



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS  
DEL NOROESTE, S.C.

---

Programa de Estudios de Posgrado

**EVALUACIÓN DEL ESTADO DE SALUD DE LA TORTUGA  
VERDE DEL PACÍFICO ORIENTAL (*Chelonia mydas*) QUE  
HABITA EN LA COSTA DE BAJA CALIFORNIA SUR, A  
TRAVÉS DE BIOMARCADORES FISIOLÓGICOS.**

**TESIS**

Que para obtener el grado de

**Doctor en Ciencias**

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales  
Orientación Biología Marina

Presenta

**VANESSA LABRADA MARTAGÓN**

La Paz, Baja California Sur, Septiembre de 2011

## ACTA DE LIBERACION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 10 horas del día 22 del mes de agosto del 2011, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

**“Evaluación del estado de salud de la tortuga verde del pacífico oriental (*Chelonia mydas*), que habita en la costa de Baja California Sur, a través de biomarcadores fisiológicos.”**

Presentada por el alumno:


**Vanessa Labrada Martagón**

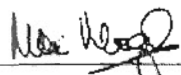
Aspirante al Grado de DOCTOR EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACION DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACION EN **Biología Marina**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

### LA COMISION REVISORA


  
DRA. TANIA ZENTENO SAVÍN  
CO-DIRECTORA DE TESIS

  
Dra. LIA C. MÉNDEZ RODRÍGUEZ  
CO-DIRECTORA DE TESIS

  
DR. MARC MANGEL  
CO-TUTOR

  
DR. VICTOR H. CRUZ ESCALONA  
CO-TUTOR

  
DR. FRANCISCO ARREGUÍN SÁNCHEZ  
CO-TUTOR

  
DRA. ELISA SERVIERE ZARAGOZA,  
DIRECTORA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

# CONFORMACIÓN DE COMITÉS

---

## COMITÉ TUTORIAL

Dra. Tania Zenteno Savín	Co-Directora	CIBNOR
Dra. Lia C. Méndez Rodríguez	Co-Directora	CIBNOR
Dr. Marc Mangel	Co-Asesor	Universidad de Santa Cruz, UCSC
Dr. Victor H. Cruz Escalona	Co-Asesor	CICIMAR
Dr. Francisco Arreguin Sánchez	Co-Asesor	CICIMAR

## COMITÉ REVISOR DE TESIS

Dra. Tania Zenteno Savín	CIBNOR
Dra. Lia C. Méndez Rodríguez	CIBNOR
Dr. Marc Mangel	Universidad de Santa Cruz, UCSC
Dr. Victor H. Cruz Escalona	CICIMAR
Dr. Francisco Arreguin Sánchez	CICIMAR

## JURADO DE EXÁMEN DE GRADO

Dra. Tania Zenteno Savín	CIBNOR
Dra. Lia C. Méndez Rodríguez	CIBNOR
Dr. Marc Mangel	Universidad de Santa Cruz, UCSC
Dr. Victor H. Cruz Escalona	CICIMAR
Dr. Francisco Arreguin Sánchez	CICIMAR
Dr. Eduardo F. Balart Páez (suplente)	CIBNOR
Dra. Patricia Galina Tessaro (suplente)	CIBNOR

# RESUMEN

---

La exposición a xenobióticos genera en los organismos una cascada de reacciones bioquímicas de defensa y detoxificación celular. La relación entre los xenobióticos y las respuestas celulares genera marcadores potenciales para evaluar de manera temprana la exposición y efecto de los contaminantes en fauna silvestre. Aún cuando se ha demostrado alta sensibilidad fisiológica de las tortugas marinas a concentraciones reducidas de contaminantes químicos, existe un desconocimiento sobre los niveles a partir de los cuales los xenobióticos pueden ser perjudiciales o letales, así como los efectos a largo plazo para la salud y la dinámica poblacional. El conocimiento acerca del estado de salud de la población de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) del Pacífico Oriental, conocida regionalmente como tortuga prieta, es escaso. Con el objetivo de evaluar el estado de salud de la tortuga verde y el efecto de los elementos traza y compuestos organoclorados (OC), se determinaron parámetros bioquímicos, hematológicos, actividad de enzimas antioxidantes, niveles de peroxidación de lípidos (TBARS), perfiles hormonales y concentración de vitelogenina (VTG) en sangre de individuos vivos de Punta Abreojos (PAO), Laguna San Ignacio (LSI) y Bahía Magdalena (BMA) durante 2005-2007. Se estimó el factor de condición corporal ( $a$ ) y un índice relativo de condición corporal ( $Krel$ ) a partir de la relación de los datos de talla y peso de los organismos. Las tortugas verdes de PAO presentaron menor  $Krel$  en comparación con las de LSI a una misma talla ( $p < 0.001$ ). En BMA y PAO las tortugas clasificadas como lesionadas (con heridas recientes, balanos, desnutrición) presentaron menor  $Krel$  en comparación con las sanas ( $p < 0.01$ ). En PAO se observó además un menor incremento en  $Krel$  por centímetro de talla en las tortugas lesionadas ( $p < 0.001$ ). Los índices de condición corporal evaluados en conjunto con los parámetros bioquímicos sanguíneos resultaron ser marcadores útiles del estado físico y nutricional de la tortuga verde. Las tortugas capturadas en LSI presentaron un elevada razón heterófilos/linfocitos en comparación con PAO y BMA ( $p < 0.001$ ) sugiriendo una infección aguda en la población. El isómero  $\delta$  de los plaguicidas hexaclorociclohexanos (HCH) fue el OC con mayor prevalencia encontrándose en el 87% de los organismos. En las tres zonas las concentraciones de elementos traza y de residuos de OC estuvieron correlacionadas con distintos parámetros de salud ( $p < 0.05$ ) (e.g. niveles de calcio, concentración de proteínas, actividad de glutatión S-transferasa (GST), niveles de TBARS), aunque únicamente la concentración del hierro y de los plaguicidas  $\delta$ -HCH y  $\beta$ -HCH estuvo correlacionada negativamente con el índice  $Krel$  ( $p < 0.02$ ). Análisis de componentes principales (ACP) determinaron diferencias temporales y regionales en la concentración de xenobióticos y en las respuestas fisiológicas de las tortugas verdes, sugiriendo diferencias en la calidad del hábitat relacionadas posiblemente a corrientes y surgencias (PAO) y a la actividad agrícola (BMA). En PAO la elevada concentración de Cd y Si durante el 2005 se correlacionó positivamente con la actividad de la enzima aspartato aminotransferasa (AST), la proporción de monocitos y los niveles de TBARS (daño oxidativo) y negativamente con la concentración de tiroxina, VTG, glucosa y ácido úrico de las tortugas verdes ( $p < 0.05$ ) (ACP, 37.5% varianza explicada), lo cual coincide con una menor condición corporal durante el 2005 en comparación con las tortugas capturadas en el 2006. La mayor

frecuencia de individuos con residuos OC en plasma, así como las mayores concentraciones de heptacloro, Si y Cd, se encontraron en los individuos de PAO; las tortugas verdes de BMA se caracterizaron por presentar la mayor concentración de aldrin y clordano y por presentar una mayor actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) (ACP, 43% varianza explicada). Los resultados de este trabajo demuestran una elevada sensibilidad fisiológica de la tortuga verde a mínimas concentraciones de contaminantes, menores a las reportadas en tejidos como hígado y riñón de la misma especie en otras partes del mundo. Los resultados sugieren como potenciales marcadores de contaminantes químicos a la actividad de las enzimas AST y GST, dada su función detoxificante y, a la concentración de lípidos, glucosa, ácido úrico, VTG y tiroxina como marcadores de la condición corporal y el estado nutricional de la tortuga verde.

**Palabras clave:** Reptilia; Cheloniidae; *Chelonia mydas*; tortuga verde; Pacífico Oriental; biomarcadores; xenobióticos; disruptores endócrinos; salud; conservación

**Vo. Bo.**  
**Co-directoras de Tesis**

---

**Dra. Tania Zenteno-Savín**

---

**Dra. Lia C. Méndez-Rodríguez**

## ABSTRACT

---

Exposure to xenobiotics generates a cascade of biochemical reactions in an attempt to rid the cell of the toxin or to defend it against adverse effects. Those biochemical responses could be used as biomarkers of exposure and effects of chemical pollution in wildlife and may extend ultimately to the level of populations. The sea turtles are highly sensitive to low contaminant concentrations, nevertheless, the toxic levels of chemical contaminants and their adverse effects in the short term (physiology) and in the long term (population dynamics) are unknown for sea turtles. There is limited information on the health status of the population of the East Pacific green sea turtle (*Chelonia mydas*), known regionally as black sea turtle. In order to determine the health status of the black sea turtle and the potential effects of trace elements and organochlorinated pesticides (OC) in the health, blood biochemistry parameters, blood cell counts, the activity of antioxidant enzymes, lipid peroxidation (TBARS) levels, hormonal profile and concentration of vitellogenin (VTG) were measured in individuals captured alive in the coastal lagoons of Punta Abreojos (PAO), Laguna San Ignacio (LSI) and Bahía Magdalena (BMA) during 2005-2007. The body condition factor ( $a$ ) and the relative body condition index ( $K_{rel}$ ) were estimated using length and weight data. The black sea turtles from PAO had a lower  $K_{rel}$  than those from LSI at a same length ( $p < 0.001$ ). Injured sea turtles (with external lesions, barnacles, emaciation) from PAO and BMA showed a lower  $K_{rel}$  than apparently healthy turtles ( $p < 0.01$ ). Additionally, in PAO, the injured sea turtles showed a lower rate of increase of  $K_{rel}$  per centimeter of length ( $p < 0.001$ ). The body condition indices, evaluated together with blood biochemistry parameters, can be a useful tool as biomarkers of the physical and nutritional status of the black sea turtles. The black sea turtles from LSI had a higher heterophyl/lymphocyte ratio in comparison with those from PAO and BMA ( $p < 0.001$ ), suggesting an acute infection in the LSI population. The most prevalent pesticide was the  $\delta$  isomer of the hexachlorocyclohexanes (HCH) which was found in 85% of the individuals. The concentrations of trace elements and OCs were correlated with many health parameters of the black sea turtles from the three study zones ( $p < 0.05$ ) (e.g. calcium levels, protein concentration, glutathione-S-transferase (GST) activity, TBARS levels); nevertheless, only the concentration of iron and the of pesticides  $\delta$ -HCH and  $\beta$ -HCH were correlated with the body condition index  $K_{rel}$  ( $p < 0.02$ ). Principal component analyses (PCA) resulted in temporal and regional differences in trace element and OC concentrations and also health parameters of the sea turtles, suggesting differences in the habitat and in environmental conditions related, possibly, to currents and upwelling (PAO) and agricultural activities (BMA). The higher concentrations of Cd and Si in PAO during 2005 were positively correlated with the activity of the aspartate aminotransferase (AST) activity, the proportion of monocytes and the TBARS levels (oxidative damage), and were negatively correlated with the concentration of thyroxine, VTG, glucose and uric acid of the black sea turtles ( $p < 0.05$ ) (ACP, 37.5% variance explained). On that year, 2005, the sea turtles from PAO showed lower body condition in comparison to the sea turtles captured in 2006. The higher frequency of individuals with residuals of OCs in plasma and the higher concentrations of

heptachlor, Cd and Si were found in the sea turtles from PAO: the black sea turtles from BMA were characterized by the higher concentrations of aldrin and chlordane and higher superoxide dismutase (SOD) activity (ACP, 43% variance explained). The results of this work confirm the elevated physiological sensitivity of the black sea turtles to minimum concentrations of contaminants, lower than those reported in liver and kidney of the same species around the world. The results suggest that the activity of AST and GST could be used as biomarkers of chemical contaminants due to their detoxifying function, while levels of glucose, uric acid, VTG and thyroxine are suggested to be good biomarkers of body condition and nutritional state in black sea turtles.

**Key words:** Reptilia; Cheloniidae; *Chelonia mydas*; green sea turtle; East Pacific; biomarkers; xenobiotics; endocrine disruptors; health; conservation

*A las tortugas de los océanos.  
Organismos con los que conviví y  
sobre los que reflexioné, escribí y aprendí durante  
cuatro años para realizar una de mis más grandes metas.*

*La tortuga verde, quizá la más conocida por el hombre, porta el nombre "Chelonia" empleado por los Griegos para denominar a todas las tortugas vivientes. Es, junto a las seis especies vivas de tortugas marinas, un sobreviviente prehistórico de la extinción masiva de los dinosaurios.*

*Al nacer vive sus "años perdidos" inmersa en el océano como carnívoro, afrontando a sus más temibles predadores. Como juvenil, prefiere las protegidas lagunas costeras ricas en alimento verde. Ya convertida en adulto comienza la migración de miles de kilómetros sin más brújula o mapa que su sentido de orientación aún indescifrable.*

*Especie altamente filopátrica, la tortuga verde revela gran fidelidad por su playa de nacimiento para la anidación, haciendo frente a más de 20 años de cambios urbanos y perturbación ambiental ocurridos desde su nacimiento hasta su primer exploración terrestre.*

*En su trayecto de vida, miles de tortugas verdes son vulnerables durante las operaciones pesqueras en nuestra necesidad por alimentar a un mundo cada vez mayor.*

*"La extinción no es inevitable", la coexistencia con un habitante de 2 millones de años puede lograrse con un acomodo justo y razonable de la humanidad.*

*Es nuestra generación la responsable de tomar las acciones necesarias para salvar a estos extraordinarios animales.*

*Vanessa Labrada-Martagón*

*Con ideas modificadas de:*

*Pritchard, Peter. 2011. Swot Report. The state of the World's Sea Turtles.*

*Spotila, James. 2004. Sea Turtles, a complete guide of their biology, behavior and conservation. Johns Hopkins Editorial.*



# AGRADECIMIENTOS

---

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, CIBNOR. En especial a La Dirección de Estudios de Posgrado, el Departamento de Control Escolar, el Departamento de Becas y Apoyo Estudiantil y el Laboratorio de Cómputo por todo su apoyo logístico, administrativo y económico brindado durante la realización de mis estudios.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACYT, por la beca brindada para la realización de mis estudios de doctorado (200974) y por la asignación de la Beca Mixta en el Extranjero para el desarrollo de una estancia de investigación.

Al Comité Tutorial y Comité revisor del documento de tesis, Dra. Tania Zenteno Savín, Dra. Lia C. Méndez, Rodríguez, Dr. Marc Mangel, Dr. Victor H. Cruz Escalona y Dr. Francisco Arreguín Sánchez, por todas sus sugerencias, correcciones y comentarios que enriquecieron las ideas de trabajo y el documento de tesis.

Un especial agradecimiento a mis directoras de tesis la Dra. Tania Zenteno Savín y la Dra. Lia C. Méndez Rodríguez por toda su confianza, enseñanzas, apoyo y amistad brindada durante la realización de este trabajo. Después de la maestría me tomó cuatro años elegir un programa de doctorado, esperando encontrar la mejor opción que me permitiera desarrollarme dentro del área de la investigación. No podría haber elegido algo mejor.

Quiero agradecer al Dr. Marc Mangel por su compromiso y entusiasmo con este trabajo. Thank you Marc for introduce me into the modeling experience, making my perspective and knowledge greater for solving the ecological problems that we pretend to explain. We still have work to do together.

