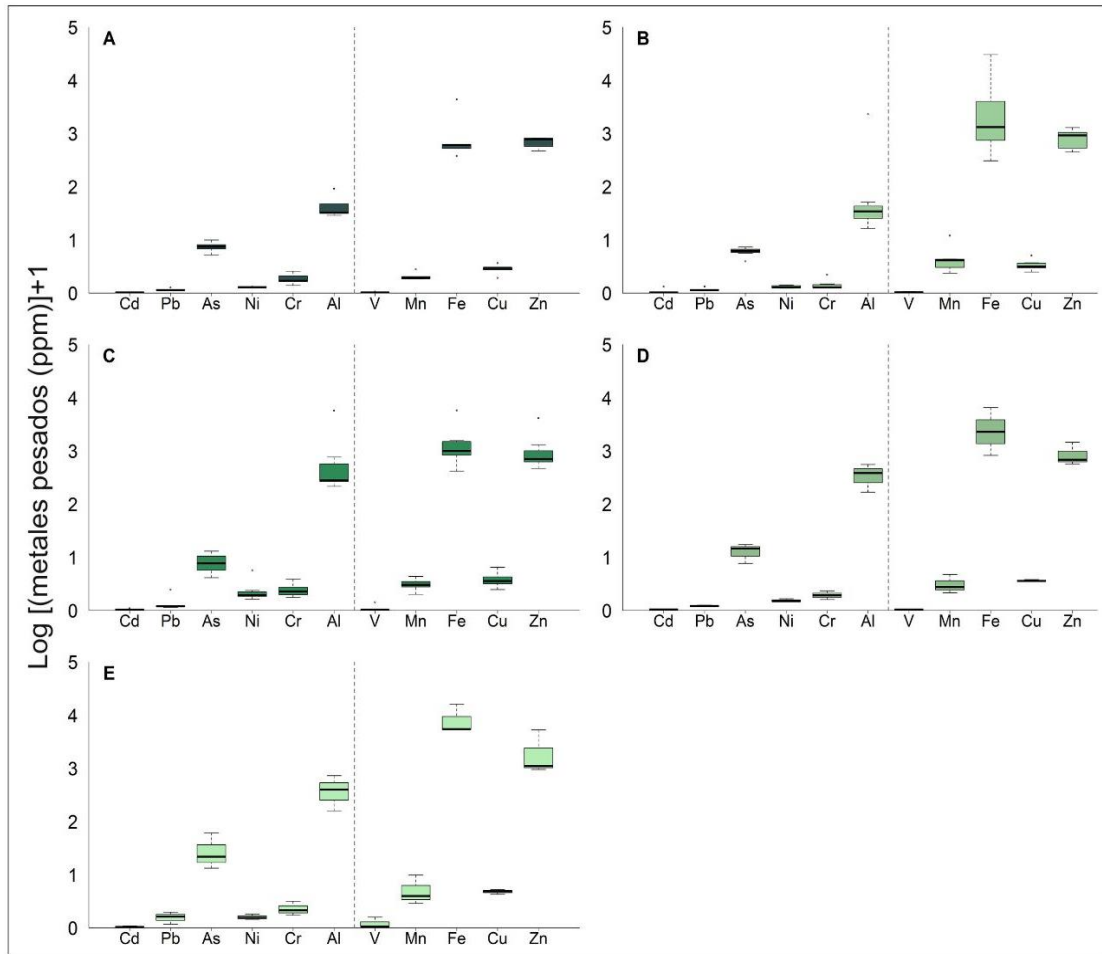


Figura 23. Concentraciones transformadas a $\text{Log}(x+1)$ de metales en músculo de *Scartichthys gigas* en la playa (A) Santa Rosa, (B) Bahía Blanca en enero, (C) Santa Rosa en mayo, (D) Ancón y (E) Huacho en septiembre 2023.

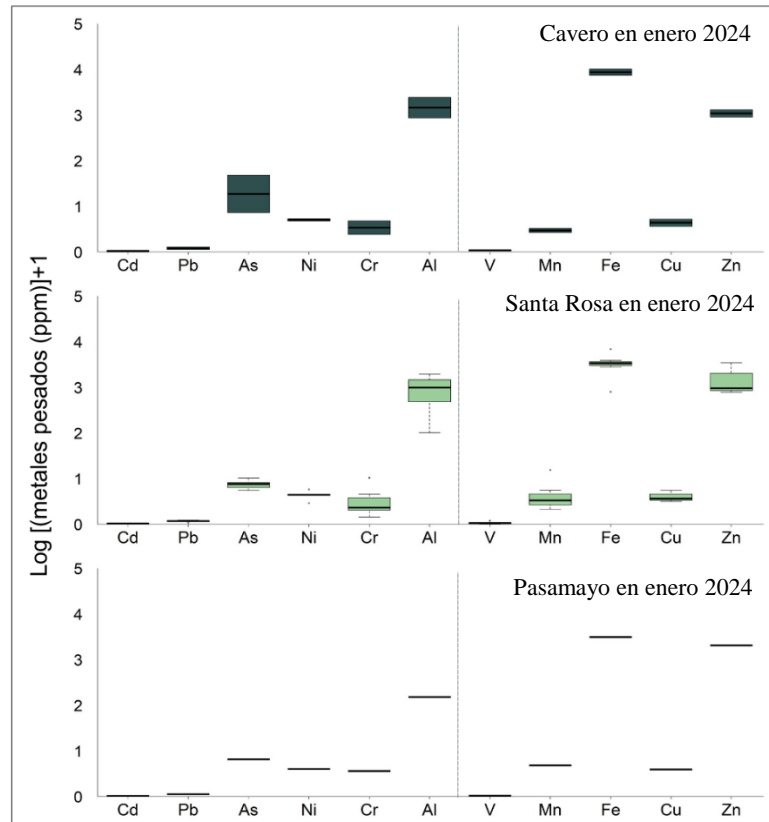


Figura 24. Concentraciones transformadas a Log (x+1) de metales en músculo de *S. gigas* en enero 2024.

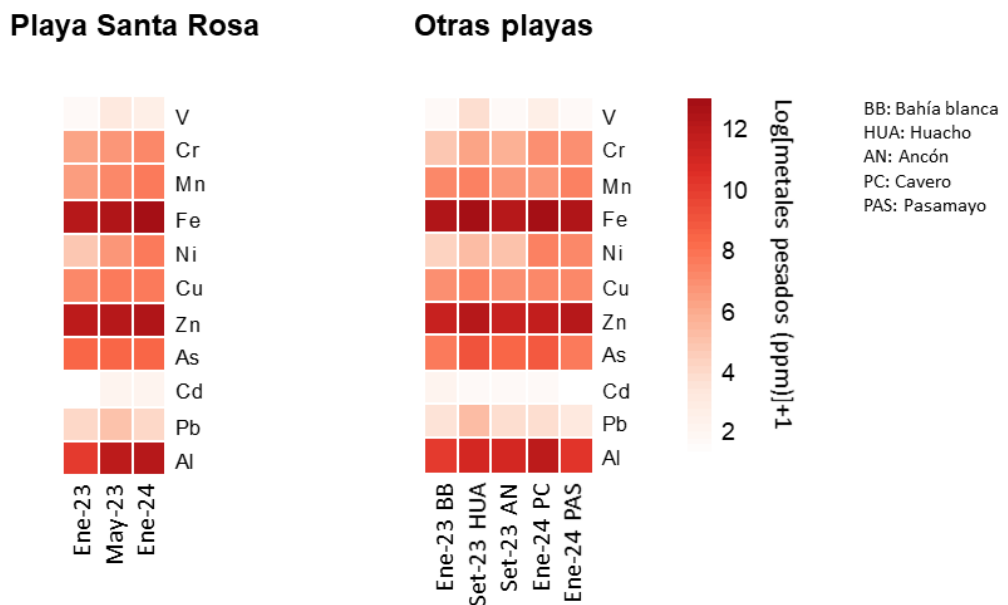


Figura 25. Concentración de metales en *Scartichthys gigas* transformadas a Log (x+1).

VI.2.2. Metales en *Labrisomus philippii*

No se observaron diferencias entre las concentraciones de metales en el músculo de *L. philippii* entre enero 2023 y septiembre 2023 en Pasamayo (Wilcoxon; $p > 0.05$; Figura 26). En Ancón solo se tuvo una muestra en septiembre 2023, por lo que no se comparó estadísticamente. Los niveles más altos de Al y As se detectaron en Ancón, con 121.41 y 6.16 ppm, respectivamente.

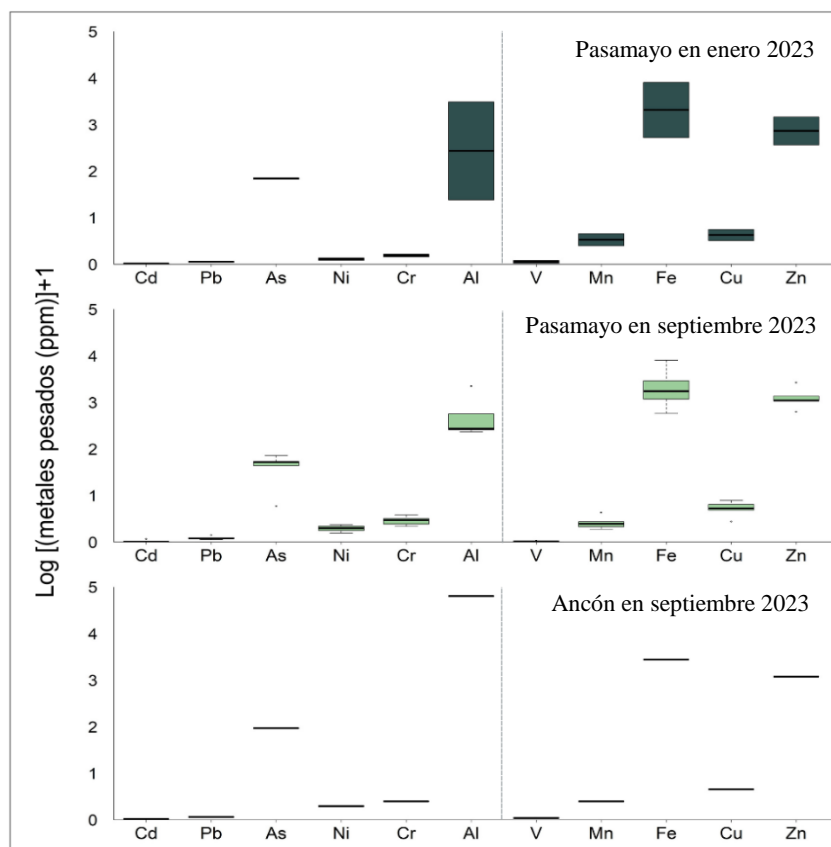


Figura 26. Concentraciones transformadas a Log (x+1) de metales en músculo de *L. philippii*.

VI.2.3. Metales en choritos

No se observaron diferencias significativas entre las concentraciones de metales en *P. purpuratus* y *S. algosus* (ANOSIM; $p = 0.69$), por lo que se tomaron las mediciones de ambas especies en conjunto para las pruebas estadísticas. No se

observaron diferencias significativas entre muestreos (PERMANOVA, g. l. = 11, 16; Pseudo F = 0.87; p = 0.66), posiblemente por el bajo número de muestras. Se optó por realizar estadística descriptiva en ambas especies de choritos.

VI.2.3.1. Metales en *Perumytilus purpuratus*

En *P. purpuratus* de enero, mayo, septiembre 2023 y enero 2024, se observó que Al, Fe y Zn tuvieron las mayores concentraciones (Figuras 27, 28 y 29).

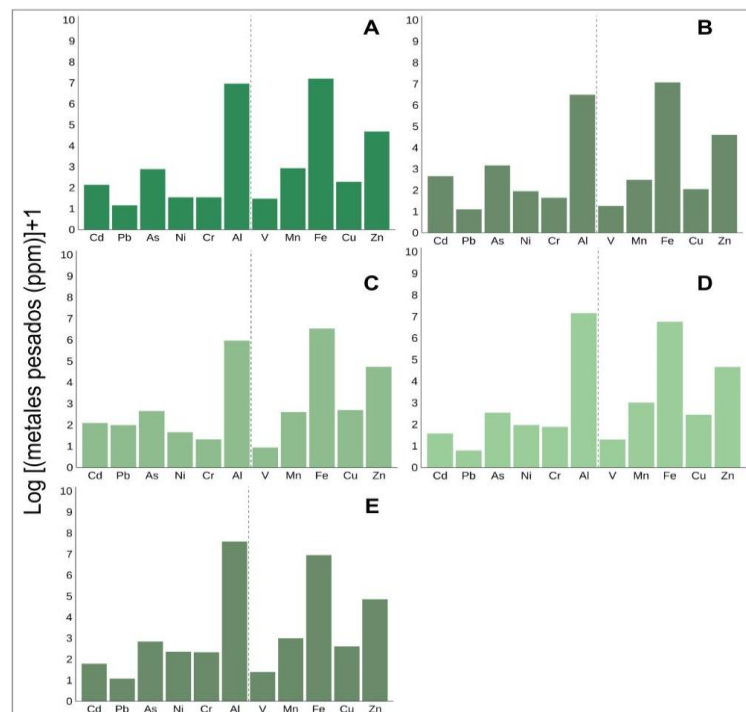


Figura 27. Concentraciones de metales en tejido de *Perumytilus purpuratus* en (A) Santa Rosa en enero 2023, (B) playa Paraíso en enero 2023, (C) playa Cavelero en enero 2023, (D) Santa Rosa en mayo 2023 y (E) Ancón en septiembre 2023.

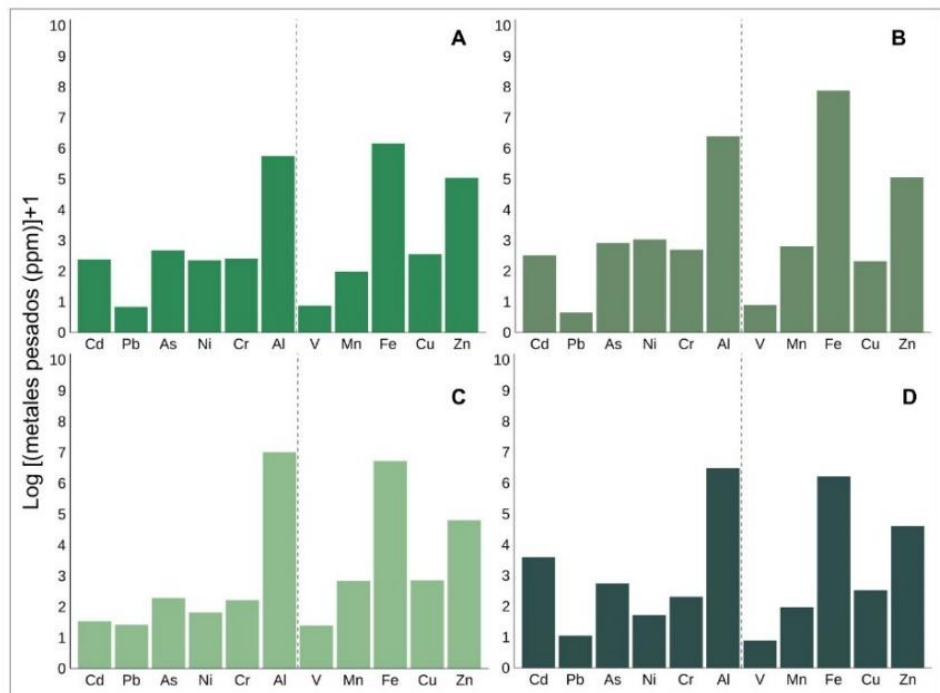


Figura 28. Concentraciones de metales en *P. purpuratus* en (A) Santa Rosa, (B) playa Paraíso, (C) playa Cavero y (D) Ancón en enero 2024.

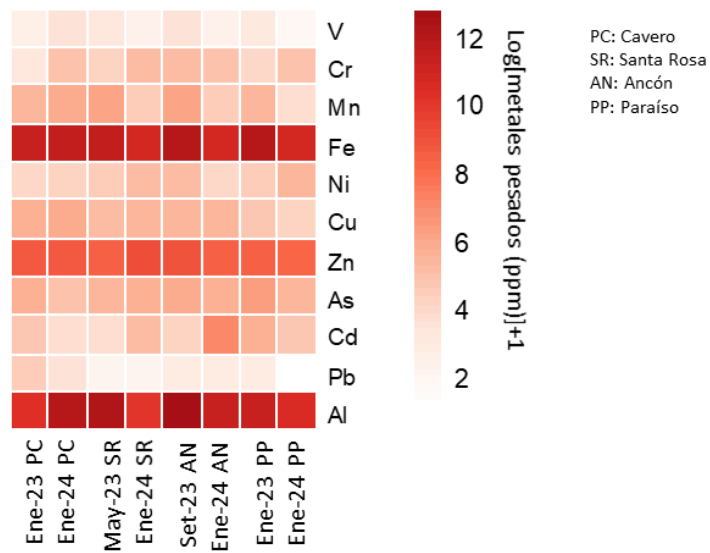


Figura 29. Concentración de metales en *Perumytilus purpuratus* en todos los monitoreos.

VI.2.3.2. Metales en *Semimytilus algosus*

Semimytilus algosus siguió un patrón espacio-temporal similar al de *P. purpuratus*. Los metales con mayores concentraciones fueron Al, Fe, Zn en enero, mayo, septiembre 2023 y enero 2024 y las menores concentraciones de metales fueron de V y Pb (Figuras 30, 31 y 32).

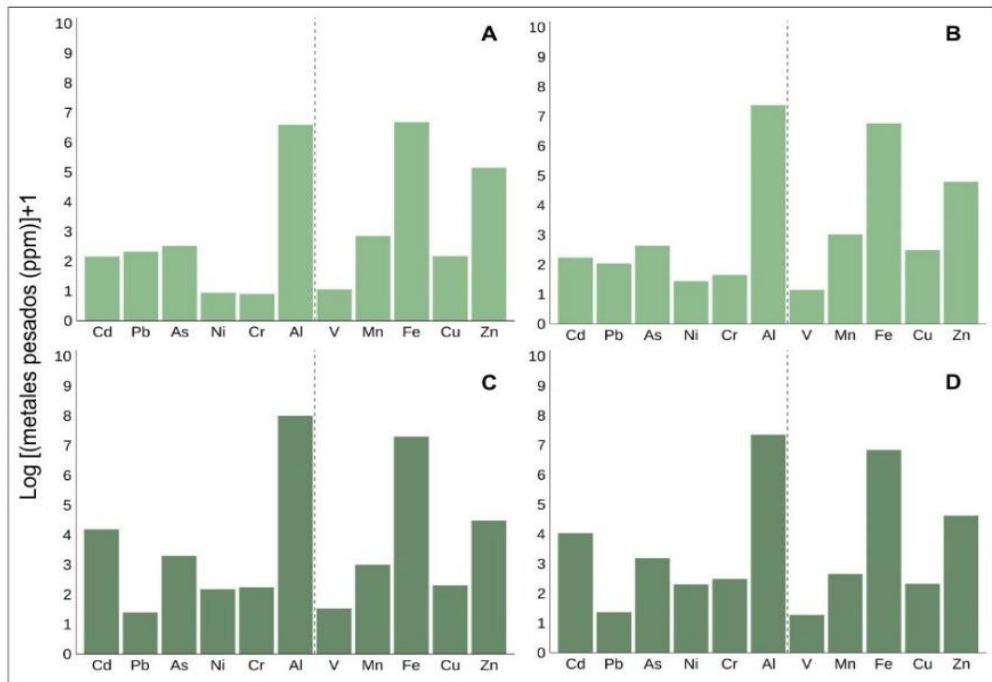


Figura 30. Concentraciones transformadas a Log (x+1) de metales en tejido de *S. algosus* en las playas (A) Cavero en enero, (B) Cavero en mayo, (C) Paraíso en mayo y (D) Paraíso en septiembre 2023.

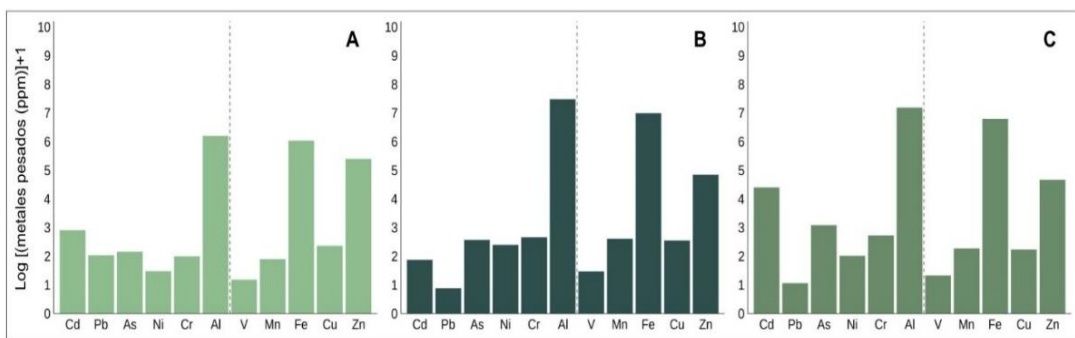


Figura 31. Concentraciones transformadas a Log (x+1) de metales en *Semimytilus algosus* en (A) playa Cavero, (B) Ancón y (C) playa Paraíso en enero 2024.

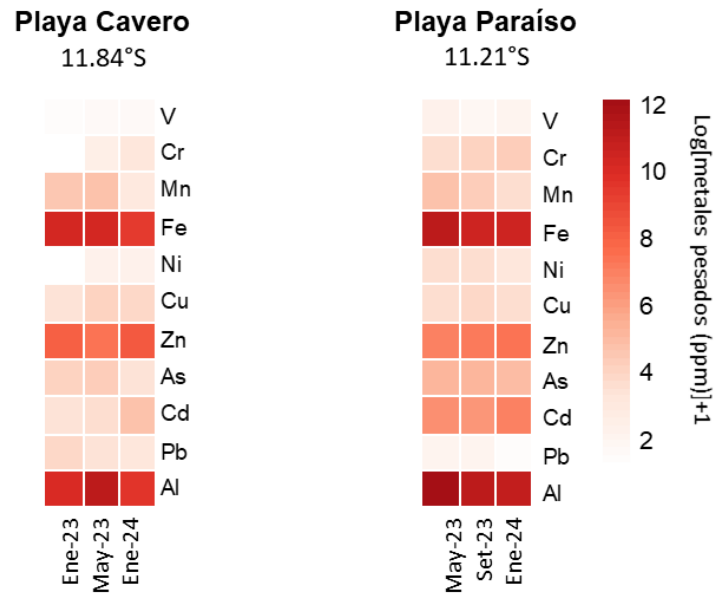


Figura 32. Concentración de metales en *Semimytilus algosus* en todos los monitoreos.