Al Dr. Fernando A. Muñoz Tenería por idear una Estancia de Investigación sobre Inmunología en reptiles, por compartir todo su conocimiento acerca del tema y por sus invaluable consejos para la realización de la parte hematológica de este trabajo.

Al Dr. Owens y la Dra. María Ikonopoulou por compartir a distancia su literatura y conocimiento acerca de la endocrinología de las tortugas marinas y por sus consejos para la cuantificación de las hormonas.

A Melania López Castro, Susan Gardner, Orlando Lugo, Norma Olguín y al Grupo Tortuguero de las Californias por su ayuda y colaboración para la realización del trabajo de campo y obtención de las muestras biológicas para este estudio.

Al Laboratorio de Biomedicina y Salud Ambiental, con especial agradecimiento a Norma Olguín y Orlando Lugo por su invaluable ayuda y paciencia durante el procesamiento de las muestras, sin su ayuda nunca lo hubiera logrado adentro del laboratorio.

Al Dr. Ramón Gaxiola por compartir sus libros, su conocimiento estadístico, su punto de vista médico-humano, pero sobre todo su amistad. ¡Que bueno que te integraste al laboratorio!

A Melania López Castro y Marina Zucchini por su ayuda en el procesamiento de las muestras, pero principalmente por su total disponibilidad para responder y esclarecer mis dudas a pesar de la distancia. A José Pablo por su total disponibilidad y pronta respuesta para la obtención de literatura. ¡Gracias!

El limpiar el congelador de innumerables muestras de tortugas marinas me hizo reflexionar en el trabajo y esfuerzo previo de un gran número de personas, sin el que jamás hubiera sido posible realizar este estudio. Gracias a todos los estudiantes que construyeron el precedente de este trabajo integral.

A todos los compañeros de laboratorio con los que conviví estos cuatro años, Orlando, Norma, Patricia, Paola, Juan Carlos, Marcela, Mónica, Ramón, Lluvia y Angélica, por todo su apoyo, sugerencias, consejos, ayuda y amistad. ¡Gracias por las ricas calorías de cada lunes! A las amigas tortugueras Melania, Marina y Agnese por su apoyo, compañía, amistad y todos los buenos momentos vividos durante los congresos.

A los compañeros de posgrado y amigos dentro del CIBNOR, Noé, Miguel, Jorge, Yorsh, Gustavo, Scarry, Andrés, Alejandra, Laura, Laura Guzmán, Nacho, Mónica, Eire, Antonio y Lia. Gracias por las carcajadas durante periodos críticos como el predoctoral, fue muy divertido estar con ustedes.

A toda la gente de Guadalajara que siempre esta al pendiente de mí, el Dr. Castro, Dr. Conde, Milagros, Humberto, Maru, Xóchitl y Rosy, gracias por sus recados y saludos vía mi madre.

A mis súper camaradas y aliados, Claudia, Toño, Juan Peter, Sylvian, Larisa, Erika, Gabita, Mariana, Alma, Alberto, Irma, Casandra, Ruth, Lizzy, Vero, Viviana, Pablo Carrillo, Rodrigo Esparza, Rodrigo Barba, Pedro, Ana, Alethea, Gaby Oregel y Sheila. Gracias por su apoyo incondicional, cerca, lejos ó más lejos, siempre están al pendiente y dispuestos a escuchar.

A Cesar, mi compañero de vida que me alcanzó durante esta etapa del viaje. Gracias por entender y compartir las locuras y sueños de esta bióloga, por todo tu apoyo, ánimos, paciencia y sobre todo tu amor. ¡Eres lo mejor!

¡A mi familia en peligro de extinción! Tíos Martagón, primos Labrada y primas Martagón, gracias por su apoyo, porras y ánimos para continuar con mi doctorado, pero sobre todo su amor a distancia. Gracias a Paola y Jona por recibirme en casa durante mi estancia de investigación, fue una experiencia increíble que nunca olvidaré. Gracias Billy y Queta por adoptarme durante mi incapacidad, creo el periodo más difícil de mi vida, y a las primas por hacerme reír con la panza cocida. Al gemelo Poky, que como buen gemelo también esta apunto de graduarse de maestría. ¡Ahí estaremos!

A mis padres por enseñarme a vivir con la libertad de elegir y seguir mis sueños y con la disciplina para cumplir mis metas. Cuando entré a la licenciatura jamás imagine llegar hasta aquí, gracias por alentarme desde el inicio para dedicarme a esta carrera que al paso de los años tantas satisfacciones me ha dado. ¡Los quiero!

# CONTENIDO

---

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	3
2.1. Estado taxonómico de la tortuga verde .....	3
2.2. Distribución e historia de vida de la tortuga verde .....	4
2.3. Situación histórica y actual de la tortuga verde en México .....	7
2.4. Biomarcadores y condición corporal .....	9
2.5. Estado de salud de la tortuga verde .....	11
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b> .....	17
<b>4. OBJETIVOS</b> .....	18
4.1. Objetivo general .....	18
4.2. Objetivos particulares .....	18
<b>5. HIPÓTESIS</b> .....	19
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	20
6.1. Zona de estudio .....	20
6.1.1. Punta Abreojos (PAO) .....	21
6.1.2. Laguna de San Ignacio (LSI) .....	22
6.1.3. Complejo lagunar de Bahía Magdalena (BMA) .....	23
6.2. Captura de los individuos, medidas biométricas y registro del estado físico .....	25
6.3. Estructura poblacional, captura por unidad de esfuerzo (CPUE) y condición corporal .....	28
6.3.1. Factor de condición corporal estacional y anual .....	28
6.3.2. Índice relativo de condición corporal ( <i>K<sub>rel</sub></i> ) .....	29
6.4. Colecta y procesamiento de las muestras biológicas .....	29
6.4.1. Bioquímica sanguínea .....	30
6.4.2. Proporción leucocitaria .....	32
6.4.3. Vitelogenina (VTG) .....	32
6.4.4. Esteroides sexuales y torixona ( <i>T<sub>4</sub></i> ) .....	34
6.4.5. Defensas antioxidantes y daño oxidativo .....	36
a) Superóxido dismutasa total (t-SOD) .....	37
b) SOD dependiente de magnesio (Mn-SOD) .....	37
c) SOD dependiente de cobre-zinc (CuZn-SOD) .....	37
d) Catalasa (CAT) .....	38
e) Glutación S-transferasa (GST) .....	38
f) Glutación peroxidasa (GPx) .....	38
g) Peroxidación de lípidos (TBARS) .....	38
6.4.6. Elementos traza .....	38
6.4.7. Plaguicidas organoclorados (OC) .....	39
6.5. Análisis estadísticos .....	40
6.5.1. Plaguicidas organoclorados (OC) .....	41
6.5.2. Estadística multivariada .....	42

<b>7. RESULTADOS</b> .....	45
7.1. Estructura poblacional, CPUE y condición corporal.....	45
7.1.1. Factor de condición corporal estacional y anual.....	51
7.1.2. Índice relativo de condición corporal ( <i>Krel</i> ).....	54
7.2. Bioquímica sanguínea.....	57
7.2.1. Diferencias entre zonas de estudio.....	59
7.2.2. Parámetros bioquímicos, morfometría y condición corporal ( <i>Krel</i> ).....	66
7.3. Proporción leucocitaria.....	66
7.3.1. Diferencias entre zonas de estudio.....	67
7.3.2. Proporción leucocitaria, morfometría y condición corporal ( <i>Krel</i> ).....	67
7.4. Vitelogenina (VTG).....	75
7.4.1. Diferencias entre zonas de estudio.....	76
7.4.2. VTG, morfometría y condición corporal ( <i>Krel</i> ).....	76
7.5. Esteroides sexuales y tiroxina (T <sub>4</sub> ).....	80
7.5.1. Diferencias entre zonas de estudio.....	80
7.5.2. Hormonas, morfometría y condición corporal ( <i>Krel</i> ).....	81
7.6. Defensas antioxidantes y daño oxidativo.....	84
7.6.1. Diferencias entre zonas de estudio.....	84
7.6.2. Defensas antioxidantes, morfometría y condición corporal ( <i>Krel</i> ).....	84
7.7. Elementos traza.....	88
7.7.1. Diferencias entre zonas de estudio.....	88
7.7.2. Elementos traza, morfometría y condición corporal ( <i>Krel</i> ).....	88
7.7.3. Elementos traza y bioquímica sanguínea.....	89
7.7.4. Elementos traza y proporción leucocitaria.....	89
7.7.5. Elementos traza, VTG y hormonas.....	89
7.7.6. Elementos traza, defensas antioxidantes y daño oxidativo.....	99
7.8. Plaguicidas organoclorados (OC).....	99
7.8.1. Diferencias entre zonas de estudio.....	102
7.8.2. OC, morfometría y condición corporal ( <i>Krel</i> ).....	105
7.8.3. OC y bioquímica sanguínea.....	105
7.8.4. OC y proporción leucocitaria.....	105
7.8.5. OC, VTG y hormonas.....	105
7.8.6. OC, defensas antioxidantes y daño oxidativo.....	106
7.9. Caracterización integral de la información.....	110
7.9.1. Caracterización regional del estado de salud.....	110
7.9.2. Caracterización temporal del estado de salud.....	113
7.9.3. Efecto de los contaminantes químicos sobre los parámetros de salud.....	117
<b>8. DISCUSIONES</b> .....	119
8.1. Estructura poblacional y estado físico de las tortugas verdes.....	120
8.2. Evaluación clínica y estado nutricional de la tortuga verde.....	124
8.3. Condición corporal de la tortuga verde.....	136
8.4. Estado endócrino de la tortuga verde.....	141
8.5. Defensas antioxidantes y estrés oxidativo de la tortuga verde.....	150
8.6. Concentración de xenobióticos en la tortuga verde.....	153

8.7. Efectos fisiológicos de los xenobióticos en la tortuga verde: variaciones temporales y regionales.....	160
<b>9. CONCLUSIONES</b> .....	174
<b>10. RECOMENDACIONES</b> .....	176
<b>11. LITERATURA CITADA</b> .....	177

# LISTA DE FIGURAS

---

<b>Figura 1.</b> Zona de estudio. ....	27
<b>Figura 2.</b> Modelo típico de la curva estándar generada por una ELISA de competencia directa. Las letras representan los parámetros de la ecuación empleada para la interpolación de la concentración de las muestras. $a$ =máxima señal (100%); $d$ =mínima señal (0%); $c$ =el 50% de la intensidad de la señal. ....	36
<b>Figura 3.</b> Número de tortugas verdes ( <i>Chelonia mydas</i> ) capturadas por a) clases de edad y b) rangos de talla. ....	48
<b>Figura 4.</b> Tiempo de manipulación de los individuos capturados de tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) por zona de estudio. ....	49
<b>Figura 5.</b> Número de tortugas verdes ( <i>Chelonia mydas</i> ) sanas y lesionadas por clases de talla en a) Punta Abreojos, b) Laguna San Ignacio y c) Bahía Magdalena. ....	50
<b>Figura 6.</b> Factor de condición $\log a \pm$ intervalo confianza (IC, 95%) de la tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) obtenido de la relación peso (kg) y talla (largo recto caparazón LRC; cm) por a) año y b) estación de captura. ....	53
<b>Figura 7.</b> Relación entre el índice relativo de condición corporal ( $K_{rel}$ ) y la talla (LRC) de las tortugas verdes ( <i>Chelonia mydas</i> ) por zona de estudio. ....	55
<b>Figura 8.</b> Relación entre el índice relativo de condición corporal ( $K_{rel}$ ) y la talla (LRC) de las tortugas verdes ( <i>Chelonia mydas</i> ) por apariencia física en a) Punta Abreojos, b) Laguna San Ignacio y c) Bahía Magdalena. ....	56
<b>Figura 9.</b> Parámetros. ....	65
<b>Figura 10.</b> Relación entre la condición corporal ( $K_{rel}$ ) y la concentración de a) triglicéridos en Punta Abreojos y b) calcio en Bahía Magdalena de la tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ). 71	71
<b>Figura 11.</b> a) Deshecho nuclear de eritrocitos y b) eritrocito inmaduro de tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) teñidos con tinción de Wright, observados con objetivo de inmersión en aceite (100X). ....	73
<b>Figura 12.</b> Proporción leucocitaria de la tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) por zona de estudio. ....	74
<b>Figura 13.</b> Concentración de vitelogenina de la tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) por a) categorías de edad en Punta Abreojos y b) zona de estudio. ....	77
<b>Figura 14.</b> Concentración de vitelogenina de la tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) capturada en Punta Abreojos por a) estación y b) año de captura. ....	78
<b>Figura 15.</b> Concentración de testosterona de la tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) por zona de estudio. ....	81
<b>Figura 16.</b> Concentración de esteroides sexuales, tiroxina, vitelogenina y largo recto del caparazón de las tortugas verdes ( <i>Chelonia mydas</i> ). ....	82

<b>Figura 17.</b> Concentración de a) tiroxina y b) estradiol de la tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) por zona de estudio. ....	83
<b>Figura 18.</b> Actividad de las enzimas glutatión peroxidasa (GPx), superóxido dismutasa mitocondrial (Mn-SOD) y concentración de TBARS de la tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) capturada en a) Bahía Magdalena por estación y en b) Punta Abreojos por año de captura. ....	86
<b>Figura 19.</b> Actividad de enzimas catalasa (CAT), superóxido dismutasa total (t-SOD), mitocondrial (Mn-SOD) y citosólica (CuZn-SOD) de la tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) por zona de estudio.....	87
<b>Figura 20.</b> Concentración de elementos traza de la tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) de a) Punta Abreojos y b) Bahía Magdalena por año de captura.....	91
<b>Figura 21.</b> Concentración de a) silicio (Si) y b) cadmio (Cd) en sangre de tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) por zona de estudio.....	92
<b>Figura 22.</b> Relación entre la concentración de cadmio (Cd) y el índice de condición corporal, <i>Krel</i> , de la tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) de la península de Baja California Sur.....	93
<b>Figura 24.</b> Relación entre la concentración de silicio (Si) y la proporción de monocitos de la tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) capturada en Punta Abreojos.....	97
<b>Figura 25.</b> Relación entre la concentración de silicio (Si) con la concentración de a) tiroxina y b) vitelogenina en suero de la tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) capturada en Punta Abreojos.....	98
<b>Figura 26.</b> Relación entre la concentración de cadmio (Cd) con a) la actividad de la enzima superóxido dismutasa dependiente de manganeso (Mn-SOD) y b) la concentración de TBARS de la tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) capturada en Punta Abreojos.....	101
<b>Figura 27.</b> Frecuencia de tortugas verdes ( <i>Chelonia mydas</i> ) con residuos de plaguicidas organoclorados en la costa occidental de la península de Baja California Sur.....	102
<b>Figura 28.</b> Concentración de plaguicidas organoclorados en plasma de tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) por zona de estudio.....	104
<b>Figura 29.</b> Proyección gráfica de 45 tortugas verdes en el plano de los dos primeros componentes principales (PC1, PC2; 32.8% varianza explicada), extraídos con un análisis de componentes principales realizado sobre las variables de estrés oxidativo y contaminantes químicos.....	112
<b>Figura 30.</b> Proyección gráfica de 35 tortugas verdes capturadas en Punta Abreojos en el plano de los dos primeros componentes principales (PC1, PC2; 29% varianza explicada), extraídos con el análisis de componentes principales realizado sobre las variables de salud y contaminantes químicos.....	116
<b>Figura 31.</b> Regresión entre los valores factoriales del análisis de componentes y las variables de salud de las tortugas verdes. ....	118

## LISTA DE TABLAS

---

<b>Tabla I.</b> Parámetros bioquímicos evaluados en suero de tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ). 31	
<b>Tabla II.</b> Número de tortugas verdes ( <i>Chelonia mydas</i> ) capturadas y captura por unidad de esfuerzo (CPUE) durante el periodo 2005-2007.....	47
<b>Tabla III.</b> Factor de condición anual y estacional en gramos ( $a*1000$ ) de la tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) obtenido de la relación peso (kg) y talla (cm) por zona de estudio.....	52
<b>Tabla IV.</b> Índice relativo de condición corporal ( <i>Krel</i> ) e índice de Fulton de la tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) estimado por zona de estudio y apariencia física de los individuos. ....	55
<b>Tabla V.</b> Parámetros de la química sanguínea de tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) de Punta Abreojos, Laguna San Ignacio y Bahía Magdalena agrupados por apariencia física.....	60
<b>Tabla VI.</b> Parámetros de la química sanguínea de tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) de Punta Abreojos y Bahía Magdalena agrupados por clases de talla.....	63
<b>Tabla VII.</b> Coeficientes de correlación de Pearson ( <i>r</i> ) entre los parámetros de salud y la talla (LRC), peso e índice de condición corporal ( <i>Krel</i> ) de la tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) por zona de estudio.....	68
<b>Tabla VIII.</b> Proporción leucocitaria de tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) por apariencia física de los individuos y zona de estudio.....	72
<b>Tabla IX.</b> Concentración de vitelogenina, esteroides sexuales y tiroxina de tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) por zona de estudio.....	79
<b>Tabla X.</b> Actividad de las defensas antioxidantes y concentración de la peroxidación de lípidos (TBARS) de la tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) por zona de estudio. ....	85
<b>Tabla XI.</b> Concentración de elementos traza ( $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) en sangre de la tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) por zona de estudio.....	90
<b>Tabla XII.</b> Coeficientes de correlación de Pearson [ <i>r</i> ( <i>p</i> -valor) [ <i>n</i> ]] entre los elementos traza ( $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) y las variables morfológicas, parámetros bioquímicos, proporción leucocitaria, concentración de esteroides sexuales, tiroxina ( $T_4$ ), vitelogenina (VTG), peroxidación de lípidos (TBARS) y actividad de las enzimas antioxidantes de la tortuga verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) por zona de estudio.....	94
<b>Tabla XIII.</b> Concentración de plaguicidas organoclorados ( $\text{ng mL}^{-1}$ ) en plasma de tortuga verde, ( <i>Chelonia mydas</i> ) por zona de estudio.....	103



**Tabla XIV.** Coeficientes de correlación de Spearman [ $r_s$  ( $p$ -valor) [n]] entre los plaguicidas ( $\text{ng mL}^{-1}$ ) y las variables morfométricas, parámetros bioquímicos, proporción leucocitaria, concentración de esteroides sexuales, tiroxina ( $T_4$ ), peroxidación de lípidos (TBARS) y actividad de las enzimas antioxidantes de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) por zona de estudio..... 107

**Tabla XV.** Cargas factoriales del análisis de componentes principales realizado sobre 25 variables (contaminantes químicos y defensas antioxidantes) medidas en 45 tortugas verdes capturadas en Punta Abrejos (PAO) y Bahía Magdalena (BMA). ..... 111

**Tabla XVI.** Cargas factoriales del análisis de componentes principales realizado sobre 39 variables (parámetros de salud y contaminantes químicos) medidas en 35 tortugas verdes capturadas en Punta Abrejos..... 114

# LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

---

<b><i>a</i></b>	Factor de condición corporal
<b>A/G</b>	Razón albúmina/globulina
<b>ACP</b>	Análisis de componentes principales
<b>ALT</b>	Alanina aminotransferasa
<b>ANOVA</b>	Análisis de varianza
<b>AST</b>	Aspartato aminotransferasa
<b>BMA</b>	Bahía Magdalena
<b>Ca</b>	Calcio
<b>CAT</b>	Catalasa
<b>Cd</b>	Cadmio
<b>CITES</b>	Convención Internacional de Especies amenazadas de fauna y flora silvestres
<b>CP</b>	Componente principal
<b>CPUE</b>	Captura por unidad de esfuerzo
<b>Cu</b>	Cobre
<b>CuZn-SOD</b>	SOD dependiente de cobre-zinc
<b>CV</b>	Coefficiente de variación
<b>DDE</b>	Diclorodifenildicloroetileno
<b>DDT</b>	Diclorodifeniltricloroetano
<b>DE</b>	Desviación estándar
<b>E<sub>2</sub></b>	Estradiol
<b>ELISA</b>	Ensayo inmuno-enzimático
<b>ES</b>	Error estándar
<b>Fe</b>	Hierro
<b>GGT</b>	Gama glutamiltransferasa
<b>GPx</b>	Glutación peroxidasa

<b>GSH</b>	Glutati3n reducido
<b>GST</b>	Glutati3n S-transferasa
<b>H/L</b>	Razi3n heter3filos/linfocitos
<b>Hb</b>	Hemoglobina
<b>HCH</b>	Hexaclorociclohexano
<b>He/Li</b>	Heparina de litio
<b>Hg</b>	Mercurio
<b>HNO<sub>3</sub></b>	3cido n3trico
<b>HO•</b>	Radical hidroxilo
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Per3xido de hidr3geno
<b>IC</b>	Intervalo de confianza
<b>IQR</b>	Rango intercuartil
<b>IUCN</b>	Uni3n Internacional para la Conservaci3n de la Naturaleza
<b>K</b>	Potasio
<b><i>Krel</i></b>	3ndice relativo de condici3n corporal
<b>LCC</b>	Largo curvo del caparaz3n
<b><i>ln</i></b>	Logaritmo natural
<b>LRC</b>	Largo recto del caparaz3n
<b>LSI</b>	Laguna San Ignacio
<b>Mg</b>	Magnesio
<b>Mn-SOD</b>	SOD dependiente de magnesio
<b>Na</b>	Sodio
<b>NBT</b>	Azul de nitrotetrazolio
<b>Ni</b>	N3quel
<b>NS</b>	Normal scores
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	Radical super3xido
<b>OC</b>	Compuestos organoclorados

<b>Od</b>	Optical density / Absorbancia
<b>PAO</b>	Punta Abreojos
<b>Pb</b>	Plomo
<b>PCB</b>	Bifenilos policlorinados
<b>PMSF</b>	Fluoruro de fenilmetilsulfonilo
<b>ROS</b>	Especies reactivas de oxígeno
<b><math>r_s</math></b>	Coefficiente de correlación de Spearman
<b>Se</b>	Selenio
<b>Si</b>	Silicio
<b>Sr</b>	Estroncio
<b>T</b>	Testosterona
<b>T<sub>4</sub></b>	Tiroxina
<b>TBARS</b>	Sustancias reactivas de ácido tiobarbitúrico / Peroxidación de lípidos
<b>TetraCDD</b>	1,2,3,4-tetrachlorodibenzo- <i>p</i> -dioxin
<b>TriCDD</b>	1,7,8-trichlorodibenzo- <i>p</i> -dioxin
<b>t-SOD</b>	Superóxido dismutasa total
<b>VTG</b>	Vitelogenina
<b>Zn</b>	Zinc

## 1. INTRODUCCIÓN

Se ha reportado la presencia de una variedad de elementos traza y compuestos organoclorados (OC) en diversos tejidos de la tortuga verde en la península de Baja California y el Golfo de California (Presti *et al.*, 1999; Gardner *et al.*, 2003; Fitzgerald, 2004; Gardner *et al.*, 2006; Kampalath *et al.*, 2006), a concentraciones incluso mayores a las reportadas en tortugas marinas y vertebrados de otras partes del mundo, tales como el cadmio (Cd), hierro (Fe), níquel (Ni) y zinc (Zn) (Gardner *et al.*, 2006). Actualmente, se desconocen los niveles a los que los contaminantes químicos pueden llegar a ser dañinos o críticos para la salud de las tortugas marinas (Milton y Lutz, 2003). Las tortugas marinas presentan una alta sensibilidad fisiológica a reducidas concentraciones de contaminantes (Keller *et al.*, 2004a; 2006), presentando alteraciones en la bioquímica sanguínea y parámetros inmunes, así como distintas etiologías asociadas a enfermedades sin mostrar signo alguno (Sposato y Lutz, 2003; Keller *et al.*, 2004a; 2005; Cordero-Tapia, 2005; Raidal *et al.*, 2006).

La información sobre el estado de salud de la tortuga verde del Pacífico Oriental, *Chelonia mydas*, conocida regionalmente como tortuga prieta, es escasa. En particular, para la población de tortuga verde del Pacífico mexicano dicha información es prácticamente nula. Aún cuando en la península de Baja California Sur la presencia de altas concentraciones de algunos elementos traza ha sido atribuida a fenómenos naturales, como corrientes y surgencias (Méndez *et al.*, 1998; Shumilin *et al.*, 2000a; 2001) y, en términos generales, la costa se ha considerado como una zona prístina (Kampalath *et al.*, 2006), existen diversas fuentes potenciales de contaminación antropogénica (Méndez *et al.*, 1998; Shumilin *et al.*, 2000; 2001) y condiciones ambientales críticas para la salud de las tortugas marinas (Milton y Lutz, 2003).

La tortuga verde es una de las cinco especies de tortugas marinas que habitan en la costa de la península de Baja California (Cliffon *et al.*, 1995; Gardner y Nichols, 2001). Es una especie que se encuentra a lo largo de todo el año en las costas, bahías y lagunas costeras de la península y Golfo de California (Koch *et al.*, 2007). Estos sitios son un hábitat propicio para el desarrollo y alimentación de esta especie (Cliffon *et al.*, 1995;

---

Seminoff *et al.*, 2002a; Nichols, 2003), la cual se alimenta principalmente de algas y pastos marinos (López-Mendilaharsu *et al.*, 2005).

A pesar de la protección que se ejerce sobre las tortugas marinas, las principales amenazas que afectan a las poblaciones de tortuga verde en la península son la captura ilegal dirigida para el consumo humano y la captura incidental por la actividad pesquera, ambas contribuyendo al índice de mortalidad registrado en la región (Cliffon *et al.*, 1995; Gardner y Nichols, 2001; Koch *et al.*, 2006; Mancini, 2009). La pérdida y degradación de su hábitat por contaminantes, basura y desarrollo urbano en las lagunas costeras son otras de las amenazas (IUCN, 2006).

El objetivo general del presente estudio fue valorar la utilidad de diversos marcadores fisiológicos como herramientas de diagnóstico temprano, para la evaluación del estado de salud de la tortuga verde que habita en la costa occidental de Baja California Sur, México. Con el propósito final de aportar información base para estudios futuros, se determinaron los valores de los parámetros fisiológicos en sangre de la tortuga verde por clases de talla, estado físico, estación, año y zona de captura.

---

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Estado taxonómico de la tortuga verde.

Las tortugas marinas se clasifican en dos familias taxonómicas pertenecientes al orden Testudines de la clase Reptilia. En la actualidad únicamente siete especies de tortugas marinas sobreviven, seis de las cuales se agrupan en la familia *Cheloniidae* (*Caretta caretta*, *Eretmochelys imbricata*, *Lepidochelys olivacea*, *L. kempii*, *Chelonia mydas* y *Natator depressus*) y una, *Dermochelys coriacea*, pertenece a la familia *Dermochelidae* (Pritchard y Mortimer, 2000). Las tortugas marinas habitan los ecosistemas marinos tropicales, principalmente, y subtropicales en menor grado. Únicamente la especie *D. coriacea*, conocida como tortuga laúd, presenta adaptaciones para sobrevivir en ambientes fríos (Pritchard, 1997). En la costa de Baja California Sur pueden encontrarse cinco de las siete especies de tortugas marinas del mundo: la tortuga verde (*Ch. mydas*), la tortuga laúd (*D. coriacea*), la tortuga carey (*E. imbricata*), la tortuga golfina (*L. olivacea*) y la tortuga caguama (*C. caretta*) (Cliffon *et al.*, 1995; Gardner y Nichols, 2001).

Todas las especies de tortugas marinas son unidades evolutivas discretas, claras, de fácil diagnóstico morfológico y genético, con excepción de la tortuga verde del género *Chelonia* (Karl y Bowen, 1999). Numerosos morfotipos de tortuga verde han sido descritas regionalmente, aunque solamente la tortuga verde del Pacífico Oriental, conocida localmente como tortuga prieta, *agassizii* (Bocourt, 1868) ó *mydas agassizii* (Carr, 1952), ha sido aceptada como una entidad taxonómica legítima (revisado por Karl y Bowen, 1999). Actualmente existe una controversia sobre su estado taxonómico, la discusión entre los especialistas gira en torno a su inclusión como especie (Pritchard, 1997; 1999), subespecie dentro del género *Chelonia* (Kamezaki y Matsui, 1995; Plotkin, 2003), o como una variante ecotípica o subpoblación de *Ch. mydas* adaptada a las características particulares de su ambiente (Karl y Bowen, 1999; Bowen y Karl, 1999). La información sobre la que se basan los distintos autores es la divergencia morfológica que presenta la tortuga verde (diferencias en tamaño y forma del caparazón, coloración oscura de escamas y caparazón, menor tamaño corporal, mayor dimorfismo sexual), su aislamiento geográfico (Índico-Pacífico vs. Atlántico-Mediterráneo), el posible aislamiento reproductivo (Carr,

---

1978; Pritchard, 1997; 1999; Pritchard y Mortimer, 2000), los rasgos osteológicos característicos (Figuroa y Alvarado, 1990; Kamezaki y Matsui, 1995) y la ausencia de un linaje evolutivo discreto o de divergencia molecular específica (Bowen *et al.*, 1992; Karl *et al.*, 1992; Karl y Bowen, 1999).

Con base en la información expuesta anteriormente, en este trabajo se considerará a la tortuga verde “*agassizii*” como un morfotipo circunscrito dentro del complejo *Ch. mydas* (Linnaeus, 1758), tomando en consideración el concepto de especie ecológica y el hecho de que la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN) no reconoce en la actualidad a la tortuga verde como una subespecie de *Chelonia* (Pritchard y Mortimer, 2000).

## **2.2. Distribución e historia de vida de la tortuga verde.**

La tortuga verde se distribuye desde la costa central de Baja California hasta el sur de Perú, incluidos el Golfo de California, las islas Revillagigedo y las islas Galápagos (Márquez, 1990). Se han reportado avistamientos aislados de esta tortuga en California, Columbia Británica y Chile (Carr, 1978; Márquez, 1990). El rango de distribución en su margen poniente es incierto (Márquez, 1990), aunque existe evidencia de una gran similitud genética entre las poblaciones de tortuga verde del Océano Pacífico (Karl y Bowen, 1999), a la tortuga verde se le considera como una población confinada al Pacífico Oriental y semi-aislada de las poblaciones de tortuga verde de Asia, Indo-Pacífico y Hawai (Carr, 1978; Pritchard, 1997; 1999).