VI.3. Biomarcadores

VI.3.1. Biomarcadores de exposición en choritos *Perumytilus purpuratus*

Se obtuvieron los niveles de expresión de la CAT, CYP3A, MT (Figura 33 y 34; Anexo 9). Estadísticamente, existieron diferencias espacio-temporales significativas en la expresión de los tres biomarcadores (PERMANOVA, g.l. = 9, 29; Pseudo F = 1.6; $p = 0.04$). sin embargo, la prueba *post hoc* no mostró diferencias entre grupos, posiblemente por el número de muestras (3 muestras por monitoreo). Por lo que se aplicó la prueba *t-student* para realizar comparaciones en cada biomarcador entre monitoreos. Se evidenció diferencias temporales significativas en la expresión de CAT en la playa Santa Rosa entre las cuatro fechas de monitoreos ($p < 0.01$). Además, en la misma playa se encontró una diferencia significativa en la expresión de MT entre los monitoreos de enero 2023 y septiembre 2023. Espacialmente, para CYP3A no se encontraron diferencias significativas en enero 2024 entre las playas Ancón y Paraíso, sin embargo, la probabilidad estuvo muy

cercana al nivel de significancia ($p = 0.06$). En enero 2024 en playa Santa Rosa y Paraíso se observaron los mayores niveles de expresión de CAT. En las próximas secciones se analiza la correlación de la expresión de cada biomarcador con los HAP y metales.

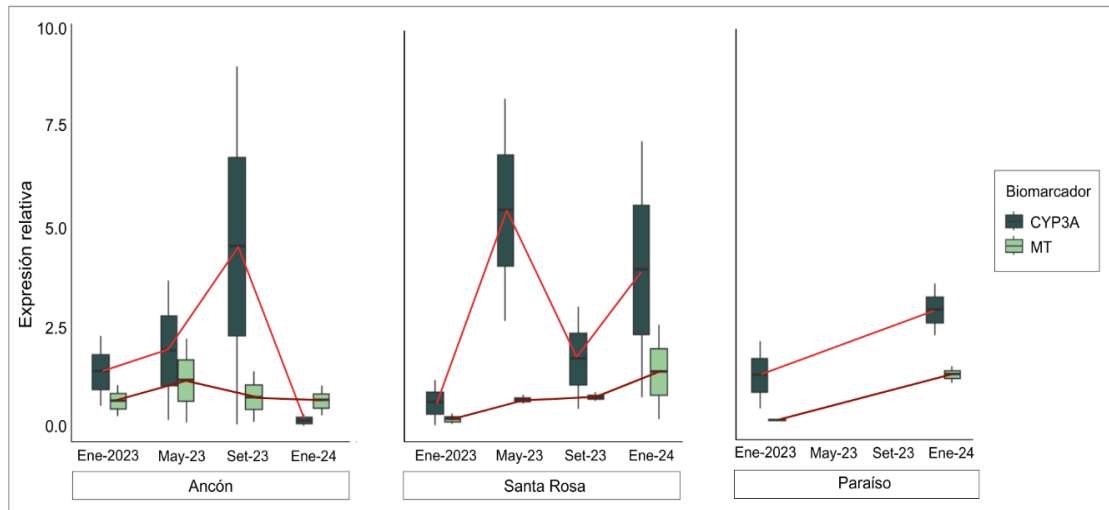


Figura 33. Expresión relativa de CYP3A y MT en especímenes de *Perumytilus purpuratus*.

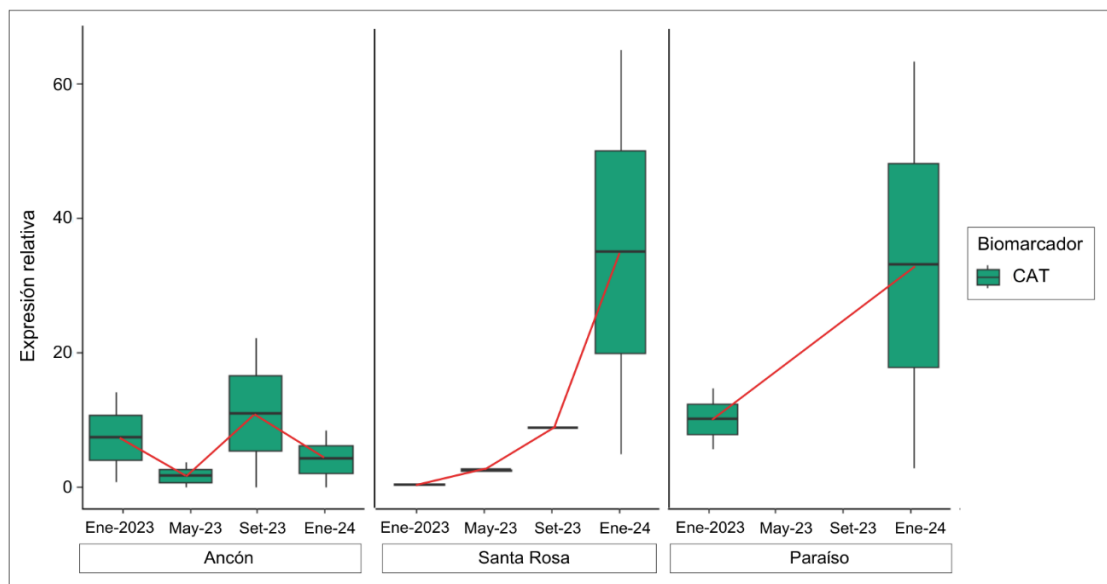


Figura 34. Expresión relativa de los genes catalasas (CAT) en especímenes de *Perumytilus purpuratus*.

VI.3.2. Biomarcadores de efecto

VI.3.2.1. Índices somáticos en peces

Durante las cuatro campañas de monitoreo en las playas Cavero, Santa Rosa, Ancón, Pasamayo y Bahía Blanca se recolectaron en total 58 peces, entre las especies *Scartichthys gigas* y *Labrisomus philippii* (Anexo 10). Se identificaron diferencias estadísticamente significativas en los índices somáticos: factor de condición, índice hepatosomático e índice gonadosomático (Figura 35; PERMANOVA, Pseudo F = 2.89; g.l. = 6, 30; p =0.0054). Los monitoreos que causaron esta diferencia fueron Santa Rosa y Bahía Blanca en enero 2023 (Tabla 24). Los índices somáticos que más aportaron a la disimilitud fueron el IH e IG (SIMPER, Tabla 25).

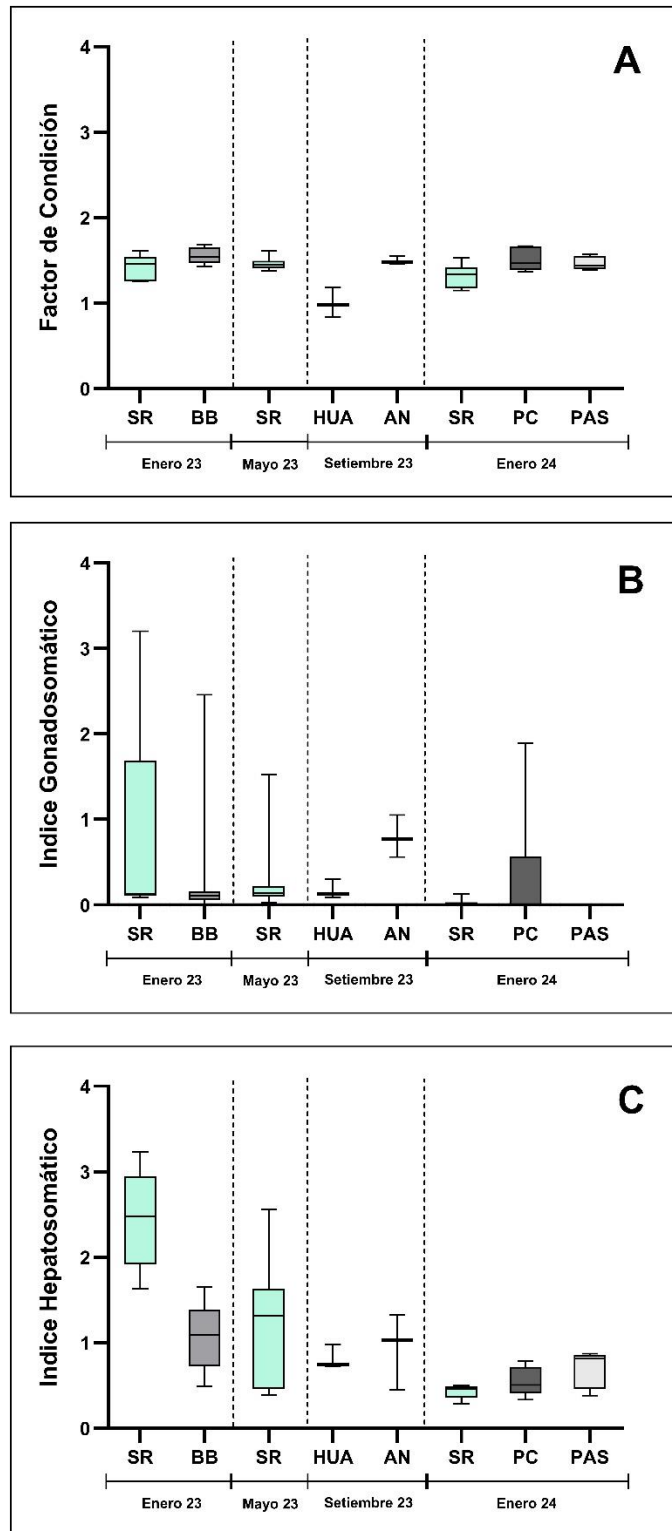


Figura 35. Índices somáticos en *Scartichthys gigas* en los cuatro monitoreos del presente estudio, A) Factor de condición, B) Índices gonadosomáticos, C) Índices hepatosomáticos. SR: Santa Rosa, BB: Bahía Blanca, HUA: Huacho, AN: Ancón, PC: Playa Cavero, PAS: Pasamayo.

Tabla 24. Prueba de comparación pareada de los resultados de la PERMANOVA

Comparación	F	Probabilidad	p_ajustada
Santa Rosa enero 2023 vs Bahía Blanca en enero 2023	4.37	0.002	0.04
Santa Rosa enero 2023 vs Santa Rosa mayo 2023	4.75	0.01	0.21
Santa Rosa enero 2023 vs Huacho septiembre 2023	8.92	0.01	0.33

Tabla 25. Porcentaje de similitud (SIMPER) entre sitios de monitoreo para el músculo de *Scartichthys gigas*.

Monitoreo 1	Monitoreo 2	IH %	IG %	FC %
Santa Rosa enero 2023	Bahía Blanca en enero 2023	0.606	0.311	-
Santa Rosa enero 2023	Santa Rosa mayo 2023	0.646	0.292	-
Santa Rosa enero 2023	Huacho septiembre 2023	0.631	0.200	-

VI.3.2.2. Índices somáticos en choritos

Se observaron diferencias significativas en el IC de *P. purpuratus* entre sitios y fechas (Figura 36; $\chi^2 = 28.441$, $df = 11$, $p = 0.003$). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en las pruebas pareadas entre grupos ($p_{ajustada} > 0.05$), esto podría deberse porque las diferencias globales podrían ser sutiles o que el tamaño muestra fue adecuado solo para detectarlas a nivel individual. Los niveles más altos de IC se observaron en la playa de Ancón, mientras que playa Paraíso y Santa Rosa tuvieron resultados similares entre muestreos.

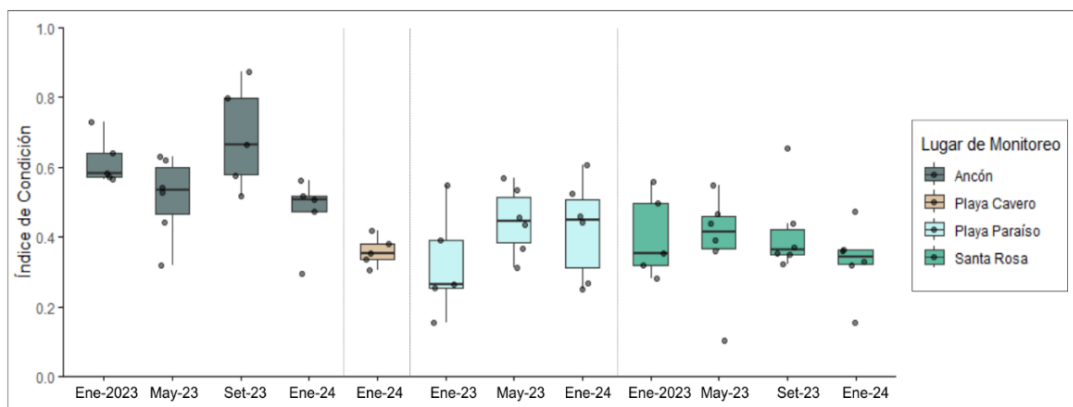


Figura 36. Índice de condición en choritos *Perumytilus purpuratus* de las playas Ancón, playa Cavelero, Santa Rosa y Paraíso en las cuatro campañas de monitoreo.

VI.4. Asociación de contaminantes con biomarcadores

VI.4.1. Asociación de HAP en *Scartichthys gigas* con índices somáticos

Los dos primeros ejes del RDA explicaron el 99.3% de la relación entre las concentraciones de HAP e índices somáticos (Figura 37). El RDA1 explicó el 79.7 % de la relación, mientras que el RDA2 representó una variabilidad secundaria (19.6%). En el RDA1, el criseno ($r = -0.75$, $p < 0.01$), el fenantreno ($r = -0.74$, $p < 0.01$) e indeno[1,2,3-cd]pireno ($r = -0.52$, $p = 0.01$) mostraron correlaciones estadísticamente significativas negativas. Respecto a índices corporales, el IG se correlacionó negativamente con el RDA1 ($r = -0.75$, $p < 0.01$). Esto indica que concentraciones elevadas de criseno, fenantreno e indeno[1,2,3-cd]pireno se asocian con el aumento del IG. El RDA2 se correlacionó significativamente de manera positiva con el dibenzo(a,h)antraceno ($r = 0.62$, $p < 0.01$), mientras que con el benzo(a)pireno ($r = 0.41$, $p = 0.07$) tuvo una correlación moderada pero sin significancia estadística. El IH se correlacionó positivamente con el RDA2, lo cual sugiere una posible influencia de dibenzo(a,h)antraceno y benzo(a)pireno sobre el aumento del IH. El factor de condición no presentó

correlaciones significativas con ninguno de los dos ejes, lo que sugiere que no existió relación directa con la exposición a HAP.

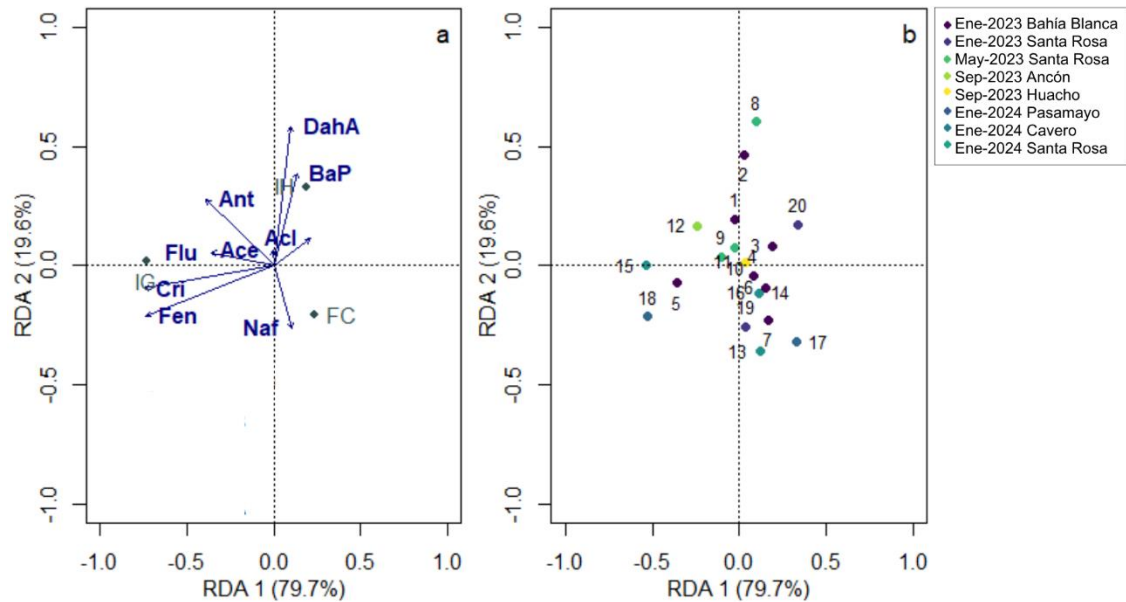


Figura 37. Resultados del RDA entre HAP y los índices somáticos de *Scartichthys gigas*.

Tabla 26. Correlación entre HAP y los dos primeros ejes del análisis de redundancia entre HAP y los índices somáticos de *Scartichthys gigas*.

HAP/ Índices somáticos	RDA 1 Correlación Pearson	RDA 2 Correlación Pearson	RDA 1 Probabilidad	RDA 2 Probabilidad
Acenafteno	0.00	0.07	0.98	0.78
Acenaftileno	0.21	0.12	0.37	0.63
Antraceno	-0.39	0.29	0.09	0.23
Benzo(a)antraceno	0.13	0.41	0.57	0.09
Criseno	-0.75	-0.1	< 0.01	0.68
Dibenzo(ah)antraceno	0.10	0.62	0.67	< 0.01
Fluoranteno	-0.36	0.06	0.11	0.81
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	-0.52	0.29	0.01	0.21
Fenantreno	-0.74	-0.22	< 0.01	0.37
Pireno	-0.41	-0.11	0.07	0.63
Factor de condición	-0.21	0.32	0.36	0.17
Índice gonadosomático	-0.78	-0.1	< 0.01	0.65
Índice hepatosomático	0.08	0.82	0.74	< 0.01

VI.4.2. Asociación de concentración de metales en músculo de *Scartichthys gigas* con índices somáticos

El RDA entre las concentraciones de metales y los índices somáticos de *S. gigas* (Figura 38), explicó el 99.4% de la variabilidad de la relación metales-biomarcadores en los dos primeros ejes. El RDA1 explicó el 87.9 %, mientras que el RDA2 explicó el 11.5%. El RDA1 tuvo una correlación positiva fuerte con el Ni ($r = 0.82, p < 0.001$), seguido del Cr ($r = 0.56, p < 0.001$), con una correlación moderada, el Fe ($r = 0.36, p = 0.03$) y el Al ($r = 0.38, p = 0.02$) con correlaciones positivas débiles (Tabla 27). El Cu mostró una correlación positiva fuerte con el RDA2 ($r = 0.79, p < 0.001$), mientras que el Zn ($r = 0.43, p = 0.008$) y Cd ($r = 0.33, p = 0.05$) también estuvieron moderadamente correlacionados con este eje. Respecto a los índices somáticos, el IH presentó una correlación negativa significativa con ambos ejes canónicos: RDA1 ($r = -0.48, p = 0.003$) y RDA2 ($r = -0.34, p = 0.039$), es decir a mayor presencia de concentraciones de Ni, Cr, Fe, Al, Cu y Cd menor es el valor de IH. Por otro lado, el IG también se correlacionó negativamente con RDA1 ($r = -0.37, p = 0.028$), lo que indica una posible disminución en el estado reproductivo de *S. gigas* en presencia de Ni, Cr, Fe y Al. Respecto a el FC, presentó correlaciones positivas significativas con Fe y Ni, por lo que las elevadas concentraciones de estos metales influyen en el aumento del FC.

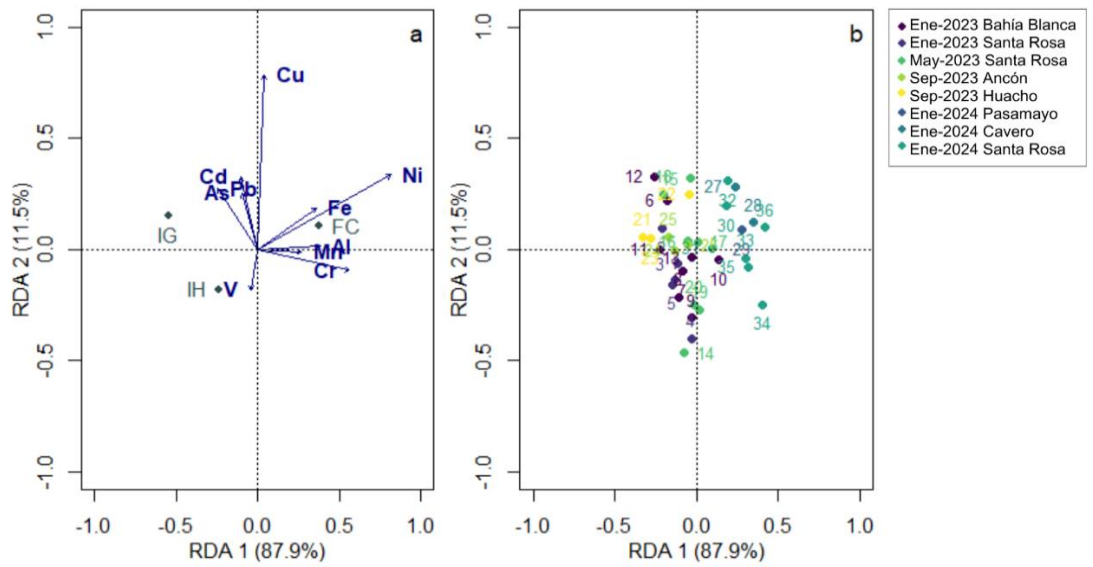


Figura 38. Resultados del RDA entre metales y los índices somáticos de *Scartichthys gigas*.

Tabla 27. Correlación entre metales e índices somáticos con los ejes del análisis de redundancia para *Scartichthys gigas*.

Metales /Índices somáticos	RDA 1 Correlación Pearson	RDA 2 Correlación Pearson	RDA 1 Probabilidad	RDA 2 Probabilidad
V	-0.04	-0.18	0.80	0.28
Cr	0.56	-0.09	< 0.01	0.58
Mn	0.27	-0.01	0.11	0.95
Fe	0.36	0.19	0.03	0.27
Ni	0.82	0.34	< 0.01	0.04
Cu	0.04	0.79	0.80	< 0.01
As	-0.09	0.25	0.58	0.13
Cd	-0.10	0.33	0.54	0.05
Pb	-0.25	0.27	0.14	0.10
Al	0.38	0.01	0.02	0.93
FC	-0.04	-0.15	0.80	0.37
IH	-0.48	-0.34	< 0.01	0.03
IG	-0.37	0.09	0.02	0.59

VI.4.3. Asociación de la concentración de HAP en tejido blando de *Perumytilus purpuratus* con el factor de condición.