Su hábitat se restringe a las lagunas, bahías y zonas costeras de moderada profundidad, protegidas y cubiertas por algas, pastos marinos y otras plantas (Carr, 1978; Seminoff *et al.*, 2002a; Nichols, 2003). No es una especie que se observe comúnmente en zonas oceánicas a pesar de ser altamente migratoria (3500 km en 266 días) (Márquez, 1990; Byles *et al.*, 1995). Al término del periodo reproductivo y de anidación, los adultos realizan migraciones hacia los extremos norte y sur de su distribución dirigiéndose hacia las zonas de alimentación (Márquez, 1990; Byles *et al.*, 1995; Clifton *et al.*, 1995; Nichols, 2003). El noroeste de México (costa occidental de Baja California Sur y Golfo de California) es la



---

zona de alimentación de mayor importancia para la tortuga verde en el extremo norte de su distribución (Nichols, 2003; Seminoff *et al.*, 2002b; 2003; Brooks *et al.*, 2004; López-Mendilaharsu *et al.*, 2005), donde habita a lo largo de todo el año (Nichols, 2003; Brooks *et al.*, 2004). Su principal zona de anidación se ubica en las playas arenosas en la costa de Michoacán (Alvarado y Figueroa, 1989; Márquez, 1990). Es el único quelónido del Pacífico en el que su historia de vida depende de las costas de México, tanto para su reproducción, como alimentación y desarrollo (Cliffon *et al.*, 1995).

El periodo y características de la anidación varían latitudinalmente, en Michoacán se extiende de agosto a enero con un número de hembras máximo de octubre a noviembre. Las cópulas ocurren a lo largo de toda la temporada de anidación, siendo más frecuentes en la primera mitad de la temporada. El tiempo promedio entre la cópula y la anidación es de 13.6 días (Alvarado y Figueroa, 1989). Las hembras anidan cada 2 años, pueden ovopositar de 1 a 8 nidos con una periodicidad de 14 días entre nidos sucesivos, y el número de huevos por nido puede ser de 38 hasta 139 huevos. En México, el tamaño y número de los huevos está correlacionado con la edad y talla de las hembras. El tiempo máximo de incubación es de 62 días (Márquez, 1990).

La historia de vida de crías hasta llegar a la edad adulta es poco conocida en las tortugas marinas (Bolten, 2003). Las crías de tortuga verde tienen un desarrollo temprano en la zona oceánica, la cual cambian por un ambiente nerítico (<200 m de profundidad) durante su etapa juvenil (>35-40 cm largo recto del caparazón (LRC); Nichols, 2003). Es en ese tipo de ambiente donde los juveniles habitan por largos periodos, incluso décadas, hasta alcanzar la talla promedio de anidación (Seminoff *et al.*, 2002c). La tasa de crecimiento promedio de la tortuga verde se ha estimado en 1.4 cm por año en el Golfo de California (Seminoff *et al.*, 2002c) y de 1.62 cm por año en Bahía Magdalena (Koch *et al.*, 2007) y se ha observado que existe variación interanual y estacional en el crecimiento así como una dependencia del mismo con la talla de los individuos (Seminoff *et al.*, 2002c; Koch *et al.*, 2007).

La talla promedio de primera reproducción se ha estimado de 68 cm de LRC (Márquez, 1990). La evidencia en el Golfo de California sugiere que los organismos

---

alcanzan la madurez sexual después de los 77.3 cm LRC (Seminoff *et al.*, 2002c). El criterio que se ha utilizado para diferenciar organismos juveniles de adultos en tortuga verde, con base en la talla promedio de anidación de las hembras, es de 72 cm de largo curvo de caparazón (LCC) (Márquez, 1990) y de 77.3 cm de LRC (Koch *et al.*, 2006; 2007). La estructura de la población de tortuga verde en las zonas de alimentación del noroeste mexicano muestra variaciones espaciales. Mientras que en la costa occidental de Baja California Sur, específicamente en Bahía Magdalena, se reportan principalmente individuos juveniles (<77.3 cm LRC) (Brooks *et al.*, 2004; Koch *et al.*, 2006; 2007), con un porcentaje de captura de hasta 97% (LRC, media=54.6 cm, SD=9.5 cm) (Koch *et al.*, 2007), en el Golfo de California (Bahía de los Ángeles) se reportan organismos tanto juveniles como adultos con rangos de talla desde 46 hasta 100 cm LRC (media=74.3 cm, SD=0.7 cm) (Seminoff *et al.* 2002c; 2003). Las tortugas marinas adultas se encuentran con mayor frecuencia en las zonas más expuestas y profundas, dentro y fuera de las bahías (Brooks, *et al.*, 2004). En Bahía Magdalena, el LRC promedio de las tortugas capturadas en el Pacífico (LRC, media= 67.7 cm, SD=3.1 cm) es mayor que el de las tortugas marinas capturadas en los esteros (LRC, media=55.5 cm, SD=2.8 cm) (López-Mendilaharsu *et al.*, 2005).

En términos generales se ha observado que la tortuga verde presenta una dieta omnívora (Santos-Baca, 2008). Aunque se ha documentado que la tortuga verde tiene una preferencia por consumir algas rojas y verdes así como pastos marinos (López-Mendilaharsu *et al.*, 2005; Talavera-Saenz *et al.*, 2007), en el Golfo de California se ha reportado el consumo de materia animal compuesta por diversidad de invertebrados (*e.g.* moluscos, anélidos, cnidarios, crustáceos) (Seminoff *et al.*, 2000; 2002d). En Bahía Magdalena existe evidencia de consumo de langostilla (*Pleuroncodes planipes*) en periodos de alta abundancia (López-Mendilaharsu *et al.*, 2003a). Se ha mencionado que la composición de la dieta de la tortuga verde está definida por la disponibilidad y selectividad del recurso por parte de los individuos (Seminoff *et al.*, 2002d; López-Mendilaharsu *et al.*, 2005). Por lo tanto, se observa una gran variabilidad en la composición de la dieta de la tortuga verde tanto estacional (verano e invierno) (López-Mendilaharsu *et al.*, 2005), como

---

regional (Golfo de California y Pacífico) (Seminoff *et al.*, 2000; 2002d) e individualmente dentro de un mismo estero (López-Mendilaharsu *et al.*, 2003b; 2005).

### **2.3. Situación histórica y actual de la tortuga verde en México.**

La tortuga verde es, después de la tortuga lora (*L. kempfi*), la tortuga marina en mayor riesgo de extinción en México (Byles *et al.* 1995). Internacionalmente se encuentra catalogada dentro de la Convención Internacional de especies amenazadas de fauna y flora silvestres (CITES), así como en la Lista Roja de Especies Amenazadas de la IUCN como una especie con “alto riesgo de extinción” (IUCN, 2006; UNEP-WCMC, 2007). En México se encuentra catalogada dentro de la Norma Oficial Mexicana, NOM-059-ECOL-2001, como subespecie en “peligro de extinción”, con lo que se vuelve obligatoria la conservación y protección de esta especie así como del hábitat en el que vive (Diario Oficial de la Nación, 2002a).

En México, históricamente la tortuga verde fue un recurso consumible abundante y de fácil acceso. Su consumo como medio de subsistencia se remonta hasta la antigüedad en la época prehispánica, cuando los indios Seris en el Golfo de California y los Huaves y Mixtecos en Oaxaca consumían la carne a lo largo de todo el año. Los grupos indígenas de Michoacán acostumbraban a consumir los huevos de la tortuga verde (Márquez, 1990; Cliffton *et al.*, 1995). En el siglo XIX durante la industria de la caza ballenera los extranjeros se alimentaban y abastecían con carne de tortugas marinas (Márquez, 1990). A inicios del siglo XX la captura comenzó a realizarse con fines comerciales. En 1930 entró en vigor un mercado de venta de carne de tortuga verde hacia Estados Unidos desde ciudades como Tijuana, Mexicali y Nogales, el cual terminó después de 1960 (Márquez, 1990; Cliffton *et al.*, 1995). El periodo de intensa explotación de carne ocurrió principalmente de 1950 a 1970, reduciendo considerablemente la población de tortuga verde (Cliffton *et al.*, 1995). En el periodo comprendido entre 1948 y 1990 la captura promedio anual fue de 265.6 toneladas de tortugas verdes, alcanzando el nivel máximo en 1969 con 825.6 toneladas (Márquez y Carrasco, 2003). El periodo de mayor extracción de huevos fue durante la década de los 70's (Márquez, 1990). A lo largo del tiempo, como

---

resultado de la reducción poblacional, fue modificándose tanto el arte de pesca empleado (arpón, redes de pesca, compresor para buceo), la zonas de captura (costero, superficie o fondo marino), como el número y tamaño de individuos capturados. Alrededor de 1980, conforme el esfuerzo de pesca requerido (tiempo, distancia) fue mayor, el precio de la carne se incrementó considerablemente siendo un incentivo para los pescadores el capturar esta especie “rara” (Cliffon *et al.*, 1995).

A partir de 1978 el gobierno mexicano comenzó a proteger a las tortugas marinas estableciendo cuotas y vedas de captura (Cliffon *et al.*, 1995). En 1978 el Museo del Desierto de Arizona y Sonora y el Instituto Nacional de Pesca generaron un programa de recuperación para la tortuga verde en Michoacán, en 1982 dicho programa pasó a ser responsabilidad de la Universidad de Michoacán con el objetivo principal de recuperar la población anidante en Michoacán (Cliffon *et al.*, 1995; Alvarado-Díaz *et al.*, 2001). En 1990 se publicó un acuerdo por el que se establece la veda total e indefinida de las tortugas marinas en aguas de jurisdicción federal, por lo que actualmente resulta un delito federal el capturar, dañar o comercializar cualquier especie o subespecie de tortuga marina (Diario Oficial de la Federación, 2002b).

A pesar de los esfuerzos de protección en el país (*e.g.* Diario Oficial de la Federación, 1986; 2007; Delgado y Nichols, 2005), la recuperación de las poblaciones de todas las especies de tortugas marinas se ha visto afectada en Baja California Sur y en el Golfo de California por la captura ilegal dirigida y la captura incidental, en ese orden de importancia. De marzo del 2006 a febrero del 2008, el 45.5% de la mortalidad registrada en la península fue resultado del consumo humano, lo cual representa un consumo promedio anual de 230.5 tortugas marinas (Mancini y Koch, 2009). La captura ilegal para consumo de carne genera el 63% de la mortalidad de la tortuga verde y hasta el 93% de la mortalidad de otras especies (Koch *et al.*, 2006; Mancini, 2009). Esto se debe principalmente a las preferencias culinarias de los grupos costeros, en el noroeste del país la carne de tortuga verde es considerada como un manjar por lo que resulta complicado reducir su consumo (Koch, *et al.*, 2006). En esta región se ha estimado que alrededor del 90% de las tortugas muertas corresponden a individuos juveniles al ser sitios de desarrollo y alimentación

---

(Gardner y Nichols, 2001; Nichols, 2003; Seminoff *et al.*, 2003; Koch, *et al.*, 2006; Mancini, 2009; Mancini y Koch, 2009). Los cadáveres de tortuga verde son, después de la tortuga caguama (*Caretta caretta*) los encontrados con mayor frecuencia en la costa del Pacífico (86%) (Mancini, 2009), específicamente en basureros y poblados aledaños a Bahía Magdalena (Koch, *et al.*, 2006; Mancini, 2009).

La captura incidental de la tortuga verde en diferentes pesquerías comerciales es un problema que existe a lo largo de toda su ámbito de distribución, la cual puede ocurrir por el enmalle en redes de pesca de escama, camarón o tiburón (Márquez, 1990). Sin embargo, en la península de Baja California Sur, donde se considera que existen alrededor de 150 comunidades pesqueras (Nichols, 2003), se ha demostrado que la pesquería artesanal o ribereña es la que genera la mayor mortalidad incidental en tortugas marinas, generando tasas elevadas de mortalidad, más altas que las reportadas en otras partes del mundo (Koch *et al.*, 2006). Se estima una mortalidad anual de 600 tortugas verdes en Bahía Magdalena (Koch *et al.*, 2006) y de 2,250 tortugas verdes por año en Laguna San Ignacio en donde opera una pequeña flota conformada por poco más de 15 embarcaciones (Mancini, 2009).

#### **2.4. Biomarcadores y condición corporal.**

Los efectos de los contaminantes químicos se reflejan en distintos niveles de organización biológica, desde el nivel molecular y bioquímico hasta las alteraciones fisiológicas y clínicas individuales (Stegeman *et al.*, 1992). Las respuestas bioquímicas son la primera línea de defensa en las células ante la exposición a sustancias tóxicas. La interacción entre el compuesto tóxico y la célula genera una cascada de reacciones bioquímicas con la finalidad de eliminar a la toxina o de defender a la célula contra los efectos adversos. Estas respuestas pueden iniciar eventualmente respuestas fisiológicas en los organismos y extenderse en última instancia al nivel de la población y ecosistema (Stegeman *et al.*, 1992; Schlenk y Di Giulio, 2002).

La estrecha relación que existe entre la respuesta de las moléculas ante la presencia de xenobióticos ambientales ha aumentado paulatinamente el interés por estudiar la utilidad de las primeras como marcadores de la exposición a los contaminantes y los efectos

---

metabólicos en los organismos (Stegeman *et al.*, 1992; Mayer *et al.*, 1992; Schlenk y Di Giulio, 2002; Martínez-Álvarez *et al.*, 2005; Richardson *et al.*, 2010). Un marcador biológico es una medida cuantificable, ya sea bioquímica, inmunológica, histológica, etc., que relaciona el grado de disfunción que el contaminante produce en tiempo o dosis al organismo (Stegeman *et al.*, 1992).

Los marcadores fisiológicos tienen la ventaja de ser los más sensibles y de ser la primera respuesta detectable ante una alteración ambiental. Reflejan únicamente el efecto de la fracción de contaminante biológicamente disponible, apuntando a su vez hacia los posibles efectos negativos que un órgano o individuo pueda sufrir (Mayer *et al.*, 1992; Stegeman *et al.*, 1992). La combinación de varios tipos de marcadores biológicos (hematológicos, endócrinos, estrés oxidativo, morfológicos, etc.) permite generar una mejor interpretación de la respuesta metabólica a alteraciones ambientales, permitiendo una evaluación rápida del estado de salud del organismo previo a observar los efectos a nivel ecológico y poblacional (Mayer *et al.*, 1992; Van der Oost *et al.*, 2003).

Los índices de condición corporal se han utilizado para describir el estado de salud general de los organismos de múltiples especies en vida libre (Stevenson y Woods, 2006). Un índice de condición corporal se deriva, generalmente, de la relación entre la longitud y la masa del animal. Es una medición de la condición corporal individual la cual hace referencia al estado nutricional y a las reservas energéticas del organismo (Harder y Kirkpatrick, 1996 en Copeland, 2004). Los cambios de la condición corporal, son resultado de los cambios en la composición bioquímica de los tejidos y a la movilización de las reservas energéticas, los cuales pueden estar relacionados con la estacionalidad, estadio en la historia de vida, estado de salud o a la exposición a factores de estrés (Barton *et al.*, 2002). El éxito reproductivo, la supervivencia y por ende la dinámica poblacional, dependerán de la condición corporal de los organismos (Jones *et al.*, 1999; Stevenson y Woods, 2006).

Los diversos estudios enfocados en determinar y evaluar el estado fisiológico y de salud de las tortugas marinas en vida libre han generado valores de referencia de los parámetros clínicos de los individuos considerando diversos factores, tales como, la

---

estacionalidad, localidad, sexo, edad, clases de talla, niveles de contaminantes, enfermedades, estado físico y condición corporal (Bolten y Bjorndal 1992; Aguirre *et al.*, 1995; Hasbún *et al.*, 1998; Aguirre y Balazs 2000; Keller *et al.*, 2004; Hamann *et al.*, 2006; Whiting *et al.*, 2007). Se han empleado diversas aproximaciones para estimar y evaluar la condición corporal, los métodos comúnmente empleados en tortugas marinas incluyen la evaluación de las pendientes y de los residuos obtenidos a partir de la relación entre la talla y el peso de los animales, la comparación de la razón peso/talla y, la estimación de diversos índices de condición corporal (Bjorndal *et al.*, 2000; Work *et al.*, 2001; Jessop *et al.*, 2004; Hamann *et al.*, 2005). Algunos de estos métodos se han visto afectados por el pequeño tamaño de muestra (Work *et al.*, 2001). Adicionalmente, estas estimaciones han sido consideradas como insatisfactorias para la evaluación de la condición corporal en reptiles (Jacobson *et al.*, 1993) y, específicamente para tortugas marinas, se ha sugerido la necesidad de desarrollar criterios cuantitativos de evaluación de la condición corporal (Work *et al.*, 2001). El índice de condición más citado y ampliamente empleado durante las evaluaciones del estado de salud de las tortugas marinas ha sido el factor de condición de Fulton, el cual ha sido propuesto por Bjorndal *et al.* (2000) para determinar la condición corporal de la tortuga verde. El índice de Fulton ha sido estimado en diversas especies de tortugas marinas y es calculado a partir de los datos de peso y talla de los animales (Beverton y Holt, 1957).

## **2.5. Estado de salud de la tortuga verde.**

La pérdida y degradación del hábitat por contaminantes, basura y desarrollo urbano es una de las amenazas que afectan a las poblaciones de tortugas marinas (Seminoff *et al.*, 2000; Bolten, 2003; IUCN, 2006). Aunque la costa de Baja California Sur se ha considerado como una zona prístina sin mayor alteración ambiental (Kampalath *et al.*, 2006), es una zona en donde la actividad minera ha existido desde el siglo XIX con depósitos de oro, plata, cobre (Cu) y fosforita (Consejo de Recursos Mineros, 1999). El enriquecimiento de elementos traza, como el Cd, ha sido atribuido principalmente a causas naturales de origen geológico (*e.g.* vulcanismo y movimientos tectónicos) y oceanológicos

---

(e.g. corrientes y surgencias) (Martin y Broenkow, 1975; Méndez *et al.*, 1998; Shumilin *et al.*, 2000; 2001; Méndez *et al.*, 2006; Rodríguez-Meza, 2007; Cadena-Cárdenas *et al.*, 2009). Sin embargo, existen diversas fuentes potenciales de contaminación antropogénica en la península como resultado de la urbanización. Se han reportado elevadas concentraciones de plomo (Pb) y Cu en las inmediaciones de poblaciones urbanizadas como resultado de la minería, el establecimiento de marinas y tráfico náutico (Méndez *et al.*, 1998; Shumilin *et al.*, 2000; 2001; Méndez *et al.*, 2006; Cadena-Cárdenas *et al.*, 2009). En Baja California Sur se ha presentado un aumento en el desarrollo urbano en los últimos 30 años y actualmente un creciente desarrollo turístico que incluye la construcción de nuevos puertos y marinas (Gardner *et al.*, 2006). Adicionalmente, la península es una de las regiones con mayor producción pesquera dentro del litoral mexicano (Diario Oficial de la Federación, 2006).

El crecimiento desequilibrado de las actividades pesqueras y el desarrollo urbano en puertos como Bahía Magdalena y Punta Abreojos han generado problemas de sanidad ambiental; principalmente debido a la falta de infraestructura para la eliminación de los desechos generados (Castellanos y Mendoza, 1991 en Maya y Guzmán, 1998; Méndez *et al.*, 1998; Shumilin *et al.*, 2001). El depósito de desechos directamente a las lagunas costeras es una práctica común; el problema de contaminación en estos sitios está relacionado con la distribución temporal y espacial de los elementos o sustancias introducidas y su efecto en la calidad del agua. Aunque el depósito de desechos urbanos puede verse mitigado por la mezcla de agua entre la laguna y el mar, y por acción de las mareas; la dispersión y/o depositación de los contaminantes dependerá de la dinámica lagunar (De la Lanza y Cáceres, 1994).

Gran variedad de elementos traza y OC han sido reportados en las cinco especies de tortugas marinas que habitan en el noroeste del país, siendo la tortuga verde la que ha presentado concentraciones mayores al resto de las especies en la misma zona o en otras partes del mundo (Presti *et al.*, 1999; Gardner *et al.*, 2003; Fitzgerald, 2004; Frías-Espéricueta *et al.*, 2006; Gardner *et al.*, 2006; Kampalath *et al.*, 2006; Talavera-Saenz *et al.*, 2007). En esta especie, se ha sugerido que el daño histopatológico observado en hígado



(hiperplasia de ductos biliares) y riñón de individuos de Bahía Magdalena puede estar asociado a intoxicación por contaminantes químicos (Cordero-Tapia, 2005) aún no identificados.

Actualmente el conocimiento acerca del estado de salud de las poblaciones de tortugas verdes en México es escaso, la mayoría de los datos provienen de estudios realizados sobre tortugas verdes muertas incidentalmente en Bahía Magdalena. En el noroeste de México no se han reportado casos de fibropapiloma (Seminoff *et al.*, 2003; Cordero-Tapia, 2005; Mancini, 2009), neoplasias cutáneas de alta prevalencia en tortuga verde en las costas tropicales del mundo (Aguirre y Lutz, 2004; Work, 2005). Sin embargo, en Bahía Magdalena se ha reportado la presencia de distintas etiologías asociadas comúnmente al fibropapiloma, tales como herpes virus, aislamientos bacterianos, biotoxinas lipo- e hidrosolubles (Cordero-Tapia, 2005), y parasitismo por tremátodos (*Laredius learedi*) con una prevalencia de hasta el 75% (Cordero-Tapia *et al.*, 2004; Inohuye-Rivera *et al.*, 2004).

A pesar de que existe un conocimiento básico sobre la fisiología y los niveles de referencia de distintos parámetros clínicos de bioquímica sanguínea y hematología en tortuga verde del Atlántico, el Caribe y el Indo-Pacífico (*e.g.* Wood y Ebanks, 1984; Bolten y Bjorndal, 1992; Hasbún *et al.*, 1998; Work *et al.*, 1998; Aguirre y Balazs, 2000; Hamman *et al.*, 2002; Hamman *et al.*, 2006; Montilla *et al.*, 2006) hay un desconocimiento general sobre el mismo tema en la tortuga verde del Pacífico Oriental. Existe un reporte sobre valores hematológicos de tortugas verdes adultas capturadas en la costa de Michoacán (Grumbles *et al.*, 1990); sin embargo, dentro del conocimiento del autor no existe un trabajo publicado que aborde parámetros de salud de la tortuga verde en la costa del Pacífico Oriental.

Una amplia gama de estudios en tortugas marinas describe la fisiología reproductiva y las variaciones endocrinas de hormonas tales como los esteroides sexuales (testosterona (T), progesterona y estradiol (E<sub>2</sub>)), las gonadotropinas (*e.g.* folículo estimulante) y hormonas tiroideas en diversas especies de quelonios y bajo distintas condiciones, como la estacionalidad, año de estudio, migración, estado reproductivo y anidación (*e.g.* Licht *et al.*,

---

1979; Lance *et al.*, 1979; Owens, 1980; Owens y Morris, 1985; Wibbels *et al.*, 1987a; Crowell y Owens, 1990; Rostal, *et al.*, 1997; Hamman *et al.*, 2005). La concentración de T se ha estudiado en tortugas marinas inmaduras, principalmente tortuga caguama, con la finalidad de validar su uso para la determinación de la proporción sexual en poblaciones silvestres (Owens *et al.*, 1978; Wibbels *et al.*, 1987b; Bolten *et al.*, 1992; Gross *et al.*, 1995; Braun-McNeill *et al.*, 2007). La determinación de esteroides sexuales como el E<sub>2</sub> y la progesterona y hormonas gonadotropinas (*e.g.* hormona folículo estimulante) se ha realizado con mayor énfasis durante la evaluación de los ciclos reproductivos de las hembras adultas de diferentes especies (*e.g.* Litch *et al.*, 1979; 1982; Wibbels *et al.*, 1990; 1992; Rostal *et al.*, 1997; Hamann *et al.*, 2002; Al-Habsi *et al.*, 2006). La determinación de los niveles de las hormonas tiroideas en tortugas marinas es poco común (Licht *et al.*, 1985a; Owens y Morris, 1985; Heck, 1997; Moon *et al.*, 1998; 1999) a pesar de su importancia para el crecimiento, desarrollo y reproducción en los vertebrados (Dickhoff y Darling, 1983). En el conocimiento del autor, son pocos los estudios de ésta índole que incluyan organismos de tortuga verde del Pacífico Oriental (Licht *et al.*, 1980; Moon *et al.*, 1998).

Existe un desconocimiento sobre los niveles a partir de los cuales los contaminantes químicos pueden ser perjudiciales o letales para las tortugas marinas y sobre los efectos a largo plazo a la salud y dinámica poblacional (Aguirre *et al.*, 1994; Milton y Lutz, 2003; Storelli y Marcotrigiano, 2003). Se ha demostrado que las tortugas marinas tienen una alta sensibilidad fisiológica aún a reducidas concentraciones de contaminantes como los OC (Keller *et al.*, 2004a; 2005), presentando alteraciones en la bioquímica sanguínea (proteínas, electrolitos, lípidos, glucosa, etc.) e inmunología (conteo celular diferencial) sin mostrar signos de enfermedad (Sposato y Lutz, 2003; Keller *et al.*, 2004a; 2005; Raidal *et al.*, 2006).

Los organismos marinos expuestos a factores de estrés ambiental, tales como los contaminantes químicos, producen en sus células especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) como resultado del metabolismo de defensa y detoxificación de las mismas (Lesser, 2006). El incremento de las ROS en las células y finalmente el desbalance

---

entre éstas y las defensas antioxidantes puede llegar a generar lesiones bioquímicas a lípidos, proteínas y ADN, lo que se conoce como estrés oxidativo (Stegeman *et al.*, 1992; Schlenk y Di Giulio, 2002). Actualmente, existe únicamente un trabajo publicado que describe el metabolismo oxidativo en tejidos de tortugas verde del Pacífico Oriental (Valdivia *et al.*, 2007), y un trabajo que evalúa los patrones de expresión de la enzima antioxidante glutatión S-transferasa (GST) en respuesta a las concentraciones de bifenilos policlorinados (PCB) en tortuga caguama, tortuga verde del Pacífico Oriental y tortuga golfina (Richardson *et al.*, 2010), ambos estudios desarrollados en Baja California Sur.

Los xenobióticos industriales como los compuestos OC, PCB y fenoles, dada su estructura molecular, tienen la capacidad de activar o bloquear la actividad estrogénica o androgénica e incluso, de mimetizar a las hormonas esteroides y tiroideas (Safe, 2007). Como resultado de lo anterior dichos xenoestógenos pueden alterar el estado endocrino y desarrollo reproductivo de los organismos (Jones *et al.*, 2000; Clark, 2001; Van der Oost *et al.*, 2003; Porte *et al.*, 2006; Safe, 2007). Son escasos los trabajos que evalúen el efecto endocrino de los contaminantes químicos en tortugas marinas. En la tortuga verde, se ha comprobado *in vitro* que el diclorodifeniltricloroetano (DDT), el diclorodifenildicloroetileno (DDE), el dieldrin y metales pesados como el Zn, Pb y Cu reducen la capacidad de unión entre los esteroides sexuales E<sub>2</sub> y T y las proteínas plasmáticas y que compiten por dichos sitios de unión, sugiriendo una probable inhibición de la interacción proteína-esteroide en hembras anidantes en *Ch. mydas* (Ikonomopoulou *et al.*, 2009).

La vitelogenina (VTG) es una fosfoglicolipoproteína precursora del vitelo presente en todos los vertebrados ovíparos. Es sintetizada y secretada por el hígado en respuesta principalmente al E<sub>2</sub> (Jones *et al.*, 2000; Sumpter y Jobling, 1995). Esta proteína transporta e incorpora importantes cantidades de material lipídico, principalmente triglicéridos, carbohidratos, calcio y grupos fosfato a los ovocitos en desarrollo (revisado por Hamman *et al.*, 2003; Sifuentes, 2004). Aún cuando los genes de la VTG están presentes en los machos y organismos juveniles, éstos se encuentran suprimidos presuntamente debido a las bajas concentraciones de E<sub>2</sub> circulante en los mismos (Sumpter y Jobling, 1995). Se ha

---

demostrado en laboratorio que puede haber un aumento de la concentración de VTG en juveniles y machos de tortuga verde y tortuga lora (*L. kempfi*) en respuesta a la inducción por estrógenos (Heck *et al.*, 1997; Herbst *et al.*, 2003; Sifuentes-Romero *et al.*, 2006), tal como lo observado en peces juveniles y machos (Giesy *et al.*, 2000; Foster *et al.*, 2001; Mewes *et al.*, 2002; revisado por Porte *et al.*, 2006). Esta característica ha permitido utilizar la medición de VTG como marcador de exposición a xenobióticos y disrupción endocrina en organismos en vida libre, principalmente en peces (*e.g.* Harries *et al.*, 1997; Pereira *et al.*, 1993; Giesy *et al.*, 2000; Foster *et al.*, 2001; Van der Oost *et al.*, 2003) y recientemente en tortugas marinas (Valverde *et al.*, 2008).

Las tortugas marinas son consideradas como potenciales indicadores del estado de salud del hábitat marino, costero y ambientes locales en los que habitan, a diferentes escalas temporales (Aguirre y Lutz, 2004; Wallace *et al.*, 2006). La longevidad, el intercambio entre las fases aéreas y acuáticas, y la variedad de hábitats marinos por los que atraviesan a lo largo de su historia de vida, convierten a las tortugas marinas en organismos susceptibles a la exposición a múltiples factores estresantes y contaminantes (Milton y Lutz, 2003). La vulnerabilidad de las tortugas ante los contaminantes químicos dependerá de su longevidad (Milton y Lutz, 2003; Aguirre *et al.*, 2006), nicho ecológico, incluida la dieta y estrategia alimenticia (Aguirre *et al.*, 1994; Presti *et al.*, 1999; Golet y Haines, 2001; Gardner *et al.*, 2003; 2006; Milton y Lutz, 2003; Kampalath *et al.*, 2006; Talavera-Saenz *et al.*, 2007), concentración y duración de la exposición (Talavera-Saenz *et al.*, 2007) y procesos metabólicos y homeostáticos (Golet y Haines, 2001; Gardner *et al.*, 2003; Saeki *et al.*, 2000). Lo anterior genera diferencias en las concentraciones de contaminantes entre especies, poblaciones, clases de edad, órganos y tejidos (ver revisiones de Milton y Lutz, 2003; Storelli y Marcotrigiano, 2003; Aguirre *et al.*, 2006).