El modelo lineal resultante de la relación entre la concentración de HAP (acenafteno, acenaftileno y Benzo(k)fluoranteno) y el FC en *P. purpuratus* explicó el 42.5% de la variabilidad de este biomarcador, sin embargo, el ajuste del modelo fue bajo ($R^2 = 0.08$) y no significativo ($F = 1.23$; $gl = 3, 5$; $p = 0.38$). A nivel individual, ninguno de los coeficientes para los HAP fue significativo ($p > 0.05$). La ecuación del modelo fue la siguiente:

$$FC = 0.444 + 0.029 \times \text{Acenafteno} + 0.022 \times \text{Acenaftileno} - 0.064 \times \text{Benzo(k)fluoranteno}$$

VI.4.4. Asociación de la concentración de metales en tejido blando de *Perumytilus purpuratus* con el factor de condición

El modelo resultante de la relación entre el FC y metales (V, Ni y Al) explicó 74.27% de la variabilidad del biomarcador ($R^2 = 0.54$). Sin embargo, no fue estadísticamente significativo ($F=3.84$; $g.l. =3,4$; $p = 0.11$). De los metales evaluados, el Al tuvo un efecto positivo y significativo sobre el FC ($\beta = 0.0003$; $p = 0.03$), sugiriendo que mayores concentraciones de este metal se asocian con un incremento en el FC. A continuación, se muestra la ecuación del modelo:

$$FC=0.581-0.171 \times V - 0.006 \times Ni + 0.0003 \times Al$$

VI.4.5. Asociación de la concentración HAP y metales en tejido blando de *P. purpuratus* con biomarcadores de exposición

VI.4.5.1. Asociación de HAP y Catalasas

Se evaluó la relación entre la concentración de los HAP y la actividad de la catalasa (CAT) como biomarcador de estrés oxidativo en *S. gigas*. Los análisis de correlación mostraron una fuerte asociación positiva ($p < 0.05$) entre la CAT y el antraceno ($r = 0.89$), fluoreno ($r = 0.93$) y fenantreno ($r = 0.96$). El modelo de regresión lineal múltiple entre CAT y los HAP antraceno y acenaftileno fue significativo ($F = 7.78$; $gl = 2,4$; $p = 0.04$), explicando el 79.6% de la variabilidad observada en CAT. El antraceno tuvo un efecto positivo sobre la CAT ($\beta = 0.737$; $p = 0.02$), mientras que el acenaftileno no mostró efecto ($p = 0.99$).

$$CAT = 5.796 + 0.737 \times \text{Antraceno} - 0.01 \times \text{Acenaftileno}$$

El modelo que incluyó al fluoreno y al acenafteno resultó estadísticamente significativo ($F = 12.67$; $gl = 2$ y 4 ; $p = 0.02$) y explicó el 86% de la variabilidad en CAT. El fluoreno presentó un efecto positivo ($\beta = 0.819$; $p < 0.001$) en CAT, pero no el acenafteno ($\beta = -0.887$; $p = 0.768$). La ecuación del modelo fue:

$$CAT = 4.33 + 0.819 \times \text{Fluoreno} - 0.887 \times \text{Acenafteno}$$

El modelo que evaluó el efecto de fenantreno y criseno sobre la actividad de CAT tuvo la mayor capacidad explicativa ($R^2 = 0.92$), siendo altamente significativo ($F = 23.59$; $g.l. = 2, 4$; $p < 0.001$). El fenantreno mostró un efecto

positivo y significativo ($\beta = 0.566$; $p = 0.003$), mientras que el criseno no ($\beta = 0.511$; $p = 0.73$). La ecuación del modelo fue:

$$\text{CAT} = 4.644 + 0.566 \times \text{Fenantreno} + 0.511 \times \text{Criseno}$$

En conjunto, los tres modelos muestran que el fenantreno, fluoreno y antraceno, estarían asociados a un aumento en la expresión de la CAT (Figura 39). El cálculo de la correlación bivariada de Pearson entre la expresión de catalasas y la sumatoria de antraceno, fluoreno y fenantreno fue altamente positiva ($r = 0.94$). Mientras que el acenaftileno, acenafteno y criseno no evidenciaron efectos significativos.

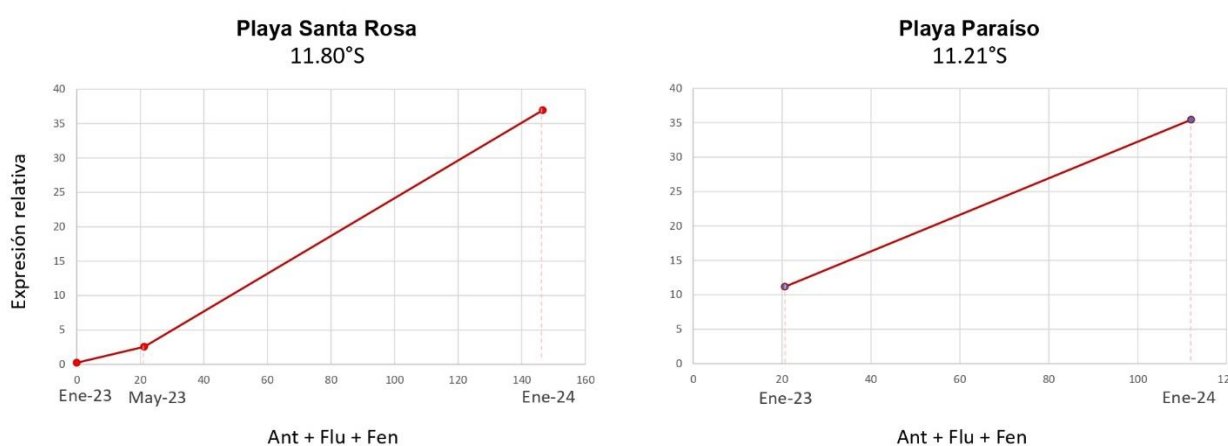


Figura 39. Relación entre la expresión de catalasas y los HAP (antraceno, fluoreno y fenantreno) en choritos *Perumytilus purpuratus*.

VI.4.5.2. Asociación de HAP y citocromo P450 3A

El modelo de regresión lineal múltiple para antraceno y naftaleno como predictores de la actividad del CYP3A no fue estadísticamente significativo ($F = 1.87$; g.l. = 2, 4; $p = 0.27$). Ninguno de los compuestos mostró un efecto

significativo sobre la enzima (antraceno: $\beta = 0.05$; $p = 0.26$; naftaleno: $\beta = -0.03$; $p = 0.18$). El modelo que incluyó como predictores del CYP3A al acenaftileno y fluoreno, no fue significativo ($F = 1.80$; $gl = 2,4$; $p = 0.27$), lo que se confirmó al evaluar sus coeficientes (acenaftileno: $\beta = -1.129$; $p = 0.173$; fluoreno: $\beta = 0.025$; $p = 0.580$).

VI.4.5.3. Asociación de metales y catalasas

El modelo de regresión lineal múltiple incluyó a Zn, V, Pb como variables explicativas de CAT, explicó el 85% de la variabilidad observada. De los tres metales, solo el Zn mostró un efecto positivo ($p = 0.03$), mientras que V y Pb no presentaron relaciones significativas con CAT ($P > 0.05$). El modelo que incluyó a Ni y Al, el Ni tuvo un efecto positivo y significativo sobre CAT ($p = 0.03$), pero no el Al ($p = 0.17$). En conjunto, los dos modelos muestran que Zn y Ni estarían asociados a un aumento en la expresión de la CAT. Para evaluar la relación entre la expresión de CAT y dichos metales, se calculó la correlación de Pearson. Se observó una correlación altamente positiva ($r = 0.92$), la cual se grafica en la Figura 40.

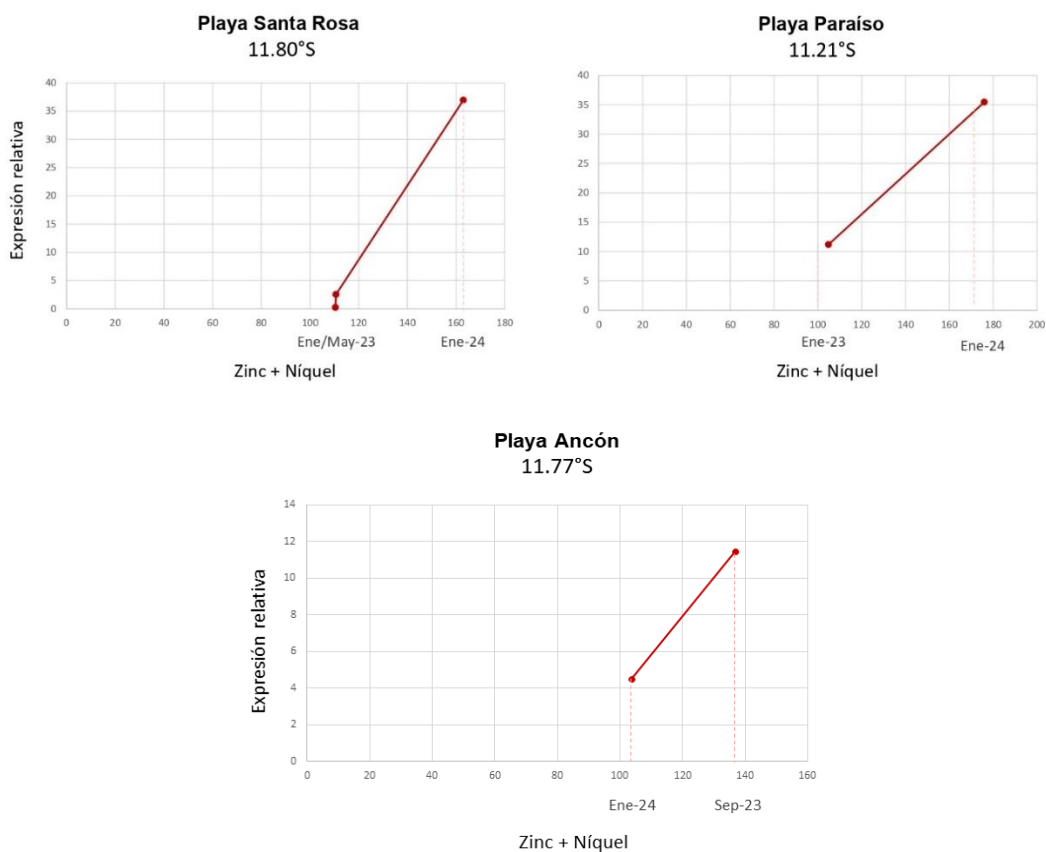


Figura 40. Relación entre la expresión de catalasas y metales (zinc y níquel) en los choritos *Perumytilus purpuratus* por monitoreo.

VI.4.5.4. Asociación de metales y CYP3A

El modelo de regresión lineal múltiple que incluyó al Cu y Mn como variables explicativas de CYP3A, no fue estadísticamente significativo ($F = 1.58$; g.l. = 2, 4; $p = 0.31$). A nivel individual, ninguno de los metales mostró efectos significativos sobre CYP3A (Cu: $\beta = 0.51$; $p = 0.24$, Mn: $\beta = 0.16$; $p = 0.28$).

$$\text{CYP} = -4.805 + 0.514 \times \text{Cu} + 0.166 \times \text{Mn}$$

El modelo que incluyó las concentraciones de Cd y Pb como predictores de CYP3A explicó 67.6% de la variabilidad en la expresión del biomarcador (R^2

ajustado = 0.51), aunque no fue significativo ($F = 4.17$; $gl = 2, 4$; $p = 0.10$), al igual que los metales individualmente (Cd: $\beta = -0.112$, $p = 0.11$; Pb: $\beta = -2.01$; $p = 0.17$).

$$\text{CYP} = 7.315 - 0.112 \times \text{Cd} - 2.011 \times \text{Pb}$$

En conjunto, los resultados indican que las concentraciones de metales no tienen influencia estadísticamente significativa en la expresión del CYP3A.

VI.4.5.5. Asociación de metales y metalotioneínas

El Cr y el Zn se correlacionaron positivamente ($p < 0.05$) con las MT ($r = 0.89$ para ambos), mientras que el V y el Pb se relacionaron negativamente con este biomarcador ($-r = -0.72$ y -0.81 , respectivamente). El modelo que incluyó al Cr y el Pb explicó 87.8% de la variabilidad observada en MT ($R^2 = 0.88$, $p = 0.02$). En este modelo, el Cr tuvo una relación positiva marginal con las MT ($\beta = 0.08$, $p = 0.056$), mientras que el plomo no fue significativo ($\beta = -0.4051$, $p = 0.15$).

$$\text{MT} = 0.725 + 0.081 \times \text{Cr} - 0.405 \times \text{Pb}$$

El modelo que consideró a los metales V y Zn como predictores de las MT fue significativo, ($R^2 = 0.897$; $p = 0.011$). El Zn tuvo una asociación positiva con la expresión de MT ($\beta = 0.013$, $p = 0.01$), mientras que el V no tuvo efecto ($\beta = -0.213$, $p = 0.11$). La ecuación del modelo es la siguiente:

$$\text{MT} = -0.431 - 0.213 \times \text{V} + 0.013 \times \text{Zn}$$

Los resultados sugieren que tanto el Cr y Zn están relacionados con el aumento de la expresión de MT (Figura 41). La correlación de Pearson entre la expresión de

metalotioneínas y la sumatoria de Cr y Zn fue positiva ($r = 0.90$). Mientras que El V y Pb no mostraron efectos significativos en los modelos.

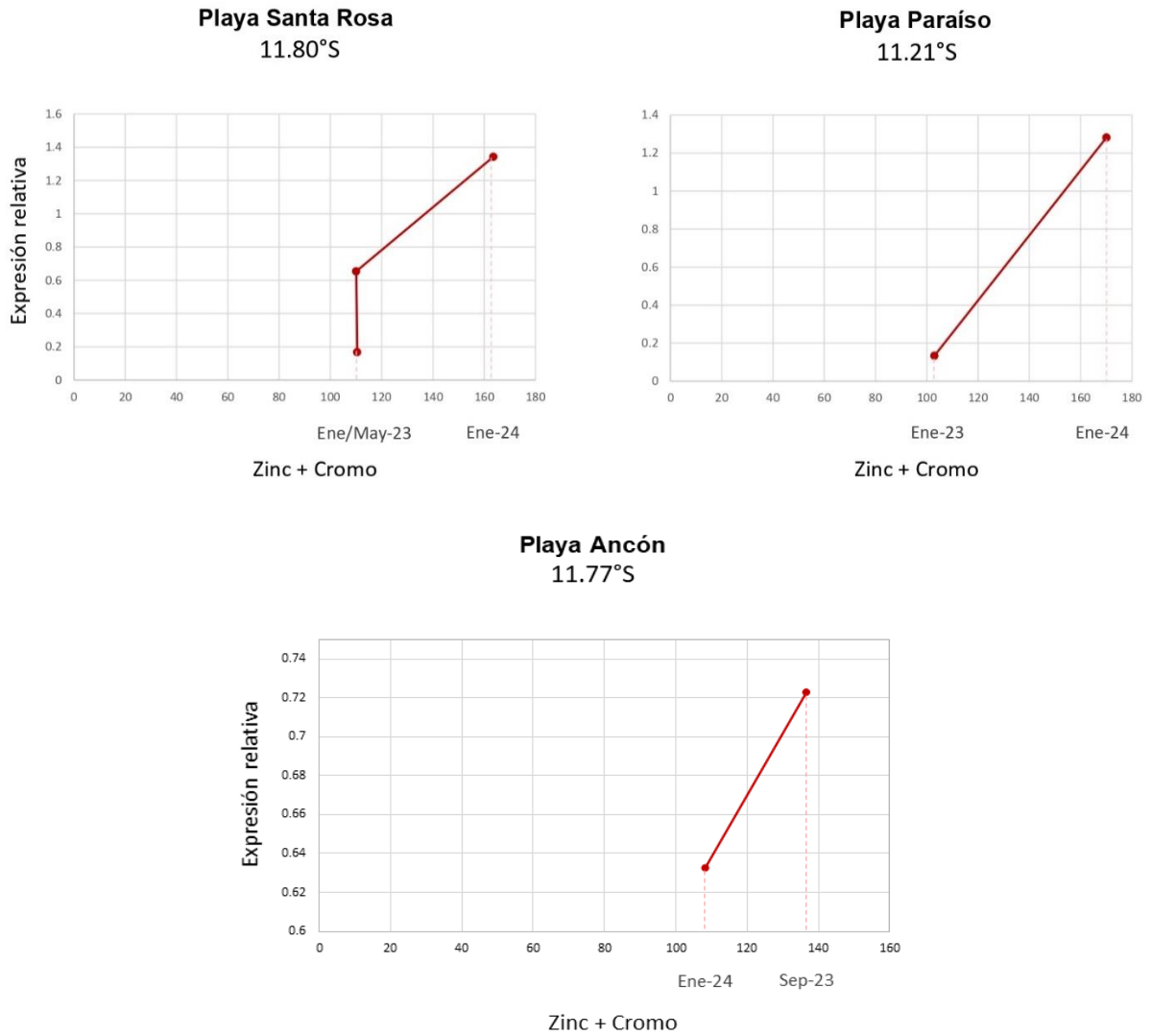


Figura 41. Relación entre la expresión de las metalotioneínas y metales (zinc y cromo) en choritos *Perumytilus pupuratus* por monitoreo.

VII. DISCUSIÓN

VII.1. Patrones espacio-temporales de la concentración de HAP en peces

Se esperaba describir un gradiente temporal de concentraciones de HAP con mayores concentraciones al inicio del monitoreo, relacionado con procesos de bioacumulación y mayor disponibilidad de HAP en el medio (Zhang et al., 2019a), y al final del estudio un decrecimiento en las concentraciones de HAP, al estar menos disponibles en el medio, debido a procesos de meteorización a través del tiempo (Short y Springman, 2006). Contrario a la hipótesis planteada, la concentración de LMW-PAH aumentó de enero 2023 a enero 2024 en *S. gigas* de distintas playas (Cavero, Santa Rosa y Pasamayo), sin evidenciar diferencias de concentración espacial entre playas. Las concentraciones de HMW-PAH si coincidieron con lo planteado en la hipótesis, ya que sus concentraciones disminuyeron de enero 2023 a enero 2024 en las playas mencionadas. Estudios previos en músculo de peces de ecosistemas marinos contaminados por petróleo, mostraron que los LMW-PAH son los HAP que más se bioacumulan, particularmente el naftaleno (Bandowe et al., 2014; Sinaei y Mashinchian, 2014). La solubilidad del naftaleno en agua a 25°C es ~58 veces mayor que su capacidad de evaporación, por lo que el agua actúa como una esponja para este compuesto (Short y Springman, 2006). Los LMW-PAH son más hidrosolubles que los HMW-PAH, y tienen una menor sorción al carbono orgánico ambiental, lo que contribuye a su mayor biodisponibilidad en el agua para los niveles bajos de la cadena trófica (Meador et al., 1995; Sinaei y Mashinchian, 2014). Al noreste de España tras el derrame de petróleo de Prestige, los perfiles de plancton recolectados mostraron predominio de los LMW-PAH y coincidieron con los HAP disueltos en el agua de

mar (Salas et al., 2006). Estos factores podrían explicar las altas concentraciones de naftaleno, en el músculo e hígado de *L. philippii* y *S. gigas*.

El metabolismo de los peces puede convertir hasta el 99 % de los HAP en metabolitos en las primeras 72 horas siguientes a su absorción (Djomo et al., 1996). Los peces que han sido expuestos a HAP y posteriormente se colocan en un entorno sin contaminación, vuelven a su estado basal (Baussant et al., 1999). Se ha comprobado que los LMW-PAH son menos persistentes que los HMW-PAH en peces (Meador et al., 1995), pero son más persistentes en el agua de mar (Sinaei, y Mashinchian, 2014). Esto sugiere que, en las playas Caveró, Santa Rosa y Pasamayo, los LMW-HAP persistieron al menos hasta enero de 2024, dos años después del derrame de petróleo, observándose un aumento de concentraciones de LMW-PAH en el músculo de *S. gigas*. En el caso de *L. philippii* en Playa Caveró en enero de 2024, 12 de los 16 HAP mostraron valores menores al límite de detección. Esta diferencia de las concentraciones entre *S. gigas* y *L. philippii* podría deberse a diferencias en la captación, biotransformación y la tasa de eliminación entre especies.

Los HMW-PAH son prácticamente insolubles en el agua de mar (National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine, 2022), como parte de la materia orgánica particulada se hunden en los sedimentos, donde persisten debido a las condiciones de degradación lenta por falta de radiación y oxígeno (Mariño-Balsa et al. 2003; Silva et al. 2024). Estos compuestos persisten en los sedimentos durante al menos cuatro años después de un derrame petrolero (Meador et al., 1995). Es posible que los peces bentónicos absorban pequeñas partículas con HMW-PAH

a través de la membrana branquial o la ingestión de alimentos (Bandonwe et al. 2014). La exposición a HMW-PAH contribuye a la carcinogénesis en peces (Baumann y Harshbarger, 1998; Short y Springman, 2006), por lo que su detección puede ser indicativo de posibles problemas de salud a nivel comunitario. La playa de Chancay en septiembre 2022 tuvo los valores más altos de HMW-PAH (benzo(a)pireno y benzo(k)fluoranteno) en *L. philippii*. Debido a que en Chancay se han realizado operaciones para la construcción del puerto desde el 2016, los resultados obtenidos también podrían estar influidos por dicha actividad, y no sólo por los derrames de petróleo ocurridos en enero 2022. Informes de ONG MUNDO AZUL (2021) y SPDA (2023) evaluaron los posibles impactos ambientales negativos ocasionados por la construcción del puerto. Advierten sobre los impactos que tienen las operaciones de dragado, ya que los sedimentos marinos actúan como sumidero para los contaminantes y las actividades de dragado ocasionan su resuspensión en la columna de agua (Roberts, 2012).

La concentración de HAP en hígado de *S. gigas* y *L. philippii* no mostró un patrón de concentración espacio-temporal, por falta de muestras para cubrir todas las playas de este estudio. Los HAP predominantes fueron LMW-PAH (naftaleno, fluoreno y fenantreno) y tuvieron mayores concentraciones que en el músculo. El hígado es el principal órgano del metabolismo y desempeña el papel principal en la desintoxicación de compuestos químicos (Aladesanmi et al., 2017). En peces expuestos a petróleo, el hígado es uno de los órganos que más bioacumulan HAP (Curtosi et al. 2009; Omar-Ali et al., 2015). Los altos niveles de LMW-PAH en el hígado de peces podrían representar una bioacumulación a corto plazo, antes de ser degradados y excretados (Curtosi et al., 2009). Las altas concentraciones de LMW-

PAH encontradas en el músculo e hígado de los peces sugieren una fuente de contaminación predominantemente petrogénica, ya que estos compuestos son característicos de petróleo y se encuentran en mayor proporción en fuentes no combustas (Yunker et al., 2002; Espinoza et al., 2023). Por otro lado, los HAP pirogénicos se caracterizan por un predominio de HMW-PAH, asociados a los subproductos de la combustión (Snyder et al., 2020).

La presencia de benzo(a)pireno BaP y la \sum_4 HAP (*benzo(a)pireno + benzo(b)fluoranteno + benzo(a)antraceno + criseno*) en alimentos marinos ha sido restringida en la Unión Europea (Comisión Europea, 2023), y por SANIPES en Perú (SANIPES, 2016). El alto porcentaje de muestras que superaron los NM en *S. gigas* y *L. philippii* para BaP y \sum_4 HAP hacen énfasis en que se necesita una mejor comprensión del estado actual de los HAP en los ecosistemas costeros y sus posibles efectos adversos para la salud humana (Yu et al., 2019).