### 3. JUSTIFICACIÓN

Resulta de vital importancia el determinar y describir los niveles “normales” (funcionales) de los parámetros fisiológicos (bioquímica sanguínea, inmunes, endócrinos, etc.) para la tortuga verde del Pacífico Oriental, con el propósito de llegar a identificar, describir y cuantificar su relación con los patógenos y/o contaminantes químicos y las potenciales alteraciones fisiológicas y patológicas. La península de Baja California Sur ofrece el escenario perfecto para generar valores de referencia base de la especie, al ser una zona con un mínimo desarrollo urbano, industrial y turístico, características incomparables con el hábitat de la tortuga verde en otras regiones del mundo. Adicionalmente, resalta la ausencia de evidencia clínica o signos evidentes de enfermedades tales como fibropapiloma en las poblaciones de tortuga verde en la península de Baja California.

Los valores de referencia permitirán a largo plazo: 1) que los diversos parámetros fisiológicos puedan emplearse como marcadores biológicos del estado de salud de las poblaciones de tortuga verde, y 2) que las tortugas verdes sirvan como indicadoras regionales de contaminantes y de cambios o alteraciones al ambiente.

La evaluación puntual del estado de salud de la tortuga verde del Pacífico Oriental resulta de vital importancia si se consideran los siguientes aspectos: su estado de conservación al ser una especie considerada en peligro de extinción; el asilamiento y potencial genético a largo plazo de este morfotipo, el cual pudiera colocarse como subespecie de *Ch. mydas*; la importancia del noroeste del país, dentro de la historia de vida de la especie, como el extremo norte de su distribución y zona de desarrollo y alimentación; el esfuerzo actual de manejo y conservación depositado sobre la tortuga verde en búsqueda de su recuperación; y el potencial impacto a la salud pública por el escaso conocimiento sobre los efectos del consumo de carne de tortuga marina.

---

## 4. OBJETIVOS

### 4.1. Objetivo general.

Evaluar el estado de salud de la tortuga verde del Pacífico Oriental, *Chelonia mydas*, en tres localidades de la costa occidental de Baja California Sur, México.

### 4.2. Objetivos particulares.

1. Determinar la estructura poblacional, estado físico y condición corporal de las tortugas verdes capturadas por zona de estudio.
2. Caracterizar los valores de los parámetros bioquímicos sanguíneos de la tortuga verde por grupos de estudio (estado físico, clases de talla, estacionalidad, año y zona de captura).
3. Determinar la proporción celular leucocitaria y la razón granulocitos- linfocitos de la tortuga verde y caracterizarlos por grupos de estudio.
4. Determinar la concentración de vitelogenina (VTG), esteroides sexuales (T y E<sub>2</sub>) y hormona tiroidea (T<sub>4</sub>) de la tortuga verde y caracterizarlas por grupos de estudio.
5. Caracterizar la actividad de las defensas antioxidantes y el daño oxidativo de la tortuga verde por grupos de estudio.
6. Caracterizar la concentración de elementos traza y compuestos organoclorados de la tortuga verde por grupos de estudio.
7. Evaluar la relación entre las variables morfométricas (peso y talla), condición corporal y parámetros de salud de las tortugas verdes con los contaminantes químicos presentes en las mismas.
8. Evaluar diferencias temporales y/o regionales en la respuesta de los parámetros de salud de las tortugas verdes y su relación con la concentración de contaminantes químicos presentes en las mismas, considerando el efecto de las características individuales (condición corporal, estado físico) y de la captura (estación, año).

## **5. HIPÓTESIS**

La hipótesis de este trabajo es que las tortugas verdes con la mayor concentración de contaminantes en sangre presentarán alteraciones metabólicas, tales como, el aumento de la actividad de enzimas transaminasas y antioxidantes, una inversión en la proporción granulocito-linfocito, aumento en la concentración de vitelogenina y estrógeno en individuos inmaduros, aumento de los niveles de peroxidación de lípidos y disminución de la concentración de las hormonas T<sub>4</sub> y T, entre otras, incluso aquellos individuos que no presenten signos de enfermedad o estado de salud deteriorado.

Dado que la susceptibilidad fisiológica de las tortugas marinas ante los contaminantes depende de factores tanto ambientales como individuales, una hipótesis adicional de este trabajo es que se encontrarán diferencias temporales y regionales en los parámetros fisiológicos y en la concentración de contaminantes químicos, como resultado de las diferencias entre hábitats (disponibilidad y/o tipo de alimento, condiciones oceanográficas) y condiciones de la captura (tiempo de manipulación, estación y año).

---

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. Zona de estudio.

Las lagunas costeras son sistemas de transición entre el medio terrestre y marino y su dinámica está definida por los cambios de marea, las corrientes, el viento y las descargas de agua dulce proveniente de ríos (De la Lanza y Cáceres, 1994). Los movimientos del agua y su mezcla turbulenta generan condiciones heterogéneas que controlan el transporte y depositación del material en suspensión (De la Lanza y Cáceres, 1994). Las lagunas de Punta Abreojos (PAO), San Ignacio (LSI) y Bahía Magdalena (BMA), donde se realizó este estudio, ubicadas en la costa occidental de Baja California Sur, se caracterizan por ser depresiones inundadas en el margen interior del continente, protegidas por una barrera de arena o isla orientada paralelamente a la costa. Presentan batimetría poco profunda, excepto por canales erosionados por procesos de viento o huracanes (De la Lanza, 1991). Por su dinámica de circulación se definen como estuarios negativos o condiciones anti-estuarinas, donde la evaporación excede al aporte de agua dulce del continente y lluvias; la principal fuente de energía que induce el movimiento del agua proviene de la marea, donde el flujo y reflujos son los principales agentes que inducen la circulación y mezcla dentro de estas lagunas (De la Lanza y Cáceres, 1994).

En la costa occidental de la península las lagunas costeras están influenciadas por el agua marina del Océano Pacífico (De la Lanza y Cáceres, 1994), en donde ocurren dos procesos oceanográficos importantes, la Corriente de California y las surgencias costeras por vientos dominantes del norte y noroeste (Dawson, 1951; Lynn y Simpson, 1987). Ambos procesos son fuentes de enriquecimiento de la zona occidental de la península de Baja California, por la advección de la propia corriente hacia el ecuador y por el transporte vertical de aguas subsuperficiales, frías y ricas en nutrientes hacia la superficie (Dawson, 1951; Lynn y Simpson, 1987; Lluch-Belda, 2000a). La intensidad máxima de estos fenómenos ocurre durante la primavera en la península de Baja California (Lynn y Simpson, 1987). La discontinuidad geográfica de las surgencias y las diferencias estacionales en los patrones de surgencias (Dawson, 1951) y de la Corriente de California



---

(Lynn y Simpson, 1987) generan condiciones regionales y estacionales particulares en la costa, tales como diferencias en la concentración pigmentaria (Espinosa-Carreón *et al.*, 2004), en la biomasa y diversidad fitoplanctónica (Martínez-López y Verdugo-Díaz, 2000), en la biomasa zooplanctónica (Hernández-Trujillo, 2000) y en la composición de la flora (Dawson, 1951), generando distintos centros de actividad biológica (Lluch-Belda, 2000a).

### **6.1.1. Punta Abreojos (PAO).**

La laguna costera de PAO se encuentra ubicada al noroeste de Baja California Sur ( $26^{\circ} 43' 57''$  N y  $113^{\circ} 35' 44''$  O) en el espacio fisiográfico que corresponde al desierto de San Sebastián Vizcaíno (INEGI, 1995). Se localiza al oeste de la laguna de San Ignacio y es el límite occidental de Bahía Ballenas. Se caracteriza por ser una llanura costera inundable con vegetación halófila en su parte terrestre. Está limitada al sur con el Océano Pacífico, al este con Bahía Ballenas y al noroeste con el estero La Bocana (INEGI, 1995) (Fig. 1). La captura de las tortugas marinas se realizó en el estero La Bocana, localizado entre  $26^{\circ} 44'$  y  $26^{\circ} 49'$  de latitud norte y  $113^{\circ} 37'$  y  $113^{\circ} 42'$  de longitud oeste (Guzmán, 1998). Es un estero alargado paralelo a la costa que está limitado por la presencia de una barra arenosa con vegetación de manglar, la cual se extiende desde PAO al sur hacia el extremo norte del estero en donde se encuentra la boca que lo comunica con el Océano Pacífico (INEGI, 1995; Guzmán, 1998) (Fig. 1).

PAO presenta, de acuerdo a la clasificación de Köppen, un clima muy seco semicálido con lluvias en invierno, con un porcentaje de precipitación invernal menor a 36% (INEGI, 1995). La precipitación anual es de 63 mm y la temperatura promedio anual es de  $20.4^{\circ}$  C. Presenta un rango de temperatura media anual entre  $13.6^{\circ}$  y  $27^{\circ}$  C, la temperatura ambiente más alta se registra de julio a octubre (Ruiz *et al.*, 2006). Por su ubicación es un sitio aislado del desarrollo urbano habitado únicamente por pescadores, las únicas infraestructuras presentes son un faro, una planta de tratamiento de agua y una estación climatológica (INEGI, 1995).

PAO es uno de los principales centros pesqueros en donde se extraen especies de gran demanda y mayor valor comercial tales como langosta, caracol, almeja y abulón; la

---

almeja se extrae, además, en las lagunas Ojo de Liebre y San Ignacio, y el atún y sardina en mar abierto (Martínez, 1998; Maya y Guzmán, 1998). En la zona marina crece el alga café gigante (*Macrocystis pirifera*), de la que se extraen alginatos para su uso farmacéutico e industrial (Maya y Guzmán, 1998). El crecimiento desequilibrado de las actividades pesqueras ha afectado recursos como la tortuga marina y han generado problemas de sanidad ambiental en la zona por falta de infraestructura adecuada para la eliminación de los desechos generados (Castellanos y Mendoza, 1991 en Maya y Guzmán, 1998).

PAO se encuentra inmerso en la reserva de la biosfera El Vizcaíno, el área natural protegida más grande del país decretada en 1988 por ser una región única de gran interés biológico, económico y cultural. En esta región pueden encontrarse cuatro especies de tortugas marinas: la laúd, la verde, la carey y la tortuga caguama (Maya y Guzmán, 1998). En dicha reserva se encuentra la mina de sal más importante del mundo, la Compañía Exportadora de Sal, en Guerrero Negro, así como la región pesquera del Pacífico Norte de mayor producción de distintas especies en el Estado (Maya y Guzmán, 1998).

### **6.1.2. Laguna de San Ignacio (LSI).**

Esta laguna está ubicada al norte del Estado, entre los 26° 43' y 26° 58' latitud norte y los 113° 08' y 113° 16' de longitud oeste (Fig. 1). Tiene un área aproximada de 17,500 ha, una anchura de 6 km y una longitud de 30 km que se extiende dentro de la provincia fisiográfica del desierto de San Sebastián Vizcaíno. Es una laguna somera con profundidades de 2 a 4 m en su mayor parte, con canales de hasta 20 m de profundidad que la comunican con el océano Pacífico en su región sur, por donde pueden transitar barcos de poco calado (INEGI, 1995; Guzmán, 1998; Nuñez-López *et al.*, 1998). Presenta un clima muy seco semicálido con lluvias en invierno, de acuerdo a la clasificación de Köppen, con un porcentaje de precipitación anual menor a 36% (INEGI, 1995). La precipitación anual es de 112.3 mm y la temperatura promedio anual de 21.7° C. Presenta un rango de temperatura media anual entre 12.7 y 30.8° C, la temperatura ambiente más alta se registra de junio a octubre (Ruiz *et al.*, 2006).

---

En esta laguna desemboca la corriente intermitente del río San Ignacio que tiene su origen en la sierra de la Giganta (INEGI, 1995). Hacia el sur de la laguna, en la entrada de la misma, se encuentran tres esteros donde hay grandes extensiones de manglares constituidos por mangle rojo y blanco, como la especie *Rhizophora mangle*. Hacia su interior presenta llanuras inundables salinas y marismas cuya vegetación está representada principalmente por *Batis maritima*, *Salicornia bigelovii*, *Spartina foliosa* y *Monanthochloe littoralis* (Guzmán, 1998). La flora ficológica de la laguna incluye algas rojas, verdes, pardas y pastos marinos, encontrándose en gran proporción de especies de afinidad templada (Nuñez-López *et al.*, 1998).

Al igual que PAO, LSI se encuentra inmersa en la reserva de la biosfera El Vizcaíno, por lo que comparten la misma problemática de sanidad ambiental mencionada anteriormente. En LSI se han reportado 73 especies de peces de origen templado y tropical. Es un área de reproducción de la ballena gris y del águila pescadora (*Pandion haliaetus*), para esta última LSI es el sitio que alberga la colonia más densa del mundo, con aproximadamente 180 parejas anidantes (Guzmán, 1998). Es ruta migratoria de aves principalmente playeras, así como una variedad de mamíferos marinos y es una zona reconocida de alimentación de la tortuga verde (Arriaga *et al.*, 1998). La región tiene gran atractivo turístico por la visita de la ballena gris (*Eschrichtius robustus*) a la laguna y como punto de avistamiento de aves. Por la presencia de la ballena gris se ha desarrollado una industria turística en la zona que genera un tráfico de embarcaciones y presencia de aviones y avionetas en la laguna, afectando las áreas de mayor concentración y actividad reproductiva de cetáceos, así como a las poblaciones de aves migratorias (Maya y Guzmán, 1998).

### **6.1.3. Complejo lagunar de Bahía Magdalena (BMA).**

Los complejos lagunares de Ojo de Liebre, Laguna San Ignacio y Bahías Magdalena-Almejas, son de los más importantes en Baja California Sur (Guzmán, 1998). BMA comienza en los 25° 43' latitud norte 112° 15' longitud oeste y se extiende 175 km hacia el sur hasta los 24° 20' latitud norte 111° 20' longitud oeste (Fig. 1). La bahía está

---

protegida del Océano Pacífico por dos islas que hacen de barrera, Margarita y Magdalena. Éste es el complejo lagunar más grande de toda la península de Baja California y de los mayores en México con un área de más de 1,000 km<sup>2</sup> que incluye más de 40 esteros, lagunas y canales (Guzmán, 1998; López-Mendilaharsu *et al.*, 2005).

BMA presenta un clima muy seco semicálido con lluvias en invierno, de acuerdo a la clasificación de Köppen, con un porcentaje de precipitación invernal menor a 10% (INEGI, 1995). El rango de temperatura media anual es de 15° C a 26° C, con una temperatura media anual de 20.5° C y precipitación anual de 98.5 mm (Ruiz *et al.*, 2006). En el estero se registran temperaturas y salinidades más elevadas que en el océano abierto (Alvarez-Borrego *et al.*, 1975). La mayor temperatura superficial del mar se registra a finales del verano y a principios de otoño (septiembre, 25-28° C) y los rangos mínimos de temperatura a principios de primavera (marzo, 19-21° C) (Lluch-Belda *et al.*, 2000b).