VII.1. Patrones espacio-temporales de la concentración de HAP en moluscos bivalvos

En los choritos *P. purpuratus* y *S. algosus*, se esperaba evidenciar un patrón de concentración espacio-temporal con las mayores concentraciones de HAP en las playas más cercanas al punto del derrame, y una disminución temporal en las concentraciones (Viñas et al., 2009). Sin embargo, de enero 2023 a enero 2024, aumentaron las concentraciones de LMW-PAH en *P. purpuratus* de las playas Santa Rosa y Paraíso. El naftaleno fue el LMW-PAH con mayores concentraciones en todos los monitoreos de las playas Cavero, Santa Rosa, Ancón y Paraíso, por lo que se descartó la hipótesis principal en esta especie. *Perumytilus purpuratus*

mostró un aumento temporal en la concentración de LMW-PAH, igual que en los peces *S. gigas* y *L. philippii*. La biodisponibilidad de los LMW-PAH puede considerarse el principal factor explicativo en la carga corporal de estos contaminantes (Viñas et al., 2009). Los MMW-PAH (criseno y pireno), mostraron el mismo patrón creciente, con concentraciones < LD en enero 2023 y un aumento al año siguiente (enero 2024) en playa Santa Rosa y en playa Paraíso. Los HMW-PAH, no evidenciaron un patrón temporal similar para todas las playas. En playa Paraíso disminuyó la concentración de benzo(a)pireno, benzo(b)fluoranteno y benzo(k)fluoranteno en enero 2024 en comparación a monitoreos anteriores, mientras que para las playas Santa Rosa y Ancón, aumentaron las concentraciones de benzo(a)pireno, benzo(b)fluoranteno y benzo(k)fluoranteno en enero 2024. Los HMW-PAH tienen baja solubilidad en agua y son más lipofílicos (Meador et al. 1995). Este aumento de las concentraciones de HMW-PAH en *P. purpuratus* de playa Santa Rosa y Ancón, dos años después del derrame, podría estar relacionado con las condiciones oceanográficas donde ocurrió el derrame de petróleo. La región se caracteriza por un patrón típico de circulación costera ascendente, el afloramiento costero (Mogollón et al., 2022). Posiblemente por acción del afloramiento costero, los HMW-PAH del fondo son resuspendidos continuamente y están biodisponibles en la zona intermareal para ser absorbidos por los choritos, incluso hasta después de 2 años del derrame. Según el modelo realizado por Mogollón et al., (2022) sobre el destino del petróleo derramado en Ventanilla, aproximadamente el 70% del petróleo derramado se depositó y quedó varado a lo largo de la extensión costera desde Ventanilla hasta Playa Grande, ubicada unos 70 km más al norte. Además, dicho estudio indica que las playas Ventanilla, Santa

Rosa, Ancón y Punta Chancay, y el Grupo de las Islas Pescadores, representan en conjunto el 96% del área impactada por el petróleo derramado (Mogollón et al., 2022).

La vida media de HAP en bivalvos puede ser de pocos días a unas semanas (Meador et al., 1995). Para el mejillón *Mytilus edulis* expuesto a benzo(a)pireno (BaP) y posteriormente colocado en agua de mar limpia; el BaP registró en una vida media de 16 días, esto indica que los mejillones no metabolizan el BaP, pero sí pueden reducir las concentraciones tisulares mediante una lenta pérdida difusiva, en entornos sin contaminación (Dunn y Stich, 1976; Meador et al., 1995). La tasa de eliminación y persistencia está influenciada por el tiempo de exposición, de modo que, tras una exposición crónica tanto la absorción como la depuración se ralentizan significativamente (Viñas et al., 2009).

En los monitoreos de *P. purpuratus* de enero de 2023 y mayo de 2023, existió un patrón espacial de concentración con mayores concentraciones de los LMW-PAH, naftaleno y fenantreno, en playa Paraíso, la más distante al derrame, en comparación con playa Santa Rosa, la más cercana al derrame. Posiblemente, los HAP fueron arrastrados por acción de la Corriente Costera Peruana, la cual actúa como un chorro oceánico hacia el ecuador durante todo el año, haciendo posible que el petróleo se dirigiera hacia el norte siguiendo la línea de costa (Mogollón et al., 2022). Sin embargo, no se pueden descartar otras fuentes de petróleo constantes en dichas zonas. Como indica la Coordinadora Nacional de Derechos Humanos, en el año 2021, el 90% de los 3.321 pasivos ambientales, referente a huellas de fugas o derrames de petróleo que no son reparados, están en la costa (Céspedes et al., 2024).

Las mediciones de HAP en *S. algosus* no fueron suficientes para analizar tendencias de concentración consistentes. Sin embargo, las playas Cavero y Paraíso mostraron una disminución en las concentraciones de los LMW-PAH de mayo 2023 a enero 2024. Los LMW-PAH tuvieron mayores concentraciones que los HMW-PAH, particularmente el naftaleno. Las mayores concentraciones de LMW-PAH ocurrieron en playa Paraíso, este patrón inesperado podría deberse a las corrientes marinas que han dispersado los HAP, especialmente los LMW-PAH que son más solubles y volátiles. Sin embargo, el aumento de concentración podría ser influencia de otras fuentes de contaminación de petróleo en el mar y no solo debido al derrame del 2022. En la zona costera de Lima, la contaminación por crudo también proviene de vertimientos operativos en el puerto del Callao y Ventanilla, así como de fugas menores en la refinería La Pampilla y esorrentías de talleres y estaciones de servicio, que generan una contaminación crónica en aguas y sedimentos costeros (Céspedes et al., 2024).

VII.1. Implicaciones ecológicas de la concentración de HAP en el tejido de la fauna marina

La exposición crónica a sedimentos con HAP reduce la aptitud biológica, como la capacidad de adquirir presas o de evitar depredadores, lo que podría provocar mortalidad antes de la primera oportunidad reproductiva (Short y Springman, 2006). Tres meses después del derrame de petróleo al norte de Lima se registró la desaparición parcial o total de especies de invertebrados marinos sésiles como bivalvos, estrellas de mar, pepinos de mar, poliquetos y anélidos, además de invertebrados con mayor capacidad de movimiento como crustáceos, y generó el

desplazamiento de aves, mamíferos superiores y peces a zonas sin contaminación (Pulido et al., 2022a). En ese contexto, durante este estudio, entre enero 2023 y enero 2024, no fue posible conseguir las muestras necesarias en todas las playas en cada monitoreo, a pesar de los esfuerzos de los pescadores, debido a que, posiblemente los efectos nocivos del petróleo se reflejaban en un reducido número de organismos en la región.

VII.2. Patrones espacio-temporales de concentración de metales en peces

Los metales pesados en los ecosistemas acuáticos no son degradados, sino que se transforman a través de procesos biogeoquímicos y se bioacumulan en las especies marinas (Reyes, et al. 2016). Los metales Fe, Zn y Al tuvieron las mayores concentraciones en músculo de ambas especies de peces en todos los monitoreos. En el músculo de *L. philippii* no se observó diferencias entre las concentraciones de metales en ningún monitoreo. Al contrario de *S. gigas*, donde en playa Santa Rosa, de enero 2023 a enero 2024, los metales Fe, Zn y Al en músculo, aumentaron sus concentraciones. Estos resultados pueden deberse a que Fe y Zn son los metales más abundantes y ampliamente distribuidos de la corteza terrestre, por lo que están biodisponible en el medio marino (Aladesanmi et al., 2017) y son macronutrientes esenciales utilizados en numerosas rutas fisiológicas de los seres vivos (Martínez, 2022). Los demás metales no mostraron diferencias significativas en la concentración en los peces *S. gigas* y *L. philippii*, entre fechas y playas monitoreadas.

Las concentraciones de metales en músculo son más bajas en comparación con el hígado, los riñones y las branquias (Tuncsoy et a. 2016). La relevancia de medir

las concentraciones en músculo recae en su importancia para evaluar riesgos en la salud ecosistémica y en la salud humana, por su consumo (Tuncsoy et al. 2016). El Fe es un macronutriente, pero en exceso de las necesidades corporales puede desencadenar hemocromatosis (Hovinga et al., 2017). El Fe fue el metal más abundante en el músculo de *S. gigas* y *L. philippii* pero no superó los niveles máximos (NM) en ningún monitoreo. El crudo derramado contenía 1.2 ppm de Fe (OEFA, 2022), por lo que posiblemente aumentó la carga de Fe en el medio marino. El Zn, fue el segundo metal más bioacumulado. En altas cantidades puede causar la mortalidad en peces, retraso en el crecimiento y cambios respiratorios y cardíacos (Authman et al. 2015), sin embargo, no hay normativa que los regule en peces. El Zn no se encuentra dentro de la composición en el petróleo derramado (OEFA, 2022), su fuente en sedimentos marinos de Lima puede provenir de escurrimientos de ríos, que transportan metales pesados desde actividades de cuencas y zonas industriales (Rivera, Chira, Zambrano & Petersen, 2007).

Los NM para Cd en músculo de pescado fueron superados en Bahía Blanca en enero 2023 (12.5% de muestras de *S. gigas*) y en Pasamayo en mayo 2023 (20% de muestras de *L. philippii*). El Cd es uno de los metales más cancerígenos y su influencia en deficiencias renales y hepáticas está ampliamente documentada en humanos (Rodriguez et al. 2007). El petróleo crudo derramado tenía Cd en su composición (1 ppm), por lo que pudo ser una fuente para este metal.

El NM para Pb fue superado en Santa Rosa en mayo 2023 (14.2% de muestras de *S. gigas*) y Huacho en septiembre 2023 (33.3% de muestras de *S. gigas*). El Pb es un metal tóxico, altas concentraciones en peces podría causar problemas

respiratorios, malformaciones al nacer e infertilidad (Bertolotti & Moccetti, 2018). El petróleo contenía 1 ppm de Pb (OEFA, 2022), pero también puede provenir de otras fuentes industriales y naturales. El As superó los NM en enero 2023 en Pasamayo (100% de muestras de *L. philippii*), en mayo 2023 en Santa Rosa (28.5% de muestras de *S. gigas*), en mayo 2023 en Pasamayo (100% de muestras de *L. philippii*), en septiembre 2023 en Huacho (100% de muestras *S. gigas*), en la misma fecha en Ancón (75% de muestras *S. gigas*), y en enero 2024 superaron los NM en playa Caveró (50% de muestras *S. gigas*). Las mayores concentraciones de As estuvieron en Pasamayo en *L. philippii*. Las exposiciones agudas al As en peces pueden provocar asfixia y la muerte, mientras que las exposiciones crónicas ocasionan enfermedades (Authman et al. 2015), como alteraciones neurológicas (Formicki et al., 2025) y daño branquial y hepático (Ahmed et al., 2013).

VII.2. Patrones espacio-temporales de concentración de metales en moluscos bivalvos

Para ambas especies de choritos, *P. purpuratus* y *S. algosus*, no se evidenciaron diferencias significativas en la concentración de metales entre playas y fechas de monitoreo, por lo que se descartó la hipótesis sobre gradientes espacio-temporales en la concentración de metales en estas especies. La similitud en las concentraciones de metales entre especies podría estar asociada a tener nichos ecológicos similares por lo que están expuestas a las mismas fuentes de contaminación.

El Fe, Zn y Al fueron los metales con mayores concentraciones en ambas especies de choritos, superando hasta en diez veces la concentración encontrada en

músculo de peces. La alta concentración de Fe y Zn en los organismos indica su alta biodisponibilidad para los organismos en el ambiente marino (Boyd y Ellwood, 2010). Los bivalvos son organismos filtradores y pueden absorber altos niveles de contaminantes en sus tejidos, incluso en mayores concentraciones que los peces (Melo et al., 2022). Además, los peces tienen mecanismos de eliminación más eficaces que los bivalvos (Ju et al., 2011).

Perumytilus purpuratus y *S. algosus* no son consumidos directamente como alimento por los pobladores de la zona de estudio, sin embargo, los altos niveles de metales podrían afectar a los organismos de los niveles tróficos superiores, como el gasterópodo *Concholepas concholepas* y el equinodermo *Heliaster helianthus* (Manríquez et al., 2023). En el caso del As, ambas especies superaron al 100% los NM en todos los monitoreos. Este resultado es comparable con puertos marítimos con alta actividad industrial y comercial, donde el As también supera los estándares dados por la FAO y la legislación de Australia y de Nueva Zelanda, relacionada con el arsénico inorgánico (4 y 1 mg/kg respectivamente; Jahan y Strezov, 2019). La exposición dietética al As inorgánico provoca estrés oxidativo e inhibición de la reparación del daño del ADN en bivalvos (Benthorage et al., 2023). *Perumytilus purpuratus* y *S. algosus* también excedieron las normativas de Cd al 100% en todos los monitoreos. En el bivalvo *Isognomon ehippium* se demostró que la exposición crónica al Cd causa efectos adversos en las etapas larvarias (Benthorage et al., 2023). *Perumytilus purpuratus* excedió los NM de Pb en 60% de las muestras, mientras que *S. algosus* en 85.7%, en todos los monitoreos. La excreción de Pb en bivalvos es limitada, con aproximadamente un 15 % tras 5 meses de depuración (Regoli et al., 1994). Se ha observado una fuerte asociación entre la densidad

poblacional urbana y concentración de Pb en mitílidos, debido a las actividades industriales y de transporte (Yulianto et al. 2019). Además del Pb del petróleo derramado (OEFA, 2022), en los aportes de metales al mar, también podría estar involucrada la refinería La Pampilla de Repsol que opera desde 1967 en Ventanilla, hasta la fecha (REPSOL, 2024).

VII.4. Asociación de la concentración de HAP y biomarcadores

VII.4.1. Asociación de HAP e índices somáticos en *S. gigas*

Se observó que a mayores concentraciones de criseno, fenantreno e indeno[1,2,3-cd]pireno (InP), el Índice Gonadosomático (IG) aumenta. En estudios de campo y de laboratorio, la respuesta del IG frente a contaminantes ambientales ha mostrado ser un indicador sensible de alteraciones fisiológicas, aunque su interpretación no siempre es directa, dado que puede estar influenciada por la condición nutricional, el estado reproductivo y los mecanismos de detoxificación de los organismos (Roush & Sellin Jeffries, 2019). La evidencia en otros estudios han mostrado una asociación inversamente proporcional, por ejemplo, en peces cebra (*Danio rerio*) expuestos a fenantreno, se redujo el IG en machos y del número de huevos, además de la alteración de las hormonas sexuales en peces expuestos (Peng et al., 2019). El fenantreno actúa como un estrógeno ambiental en el desarrollo de las gónadas, que se refleja reduciendo posteriormente el IG (Peng et al., 2019). Por otro lado, la exposición a criseno del bacalao del Atlántico (*Gadus morhua*) durante una semana, generó reducciones significativas del IG, en comparación con el grupo control (Pampanin et al., 2016). Respecto al InP y su

asociación con el IG, no se han realizado investigaciones determinantes en peces. El InP podría tener efectos reproductivos negativos en los peces, pero es necesaria más investigación. En peces mero (*Mycteroperca bonaci*, *Epinephelus morio*, entre otros) del Golfo de México, el IG disminuyó hasta en un 64% tres años después del derrame *Deepwater Horizon* (Pulster et al., 2020). Cabe destacar que, en las playas evaluadas en enero 2024, los peces *S. gigas* no evidenciaron desarrollo gonadal o las gónadas fueron muy pequeñas, con un peso menor a 0.01 g. Los estudios que reportan valores altos de IG son una indicación de gónadas grandes, referente a una mayor actividad reproductiva (Martínez-Gómez et al. 2012). El rango de la temporada reproductiva de *S. gigas* no se precisa en la literatura científica por lo que no se pudo comparar con exactitud los resultados en IG. Aunque el análisis multivariado indicó una asociación positiva entre mayor concentración de criseno, fenantreno e indeno[1,2,3-cd]pireno (InP) y un incremento del IG, la evidencia disponible en la literatura y los mecanismos biológicos subyacentes apoyan una interpretación más cauta, por lo que, esta asociación probablemente refleja co-variación con otros factores biológicos y ambientales que modulan simultáneamente la condición somática y la acumulación de contaminantes, más que un efecto fisiológicamente beneficioso de los HAP en los procesos reproductivos de los organismos.

Aunque las asociaciones no fueron concluyentes, es posible que un aumento en el tamaño del hígado, evaluado mediante el IH, esté relacionado con mayores concentraciones de dibenzo(a,h)antraceno (DahA) y moderadamente con benzo(a)pireno. En el ecosistema marino de Carolina del Norte tras el derrame de DWH, el IH en peces mero (*Hyporthodus flavolimbatus*) aumentó constantemente

entre 2011 y 2017 en 827%, lo que fue atribuido a la exposición crónica al crudo en los peces de esa región por la resuspensión de HAP sedimentados (Pulster et al., 2020). Por otro lado, el FC no mostró afectación por los HAP, este índice podría estar más influido por la alimentación, estacionalidad o reproducción que por la exposición a tóxicos (Van der Oost et al., 2003).

VII.4.2. Asociación de metales e índices somáticos en *S. gigas*

A mayor presencia de Ni, Cr, Fe, Al, Cu y Cd en el músculo de *S. gigas*, menor fue el IH. En un ambiente desfavorable, los peces suelen tener un hígado más pequeño por tener menos energía reservada en él (Javed y Usmani, 2017). Los resultados obtenidos suman evidencia a las investigaciones que advierten sobre los efectos tóxicos crónicos de los metales sobre el hígado de los peces (Luczyńska et al., 2018; Shahjahan et al., 2022). La reducción del IH en *S. gigas* podría estar asociada a la disminución de la concentración de lípidos y proteínas en el hígado, inducida por la exposición a metales, especialmente a Cr, como se ha evidenciado en peces carpa (*Labeo rohita*; Vutukuru, 2003). De igual manera, se ha observado la reducción de tejido lipídico en el hígado, ligado a su utilización en la reparación celular, ocasionado por la toxicidad del Cr (Harper, 1963; Gosh y Kumar, 2022). Bajos niveles de IH en tilapia (*Oreochromis niloticus*) estuvieron asociados a descargas de Cu y Cd (El-Nemaki et al., 2008). En un experimento de laboratorio con peces roca (*Sebastes schlegelii*), la exposición a Al disminuyó el IH hasta en 85.3% en comparación con el grupo control, evidenciando efectos dañinos nocivos de este elemento en el hígado de peces (Hwang et al., 2011).

Existe evidencia que, si el Fe y Ni exceden la dosis requerida, tienen efectos adversos en el hígado. En peces cebra (*Danio rerio*) les ocasionó ferroptosis hepática, característica por el daño en las membranas celulares hepáticas (Feng et al., 2025). Asimismo, se expuso a una dosis subletal de Ni a peces carpa (*Hypophthalmichthys molitrix*) y se observó reducción del tamaño del hígado después de 30 días (Athikesavan et al., 2006).

El IG también se correlacionó negativamente con Ni, Cr, Fe y Al, lo que indica una probable disminución en la capacidad reproductiva de *S. gigas* en presencia de estos metales. Estudios previos han reportado que la exposición a NiCl₂ y al CrCl₃ (como fuente de Ni y Cr respectivamente), pueden causar una notable reducción en el IG e IH en el pez *Anabas testudineus*, en comparación al grupo control (Pandit et al., 2019). De la misma forma, el exceso de Fe en peces reduce el éxito reproductivo (Phippen et al., 2008). Se han realizado ensayos en laboratorio sobre la exposición de Al en condiciones de bajo pH en peces *Coregonus albula*, obteniendo el retraso y hasta el impedimento de la maduración final de los ovocitos y la ovulación en hembras (Vuorinen et al., 2003). La evidencia de la literatura indica que la acumulación de metales daña el tejido gonadal, ocasionando que se degeneren y haya una disminución de la fertilidad (Pandit et al., 2019). Respecto al FC mostró una asociación positiva con el Fe y Ni. El FC es un indicador ampliamente utilizado para evaluar el estado fisiológico y nutricional de los peces, ya que refleja la relación entre el peso corporal y la longitud del organismo, relacionándose con el crecimiento y la disponibilidad de recursos alimenticios en el ambiente (Cifuentes et al., 2012). Los individuos con mayor condición corporal presentan mayores tasas de alimentación y crecimiento,

lo que incrementa la incorporación de metales a través de la dieta. En el caso del Fe, este elemento cumple funciones esenciales en los organismos acuáticos, participando en procesos metabólicos fundamentales como el transporte de oxígeno, la respiración celular y la actividad enzimática (Obeagu, 2025). Debido a su papel fisiológico esencial, concentraciones moderadas de Fe en tejidos pueden estar relacionadas con un mayor metabolismo o mayor masa corporal de los organismos. Sin embargo, cuando su concentración excede los niveles fisiológicos, el Fe puede participar en reacciones redox que generan especies reactivas de oxígeno y estrés oxidativo, lo que eventualmente puede afectar funciones celulares y fisiológicas (Hovinga et al., 2017). Por otra parte, investigaciones en perca amarilla (*Perca flavescens*) demostraron que la exposición a Ni puede alterar distintos niveles de organización biológica, incluyendo respuestas fisiológicas, reproductivas y hormonales (Levesque et al., 2003). Asimismo, evaluaciones en poblaciones naturales de peces a lo largo de gradientes de contaminación metálica han mostrado que los índices de condición y las concentraciones de metales pueden variar conjuntamente dependiendo de factores ambientales y ecológicos locales (Pyle et al., 2008).

VII.4.3. Asociación de la concentración de contaminantes con el índice de condición en *P. purpuratus*

No se encontró una asociación significativa entre la concentración de los HAP y el IC en *P. purpuratus*. Un patrón similar se observó en una bahía contaminada por HAP, donde el IC en choritos *Perna perna* (Familia: Mytilidae) no mostró cambios significativos después de tres meses, concluyendo que el IC no está

relacionado con contaminación por HAP (Francioni et al., 2007). Asimismo, tampoco se encontró una asociación significativa entre la concentración de metales y el IC. Excepto con Al, el cual mostró una asociación positiva con el IC. Sin embargo, no se ha encontrado otros estudios que registren esta relación por lo que la variación del IC podría deberse a factores fisiológicos compensatorios a cambios ambientales que no se han abarcado en este estudio (Irisarri et al., 2015). Estos resultados confirman la necesidad de considerar varios factores fisiológicos y ambientales al interpretar los efectos de la concentración de contaminantes.

VII.4.3.1. Asociación de la concentración de HAP y biomarcadores de exposición en *P. purpuratus*

El fenantreno, fluoreno y antraceno se asociaron positivamente con la enzima CAT del tejido branquial de *P. purpuratus*, indicando una respuesta al estrés oxidativo, lo que puede interpretarse como una activación del sistema antioxidante del organismo para neutralizar el exceso de especies reactivas de oxígeno (ROS) generadas durante la biotransformación de los HAP, que conlleva a daño biomolecular (Xu et al., 2025). En individuos de *M. galloprovincialis* expuestos a alquitrán (HAP), se demostró que la actividad enzimática de CAT en branquias aumentó después de 17 días (Dobal et al., 2022). Bivalvos *Nodipecten nodosus* expuestos a fenantreno por 96 horas mostraron mayor actividad de CAT en comparación con el grupo control (Piazza et al., 2016). La ausencia de efectos significativos para el resto de HAP podría estar relacionada con la diferencia en la biodisponibilidad en el entorno. Estos resultados suman importancia a la utilización de CAT como biomarcador sensible a la exposición a LMW-PAH como fenantreno

fluoreno y antraceno. La expresión del CYP3A no mostró una asociación significativa con la concentración de ningún HAP en *P. purpuratus*, por lo que, es posible que otros factores fisiológicos (ciclo reproductivo) o ambientales (temperatura, oxígeno disuelto) no considerados en el modelo estén modulando la expresión del CYP3A (Zhang et al., 2019b). El antraceno y fluoreno presentaron coeficientes positivos, sin embargo, no fueron significativos.

VII.4.3.2. Asociación de la concentración de metales y biomarcadores de exposición con *P. purpuratus*

La enzima CAT no responde a un grupo de contaminantes específicos, sino que forma parte de la defensa antioxidante del organismo. Su actividad en bivalvos marinos se induce tras la exposición a metales (Boudjema et al., 2014). Los resultados obtenidos revelan que Zn y Ni estarían asociados a una mayor actividad de la CAT en *P. purpuratus*, sugiriendo una posible inducción del sistema antioxidante como mecanismo de defensa frente al estrés oxidativo generado por estos metales. Se ha reportado la asociación positiva entre Zn y la actividad de CAT en ostras *Crassostrea angulata* (Levallois et al., 2022). De igual manera, en *Mytilus galloprovincialis* expuesta a óxido de zinc con Cu, se observó el aumento de actividad de las CAT y disminución de la capacidad de filtración y respiración del mejillón (Bouzidi et al., 2024). En bivalvos *M. galloprovincialis* expuestos a nanopartículas de óxido de níquel (NiO) durante 96 horas, se observó un aumento en la actividad de la CAT, enfatizando sus efectos ecológicos negativos (Gürkan, 2022). Los modelos de regresión aplicados para evaluar la influencia de metales

sobre la expresión del CYP3A en *P. purpuratus* no arrojaron relaciones estadísticamente significativas, lo que sugiere que, en las concentraciones evaluadas, estos metales no estarían influenciando directamente la actividad de la enzima, pero sí otros factores no evaluados, como se mencionó en la sección de la asociación de los metales y CYP3A.

Las MT es un biomarcador bien conocido en estudios ambientales sobre bioacumulación de metales en bivalvos y su impacto en el metabolismo (Pilote et al., 2018). Los resultados muestran que el Cr y Zn están positivamente asociados con la expresión de MT en *P. purpuratus*, lo cual es consistente con el papel reconocido de estas proteínas involucradas en la desintoxicación de cantidades subletales de metales traza esenciales y no esenciales (Amiard et al., 2006; Géret et al., 2002). Además, este hallazgo es coherente con estudios previos que indican que las MT cumplen un rol en el control homeostático de Zn (Amiard et al., 2006; Jayawardena et al., 2017). El Cr mostró una relación positiva, lo que sugiere una posible intervención en la regulación de MT, especialmente bajo condiciones de exposición crónica. Un estudio en *M. galloprovincialis* expuestos a metales por 30 días, el Cr presentó una fuerte asociación positiva con el contenido de MT y con indicadores de estrés oxidativo (Pytharopoulou et al., 2008).

VIII. CONCLUSIONES

Este trabajo demostró el aumento de la concentración temporal de HAP y metales en el pez *S. gigas*, principalmente en la playa Santa Rosa, donde los LMW-HAP tuvieron menores concentraciones en enero 2023 y aumentaron al año siguiente, en enero 2024. Mientras que los HMW-PAH mostraron un patrón inverso. Con estos resultados se acepta parcialmente la primera hipótesis planteada, en la que se esperaba mayores concentraciones de los contaminantes al inicio de los monitoreos y menores concentraciones en el último monitoreo.

Se evidenció un patrón de concentración que aumentó temporalmente en los metales en *S. gigas* de la playa Santa Rosa. Fe, Zn y Al, por lo cual, no se acepta la primera hipótesis. Los bivalvos no mostraron patrones espaciales de concentración. En *P. purpuratus*, los niveles de concentración de metales fueron similares entre las playas en cada monitoreo, donde Fe, Al, Zn tuvieron las mayores concentraciones, lo cual tampoco confirma la primera hipótesis.

Se evidenció que existe asociación entre la concentración de HAP y metales en los tejidos de los peces y bivalvos y la respuesta de los biomarcadores de exposición y de efecto, en ese sentido, se acepta la segunda hipótesis. Además, se encontró una asociación negativa significativa entre el IG e IH con la concentración de HAP y metales en *S. gigas*, lo que sugiere que la exposición a estos contaminantes está teniendo efectos adversos en la fisiología de los peces. Asimismo, se evidenció la asociación positiva de la CAT con los HAP (LMW-PAH: fenantreno, fluoreno y antraceno) y metales pesados (Zn y Ni), mientras que las MT también tuvieron una asociación significativa positiva con el Cr y el Zn. Estos hallazgos indican que la

CAT y las MT se pueden evaluar en *P. purpuratus* en zonas marino-costeras contaminadas con petróleo porque son una herramienta eficaz para estudiar las primeras señales de cambios moleculares en los individuos que han sido expuestos a HAP y metales.

Por último, se puede decir que, después de dos años del derrame de petróleo al norte de Lima, se ven las consecuencias de la contaminación en las comunidades de organismos marinos que habitan las zonas marino-costeras por donde se dispersó el petróleo, por lo que se requiere implementar planes de remediación ambiental. Pero también es necesario investigar la presencia de otras fuentes de petróleo en la zona que tengan un aporte crónico en el medio marino para ejecutar planes de mitigación y contingencia.

IX. RECOMENDACIONES

Se recomienda seguir con monitoreos de contaminantes derivados del petróleo en fauna hidrobiológica del litoral del norte de Lima, debido a que se ha demostrado que los niveles de concentración de algunos contaminantes han aumentado en peces y choritos. En especial las playas donde se han retomado las actividades de pesca debido a que algunos metales y HAP han tenido valores que superaron los NM. Debe haber información actualizada para prevenir riesgos a la salud humana y ecosistemas marinos.

Para el diseño de futuras investigaciones, se recomienda en los monitoreos de fauna hidrobiológica de las zonas marino-costeras planificar estrategias de colecta con la participación de por lo menos dos pescadores por playa, para sumar esfuerzos de pesca y lograr un número de muestras adecuado de cada especie de estudio para tener resultados estadísticamente robustos.

Se recomienda seguir estudiando a los choritos *P. purpuratus* y *S. algosus* como especies biomonitoras de contaminación del litoral peruano. Estas especies están adaptadas y son resistentes a las condiciones de la corriente costera y son resilientes a la presión antropogénica por lo que reflejan la calidad ambiental del entorno. Además, es una oportunidad de generar conocimiento de la fisiología y ecotoxicología de estas especies tan abundantes en las playas rocosas del Perú, las cuales son apropiadas para emplearlas en la realización de una línea base de contaminación.

Se recomienda evaluar el riesgo ecológico y a la salud humana por la concentración de HAP y metales pesados en fauna marina de la zona al derrame petrolero de enero de 2022.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abarshi, M. M., Dantala, E. O. y Mada, S. B. (2017). Bioacumulación de metales pesados en algunos tejidos de corvina de ríos derramados de petróleo en la región del delta del Níger, Nigeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. Vol. 7(6), pp. 563–568. doi:10.1016/j.apjtb.2017.05.008.

Acevedo, Jesús, Orellana, Fernanda I, & Guíñez, Ricardo. (2010). Evaluación experimental de la toxicidad de cobre in situ sobre la fauna asociada a *Perumytilus purpuratus* (Bivalvia: Mytilidae), un ingeniero ecosistémico. *Revista de biología marina y oceanografía*, 45(3), 497-505. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572010000300014>.

Adhikari, P. L., Maiti, K., Overton, E. B., Rosenheim, B. E., & Marx, B. D. (2016). Distributions and accumulation rates of polycyclic aromatic hydrocarbons in the northern Gulf of Mexico sediments. *Environmental Pollution*, 212, 413–423. Doi: 10.1016/j.envpol.2016.01.064

Ahmed, M. K., Habibullah-Al-Mamun, M., Parvin, E., Akter, M. S., & Khan, M. S. (2013). Arsenic induced toxicity and histopathological changes in gill and liver tissue of freshwater fish, tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Experimental and Toxicologic Pathology: Official Journal of the Gesellschaft Für Toxikologische Pathologie*, 65(6), 903–909. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2013.01.003>

Aladesanmi, O. T., Agboola, F. K., & Okonji, R. E. (2017). Enzymes as biomarkers of environmental stress in African catfish (*Clarias gariepinus*) in Osun State, Nigeria. *Journal of Health & Pollution*, 7(14), 71–83. <https://doi.org/10.5696/2156-9614-7.14.71>.

Alexandrino, K., Sánchez, N. E., & Viteri, F. (2024). Levels and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) near hospitals and schools using leaves

and barks of *Sambucus nigra* and *Acacia melanoxylon*. *Environmental geochemistry and health*, 46(2), 32. <https://doi.org/10.1007/s10653-023-01825-z>.

Ali, H., Khan, E., y Ilahi, I. (2019). Environmental Chemistry and Ecotoxicology of Hazardous Heavy Metals: Environmental Persistence, Toxicity, and Bioaccumulation. *Journal of Chemistry*, Vol. 2019, pp. 1–14. Doi:10.1155/2019/6730305.

Alnashiri H, Thomas L, Thaikkottathil M, Philip S, Kutty R, Sivanpillai S, Abo Rasain AM. Afinidades filogenéticas de Acanthopleurinae Dall, 1889 Quitones (Mollusca: Polyplacophora: Chitonidae) de la costa de Jazan en el Mar Rojo y el Indo-Pacífico occidental. *Revista de Ciencias e Ingeniería Marinas*. 2023; 11(1):158. <https://doi.org/10.3390/jmse11010158>.

Alvarado, J. L., & Castilla, J. C. (1996). Tridimensional matrices of mussels *Perumytilus purpuratus* on intertidal platforms with varying wave forces in central Chile. *Marine Ecology Progress Series*, 133, 135–141. <https://doi.org/10.3354/meps133135>.

Al-Subiai, S. N., Moody, A. J., Mustafa, S. A., & Jha, A. N. (2011). A multiple biomarker approach to investigate the effects of copper on the marine bivalve mollusc, *Mytilus edulis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(7), 1913–1920. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.07.012>.

Anderson, M. J. (2017). Permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA). En *Wiley StatsRef: Statistics Reference Online* (pp. 1–15). John Wiley & Sons, Ltd.

Amiard, J.-C., Amiard-Triquet, C., Barka, S., Pellerin, J., & Rainbow, P. S. (2006). Metallothioneins in aquatic invertebrates: their role in metal detoxification and their use as biomarkers. *Aquatic Toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 76(2), 160–202. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.08.015>

Athikesavan, S., Vincent, S., Ambrose, T., & Velmurugan, B. (2006). Nickel induced histopathological changes in the different tissues of freshwater fish, *Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes). *Journal of Environmental Biology*, 37(2), 391-395.

Bacosa, H. P., Ancla, S. M. B., Arcadio, C. G. L. A., Dalogdog, J. R. A., Ellos, D. M. C., Hayag, H. D. A., Jarabe, J. G. P., Karim, A. J. T., Navarro, C. K. P., Palma, M. P. I., Romarate, R. A., II, Similatan, K. M., Tangkion, J. A. B., Yurong, S. N. A., Mabuhay-Omar, J. A., Inoue, C., & Adhikari, P. L. (2022). From Surface Water to the Deep Sea: A Review on Factors Affecting the Biodegradation of Spilled Oil in Marine Environment. *Journal of Marine Science and Engineering*, 10(3), 426. <https://doi.org/10.3390/jmse10030426>.

Bandowe, B. A. M., Bigalke, M., Boamah, L., Nyarko, E., Saalia, F. K., & Wilcke, W. (2014). Polycyclic aromatic compounds (PAHs and oxygenated PAHs) and trace metals in fish species from Ghana (West Africa): Bioaccumulation and health risk assessment. *Environment International*, 65, 135–146. doi:10.1016/j.envint.2013.12.018.

Barron, M.G., Vivian, D.N., Heintz, R.A., y Yim. U.H. (2020) Long-Term Ecological Impacts from Oil Spills: Comparison of Exxon Valdez, Hebei Spirit, and Deepwater Horizon. *Environmental Science & Technology* 2020 54 (11), 6456-6467. doi: 10.1021/acs.est.9b05020.

Bao, M., Huo, L., Wu, J., Ge, D., Lv, Z., Chi, C., Liao, Z., & Liu, H. (2018). A novel biomarker for marine environmental pollution of CAT from *Mytilus coruscus*. *Marine Pollution Bulletin*, 127, 717–725. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.01.003>.

Baumann, P.C. and J.C. Harshbarger. (1998). Long term trends in liver neoplasm epizootics of brown bullhead in the Black River, Ohio. *Environ. Monitor. Assess.*, 53, 213–223.

Beiras, R. (2018). Bioacumulación. Contaminación marina, 187–204. doi:10.1016/b978-0-12-813736-9.00011-8.

Benthorage, C., Cole, V., Schulz, K. G., & Benkendorff, K. (2023). Bioaccumulation of estuarine pollutants in leaf oysters (*Isognomon ephippium*) on the mid-north coast, New South Wales, Australia. *Marine Environmental Research*, 189(106065), 106065. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2023.106065>

Bertolotti Rivera, F., & Noé Moccetti, N. (2018). Concentración de plomo, mercurio y cadmio en músculo de peces y muestras de agua procedentes del Río Santa, Ancash - Perú. *Salud Y Tecnología Veterinaria*, 6(1), 35. <https://doi.org/10.20453/stv.v6i1.3376>.

Bigatti, G., Signorelli, J., & Schwindt, E. (2014). Potential invasion of the Atlantic coast of South America by *Semimytilus algosus* (Gould, 1850). *Bio Invasions Records*, 3(4), 241–246. <https://doi.org/10.3391/bir.2014.3.4.05>.

Bio-Rad Laboratories, Inc. (2006). Real-time PCR Applications Guide.

Bocanegra, K., García, T., Mejía, D. y Vásquez, L. (2022). Derrame de Petróleo en la Refinería La Pampilla. Recomendaciones frente a un desastre ambiental que pudo evitarse. Informe de Adjuntía N° 10-2022-DP/AMASPPI. Defensoría del Pueblo.

Blewett, T. A., & Leonard, E. M. (2017). Mechanisms of nickel toxicity to fish and invertebrates in marine and estuarine waters. *Environmental Pollution* (Barking, Essex: 1987), 223, 311–322. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.01.028>

Blowes, D.W., Ptacek, C.J., Jambor, J.L., Weisener, C.G. (2003) 9.05 - The Geochemistry of Acid Mine Drainage. *Treatise on Geochemistry*. Vol 9, pp. 149-204. <https://doi.org/10.1016/B0-08-043751-6/09137-4>.

Böckers, M., Paul, N. W., & Efferth, T. (2020). Indeno[1,2,3-cd]pyrene and picene mediate actions via estrogen receptor α signaling pathway in in vitro cell systems, altering gene expression. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 396(114995), 114995. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2020.114995>

Bolognesi, C., Frenzilli, G., Lasagna, C., Perrone, E., & Roggieri, P. (2004). Genotoxicity biomarkers in *Mytilus galloprovincialis*: wild versus caged mussels. *Mutation Research: Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 552(1–2), 153–162. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2004.06.012>.

Borgå K, Fisk AT, Hoekstra PE, Muir DC. Biological and chemical factors of importance in the bioaccumulation and trophic transfer of persistent organochlorine contaminants in Arctic marine food webs. *Environmental Toxicology Chemistry*. 2004 Oct; 23(10):2367-85. doi: 10.1897/03-518. PMID: 15511099.

Borga, K. (2013). Ecotoxicología: Bioacumulación. Módulo de Referencia en Sistemas Terrestres y Ciencias Ambientales. doi:10.1016/b978-0-12-409548-9.00765-x.

Boyd, P. W., & Ellwood, M. J. (2010). The biogeochemical cycle of iron in the ocean. *Nature Geoscience*, 3(10), 675–682. <https://doi.org/10.1038/ngeo964>

Boudjema, K., Kourdali, S., Bounakous, N., Meknachi, A., & Badis, A. (2014). Catalase activity in brown mussels (*Perna perna*) under acute cadmium, lead, and copper exposure and depuration tests. *Journal of Marine Biology*, 2014, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2014/830657>

Bouzidi, I., Ayari-Kliti, R., Beyrem, H. *et al.* La respuesta del mejillón mediterráneo *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) expuesto a nanopartículas de zinc dopadas con cobre. *J. Sedimento. Reinar*. **9**, 135-143 (2024). <https://doi.org/10.1007/s43217-023-00161-7>

Bustin, S. A., Benes, V., Garson, J. A., Hellemans, J., Huggett, J., Kubista, M., Mueller, R., Nolan, T., Pfaffl, M. W., Shipley, G. L., Vandesompele, J., & Wittwer,

C. T. (2009). The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clinical Chemistry*, 55(4), 611–622.
<https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797>

Carinus, C. P., Malherbe, W., Gerber, R., Sures, B., Smit, N. J., Wepener, V., & Erasmus, J. H. (2025). Growth and bioaccumulation of trace elements in economically important fish from contrastingly impacted impoundments. *The Science of the Total Environment*, 1002(180643), 180643.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2025.180643>

Cappello, T., Maisano, M., D'Agata, A., Natalotto, A., Mauceri, A., & Fasulo, S. (2013). Effects of environmental pollution in caged mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *Marine Environmental Research*, 91, 52–60.
<https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2012.12.010>.

León Cépeda, A., Zúñiga Lossio, M., & Díaz Ávalos, D. (2024). Las sombras de los hidrocarburos: Informe III sobre emergencias ambientales, pasivos, procesos de remediación entre los años 1997-2023 en el Perú y reflexiones sobre alternativas energéticas (1.^a ed.) [PDF]. Coordinadora Nacional de Derechos Humanos.
https://cooperacion.org.pe/wp-content/uploads/2024/08/La_sombra_de_los_hidrocarburos-2024.pdf

Chalkiadaki, O., Dassenakis, M. y Lydakis-Simantiris, N. (2014). Bioconcentration of Cd and Ni in various tissues of two marine bivalves living in different habitats and exposed to heavily polluted seawater. *Chemistry and Ecology*, Vol. 30 (8), pp. 726–742.

Chahouri, A., Yacoubi, B., Moukrim, A., & Banaoui, A. (2023). Bivalve molluscs as bioindicators of multiple stressors in the marine environment: Recent advances. *Continental Shelf Research*, 264, 105056.
<https://doi.org/10.1016/j.csr.2023.105056>.

Chirichigno, N. y Velez, M. (1998). Clave para identificar los peces marinos del Perú. Publicación Especial del Instituto del Mar. da. 2 Ed. Callao, Instituto del Mar del Perú. 500 p.

Codex Alimentarius Commission. (1995). Norma general para los contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos y piensos (CXS 193-1995). FAO/OMS. <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/list-standards/en/>

Comisión Europea. (2023). Reglamento (UE) 2023/915 de la Comisión, de 25 de abril de 2023, relativo a los límites máximos de determinados contaminantes en los alimentos y por el que se deroga el Reglamento (CE) n.º 1881/2006 (DOUE L 119, pp. 103-157).

Curtosi, A., Pelletier, E., Vodopivec, C. L., & Mac Cormack, W. P. (2009). Distribution of PAHs in the water column, sediments and biota of Potter Cove, South Shetland Islands, Antarctica. *Antarctic Science*, 21(04), 329. doi:10.1017/s0954102009002004.

Davis, E., Walker, T. R., Adams, M., Willis, R., Norris, G. A., & Henry, R. C. (2019). Source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in small craft harbor (SCH) surficial sediments in Nova Scotia, Canada. *The Science of the total environment*, 691, 528–537. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.114>.

Dellali, M., Hedfi, A., Ali, M. B., Noureldeen, A., Darwish, H., Beyrem, H., Gyedu-Ababio, T., Dervishi, A., Karachle, P. K., & Boufahja, F. (2021). Multi-biomarker approach in *Mytilus galloprovincialis* and *Ruditapes decussatus* as a predictor of pelago-benthic responses after exposure to Benzo[a]Pyrene. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 249, 109141. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2021.109141>.

Dobal, V., Suárez, P., Ruiz, Y., García-Martín, O., & San Juan, F. (2022). Activity of antioxidant enzymes in *Mytilus galloprovincialis* exposed to tar: Integrated response of different organs as pollution biomarker in aquaculture areas. *Aquaculture* (Amsterdam, Netherlands), 548(737638), 737638. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737638>.

Dunn BP, Stich HF (1976) Release of the carcinogen benzo[a]pyrene from environmentally contaminated mussels. *Bull Environ Contam Toxicol* 15:398-401.

Cifuentes, R., González, J., Montoya, G., Jara, A., Ortíz, N., Piedra, P., & Habit, E. (2012). Relación longitud-peso y factor de condición de los peces nativos del río San Pedro (cuenca del río Valdivia, Chile). *Gayana (Concepción)*, 76(Supl. 1), 86-100. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-65382012000100009>.

Chinedu, E., & Chukwuemeka, C. K. (2018). Oil Spillage and Heavy Metals Toxicity Risk in the Niger Delta, Nigeria. *Journal of health & pollution*, 8(19), 180905. <https://doi.org/10.5696/2156-9614-8.19.180905>.

Cotou, E., Tsangaris, C. y Henry, M. (2012). Estudio comparativo de biomarcadores bioquímicos e inmunológicos en tres bivalvos marinos expuestos en un sitio contaminado. *Investigación de la ciencia ambiental y la contaminación*, 20 (3), 1812–1822. doi:10.1007/s11356-012-1150-3.

Culbertson, J., Valiela, I., Olsen, Y. y Reddy, C. (2008). Effect of field exposure to 38-year-old residual petroleum hydrocarbons on growth, condition index, and filtration rate of the ribbed mussel, *Geukensia demissa*. *Environmental Pollution*, Vol. 154 (2). pp. 312-319. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.10.008>.

Cunha, M., Martins, C., Grosso, AR y Costa, PM (2019). Los ARNm similares a CYP1A de *Mytilus galloprovincialis* revelan una mayor proximidad de mitílicos CYP1A a la familia de eumetazoos CYP2. *Toxicología acuática*, 214, 105260. doi:10.1016/j.aquatox.2019.105260.

Chuah, L.F., Chew, K. W., Bokhari, A., Mubashir, M. y Show, P. L. (2022). Biodegradation of crude oil in seawater by using a consortium of symbiotic bacteria. *Environmental Research*, Vol. 213. DOI: doi.org/10.1016/j.envres.2022.113721.

Donnelly, K. C. y Naufal, Z. S. (2010). Toxic and Genotoxic Effects of Mixtures of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Principles and Practice of Mixtures Toxicology*, pp. 485–512. doi:10.1002/9783527630196.ch20.