La captura de las tortugas marinas en este estudio se realizó dentro del estero Banderitas localizado en la zona noroeste de BMA (24° 47'-25° 01' N, 112° 04'-112° 10' O) (Fig. 1). Se encuentra protegido por una barra de arena y campos de dunas con vegetación, los cuales lo aíslan del Océano Pacífico. Se caracteriza por estar formado por canales divididos por dunas y llanuras costeras de terreno inundable (INEGI, 1995). Es el canal con vegetación de mangle más grande en BMA (42 km<sup>2</sup>) (Koch *et al.*, 2007). El fondo del estero Banderitas consiste, principalmente, de arena muy fina y fango con parches de algas y pastos marinos. La profundidad varía entre 0.5 m y 9 m con un promedio menor a 3 m. Dicha variación es resultado de los cambios de marea, la máxima amplitud de marea se registra durante primavera (>2 metros) (López-Mendilaharsu *et al.*, 2005). La salinidad y temperatura superficial del agua en la boca del estero Banderitas oscila entre 36.9 a 38.7 unidades de salinidad práctica y 18-31° C, respectivamente; dichos gradientes coinciden con la batimetría del sitio presentándose los valores más altos en las profundidades menores (Alvarez-Borrego *et al.*, 1975).

BMA es un sitio de gran importancia por su diversidad y su alta productividad. Su vegetación incluye comunidades de pastos y algas marinas (*e.g.* *Zostera marina* y *Phyllospadix* spp., *Sargassum horridum*, *Gracilaria* spp., *Codium* spp.), marismas

---

(formadas por *S. foliosa*, *B. marina*, *Monanthochloe littoralis*, *Allendorfea occidentales* y *Salicornia bigelovii*) y grandes extensiones de manglares de mangle rojo, blanco y negro. La vegetación provee de hábitat para una gran diversidad de fauna marina, principalmente peces, moluscos y crustáceos (algunas de importancia comercial), así como aves invernantes y residentes (Guzmán, 1998). En esta bahía pueden encontrarse las cinco especies de tortugas marinas que habitan la península (Cliffon *et al.*, 1995; Gardner y Nichols, 2001).

BMA forma parte del centro pesquero correspondiente a la zona Pacífico centro en donde se captura el mayor volumen de pesca sobre especies de escama, principalmente sardina, del estado de Baja California Sur, lo cual la convierte en una de las regiones pesqueras más importantes para la península de Baja California (Martínez, 1998). En el complejo lagunar se desarrolla además una importante actividad pesquera sobre moluscos y crustáceos, en el Puerto San Carlos se albergan industrias empacadoras de sardina y una termoeléctrica (Guzmán, 1998). Al igual que en PAO y LSI, la industria turística en esta zona es de gran importancia económica para la región por la visita de la ballena gris a las lagunas (Ávila y Saad, 1998).

## **6.2. Captura de los individuos, medidas biométricas y registro del estado físico.**

Se realizaron salidas de campo a los sitios de muestreo durante los años 2005-2007. Las tortugas verdes fueron capturadas con redes de pesca de monofilamento, de 100 m de longitud, 6-8 metros de caída y 20 cm de luz de malla, tendidas en el agua. Las redes fueron monitoreadas cada 2 horas a lo largo del periodo de muestreo en búsqueda de tortugas enmalladas. Este intervalo de dos horas se estableció para evitar el ahogamiento de las tortugas marinas considerando la habilidad de éstas de sumergirse en apnea por muchas horas y tener la adaptación de tolerar incluso anoxia total bajo el agua (Lutz y Bentley, 1985). Ninguna tortuga marina permaneció en la red por más tiempo al mencionado anteriormente. El tiempo de muestreo efectivo, periodo comprendido entre el momento en que se tendía la red en el agua hasta el momento de levantarse, varió de 2 a 24.5 horas de acuerdo a la logística de los viajes y a las condiciones climáticas y de marea de cada zona.

---

En este trabajo las estaciones de captura consideradas son aquellas definidas por Koch *et al.*, (2007) para BMA: verano (Mayo-Octubre) e invierno (Noviembre-Abril).

A cada espécimen capturado se le midió el largo recto del caparazón (LRC), definido como la distancia entre la región nual hasta la supracaudal, de acuerdo a Bolten (2000) usando un calibrador metálico ( $\pm 0.1$  cm). El peso de cada organismo se obtuvo colocando a la tortuga en una bolsa de red colgada de una báscula de resorte de 150 kg de capacidad ( $\pm 0.1$  kg). Se hizo una inspección visual para determinar el estado físico de cada individuo y se tomó una muestra de sangre. Previo a su liberación, las tortugas marinas fueron marcadas en ambas aletas posteriores con marcas metálicas (Balazs, 2000). Para definir las clases de talla en este estudio se utilizó el criterio propuesto por Aguirre y Balazs (2000) para la tortuga verde: 1) inmaduros,  $< 35$  cm LRC; 2) juvenil, 35-65 cm LRC; 3) subadulto, 65-85 cm LRC; y 4) adulto, tortugas  $> 85$  cm LRC, con la única finalidad de hacer posible la comparación de los resultados de este trabajo con la literatura existente. La talla promedio de anidación de las tortugas verdes de Baja California Sur (77.3 cm LRC) (Seminoff *et al.*, 2003; Koch *et al.*, 2007) fue utilizada para identificar a los organismos adultos durante la evaluación de las concentraciones de los esteroides sexuales y VTG.

La apariencia física de los individuos se determinó cualitativamente por medio de inspección visual, definiendo los siguientes estados: 1) sanas, ausencia de enfermedad aparente; 2) lesionadas, cuando presentaba algún organismo epibionte y al menos una de las siguientes condiciones: balanos o ectoparásitos, cualquier tipo de lesión externa en la piel o caparazón (no se consideró la presencia de cicatrices), traumatismo o heridas recientes, amputaciones y síntomas de enfermedad evidente (e.g. desnutrición); y 3) sin dato físico, cuando el espécimen no fue inspeccionado. Aún cuando los balanos son considerados epibiontes inocuos y son encontrados frecuentemente en tortugas marinas de apariencia sana, la presencia de estos organismos se consideró como una característica de las tortugas lesionadas debido a su potencial efecto a la salud (Herbst y Jacobson, 1995).

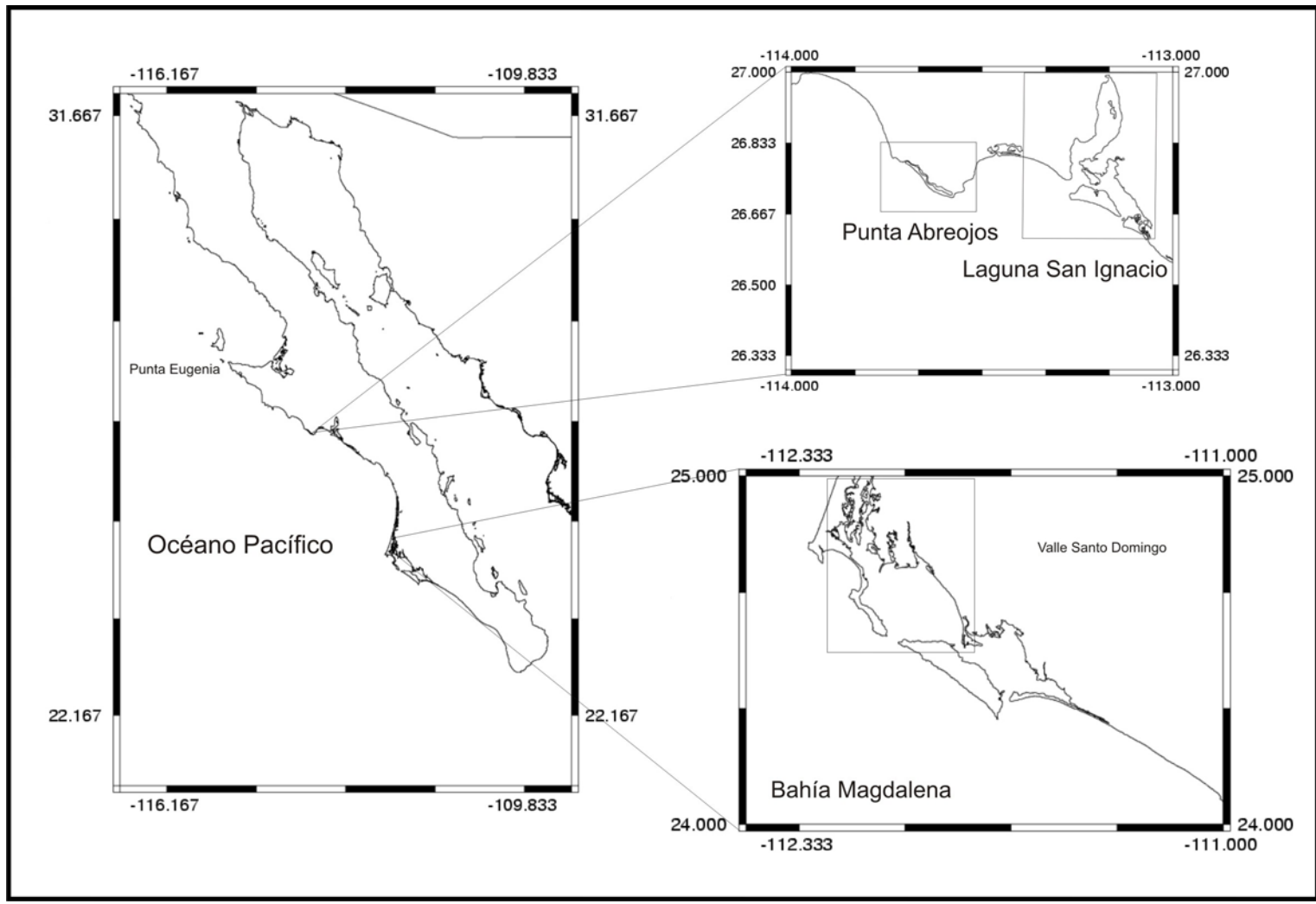


Figura 1. Zona de estudio.

### 6.3. Estructura poblacional, captura por unidad de esfuerzo (CPUE) y condición corporal.

La abundancia de los individuos se representó mediante histogramas de distribuciones de frecuencias por clases de talla, estación, año y apariencia física, por zona de estudio. Se definió como unidad de esfuerzo a 100 m de red tendida por hora. Se calculó la CPUE anual para cada zona dividiendo el número de tortugas capturadas por año en cada zona entre las unidades de esfuerzo correspondientes (Koch *et al.*, 2007). La condición corporal de las tortugas verdes fue estimada por medio de dos índices a partir de los datos de talla y peso de los individuos capturados como se explica a continuación.

#### 6.3.1. Factor de condición corporal estacional y anual.

Agrupando los datos por zona de estudio se generaron las relaciones entre la talla LRC (cm) y el peso (kg) de las tortugas marinas para cada estación y año de captura. A partir del modelo de la relación peso y talla:

$$Peso = aLRC^b \quad \dots(1)$$

Los parámetros  $a$  y  $b$  para cada grupo de estudio fueron obtenidos por medio de la forma logarítmica del modelo:

$$\ln(Peso) = \ln(a) + b\ln(LRC) \quad \dots(2)$$

El parámetro  $a$  corresponde al factor de condición corporal expresado en gramos ( $a \times 1000$ ; Froese, 2006) de las tortugas marinas.

El factor de condición corporal ( $a$ ) estacional y anual se presenta como  $\log a \pm$  el 95% del intervalo de confianza (IC) con sus respectivas ecuaciones. Se evaluaron diferencias en el índice de condición entre estaciones y años por zona utilizando el análisis de comparación de dos interceptos de acuerdo a Kleinbaum y Kupper (1978).



### 6.3.2. Índice relativo de condición corporal (*Krel*).

A partir de la ecuación 1 se obtuvieron los parámetros *a* y *b* de la relación entre el peso (kg) y talla LRC (cm) para cada zona de estudio por estado físico de los individuos (sanas, lesionadas). El índice relativo de condición corporal (*Krel*) se calculó de acuerdo a Le Cren (1951) en Froese (2006):

$$Krel = \frac{Peso}{aLRC^b} \quad \dots(3)$$

donde *a* y *b* son los parámetros obtenidos por medio de la relación peso-talla de la tortuga verde.

El índice de condición relativo promedio  $\pm$  desviación estándar (DE) fue calculado por zona y estado físico de los individuos. Las diferencias en *Krel* entre grupos de estudio se evaluaron por medio de comparaciones de pendientes y elevaciones utilizando análisis de varianza (zonas) y pruebas de t-Student (estado físico) de acuerdo con Zar (1996).

Únicamente como referencia y con fines comparativos para otros estudios, se calculó el índice de condición corporal de Fulton de acuerdo a lo propuesto para tortuga verde por Bjorndal *et al.*, (2000). Este índice fue calculado dividiendo el peso (kg) por el cubo de la talla LRC (cm) y multiplicado por 10,000 (Ricker 1975 in Nash *et al.*, 2006). Se presenta el índice de Fulton (promedio  $\pm$  DE) por zona y estado físico de las tortugas verdes.

### 6.4. Colecta y procesamiento de las muestras biológicas.

A cada tortuga verde capturada se le extrajeron muestras de sangre del seno venoso cervical (Owens y Ruiz, 1980) como se ha descrito en otros trabajos (Keller *et al.*, 2006). Previo a la toma de la muestra la región del cuello fue limpiada con alcohol; al término, la aguja fue quitada presionando la zona tratada para evitar la formación de hematomas. Se utilizó capuchón Vacutainer© y agujas de doble punta (1.5 pulgadas, 32 mm calibre) conectados a tubos Vacutainer© (7 mL, Becton Dickinson, Franklin Lakes, New Jersey) sin anticoagulante para recuperar suero y con heparina de litio (He/Li) como anticoagulante

para recuperar sangre, plasma y material intraeritrocitario. Se registró el tiempo de manipulación de las tortugas marinas, considerado como el periodo comprendido entre la captura de la tortuga hasta el momento en que se tomó la muestra sanguínea. El tiempo de la toma de las muestras biológicas no fue mayor a 10 horas en el 88% de las tortugas capturadas.

Los tubos Vacutainer© fueron etiquetados con una clave que incluye la zona, la fecha de captura y el número consecutivo de muestra y se mantuvieron en hielo hasta llegar al campamento en donde fueron centrifugados (890×g) para obtener ya sea suero, plasma o eritrocitos. Las muestras separadas fueron transferidas a microtubos (crioviales 1.5 mL, Eppendorf©), debidamente etiquetados, y se mantuvieron en un transportador criogénico (5.4 L) (Taylor Wharton CP 100) hasta llegar al laboratorio en donde fueron almacenadas en congelación a -80° C hasta su procesamiento.