Dubansky, B., Whitehead, A., Miller, JT, Rice, CD y Galvez, F. (2013). Efectos moleculares, genómicos y de desarrollo multitejidos del derrame de petróleo de Deepwater Horizon en los peces killis residentes del golfo (*Fundulus grandis*). *Ciencia y tecnología ambientales*, 47(10), 5074–5082. doi:10.1021/es400458p.

El-Nemaki FA, Nema A, Ali MMZ, Olfat AR (2008) Impacts of different water resources on the ecological parameters and the quality of tilapia production at El-Abbassa fish farms in Egypt. In: 8th international symposium on tilapia in aquaculture, pp 491–512

El-Serafy SS, Mohamed EZ, Nassr-Allah HAH, Mohamed HAEHO (2013) Effect of dietborne Cu and Cd on Body Indices of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) with emphasis on protein pattern. *Turk J Fish Aquat Sci* 13:593–602

Eser, S. (s/f). Chemical constitution of crude oil. Recuperado el 5 de marzo de 2025, de <https://www.e-education.psu.edu/fsc432/node/5>

Espinosa, K. J., Morales, M. A., y Jaramillo-Colorado, B. E. (2023). Contaminación por hidrocarburos aromaticos policiclicos en sedimentos y especies marinas: revisión. *Ciencia en desarrollo*, 14(2), 125–138. <https://doi.org/10.19053/01217488.v14.n2.2023.14760>.

Feng, W., Weng, Y., Shi, W., Liang, S., Liao, X., Chu, R., Ai, Q., Mai, K., & Wan, M. (2025). Aquatic high iron induces hepatic ferroptosis in zebrafish (*Danio rerio*) via interleukin-22 signaling pathway. *Environmental pollution* (Barking, Essex: 1987), 367, 125627. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.125627>

Gary, J., Handwerk, G. y Kaiser, M. (2007). *Refinación de petróleo: tecnología y economía*, quinta edición. CRC Press Taylor & Francis Group.

Gan, N., Martin, L., & Xu, W. (2021). Impact of polycyclic aromatic hydrocarbon accumulation on oyster health. *Frontiers in Physiology*, 12, 734463. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.734463>.

Ge, D., Zhang, L., Long, Z., Chi, C., & Liu, H. (2020). A novel biomarker for marine environmental pollution: A metallothionein from *Mytilus coruscus*. *Aquaculture Reports*, 17(100364), 100364. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100364>

Géret, F., & Cosson, R. P. (2002). Induction of specific isoforms of metallothionein in mussel tissues after exposure to cadmium or mercury. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 42(1), 36–42. <https://doi.org/10.1007/s002440010289>.

González, P. & Oyarzún, C. (2002). Biological index variability in *pinguipes chilensis valenciennes 1833* (perciformes, pinguipedidae): are they correlated?. *Gayana (Concepción)*, 66(2), 249-253. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-65382002000200023>.

Ghosh, D. & Saha, D. S. K. (2022). A Comprehensive Review on Toxicity of Chromium in Freshwater Fishes. *Applied Ecology and Environmental Sciences*, 10(8), 527-533.

Guiñez R. y J. C. Castilla. (1999). A tridimensional self-thinning model for multilayered intertidal mussels. *American Naturalist* 154: 341-357.

Gutiérrez, A., Lozano, G., Hardisson, A., Rubio, C., & González, T. (2004). Content of toxic and essential metals in canned mussels commonly consumed in Tenerife, Canary Islands, Spain. *Journal of Food Protection*, 67(7), 1526–1532. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-67.7.1526>.

Gürkan, SE. Impacto de las nanopartículas de óxido de níquel (NiO) en los biomarcadores de estrés oxidativo y el recuento de hemocitos de *Mytilus galloprovincialis*. *Biol Trace Elem Res* 200, 3429–3441 (2022). <https://doi.org/10.1007/s12011-022-03189-4>.

Giuliani, M. E., Benedetti, M., Arukwe, A., & Regoli, F. (2013). Transcriptional and catalytic responses of antioxidant and biotransformation pathways in mussels, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to chemical mixtures. *Aquatic Toxicology* (Amsterdam, Netherlands), 134–135, 120–127. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.03.012>

Hair, J. F., Black, W. C., Babin, B. J., & Anderson, R. E. (2010). *Multivariate Data Analysis* (7th ed.). Pearson.

Hammer, Ø., Harper, D. A. T., & Ryan, P. D. (2001). *PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis* (Version 5) [Computer software]. <https://www.nhm.uio.no/english/research/infrastructure/past/>

Hassan, F., Bassam, M. & Abbas, A. (2020). Use of epipellic algae as a bioindicator to determine water quality of Al-Diwanyia river, Diwanyia (Iraq). *Poll. Res.* 39(4): 901-910. ISSN 0257-8050.

Hellawell, J. M. (1978). *Biological surveillance of rivers*. Stevanage: Water Research Centre.

Hegelund, T., & Celander, M. C. (2003). Hepatic versus extrahepatic expression of CYP3A30 and CYP3A56 in adult killifish (*Fundulus heteroclitus*). *Aquatic*

Toxicology (Amsterdam, Netherlands), 64(3), 277–291.
[https://doi.org/10.1016/s0166-445x\(03\)00057-2](https://doi.org/10.1016/s0166-445x(03)00057-2).

Honda, M., y Suzuki, N. (2020). Toxicities of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons for Aquatic Animals. *International journal of environmental research and public health*, Vol. 17(4), 1363. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph17041363>.

Holt EA, Miller SW. 2010. Bioindicators: using organisms to measure environmental impacts. *Nature*. 3(10):8–13.

Hwang, Un-Ki, Kang, Han-Seung, Lee, Yoon, & Shon, Jae-Kyoung. (2011). Aluminum Inhibits Vitellogenin Production via Toxic Effects on Hepatocytes in the Rockfish *Sebastes schlegelii*. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 14(4), 355–361. <https://doi.org/10.5657/FAS.2011.0355>

Iannacone, J, Cerapio, JP, Cárdenas-Callirgos, J, Sánchez, K, Briceño, F y Dueñas, A. (2011). Comunidades de parásitos en el trambollo *Labrisomus philippii* (Steindachner, 1866) (Perciformes: Labrisomidae) de la zona costera de Chorrillos Lima, Perú. *Neotropical Helminthology*, vol. 5, N°1, pp. 73-84.

Fernández-Tajes, J., Flórez, F., Pereira, S. et al. Uso de tres especies de bivalvos para el biomonitoreo de un ambiente estuarino contaminado. *Environ Monit Assess* 177, 289–300 (2011). <https://doi.org/10.1007/s10661-010-1634-x>.

Fingas, M. (2013). *The basics of oil spill cleanup*, Third edition. CRC Press, Taylor & Francis Group.

Formicki, G., Goc, Z., Bojarski, B., & Witeska, M. (2025). Oxidative stress and neurotoxicity biomarkers in fish toxicology. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 14(8), 939. <https://doi.org/10.3390/antiox14080939>

Iannacone, J., Sánchez, V., Olazábal, N., Salvador, C., Alvaríño, L., & Molano, J. (2012). Índices ecológicos de los parásitos de *scartichthys gigas*

(STEINDACHNER, 1876) (PERCIFORMES: BLENNIIDAE) de las costas de Lima, Perú. *Neotropical Helminthology*, 6(2), 191–203. <https://doi.org/10.24039/rnh2012621008>.

IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. (1989). *CRUDE OIL: Occupational Exposures in Petroleum Refining; Crude oil and Major Petroleum Fuels*. International Agency for Research on Cancer. On-Line: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531269/>

Irisarri, J., Fernández-Reiriz, M.-J., & Labarta, U. (2015). Temporal and spatial variations in proximate composition and Condition Index of mussels *Mytilus galloprovincialis* cultured in suspension in a shellfish farm. *Aquaculture* (Amsterdam, Netherlands), 435, 207–216. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.09.041>

Ito, K.; Uno, S.; Tanaka, H.; Miki, S.; Kokushi, E.; Yamamoto, M. & Koyama, J. (2015). Distribution of parent and alkylated PAHs in bivalves collected from Osaka Bay, Japan. *Jpn. J. Environ. Toxicol.* 18, 11–24.

ITOPF (2024). *Oil tanker spill statistics 2023*. ITOPF Ltd, London, UK.

Jahan, S., & Strezov, V. (2019). Assessment of trace elements pollution in the sea ports of New South Wales (NSW), Australia using oysters as bioindicators. *Scientific Reports*, 9(1), 1416. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38196-w>

Jakimska, A., Konieczka, P., Skora, K. y Namiésnik, J. (2011). Bioacumulación de metales en tejidos de animales marinos, Parte I: el papel y el impacto de los metales pesados en los organismos. *Revista polaca de estudios ambientales*, 20 (5), 1117-1125.

Jamil Emon, F., Rohani, M. F., Sumaiya, N., Tuj Jannat, M. F., Akter, Y., Shahjahan, M., Abdul Kari, Z., Tahiluddin, A. B., & Goh, K. W. (2023). Bioaccumulation and bioremediation of heavy metals in fishes-A review. *Toxics*, 11(6), 510. <https://doi.org/10.3390/toxics11060510>

Javed, M., Usmani, N. An Overview of the Adverse Effects of Heavy Metal Contamination on Fish Health. *Proc. Natl. Acad. Sci., India, Sect. B Biol. Sci.* 89, 389–403 (2019). <https://doi.org/10.1007/s40011-017-0875-7>

Jayawardena, D. P., Heinemann, I. U., & Stillman, M. J. (2017). Zinc binds non-cooperatively to human liver metallothionein 2a at physiological pH. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 493(1), 650–653. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.08.137>

Jenny, MJ, Walton, WC, Payton, SL, Powers, JM, Findlay, RH, O'Shields, B., Diggins, K., Pinkerton, M., Daniel, D., Jeffrey, C. y Cunningham, C. (2016). Evaluación transcriptómica de la ostra americana, *Crassostrea virginica*, desplegada durante el derrame de petróleo de Deepwater Horizon: evidencia de una vía de respuesta activa de hidrocarburos. *Investigación ambiental marina*, 120, 166–181. doi:10.1016/j.marenvres.2016.08.0.

Jewett, S.C., Dean, T.A., Woodin, B.R., Hoberg, M.K. y Stegeman, J.J. (2002). Exposure to hydrocarbons 10 years after the Exxon Valdez oil spill: evidence from cytochrome P4501A expression and biliary FACs in nearshore demersal fishes. *Marine Environmental Research*, Vol. 54, pp. 21-48. DOI [https://doi.org/10.1016/S0141-1136\(02\)00093-4](https://doi.org/10.1016/S0141-1136(02)00093-4).

Jiang, Y., Yang, X., Liang, P. y Huang X. (2018). Microbial fuel cell sensor for water quality early warning systems: Fundamentals signal resolution, optimization and future challenges. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 81. 292-305.

Kádár, E., Salánki, J., Jugdaohsingh, R., Powell, J. J., McCrohan, C. R., & White, K. N. (2001). Avoidance responses to aluminium in the freshwater bivalve

Anodonta cygnea. *Aquatic Toxicology* (Amsterdam, Netherlands), 55(3–4), 137–148. [https://doi.org/10.1016/s0166-445x\(01\)00183-7](https://doi.org/10.1016/s0166-445x(01)00183-7)

Kourdali, S., Badis, A., & Boucherit, A. (2014). Degradation of direct yellow 9 by electro-Fenton: process study and optimization and, monitoring of treated water toxicity using catalase. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 110, 110–120. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.08.023>.

Kourdali, S., Boudjema, K., Meknachi, A., Bounakous, N., Jaouadi, B., Mechri, S., & Badis, A. (2022). An ecotoxicological approach for assessing marine pollution: Comparative study of multi-responses of marine mussels, *Mytilus galloprovincialis* and *Perna perna*, exposed to pollutant heavy metals (copper and lead). *Regional Studies in Marine Science*, 52(102334), 102334. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2022.102334>.

Le, TTY, Zimmermann, S. y Sures, B. (2016). ¿Cómo cumple la inducción de metalotioneína en bivalvos los criterios para biomarcadores de exposición a metales? *Contaminación ambiental*, 212, 257–268. doi:10.1016/j.envpol.2016.01.070.

Lee, R. L., & Helsel, D. R. (2020). NADA: Nondetects and Data Analysis for Environmental Data (R package version 1.6-1.1) [Software]. Disponible en <https://CRAN.R-project.org/package=NADA>

Lekanne Deprez, R. H., Fijnvandraat, A. C., Ruijter, J. M., & Moorman, A. F. M. (2002). Sensitivity and accuracy of quantitative real-time polymerase chain reaction using SYBR green I depends on cDNA synthesis conditions. *Analytical Biochemistry*, 307(1), 63–69. [https://doi.org/10.1016/s0003-2697\(02\)00021-0](https://doi.org/10.1016/s0003-2697(02)00021-0)

Lemus, M., Salazar, R., Lapo, B., & Chung, K. (2016). Metalotioneinas en bivalvos marinos. *Latin american journal of aquatic research*, 44(2), 202–215. <https://doi.org/10.3856/vol44-issue2-fulltext-2>.

Levallois, A., Caplat, C., Basuyaux, O., Lebel, J.-M., Laisney, A., Costil, K., & Serpentine, A. (2022). Effects of chronic exposure of metals released from the dissolution of an aluminium galvanic anode on the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Aquatic Toxicology* (Amsterdam, Netherlands), 249(106223), 106223. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2022.106223>.

Levesque, H. M., Dorval, J., Hontela, A., Van Der Kraak, G. J., & Campbell, P. G. C. (2003). Hormonal, morphological, and physiological responses of yellow perch (*Perca flavescens*) to chronic environmental metal exposures. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A*, 66(7), 657–676. <https://doi.org/10.1080/15287390309353773>

Lemus, M., Salazar, R., Lapo, B., & Chung, K. (2016). Metalotioneínas en bivalvos marinos. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 44(2), 243–254. <https://doi.org/10.3856/vol44-issue2-fulltext-7>

Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* (San Diego, Calif.), 25(4), 402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>

Lomartire, S., Marques, J. C., y Gonçalves, A. C. (2021). Biomarkers based tools to assess environmental and chemical stressors in aquatic systems. *Ecological Indicators*, 122, 107207. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.107207>.

Lopes, L., Ferreira, M. y Zalmon, I. R. (2021). Macroinvertebrates as biomonitors of pollutants on natural sandy beaches: Overview and meta-analysis. *Environmental Pollution*. Vol. 275, ISSN 0269-7491. Doi: doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116629.

Lower, W. R., and R. J. Kendall. "Sentinel species and sentinel bioassay." In *Biomarkers of environmental contamination*, pp. 309-331. CRC Press, 2018.

Lubósny, M., Przylucka, A., Smietanka, B. et al (2020) *Semimytilus algosus*: first known hermaphroditic mussel with doubly uniparental inheritance of mitochondrial DNA. Sci Rep 10, 11256. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67976>.

Luoma, SN (1989). ¿Podemos determinar la disponibilidad biológica de oligoelementos adheridos a sedimentos? Hidrobiología , 176 , 379-396.

Mackay, D., Celsie, A. K. D., Powell, D. E., & Parnis, J. M. (2018). Bioconcentration, bioaccumulation, biomagnification and trophic magnification: a modelling perspective. Environmental Science: Processes & Impacts, 20(1), 72–85. doi:10.1039/c7em00485k.

Mackay, D., & Fraser, A. (2000). Kenneth Mellanby Review Award. Bioaccumulation of persistent organic chemicals: mechanisms and models. Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987), 110(3), 375–391. [https://doi.org/10.1016/s0269-7491\(00\)00162-7](https://doi.org/10.1016/s0269-7491(00)00162-7)

Malik, N., Biswas, A.K., Qureshi, T.A. et al. Bioaccumulation of heavy metals in fish tissues of a freshwater lake of Bhopal. Environ Monit Assess 160, 267–276 (2010). <https://doi.org/10.1007/s10661-008-0693-8>

Marigómez, I. (2014). Petróleo, Crudo. Enciclopedia de Toxicología, 663–669. doi:10.1016/b978-0-12-386454-3.00524-8.

Mariño-Balsa JC, Pérez P, Estévez-Blanco P, Saco-Álvarez L, Fernández E, Beira R. 2003. Evaluación de la toxicidad de sedimento y agua de mar contaminados por el vertido de fuel del Prestige, mediante el uso de bioensayos con las almejas *Venerupis pullastra*, *Tappes decussatus* y *Venerupis rhomboideus* y la microalga *Skeletonema costatum*. Cienc. Mar. 29: 115-122.

Markert, B., Breure, A. & H. Zechmeister. (2003). Bioindicators and Biomonitoring. Principles, Concepts and Applications. Amsterdam: Elsevier.

Martínez, J, Coronel, S, Ugaz A y Zelada, W. (2006). Sistema esquelético de “trambollo” *Labrisomus philippii* Steindachner (Actinopterygii: Labrisomidae). *Universalia*, vol. 11, pp. 66-72.

Martínez-Gómez, C., Fernández, B., Benedicto, J., Valdés, J., Campillo, J. A., León, V. M., & Vethaak, A. D. (2012). Health status of red mullets from polluted areas of the Spanish Mediterranean coast, with special reference to Portmán (SE Spain). *Marine Environmental Research*, 77, 50–59. doi:10.1016/j.marenvres.2012.02.0.

Marty G, M Okihiro, E Brown, D Hanes y D Hinton. (1999). Histopatología del arenque adulto del Pacífico en Prince William Sound, Alaska, después del derrame de petróleo del Exxon Valdez. *Revista canadiense de pesca y ciencias acuáticas* 56: 419-426.

Matos, K., Silva, R., Souto, J., Palmeira, P., Marcante, F. y Takeshi, G. (2022). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in fishery resources affected by the 2019 oil spill in Brazil: Short-term environmental health and seafood safety. *Marine Pollution Bulletin*, Volume 175, doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113334.

Manríquez, P. H., González, C. P., Jara, M. E., Watson, S.-A., Torres, R., Domenici, P., & Duarte, C. (2023). Combined effects of climate change stressors and predators with contrasting feeding-digestion strategies on a mussel species. *Marine Pollution Bulletin*, 187(114554), 114554. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.114554>

Mears, D. E. y Eastman, A. D. (2005). Hidrocarburos. *Enciclopedia de tecnología química de Kirk Othmer*. Doi:10.1002/0471238961.1921182213050118.a01.pub2

Meador, J.P., Stein, J.E., Reichert, W.L., Varanasi, U. (1995). Bioaccumulation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Marine Organisms. In: Ware, G.W. (eds) *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. Reviews of

Environmental Contamination and Toxicology, vol 143. Springer, New York, NY.
https://doi.org/10.1007/978-1-4612-2542-3_4

Méndez-Abarca F. y Pepe-Victoriano, R. (2020). Peces marinos del norte de Chile: guía para la identificación y mantención en cautiverio. vol. I. Fundación Reino Animal & ONG por la conservación de la vida salvaje. Arica, Chile. 1-79.

Metian, M., Charbonnier, L., Oberhaënsli, F., Bustamante, P., Jeffree, R., Amiard, J. C., Warnau, M. (2009). Assessment of metal, metalloid, and radio nuclide bioaccessibility from mussels to human consumers, using centrifugation and simulated digestion methods coupled with radio tracer techniques. *Ecotoxicol Environ Saf.* 72, 1499–1502.

Meng, J., Wang, W., Li, L., Yin, Q., & Zhang, G. (2017). Cadmium effects on DNA and protein metabolism in oyster (*Crassostrea gigas*) revealed by proteomic analyses. *Scientific reports*, 7(1), 11716.

Ministerio del Ambiente (2022). Reporte de Ocurrencias N° 07 - Derrame de Petróleo en los Islotes de Pescadores de la RN Sistemas de Islas, Islotes Y Puntas Guaneras y de la Zona Reservada Ancón.

Mogollón, R., Arellano, C., Villegas, P., Espinoza-Morriberón, D., & Tam, J. (2023). REPSOL oil spill off Central Perú in January 2022: A modeling case study. *Marine Pollution Bulletin*, vol. 194, Part A. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.115282>.

Mojiri, A., Zhou, J., Ohashi, A., Ozaki, N. & Kindaichi, T. (2019) Comprehensive review of polycyclic aromatic hydrocarbons in water sources, their effects and treatments. *Science of The Total Environment*, Vol 696. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133971>.

Montenegro, Diana, & González, M. Teresa. (2012). Evaluation of somatic indexes, hematology and liver histopathology of the fish *Labrisomus philippii* from San Jorge Bay, northern Chile, as associated with environmental stress. *Revista de*

biología marina y oceanografía, 47(1), 99-107. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572012000100009>.

Montenegro, V. D.; Olivares, P. A. y González, M. T. (2010) Hermaphroditism in marine mussel *Perumytilus purpuratus* (Lamarck, 1819), (Mollusca: Mytilidae). *Int. J. Morphol.*, 28(2):569-573.

Montenegro, D, & González, M. (2012). Evaluation of somatic indexes, hematology and liver histopathology of the fish *Labrisomus philippii* from San Jorge Bay, northern Chile, as associated with environmental stress. *Revista de biología marina y oceanografía*, 47(1), 99-107. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572012000100009>.

Moscoso, V. (2012). Catálogo de crustáceos decápodos y estomatópodos del Perú. *Bol. Ins. Mar del Perú*. Vol. 25, n° 1-2.

Naciones Unidas (2022). Reporte de Misión. Lima-Perú. Disponible en <https://bit.ly/3YQ3urn>.

National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. 2022. *Oil in the Sea IV: Inputs, Fates, and Effects*. Washington, DC: The National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/26410>.

Neamah, Ali Ibrahim (2014) Separation of the Petroleum System. *The Hilltop Review*. Vol. 7: Iss. 1, Article 11. Available at: <http://scholarworks.wmich.edu/hilltopreview/vol7/iss1/11>.

Tian, S., Pan, L., & Zhang, H. (2014). Identification of a CYP3A-like gene and CYPs mRNA expression modulation following exposure to benzo[a]pyrene in the bivalve mollusk *Chlamys farreri*. *Marine Environmental Research*, 94, 7–15. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2013.11.001>.

Tokeshi, M., Romero, L., Tarazona, J., (1989). Spatial coexistence of mussel-associated, free-ranging polychaetes in a subtropical intertidal habitat. *J. Anim. Ecol.* 58:681-692.

Torrellas Hidalgo, R. (2012). La exposición al aluminio y su relación con el ambiente y la salud. *Tecnogestión: Una mirada al ambiente*, 9(1). <https://revistas.udistrital.edu.co/index.php/tecges/article/view/5646>.

Obeagu, E. I. (2025). Iron homeostasis and health: understanding its role beyond blood health - a narrative review. *Annals of Medicine and Surgery* (2012), 87(6), 3362–3371. <https://doi.org/10.1097/MS9.0000000000003100>

Oksanen, J., Blanchet, F. G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P. R., O’Hara, R. B., Simpson, G. L., Solymos, P., Stevens, M. H. H., Szoecs, E., & Wagner, H. (2020). *vegan: Community Ecology Package* (R package version 2.5-7) [Software]. CRAN. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>

Oliva-Hernández, B. E; Barbieri, E; Pérez-Sabino, J. F; Campos-Rodríguez, R. Efectos del cromo en el consumo de oxígeno y excreción de amonio en tilapia (*Oreochromis niloticus*) de agua dulce. *Tecnología en Marcha*. Vol. 37, No 4. Octubre-Diciembre, 2024. Pág. 48-60.

Oliveira, L. F., Cabral, M. T., Risso, W. E., & Martinez, C. B. D. R. (2018). Single and combined effects of Zn, Mn and Fe on the Neotropical freshwater bivalve *Anodontites trapesialis*: Bioaccumulation and biochemical biomarkers. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 161, 735–745. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.06.029>.

Ololade, I. A., Oladoja, N. A., Ololade, O. O., Saliu, T. D., Alabi, A. B., Obadawo, S. B., & Anifowose, M. M. (2020). Bioaccumulation and toxic potencies of polycyclic aromatic hydrocarbons in freshwater biota from the Ogbese River,

Nigeria. *Environmental Monitoring and Assessment*, 193(1). doi:10.1007/s10661-020-08759-4.

Omar-Ali, A., Hohn, C., Allen, P. J., Rodriguez, J., & Petrie-Hanson, L. (2015). Tissue PAH, blood cell and tissue changes following exposure to water accommodated fractions of crude oil in alligator gar, *Atractosteus spatula*. *Marine Environmental Research*, 108, 33–44. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2015.04.011>.

Omar, W. A., Zaghoul, K. H., Abdel-Khalek, A. A., & Abo-Hegab, S. (2012). Genotoxic effects of metal pollution in two fish species, *Oreochromis niloticus* and *Mugil cephalus*, from highly degraded aquatic habitats. *Mutation Research*, 746(1), 7–14. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2012.01.013>.

Organismo de Evaluación y Fiscalización Ambiental del Perú (2022a). El OEFA culminó la verificación de sitios identificados ante el derrame de petróleo en Ventanilla. *Boletín N°4*. [chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/3789066/Bolet%C3%ADn%20OEFA%20en%20acci%C3%B3n%20N.%C2%B0%204.pdf](https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/3789066/Bolet%C3%ADn%20OEFA%20en%20acci%C3%B3n%20N.%C2%B0%204.pdf)

Osorio C, Bahamonde N (1968) Moluscos bivalvos en pesquerías chilenas. *Biología Pesquera, Chile* 3: 69–128.

ONG MUNDO AZUL (2021). Análisis de las respuestas de ECSA a las observaciones de Mundo Azul con respecto a la modificación del estudio de impacto ambiental detallado (MEIA-d) del proyecto “Ampliación de la zona operativa portuaria – etapa 1 del terminal portuario multipropósito de Chancay”.

Palmer, T., Klein, A. G., Sweet, S., Frazier, A.J., Montagna, P. A., Wade, T. L., Pollack, J. B. (2022) Using epibenthic fauna as biomonitors of local marine

contamination adjacent to McMurdo Station, Antarctica. *Marine Pollution Bulletin*. Vol. 178. doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113621.

Pampanin, D. M., Le Goff, J., Skogland, K., Marcucci, C. R., Øysæd, K. B., Lorentzen, M., ... Sydnes, M. O. (2016). Biological effects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and their first metabolic products in in vivo exposed Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 79(13–15), 633–646. <https://doi.org/10.1080/15287394.2016.1171993>.

Pandit, D. N., Priyanka, & Gupta, M. L. (2019). Hepato-somatic index, gonado-somatic index and condition factor of *Anabastestudineus* as bio-monitoring tools of nickel and chromium toxicity. *International Journal of Innovations in Engineering and Technology*, 12(3), 25–28.

Paredes, C. & Tarazona, J. (1980) Las comunidades de mitílidos del mediolitoral rocoso del departamento de Lima. *Revista Peruana de Biología*, 2:59-72.

Patnaik, P. (2007). *A Comprehensive Guide to the Hazardous Properties of Chemical Substances*. John Wiley & Sons, Inc. doi: 10.1002/9780470134955.ch25

Peng, X., Sun, X., Yu, M., Fu, W., Chen, H., & Chen, J. (2019). Chronic exposure to environmental concentrations of phenanthrene impairs zebrafish reproduction. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 182(109376), 109376. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109376>

Pérez-Cadahía, B., Laffon, B., Porta, M., Lafuente, A., Cabaleiro, T., López, T., Caride, A., Pumarega, J., Romero, A., Pásaro, E. y Méndez, J. (2008). Relationship between blood concentrations of heavy metals and cytogenetic and endocrine parameters among subjects involved in cleaning coastal areas affected by the 'Prestige' tanker oil spill. *Chemosphere*. Vol. 71, pp. 447-455, Doi: doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.10.053.

Phippen, B., Horvath, C., Nordin, R., & Nagpal, N. (2008). Ambient water quality guidelines for iron: overview. Ministry of environment province of British Columbia.

Piazza, R. S., Trevisan, R., Flores-Nunes, F., Toledo-Silva, G., Wendt, N., Mattos, J. J., Lima, D., Taniguchi, S., Sasaki, S. T., Mello, Á. C. P., Zacchi, F. L., Serrano, M. A. S., Gomes, C. H. A. M., Bicego, M. C., Almeida, E. A. de, & Bainy, A. C. D. (2016). Exposure to phenanthrene and depuration: Changes on gene transcription, enzymatic activity and lipid peroxidation in gill of scallops *Nodipecten nodosus*. *Aquatic Toxicology* (Amsterdam, Netherlands), 177, 146–155. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.05.025>.

Pyle, G., Busby, P., Gauthier, C., Rajotte, J., & Couture, P. (2008). Seasonal and regional variations in metal contamination and condition indicators in yellow perch (*Perca flavescens*) along two polymetallic gradients. II. Growth patterns, longevity, and condition. *Human and Ecological Risk Assessment*, 14(1), 126–145. <https://doi.org/10.1080/10807030701790504>

Pilote, M., André, C., Turcotte, P., Gagné, F., & Gagnon, C. (2018). Metal bioaccumulation and biomarkers of effects in caged mussels exposed in the Athabasca oil sands area. *The Science of the Total Environment*, 610–611, 377–390. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.023>

Price, E. R., & Mager, E. M. (2020). The effects of exposure to crude oil or PAHs on fish swim bladder development and function. *Comparative Biochemistry and Physiology C-toxicology & Pharmacology*, 238, 108853. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108853>.

Porte, C., & Albaigs, J. (1994). Patrones de bioacumulación de hidrocarburos y bifenilos policlorados en bivalvos, crustáceos y peces. *Archivos de Contaminación Ambiental y Toxicología*, 26(3). doi:10.1007/bf00203552.

Pytharopoulou, S., Sazakli, E., Grintzalis, K., Georgiou, C. D., Leotsinidis, M., & Kalpaxis, D. L. (2008). Translational responses of *Mytilus galloprovincialis* to environmental pollution: integrating the responses to oxidative stress and other biomarker responses into a general stress index. *Aquatic Toxicology* (Amsterdam, Netherlands), 89(1), 18–27. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.05.013>

Pulido, V., Arana, C., Olivera, E. & Riveros, J. (2022a). El derrame de petróleo en el Terminal 2 de la refinería la Pampilla y sus efectos en la biodiversidad de las costas del litoral marino, Perú. *Arnaldoa*, 29(1), 71-88. <https://doi.org/10.22497/arnaldoa.291.29104>.

Pulido, V., Escobar-Mamani, F., Arana, C., & Olivera Carhuaz, E. (2022b). Efectos del derrame de petróleo en la Refinería la Pampilla en las costas del litoral marino, Lima (Perú). *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 24(1), 5-8. Epub 21 de febrero de 2022. <https://dx.doi.org/10.18271/ria.2022.411>.

Pulster, E. L., Gracia, A., Armenteros, M., Carr, B. E., Mrowicki, J., & Murawski, S. A. (2020). Chronic PAH exposures and associated declines in fish health indices observed for ten grouper species in the Gulf of Mexico. *The Science of the Total Environment*, 703(135551), 135551. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135551>

Rahmanpour, S., Farzaneh Ghorghani, N., & Lotfi Ashtiyani, S. M. (2014). Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) in four fish species from different trophic levels in the Persian Gulf. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186(11), 7047–7053. doi:10.1007/s10661-014-3909-0.

Rainbow, P. S. (2002). Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? *Environmental Pollution* (Barking, Essex: 1987), 120(3), 497–507. [https://doi.org/10.1016/s0269-7491\(02\)00238-5](https://doi.org/10.1016/s0269-7491(02)00238-5)

Rajput, A., Kulkarni, M., Pingale, P., Tekade, M., Shakya, A. & Kumar, R. (2023).

Chapter 16 - Understanding the bioaccumulation of pharmaceuticals and personal care products. *Essentials of Pharmacotoxicology in Drug Research*, Academic Press. Volume 1, ISBN 9780443158407. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-15840-7.00024-5>.

Regoli, F., & Orlando, E. (1994). Accumulation and subcellular distribution of metals (Cu, Fe, Mn, Pb and Zn) in the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* during a field transplant experiment. *Marine Pollution Bulletin*, 28(10), 592–600. [https://doi.org/10.1016/0025-326x\(94\)90360-3](https://doi.org/10.1016/0025-326x(94)90360-3).

REPSOL. (2024, agosto 19). Historia. <https://www.repsol.pe/es/la-pampilla/historia/index.cshtml>

Robbins, W. K., & Hsu, C. S. (2000). Petroleum, Composition. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. doi:10.1002/0471238961.0315131618150202.a01.

Rodríguez A, Rodríguez M, Córdoba JJ, Andrade MJ. Design of primers and probes for quantitative real-time PCR methods. *Methods Mol Biol*. 2015;1275:31-56. doi: 10.1007/978-1-4939-2365-6_3. PMID: 25697650.

Rosenfeld, P.E. y Feng, L.G.H. (2011). Bioacumulación de Dioxinas, PCBs y PAHs. *Riesgos de los desechos peligrosos*, 201–213. doi:10.1016/b978-1-4377-7842-7.00015-5.

R Studio Team. (2025). RStudio: Integrated Development Environment for R (Version 2023.06.1) [Computer software]. RStudio, PBC. <https://posit.co>

Salamanca, Marco A., Jara, Bibiana, & Rodríguez, Tatiana. (2004). Niveles de Cu, Pb y Zn en agua y *Perumytilus purpuratus* en Bahía San Jorge, norte de Chile. *Gayana (Concepción)*, 68(1), 53-62. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-65382004000100005>.

Shah, N., Khan, A., Ali, R., Marimuthu, K., Uddin, M. N., Rizwan, M., Rahman, K. U., Alam, M., Adnan, M., Muhammad, Jawad, S. M., Hussain, S., & Khisroon, M. (2020). Monitoring bioaccumulation (in gills and muscle tissues), hematology, and genotoxic alteration in *Ctenopharyngodon idella* exposed to selected heavy metals. *BioMed Research International*, 2020, 6185231. <https://doi.org/10.1155/2020/6185231>

Salas, N., Ortiz, L., Gilcoto, M., Varela, M., Bayona, J. M., Groom, S., Alvarez-Salgado, X. A., & Albaigés, J. (2006). Fingerprinting petroleum hydrocarbons in plankton and surface sediments during the spring and early summer blooms in the Galician coast (NW Spain) after the Prestige oil spill. *Marine Environmental Research*, 62(5), 388–413. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2006.06.004>

SANIPES. (2016). Indicadores sanitarios y de inocuidad para los productos pesqueros y acuícolas para mercado nacional y de exportación (Resolución Jefatural N° 057-2016-SANIPES-DE). Servicio Nacional de Sanidad Pesquera (SANIPES). <https://www.sanipes.gob.pe/>

Sanni, S., Foss, A., & Børseth, J. F. (2020). Effects of intermittent hypoxia on cell survival and inflammatory responses in the intertidal marine bivalves *Mytilus edulis* and *Crassostrea gigas*. *Journal of Experimental Biology*, 223(4), jeb217026. <https://doi.org/10.1242/jeb.217026>.

Schreck, CB y Moyle, PB (Eds.). (1990). *Methods for fish biology*. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland.

Schöne, B. R., & Krause, R. A., Jr. (2016). Retrospective environmental biomonitoring – Mussel Watch expanded. *Global and Planetary Change*, 144, 228–251. <https://doi.org/10.1016/j.gloplacha.2016.08.002>

Silva, D. C. C., Marques, J. C., & Gonçalves, A. M. M. (2024). Polycyclic aromatic hydrocarbons in commercial marine bivalves: Abundance, main impacts of single

and combined exposure and potential impacts for human health. *Marine Pollution Bulletin*, 209 (Pt B), 117295. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2024.117295>.

Sinaei, M., Mashinchian, A. (2014). Hidrocarburos aromáticos policíclicos en el agua marina costera, el sedimento superficial y el pez saltarín del fango *Boleophthalmus dussumieri* de las zonas costeras del Golfo Pérsico: investigación de fuentes, patrón de composición y distribución espacial. *J Environ Health Sci Engineer* 12, 59. <https://doi.org/10.1186/2052-336X-12-59>.

Singh, M., Barman, A. S., Devi, A. L., Devi, A. G., & Pandey, P. K. (2019). Iron mediated hematological, oxidative and histological alterations in freshwater fish *Labeo rohita*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 170, 87–97. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.11.129>

Singh, V., Negi, R., Jacob, M., Gayathri, A., Rokade, A., Sarma, H., Kalita, J., Tasfia, S. T., Bharti, R., Wakid, A., Suthar, S., Kolipakam, V., & Qureshi, Q. (2023). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in aquatic ecosystem exposed to the 2020 Baghjan oil spill in upper Assam, India: Short-term toxicity and ecological risk assessment. *PloS one*, 18(11), e0293601. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0293601>

Shahjahan, M., Taslima, K., Rahman, M. S., Al-Emran, M., Alam, S. I., & Faggio, C. (2022). Effects of heavy metals on fish physiology - A review. *Chemosphere*, 300(134519), 134519. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134519>

Shaw, J., Peters, L. H., & Chipman, J. K. (2004). CYP1A- and CYP3A-immunopositive protein levels in digestive gland of the mussel *Mytilus galloprovincialis* from the Mediterranean Sea. *Marine Environmental Research*, 58(2–5), 649–653. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2004.03.056>.

Short, J. W. & Springman, K. R. (2006). Identification of hydrocarbons in biological samples for source determination. *Oil Spill environmental forensics –*

Fingerprinting and source identification. Zhendi Wang y Scott A. Elsevier Science, pp. 381 – 403.

Sociedad Peruana de Derecho Ambiental - SPDA (2022). A un mes del derrame de petróleo. Artículos sobre el desastre ambiental. Lima: Sociedad Peruana de Derecho Ambiental.

Soriano-Sanz, J. A., Franco-Hernández, A., Viñas-Diéguéz, L., Cambeiro-Cambeiro, B., González-Fernández, J. J. (2006). Datos preliminares de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) en mejillón silvestre de la costa cantábrica (España) después del vertido del Prestige Ciencias Marinas, vol. 32, núm. 2B, julio, pp. 457-463.

Strogyloudi, E., Angelidis, M.O., Christides, A. et al. Metal concentrations and metallothionein levels in *Mytilus galloprovincialis* from Elefsis bay (Saronikos gulf, Greece). *Environ Monit Assess* 184, 7189–7205 (2012). <https://doi.org/10.1007/s10661-011-2490-z>

Suárez-Ulloa, V., Fernández-Tajes, J., Manfrin, C., Gerdol, M., Venier, P., & Eirín-López, J. M. (2013). Bivalve omics: state of the art and potential applications for the biomonitoring of harmful marine compounds. *Marine Drugs*, 11(11), 4370–4389. Doi: <https://doi.org/10.3390/md11114370>.

Sun, L., Zuo, Z., Chen, M., Chen, Y., & Wang, C. (2015). Reproductive and transgenerational toxicities of phenanthrene on female marine medaka (*Oryzias melastigma*). *Aquatic Toxicology* (Amsterdam, Netherlands), 162, 109–116. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.03.013>

Swan JM, Neff J.M. y Young P.C. (Eds.) (1994). Environmental implications of offshore oil and gas development in Australia. Sydney: Australian Petroleum Exploration Association.

Teunen, L., De Jonge, M., Malarvannan, G., Covaci, A., Belpaire, C., Focant, J.-F., Blust, R., & Bervoets, L. (2021). Effect of abiotic factors and environmental concentrations on the bioaccumulation of persistent organic and inorganic compounds to freshwater fish and mussels. *The Science of the Total Environment*, 799(149448), 149448. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149448>.

Thakur, R. K., Jindal, R., Singh, U. B., & Ahluwalia, A. S. (2013). Plankton diversity and water quality assessment of three freshwater lakes of Mandi (Himachal Pradesh, India) with special reference to planktonic indicators. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(10), 8355-8373. <https://doi.org/10.1007/s10661-013-3178-3>.

Tuncsoy, M., Duran, S., Yeşilbudak, B., Ay, Ö., Cıçık, B. & Erdem, C. (2016). short term effects of zinc on some sera biochemical parameters and on tissue accumulation of *Clarias gariepinus*. *Fresenius Environmental Bulletin*.

USEPA 1993. Provisional Guidance for Quantitative Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. EPA/600/R-93/089.

Vlahogianni, T., Dassenakis, M., Scoullou, M. J., & Valavanidis, A. (2007). Integrated use of biomarkers (superoxide dismutase, catalase and lipid peroxidation) in mussels *Mytilus galloprovincialis* for assessing heavy metals' pollution in coastal areas from the Saronikos Gulf of Greece. *Marine Pollution Bulletin*, 54(9), 1361–1371. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2007.05.018>.

Van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P.E. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13, 57–149.

Varanasi, U., Stein, J.E., Nishimoto, M. (1989) Biotransformation and disposition of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in fish. In: Varanasi D (ed) *Metabolism*

of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment. CRC Press, Boca Raton, FL, pp 94-149.

Vidyalakshmi, D., Yesudas, A., Sivan, G., Akhil Prakash, E., & Priyaja, P. (2024). Heavy metal accumulation analysis using bivalve, sponge, sea urchin, and gastropod species as bioindicators. *Marine Pollution Bulletin*, 202(116374), 116374. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2024.116374>

Viñas, L., Franco, M. A., Soriano, J. A., González, J. J., Ortiz, L., Bayona, J. M., & Albaigés, J. (2009). Accumulation trends of petroleum hydrocarbons in commercial shellfish from the Galician coast (NW Spain) affected by the Prestige oil spill. *Chemosphere*, 75(4), 534–541. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.12.003>

Villamizar, E. (2021). Impactos de los derrames de petróleo sobre los arrecifes coralinos y sus bienes y servicios ecosistémicos. *Boletín de la Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales* Vol. LXXXI, n.º 1, pp. 45-52. <https://boletines.acfiman.org/wp-content/uploads/2021/06/bacfiman81.1.45.pdf>.

Vutukuru, S. S. (2003). Profiles of the Indian Major Carp, *Labeo rohita* (Hamilton). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 70, 118-123.

Vuorinen, P. J., Keinänen, M., Peuranen, S., & Tigerstedt, C. (2003). Reproduction, blood and plasma parameters and gill histology of vendace (*Coregonus albula* L.) in long-term exposure to acidity and aluminum. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 54(3), 255–276. [https://doi.org/10.1016/s0147-6513\(02\)00078-7](https://doi.org/10.1016/s0147-6513(02)00078-7)

Walker, C.H., Hopkin, S.P., Sibly, R.M., Peakall, D.B. (2001). *Principles of Ecotoxicology*. Second Edition. Taylor & Francis, London.

Walters, C. (2020). Petroleum. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, pp. 1–44. doi:10.1002/0471238961.1518090702011811.a01.pub3.

Wieczorek-Dąbrowska, M., Tomza-Marciniak, A., Pilarczyk, B. y Balicka-Ramisz, A. (2013). Roe and red deer as bioindicators of heavy metals contamination in north-western Poland. *Chemistry and Ecology*. Vol. 29 (2), pp. 100 – 110.

WHO, International Programme on Chemical Safety (1993). Biomarkers and risk assessment: concepts and principles. *Environmental Health Criteria* 155, World Health Organization, Geneva.

Xu, Q., He, Z., Li, P., Xie, S., Zhou, Y., Wang, Q., Wen, Y., & Pan, L. (2025). Toxicity mechanisms of polycyclic aromatic hydrocarbons to Manila clam *Ruditapes philippinarum*: oxidative stress and oxidative damage. *Marine Pollution Bulletin*, 218(118177), 118177. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2025.118177>.

Yakan, S. D., Focks, A., Klasmeier, J., & Okay, O. S. (2017). Numerical evaluation of bioaccumulation and depuration kinetics of PAHs in *Mytilus galloprovincialis*. *Environmental Pollution*, 220, 1244–1250. doi:10.1016/j.envpol.2016.11.009

Yender, R., J. Michel, & C. Lord. (2002). *Managing Seafood Safety after an Oil Spill*. Seattle: Hazardous Materials Response Division, Office of Response and Restoration, National Oceanic and Atmospheric Administration. 72 pp.

Yang, R., Roshani, D., Gao, B., Li, P., & Shang, N. (2024). Metallothionein: A Comprehensive Review of Its Classification, Structure, Biological Functions, and Applications. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 13(7), 825. <https://doi.org/10.3390/antiox13070825>

Yulianto, B., Oetari, P.S., Februhardi, S., Putranto, T., W. & Soegianto, A. (2019). Heavy metals (Cd, Pb, Cu, Zn) concentrations in edible bivalves harvested from Northern Coast of Central Java, Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. DOI: 10.1088/1755-1315/259/1/012005.

Zango, Z. U., Sambudi, N. S., Jumbri, K., Ramli, A., Abu Bakar, N. H. H., Saad, B., Rozaini, M. N. H., Isiyaka, H. A., Osman, A. M., & Sulieman, A. (2020). An

overview and evaluation of highly porous adsorbent materials for polycyclic aromatic hydrocarbons and phenols removal from wastewater. *Water*, 12(10), 2921. <https://doi.org/10.3390/w12102921>.

Zapata-Peréz, O., Sanchez-Teyer, L., Perez-Nuñez, M., Arroyo-Herrera, A., Quiroz, A., y Albores-Medina, A. (2010) Respuesta de la expresión del gen CYP1A en hígado de bagre (*Ariopsis felis*) del Golfo de México y su relación con la variabilidad genética, *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 45:1, 62-67, DOI: 10.1080/10934520903388830.

Zhang, B., Matchinski, E., Chen, B., Ye, X., Jing, L. y Lee, K. (2019a). Chapter 21 - Marine Oil Spills—Oil Pollution, Sources and Effects. Editor: Charles Sheppard. *World Seas: An Environmental Evaluation (Second Edition)*, Academic Press. pp. 391-406. Doi: doi.org/10.1016/B978-0-12-805052-1.00024-3.

Zhang, J., He, Y., Yan, X., Qu, C., Li, J., Zhao, S., Wang, X., Guo, B., Liu, H., & Qi, P. (2019b). Two novel CYP3A isoforms in marine mussel *Mytilus coruscus*: Identification and response to cadmium and benzo[a]pyrene. *Aquatic Toxicology* (Amsterdam, Netherlands), 214(105239), 105239. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.105239>

Zhan, J., Wang, S., Li, F., Ji, C., & Wu, H. (2021). Global characterization of dose-dependent effects of cadmium in clam *Ruditapes philippinarum*. *Environmental Pollution* (Barking, Essex: 1987), 273(116443), 116443. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116443>

Zhang, J., Zhang, X., Hu, T., Xu, X., Zhao, D., Wang, X., Li, L., Yuan, X., Song, C., & Zhao, S. (2022). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and antibiotics in oil-contaminated aquaculture areas: Bioaccumulation, influencing factors, and human health risks. *Journal of Hazardous Materials*, 437(129365). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.129365>

Zhang, X., Li, F., Ji, C., & Wu, H. (2023). Toxicological mechanism of cadmium in the clam *Ruditapes philippinarum* using combined ionomic, metabolomic and transcriptomic analyses. *Environmental Pollution* (Barking, Essex: 1987), 323(121286), 121286. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121286>

XI. ANEXOS

Anexo 1: Tabla de número de especies colectadas en cada monitoreo y playa.

Sitio / Fecha	Septiembre 2022	Enero 2023	Mayo 2023	Septiembre 2023	Enero 2024
Playa Cavero	X	X	<i>Semimytilus algosus</i> (~60)	<i>Semimytilus algosus</i> (~60)	<i>Scartichthys gigas</i> (6), <i>Labrisomus philippii</i> (3) <i>Perumytilus purpuratus</i> (~60), <i>Semimytilus algosus</i> (~60)
Bahía Blanca	X	<i>Scartichthys gigas</i> (8)	X	X	X
Santa Rosa	X	<i>Scartichthys gigas</i> (5), <i>Perumytilus purpuratus</i> (~60)	<i>Scartichthys gigas</i> (10), <i>Perumytilus purpuratus</i> (~60)	<i>Perumytilus purpuratus</i>	<i>Scartichthys gigas</i> (6), <i>Perumytilus purpuratus</i> (~60)
Ancón	X	<i>Perumytilus purpuratus</i> (~60), <i>Semimytilus algosus</i> (~60)	<i>Semimytilus algosus</i> (~60), <i>Perumytilus purpuratus</i> (~60)	<i>Scartichthys gigas</i> (3), <i>Labrisomus philippii</i> , <i>Perumytilus purpuratus</i> (~60)	<i>Perumytilus purpuratus</i> (~60), <i>Semimytilus algosus</i> (~60)
Pasamayo	X	<i>Labrisomus philippii</i> (2)	X	<i>Labrisomus philippii</i> (5)	<i>Scartichthys gigas</i> (5),
Chancay	<i>Labrisomus philippii</i> (6)	X	X	X	X
Playa Paraíso	X	<i>Perumytilus purpuratus</i> (~60), <i>Semimytilus algosus</i> (~60)	<i>Perumytilus purpuratus</i> (~60), <i>Semimytilus algosus</i> (~60)	X	<i>Perumytilus purpuratus</i> (~60), <i>Semimytilus algosus</i> (~60)
Huacho	X	X	X	<i>Scartichthys gigas</i> (3)	X

Anexo 4: Protocolo modificado de extracción de RNA para tejido de choritos
Perumytilus purpuratus

Kit: Direct-zol RNA Miniprep Plus ZYMO RESEARCH

Materiales:

- Pipetas 10, 20, 100, 200 y 1000 μ L.
- Tips 10, 20, 100, 200 y 1000 μ L.
- *Pestle* (1 por muestra)
- Pellet *pestle* motor
- Microtubos de 1.5 ml (3 por muestra)
- Guantes en 1 bolsa plástica hermética (2 pares)

Reactivos:

- Etanol absoluto (450 μ L por muestra)
- *Dnase/Rnase-Free water* (75 μ L por muestra)
- Trizol (500 μ L por muestra)

Exponer a luz UV a todos los materiales.

Nota: Colocar las mezclas de descarte en un frasco rotulado “Residuo peligroso” para su correcta eliminación por una empresa autorizada de disposición final de reactivos tóxicos.

1. Tratamiento:

Trabajar todo el proceso en una cabina de extracción de gases.

- Retirar entre 20 - 25 mg de tejido a un nuevo microtubo.
- Colocar 200 μ L de Trizol y triturar el tejido con el homogenizador y *pestle* hasta que este desintegrado.
- Colocar 300 μ L de trizol (volumen final 500 μ L).
- Centrifugar por 2 minutos a 14,000 x g.
- Retirar el sobrenadante (volumen aprox. 450 μ L) a un nuevo microtubo de 1.5 ml sin tocar el precipitado y sin retirar la fase superficial (película de grasa que se forma en las muestras de hígado).

2. RNA purificación

- Añadir 450 μL de etanol absoluto (mismo volumen que el sobrenadante del paso anterior) y mixear 10 veces. No centrifugar.
- Transferir la mezcla en la columna *Zymo-Spin III CG* con un tubo colector y centrifugar por 1 min a 14,000 x g.
- Transferir la columna cuidadosamente en un nuevo tubo colector y descartar el fluido.

Tratamiento con *DNase I*:

Agregar 400 μL de *RNA Wash buffer* en la columna y centrifugar.

En un nuevo microtubo mezclar 75 μL *DNA Digestion buffer* y 5 μL *DNase I* (6 u/ μL) por cada muestra y spinear. Agregar la mezcla directamente a la columna (directo en el filtro), volumen por muestra 80ul.

Incubar 20 minutos a temperatura ambiente.

- Agregar 400 μL *Direct-zol RNA PreWash* a la columna y centrifugar por 1 min a 14,000 x g. Descartar el fluido y repetir el paso.
- Agregar 700 μL de *RNA Wash buffer* a la columna y centrifugar 14,000 x g por 1 minuto, asegurar la remoción completa del reactivo.
- Transferir la columna cuidadosamente a un nuevo microtubo
- Para la elución final de RNA, agregar 50 μL de *DNase/RNase-Free water* directamente a la columna y centrifugar. Guardar en una refrigeradora de -80°C .

Anexo 5: Número de acceso de los genes usados como biomarcadores de contaminación por HAP y metales en bivalvos de la familia Mytilidae.

Gen	Número de acceso	Especie
Catalasa	>XM_063546620.1	<i>Mytilus trossulus</i>
	>XM_063554954.1	<i>Mytilus trossulus</i>
	>XM_052231533.1	<i>Mytilus californianus</i>
	>KX957929.1	<i>Mytilus coruscus</i>
	>AY580259.1	<i>Mytilus californianus</i>
	>OK318445.1	<i>Perna canaliculus</i>
Citocromo P450 3A	>AB479539.1	<i>Mytilus edulis</i>
	>XM_063553140.1	<i>Mytilus trossulus</i>
	>XM_052227043.1	<i>Mytilus californianus</i>
	>XM_052227087.1	<i>Mytilus californianus</i>
	>XM_052227042.1	<i>Mytilus californianus</i>
Metalotioneínas	>EF140766.1	<i>Mytilus sp.</i>
	>XM_052205290.1	<i>Mytilus californianus</i>
	>AJ005451.1	<i>Mytilus edulis</i>
	>AJ005452.1	<i>Mytilus edulis</i>
	>AJ005453.1	<i>Mytilus edulis</i>
	>AJ007506.1	<i>Mytilus edulis</i>
	>AJ577124.1	<i>Mytilus edulis</i>
	>AY566248.1	<i>Mytilus galloprovincialis</i>
>KY765507.1	<i>Mytilus coruscus</i>	
B - actina	>AF172606.1	<i>Mytilus edulis</i>
	>AB257134.1	<i>Mytilus edulis</i>
	>AF157491.1	<i>Mytilus galloprovincialis</i>
	>EF140761.1	<i>Mytilus sp.</i>
	>XM_052213277.1	<i>Mytilus californianus</i>

Anexo 6: Criterios del diseño de primers para RT-qPCR

Requisitos	Primers
Contenido GC	50 – 60 %
Cálculo de T_m	50 – 65°C La T_m entre primers no debería diferenciarse de 5°C
Series de nucleótidos idénticos	Evitar >4 repeticiones de bases
Longitud del amplicon	75 – 200 bp
Longitud del <i>primer</i>	15 – 30 ntd No diferir de 3 ntd entre <i>primers</i>
Dímeros de cebadores y horquillas	Evitar estructuras secundarias
Regla del extremo 3'	Máximo dos G o C en las últimas 5 bp

Fuente: Bio-Rad, 2006; Rodríguez et al. 2015

Anexo 7: Síntesis de cDNA a partir de RNA de choritos

Kit: *GoScript Reverse transcription system* (Promega, USA)

1. Mezclar y centrifugar brevemente cada componente antes de usarlos. Mantenerlos en una cubeta con hielo.
2. Realizar la mezcla de los componentes según el número de reacciones necesarias.

Reactivo	1 reacción
<i>Oligo dT primer</i> 10 pmol	1 μ L
Agua ultra pura	3 μ L

3. Repartir la mezcla (4 μ L) en microtubos etiquetados, colocar 1 μ L de ARN y cerrar bien.
4. Colocar los microtubos en un bloque térmico precalentado a 70°C durante 5 minutos. Enfriarlos inmediatamente en hielo durante al menos 5 minutos.
5. Centrifugar los microtubos por 10 segundos y mantenerlos en hielo hasta que se agregue la mezcla de reacción de transcriptasa inversa.
6. Prepare la mezcla de reacción de transcriptasa inversa combinando los siguientes componentes en un microtubo sobre hielo. Mezclar en el orden indicado:

Reactivo	1 reacción
Agua ultra pura	6.5 μ L
<i>GoScript 5x reaction buffer</i>	4 μ L
MgCl ₂ (2,5 mM)	1.5 μ L
<i>PCR nucleotide mix</i>	1 μ L
<i>Recombinante RNasin</i>	1 μ L
<i>GoScript Reverse</i>	1 μ L
Volumen final	15 μ L

7. Agregue alícuotas de 15 μL de la mezcla a cada microtubo sobre hielo, agregar 5 μL de la mezcla de ARN y primer a cada microtubo.
8. *Annealing* (hibridación): Coloque los microtubos en un bloque térmico de temperatura controlada equilibrado a 25°C e incube durante 5 minutos.
9. Extensión: Incube los tubos en un bloque térmico de temperatura controlada a 42 °C durante una hora como máximo.
10. Inactivación de la transcriptasa inversa: Si el objetivo experimental es continuar con la PCR, la transcriptasa inversa debe inactivarse térmicamente antes de la amplificación. Incube los tubos de reacción en un bloque térmico de temperatura controlada a 70 °C durante 15 minutos.

Anexo 8: Protocolo RT-qPCR

Kit: *iTaq Universal SYBR Green Supermix* – Bio Rad

Procedimiento:

1. Descongelar los componentes a temperatura ambiente, spinear y centrifugar brevemente para colectar las soluciones al fondo del tubo, conservarlos en hielo y protegidos de la luz. Preparar la mezcla para todas las reacciones, sin agregar el ADNc:

Componentes		Concentración inicial	Concentración final	1 reacción
iTaq	Universal	2 x	1x	10 µL
SYBR Green				
Primer forward		10000 nM	500 nM	1 µL
Primer reverse		10000nM	500 nM	1 µL
Agua ultra pura		-	-	3 µL
ADN			100ng	5 µL
Volumen final				20 µL

2. Escalar todos los componentes proporcionalmente según el número de muestra. Mezclar bien para asegurar la homogeneidad y dispense alícuotas iguales en cada tubo (15 µL) o en los pocillos de una placa de PCR.
3. Agregar 5 µL de ADN a los microtubos de PCR que contienen la mezcla, selle los microtubos y agite durante 30 segundos o más para asegurar una mezcla completa de los componentes. Spinear los microtubos para eliminar las burbujas y recoger la mezcla de reacción en el fondo del recipiente.
4. Programe el protocolo de ciclo térmico en el equipo de PCR en tiempo real y coloque los microtubos:

Activación de polimerasa a 95°C	Amplificación			Melt-curve
	Denaturación a 95°C	Annealing/ Extensión + Plate read a 60°C	Ciclos	
20-30 segundos para cDNA	2 - 5 segundos	15 - 30 segundos	35 - 40	65°C - 95°C incrementar 0.5°C, 2 - 5 segundos (o utilizar la configuración predeterminada del instrumento)

Anexo 9: Resultados Ct obtenidos del equipo RT-qPCR de los genes de interés

Procedencia	Monitoreo	Código	Ct			
			ACT	MT	CAT	CYP3A
IMARPE	-	Ti-0-02	33.42	25.45	35.47	34.25
IMARPE	-	Ti-0-02	32.88	24.82	39.33	35.32
IMARPE	-	Ti-0-02	32.62	24.51	39.54	34.78
IMARPE	-	Ti-0-01	31.49	24.73	31.02	35.7
IMARPE	-	Ti-0-01	31.2	24.98	30.55	36.13
IMARPE	-	Ti-0-01	31.58	25.01	31.18	36.36
IMARPE	-	Ti-0-03	37.61	31.34	36.45	39.1
IMARPE	-	Ti-0-03	38.35	30.51	N/A	N/A
IMARPE	-	Ti-0-03	38.23	30.59	36.66	38.09
Ancón	Ene-23	AN23-01-04	33.49	28.96	36.63	39.24
Ancón	Ene-23	AN23-01-04	33.29	28.09	35.46	37.28
Ancón	Ene-23	AN23-01-04	33.18	27.47	35.05	36.35
Ancón	Ene-23	AN23-01-01B	27.58	23.09	35.08	32.19
Ancón	Ene-23	AN23-01-01B	27.32	23.61	36.17	32.28
Ancón	Ene-23	AN23-01-01B	27.7	23.49	36.14	32.01
Ancón	Ene-23	AN23-01-02B	33.35	26.22	31.95	34.93
Ancón	Ene-23	AN23-01-02B	33.45	26.03	31.58	35.55
Ancón	Ene-23	AN23-01-02B	33.25	26.03	31.88	35.79
Santa Rosa	Ene-23	SR23-01-14	28.47	25.07	32.75	32.55
Santa Rosa	Ene-23	SR23-01-14	28.52	24.75	33.14	32.09
Santa Rosa	Ene-23	SR23-01-14	28.4	25.21	36.82	32.15
Santa Rosa	Ene-23	SR23-01-13	34.26	29.3	N/A	36.74
Santa Rosa	Ene-23	SR23-01-13	34.98	28.85	38.17	37.66
Santa Rosa	Ene-23	SR23-01-13	34.43	28.96	N/A	38.43
Santa Rosa	Ene-23	SR23-01-17	30.74	28.07	37.45	41.38
Santa Rosa	Ene-23	SR23-01-17	31	28.13	35.45	41.23
Santa Rosa	Ene-23	SR23-01-17	30.7	28.23	38.18	42.4
Playa Paraíso	Ene-23	PP23-01-06	32.24	25.11	29.78	33.6
Playa Paraíso	Ene-23	PP23-01-06	31.4	24.83	29.36	34.16
Playa Paraíso	Ene-23	PP23-01-06	31.38	24.97	29.5	33.76
Playa Paraíso	Ene-23	PP23-01-07	35.51	30.71	33.65	38.16
Playa Paraíso	Ene-23	PP23-01-07	35.6	30.87	34.47	37.82
Playa Paraíso	Ene-23	PP23-01-07	35.68	30.96	33.64	37.28
Playa Paraíso	Ene-23	PP23-01-08	35.68	31.89	35.49	39.28
Playa Paraíso	Ene-23	PP23-01-08	35.94	31.76	35.13	41.97
Playa Paraíso	Ene-23	PP23-01-08	35.39	31.74	35.28	39.14

Ancón	May-23	AN23-02-01	25.11	32.38	38.43	38.94
Ancón	May-23	AN23-02-01	25.02	32.23	38.05	N/A
Ancón	May-23	AN23-02-01	25.14	31.96	35.47	44.23
Ancón	May-23	AN23-02-02	38.19	29.01	38.19	38.41
Ancón	May-23	AN23-02-02	36.85	28.96	36.87	N/A
Ancón	May-23	AN23-02-02	36.8	28.71	37.71	38.9
Ancón	May-23	AN23-02-03	34.01	29.85	N/A	39.12
Ancón	May-23	AN23-02-03	34.05	30.12	N/A	39.47
Ancón	May-23	AN23-02-03	32.73	30.01	39.25	40.95
Santa Rosa	May-23	SR23-02-11	31.75	25.17	30.28	34.17
Santa Rosa	May-23	SR23-02-11	30.92	24.53	30.3	33.02
Santa Rosa	May-23	SR23-02-11	31.2	24.67	30.06	33.54
Santa Rosa	May-23	SR23-02-12	36.83	30.41	37.64	36.96
Santa Rosa	May-23	SR23-02-12	37.01	30.36	37.4	40.09
Santa Rosa	May-23	SR23-02-12	36.19	30.06	38.29	N/A
Santa Rosa	May-23	SR23-02-13	35.15	30.77	38.88	36.98
Santa Rosa	May-23	SR23-02-13	38.57	30.17	37.46	N/A
Santa Rosa	May-23	SR23-02-13	37.94	30.03	37.83	37.86
Ancón	Set-23	AN23-03-01	34.29	26.16	32.13	34.65
Ancón	Set-23	AN23-03-01	33.5	26.29	31.72	33.83
Ancón	Set-23	AN23-03-01	33.88	26.07	31.24	33.38
Ancón	Set-23	AN23-03.02	28.26	22.05	28.26	30.92
Ancón	Set-23	AN23-03.02	28.35	21.91	28.35	31.52
Ancón	Set-23	AN23-03.02	28.05	21.94	28.05	30.78
Ancón	Set-23	AN23-03-03	33.31	29.42	40.49	43.55
Ancón	Set-23	AN23-03-03	32.98	29.05	38.2	41.73
Ancón	Set-23	AN23-03-03	33.06	29.26	36.59	41.77
Santa Rosa	Set-23	SR23-03-05	N/A	30.33	35.21	36.4
Santa Rosa	Set-23	SR23-03-05	36.56	30.03	34.65	36.93
Santa Rosa	Set-23	SR23-03-05	37.29	30.75	38.2	42.43
Santa Rosa	Set-23	SR23-03-03	39.54	31.79	N/A	41.08
Santa Rosa	Set-23	SR23-03-03	38.76	31.58	35.43	N/A
Santa Rosa	Set-23	SR23-03-03	37.04	30.9	39.75	44.87
Santa Rosa	Set-23	SR23-03-04	N/A	32.97	N/A	N/A
Santa Rosa	Set-23	SR23-03-04	36.17	31.9	N/A	38.62
Santa Rosa	Set-23	SR23-03-04	N/A	N/A	N/A	39.63
Ancón	Ene-24	AN24-01-08	35.76	30.04	34.69	N/A
Ancón	Ene-24	AN24-01-08	35.24	29.74	33.58	45.24
Ancón	Ene-24	AN24-01-08	34.46	29.67	34.72	N/A
Ancón	Ene-24	AN24-01-09	31	22.89	37.51	31
Ancón	Ene-24	AN24-01-09	31.09	23.15	36.99	31.57
Ancón	Ene-24	AN24-01-09	31.08	22.97	37.58	31.67
Ancón	Ene-24	AN24-01-07	36.07	28.45	40.67	45.98

Ancón	Ene-24	AN24-01-07	36.24	28.51	N/A	38.44
Ancón	Ene-24	AN24-01-07	35.02	28.5	40.54	38.15
Santa Rosa	Ene-24	SR24-01-01	36.15	27.78	32.49	37.07
Santa Rosa	Ene-24	SR24-01-01	36.86	27.76	32.72	38.15
Santa Rosa	Ene-24	SR24-01-01	36.49	28.13	32.92	35.47
Santa Rosa	Ene-24	SR24-01-02	35.45	30.12	35.45	36.34
Santa Rosa	Ene-24	SR24-01-02	33.12	28.68	33.12	38.34
Santa Rosa	Ene-24	SR24-01-02	32.67	28.16	32.67	37.79
Santa Rosa	Ene-24	SR24-01-03	30.44	23.37	35.45	33.27
Santa Rosa	Ene-24	SR24-01-03	30.48	23.38	37.29	32.99
Santa Rosa	Ene-24	SR24-01-03	30.42	23.44	37.38	33.12
Playa Paraíso	Ene-24	PP24-01-07	35.85	30.03	34.81	40.03
Playa Paraíso	Ene-24	PP24-01-07	38.55	28.45	32.43	38.82
Playa Paraíso	Ene-24	PP24-01-07	37.74	30.08	N/A	N/A
Playa Paraíso	Ene-24	PP24-01-08	29.24	22.54	29.38	29.24
Playa Paraíso	Ene-24	PP24-01-08	29.07	22.56	29.45	28.98
Playa Paraíso	Ene-24	PP24-01-08	29.04	22.6	29.06	29.13
Playa Paraíso	Ene-24	PP24-01-09	36.22	28.28	N/A	37.5
Playa Paraíso	Ene-24	PP24-01-09	35.45	28.41	N/A	37.2
Playa Paraíso	Ene-24	PP24-01-09	35.02	27.86	36.12	36.19

Anexo 10: Índices somáticos en peces de las playas Cavero, Santa Rosa, Pasamayo, Ancón, Bahía Blanca y Paracas, en las cuatro campañas de monitoreo.

Monitoreo	Sitio	Sp.	n	Largo	FC	IH	IG
Enero 2023	Santa Rosa	<i>Scartichthys gigas</i>	5	20,3 ± 1,2	1,4 ± 0,2	2,4 ± 0,6	0,7 ± 1,4
	Pasamayo	<i>Labrisomus philippii</i>	2	20,8 ± 1,4	1,6 ± 0,1	2,4 ± 1,3	3,4 ± 3,3
	Bahía Blanca	<i>Scartichthys gigas</i>	8	18,4 ± 1,8	1,6 ± 0,1	1,1 ± 0,4	0,4 ± 0,8
Mayo 2023	Santa Rosa	<i>Scartichthys gigas</i>	10	14,2 ± 4,6	1,5 ± 0,1	1,2 ± 0,7	0,3 ± 0,4
Septiembre 2023	Ancón	<i>Scartichthys gigas</i>	3	15,6 ± 3,3	1,5 ± 0,05	0,9 ± 0,4	0,8 ± 0,2
	Pasamayo	<i>Labrisomus philippii</i>	5	21,7 ± 2,6	1,6 ± 0,02	2,8 ± 1,4	0,7 ± 1,3
	Huacho	<i>Scartichthys gigas</i>	3	16,8 ± 0,9	1,0 ± 0,2	0,07 ± 0,1	0,2 ± 0,1
Enero 2024	Playa Cavero	<i>Scartichthys gigas</i>	6	17,6 ± 1,9	1,5 ± 0,1	0,5 ± 0,2	0,3 ± 0,8
	Santa Rosa	<i>Scartichthys gigas</i>	6	17,9 ± 2,2	1,3 ± 0,1	0,4 ± 0,08	0,02 ± 0,05
	Pasamayo	<i>Scartichthys gigas</i>	5	14,1 ± 1,1	1,5 ± 0,1	0,7 ± 0,2	NA

n= número de individuos; Largo en cm; FC: Factor de condición; IH: Índice hepatosomático; IGS: Índice gonadosomático. (Promedio ± desviación estándar).