#### **6.4.1. Bioquímica sanguínea.**

En el laboratorio las muestras de suero, obtenidas de tubos Vacutainer© sin anticoagulante, fueron analizadas por duplicado por medio de técnicas espectrofotométricas usando un analizador de bioquímica clínica semi-automatizado Microlab 300 (Dieren, Países Bajos) y kit comerciales (Randox Laboratories Ltd., Ardmore, Reino Unido) de acuerdo a las especificaciones del proveedor. Los mismos kit han sido utilizados en estudios previos para la obtención de valores de referencia de la tortuga verde, *Ch. mydas*, en Australia y el Océano Indico (Hamann *et al.*, 2006; Whiting *et al.*, 2007). Se midieron 18 parámetros bioquímicos entre los que se incluyen la concentración de proteínas, electrolitos, lípidos, productos de excreción, actividad enzimática, glucosa, calcio y fósforo inorgánico (Tabla 1).

**Tabla I.** Parámetros bioquímicos evaluados en suero de tortuga verde (*Chelonia mydas*).

<b>Parámetro bioquímico</b>	
<b>Concentración proteínas</b>	Proteínas totales (g/dL)
	Albúmina (g/dL)
	Globulina (g/dL)
	Razón Albúmina / Globulina (A/G)
<b>Actividad enzimática</b>	Gama glutamiltransferasa (GGT) (U/L)
	Aspartato aminotransferasa (AST) (U/L)
	Alanina aminotransferasa (ALT) (U/L)
	Fosfatasa alcalina (U/L)
	Colinesterasa (U/L)
<b>Electrolitos</b>	Sodio (Na) (mmol/L)
	Potasio (K) (mmol/L)
<b>Productos de excreción</b>	Ácido úrico (mg/dL)
	Creatinina (mg/dL)
<b>Lípidos</b>	Colesterol (mg/dL)
	Triglicéridos (mg/dL)
<b>Otros</b>	Glucosa (mg/dL)
	Fósforo inorgánico (mg/dL)
	Calcio (Ca) (mg/dL)

#### **6.4.2. Proporción leucocitaria.**

Durante el trabajo de campo se generaron hasta cinco frotis sanguíneos por organismo, utilizando el método de extensión con sangre fresca (Benjamin, 1991). Éstos fueron secados al aire y guardados hasta ser teñidos en el laboratorio. Se empleó la tinción de Wright, la cual se caracteriza por ser una combinación de colorante rojo libre de ácidos (eosina) y uno azul libre de álcalis (azul de metileno) que resaltan las diferencias entre los cinco tipos de leucocitos tales como la forma, la coloración del citoplasma y núcleo, así como las granulaciones, permitiendo una fácil identificación de los leucocitos durante el conteo celular (Benjamin, 1991).

Para seleccionar las preparaciones adecuadas para el conteo celular, se realizó un análisis exploratorio de todos los frotis sanguíneos utilizando un microscopio óptico con objetivo 10X. Se seleccionó un frotis por organismo, descartando todos aquellos frotis que presentaran una inadecuada tinción, contaminación por bacterias y/o amontonamiento o número de células reducido. La cuenta leucocitaria diferencial se realizó sobre 100 leucocitos por frotis sanguíneo, diferenciando las células de la serie blanca de acuerdo a las características morfológicas descritas por Work *et al.*, (1998) en tortuga verde: linfocitos, heterófilos, eosinófilos, monocitos y basófilos. Se contabilizaron únicamente células enteras, con la membrana completa y claramente identificables. Como observaciones adicionales se registró la presencia de eritrocitos inmaduros o la presencia de células singulares o atípicas. Se utilizó para el conteo diferencial un microscopio de fluorescencia (Leica, modelo DM LS2) con objetivo de inmersión en aceite (100X). A partir de los conteos se calcularon las proporciones celulares (%) y la razón heterófilos/linfocitos (H/L) para cada tortuga marina.

#### **6.4.3. Vitelogenina (VTG).**

La concentración de VTG se obtuvo por medio de un ensayo inmuno-enzimático (ELISA, por sus siglas en inglés) del tipo sandwich no competitivo indirecto, validado por Sifuentes-Romero *et al.* (2006). El principio del ensayo consiste en la unión de la muestra a un primer anticuerpo, el cual se une posteriormente a un anticuerpo secundario, el cual finalmente se unirá a un sustrato. Se conoce como ensayo de tipo indirecto al ser la segunda

fase (2do anticuerpo y sustrato) la porción sobre la cual se realiza la lectura. Para dicho análisis se utilizó un anticuerpo policlonal específico a VTG de *Ch. mydas* (Sifuentes-Romero *et al.*, 2006) como primer anticuerpo y un anticuerpo de conejo contra inmunoglobulina G (SIGMA, Cat. N-1891) como anticuerpo secundario. Para la creación de la curva estándar se utilizó VTG pura, almacenada previamente en forma líquida, la cual fue inducida y purificada a partir de machos de tortuga verde (Sifuentes-Romero *et al.*, 2006). Previo al ensayo las muestras fueron diluidas 1:5000 en una solución de carbonato-bicarbonato (pH 9.6). Las muestras fueron analizadas en triplicado utilizando una microplaca de 96 pozos (Nunc Maxisorp; Nunc, Roskilde, Denmark). La lectura de la absorbancia se realizó por medio de un lector de microplaca (Multiskan Labsystems, ahora Thermo, 352, Finlandia) a 405 nm. La curva estándar ( $0.001$  a  $0.5 \mu\text{g mL}^{-1}$ ,  $r^2 > 0.82$ ) se creó a partir de la concentración de VTG pura conocida, la cual fue determinada utilizando el método de Bradford (1976). La concentración de las muestras se obtiene por medio de la ecuación de la relación lineal entre las concentraciones de VTG conocidas y su absorbancia. La variación intra-ensayo e inter-ensayo se reporta como coeficiente de variación (CV) (Anexo 1). La concentración de VTG se expresa en  $\text{mg mL}^{-1}$ .

La medición de la VTG se realizó en 68 muestras de suero obtenidas con tubos Vacutainer© sin anticoagulante preparados previamente con  $50 \mu\text{L}$  de fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF; Sigma), aditivo inhibidor de serín proteasas degradadores de proteínas ampliamente utilizado en la purificación o cuantificación de proteínas (Sifuentes *et al.*, 2006). Estas muestras serán identificadas en el texto como suero-PMSF. Con la finalidad de completar la base de datos y aumentar el tamaño de muestra, se analizaron además 12 muestras de plasma obtenidas con tubos Vacutainer© con He/Li y sin aditivo PMSF. Este grupo de muestra se identificará como plasma-sin PMSF. Dado a las diferencias en el tratamiento de las muestras, se decidió realizar un nuevo ELISA con 63 muestras de plasma-sin PMSF correspondientes a las mismas tortugas marinas a las que se les cuantifico la VTG por medio de muestras de suero-PMSF, con el objetivo de evaluar diferencias en la concentración de VTG cuantificada entre tratamientos.

Las diferencias en la concentración de VTG extraída entre los grupos plasma-Sin PMSF y suero-PMSF se evaluaron por medio de un análisis t-Student, no encontrándose

diferencias significativas ( $t\text{-Student}_{(2,128)}=1.23$ ,  $p=0.19$ ). Posteriormente, se evaluaron diferencias entre las pendientes y elevaciones de las curvas estándar obtenidas en cada ensayo ELISA de acuerdo a Zar (1996), no encontrando diferencias significativas entre pendientes ( $t\text{-Student}_{(2,16)}=0.44$ ,  $p=0.66$ ) o elevaciones ( $t\text{-Student}_{(2,17)}=1.20$ ,  $p=0.24$ ).

Al no haber encontrado diferencias estadísticas significativas en la concentración de VTG entre muestras, se decidió generar una ecuación de regresión lineal común para la curva estándar de VTG, estimando nuevos parámetros  $a$  y  $b$  de acuerdo Zar (1996). La ecuación obtenida es la siguiente:

$$y_i = 0.2624 + 6576.20x_i \quad \dots(4)$$

donde  $y_i$  corresponde a la absorbancia (Od, optical density) y  $x_i$  a la concentración de VTG. A partir de la ecuación 4 se recalcularon las concentraciones de VTG para las 68 muestras de suero-PMSF y las 12 muestras de plasma-sin PMSF, lo cual permitió agrupar todos los datos de VTG en todas las evaluaciones posteriores de este trabajo.

#### **6.4.4. Esteroides sexuales y torixona ( $T_4$ ).**

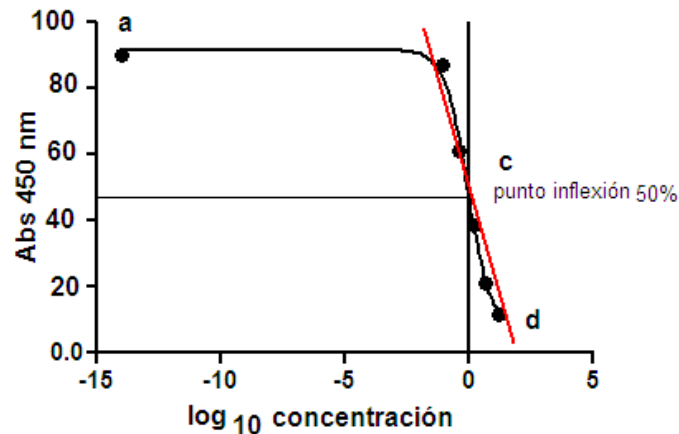
Las hormonas se cuantificaron por medio de ELISA de tipo directo por competencia. El principio del ensayo de tipo directo se rige bajo el escenario de una unión por competencia entre un antígeno no marcado (los calibradores presentes en el kit y las muestras) y un antígeno marcado con una enzima (el conjugado de  $T_4$ -HRP), ambos compiten por un número limitado de sitios de unión en la microplaca cubierta con el anticuerpo específico. La intensidad de color formada es proporcional a la concentración de enzima presente e inversamente proporcional a la concentración de la hormona en la muestra, de manera que entre mayor concentración de hormona en la muestra, se encontrará menor señal o color.

La cuantificación de las hormonas se realizó a partir de muestras de suero obtenidas de tubos Vacutainer© sin anticoagulante. La cuantificación de las hormonas  $T_4$  y T se realizó utilizando kit comerciales marca Biochem (Diagnostics Biochem Canada Inc., Ontario) y la cuantificación del  $E_2$  con kit comerciales marca Diagnostics Automation

(Diagnostics Automation Inc., California). Los reactivos y las muestras de suero se mantuvieron a temperatura ambiente (18-25° C) antes de realizar el ensayo sin requerir ningún tratamiento previo. Todas las muestras fueron analizadas por duplicado de acuerdo a las especificaciones del proveedor. La absorbancia fue medida dentro de los 15 minutos posteriores a la adición de la solución para detener la reacción en el último paso, con un lector de microplaca (Multiskan spectrum, Thermo Scientific, Vantaa, Finlandia) y filtro de 415 y 450 nm. La curva estándar se obtuvo al graficar la concentración conocida contra su absorbancia. Los valores de concentración de las muestras se obtuvieron utilizando el programa GraphPad Prism v.5 (GraphPad Software, Inc., 2007) por medio de la interpolación a partir de una ecuación de cuatro parámetros:

$$y = \frac{(a - d)}{1 + \left(\frac{x}{c}\right)^b} + d \quad \dots(5)$$

donde  $a$  corresponde a la máxima señal (100%),  $d$  a la mínima señal (0%), el parámetro  $b$  es la pendiente de la curva en el punto de inflexión, que corresponde al 50% de la intensidad de la señal y  $c$  es la concentración en el punto de inflexión (50%) de la curva estándar generada (Fig. 2). Las curvas estándar, la sensibilidad de los kit y la precisión de la respuesta intra-ensayo e inter-ensayo se presentan en el Anexo 1. La concentración de las hormonas se expresa en  $E_2$ ,  $\text{pg mL}^{-1}$ , la T en  $\text{ng mL}^{-1}$  y la  $T_4$  en  $\mu\text{g } 100 \text{ mL}^{-1}$ .



**Figura. 2.** Modelo típico de la curva estándar generada por una ELISA de competencia directa. Las letras representan los parámetros de la ecuación empleada para la interpolación de la concentración de las muestras. *a*=máxima señal (100%); *d*=mínima señal (0%); *c*=el 50% de la intensidad de la señal.

#### 6.4.5. Defensas antioxidantes y daño oxidativo.

Los datos de estrés oxidativo evaluados en este trabajo provienen de 50 muestras de tortugas verdes, los cuales fueron analizados y reportados previamente (Tenorio, 2007). La sangre completa, obtenida con tubos Vacutainer© sin anticoagulante, fue centrifugada (890×g) durante 10 minutos para separar el plasma y eliminar la capa de leucocitos. El material intracelular se obtuvo mediante la lisis de las células rojas por medio de choque osmótico y mecánico de acuerdo al método de Pippenger *et al.* (1998). El método consistió en realizar el lavado de los eritrocitos en tres ocasiones, mezclando las células rojas con el doble de su volumen de solución salina a 0.9% y centrifugando (890×g) por 10 minutos. En cada paso intermedio el sobrenadante obtenido era eliminado. La lisis celular se produce mediante un choque osmótico al añadir agua destilada como último paso. El material intracelular recuperado se colocó en microtubos (crioviales 1.5 mL, Eppendorf©), debidamente etiquetados, los cuales se mantuvieron en un transportador criogénico (5.4 L) (Taylor Wharton CP 100), hasta su almacenamiento en el laboratorio en donde fueron mantenidos a -80° C hasta su análisis.



La actividad de las enzimas antioxidantes y la peroxidación de lípidos se cuantificaron por medio de técnicas espectrofotométricas. Todas las muestras fueron analizadas en triplicado. Con la finalidad de estandarizar los niveles de de la actividad enzimática se cuantificó la concentración de hemoglobina (Hb) de cada muestra, utilizando kit comerciales (RANDOX, Dublin, United Kingdom) y un analizador bioquímico semi-automatizado Microlab 300 (Dieren, Netherlands) a 540 nm. Todos los resultados de las defensas antioxidantes son expresados en unidades de actividad enzimática por gramo de hemoglobina, U g<sup>-1</sup> Hb.

**a) Superóxido dismutasa total (t-SOD).**

La actividad de la t-SOD se cuantificó siguiendo la inhibición de la reducción del azul de nitrotetrazolio (NBT, por sus siglas en inglés) por el radical superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>). Se utiliza el sistema xantina/xantina oxidasa como generador constante de O<sub>2</sub><sup>•-</sup> el cual, al entrar al contacto con el NBT lo reduce y forma un producto llamado formazán, cuyo cambio puede ser detectado por espectrofotometría cuando la t-SOD inhibe la reducción de NBT (Suzuki, 2000). Se calculó el cambio de la absorbancia por minuto a 560 nm. Una unidad de actividad de t-SOD se define como la cantidad de enzima necesaria para inhibir el 50% de la reacción del O<sub>2</sub><sup>•-</sup> con el NBT.

**b) SOD dependiente de magnesio (Mn-SOD).**

Una solución de trabajo de carbonato de sodio (50 mM), cianida de sodio (0.25 M) y la muestra homogenizada fueron mezcladas e incubadas en un baño de agua a 25 °C. Posteriormente se añadió la xantina oxidasa y se cuantificó el cambio en la absorbancia por minuto a 560 nm.

**c) SOD dependiente de cobre-zinc (CuZn-SOD.)**

La actividad de la CuZn-SOD se calculó a partir de la diferencia entre las actividades de la t-SOD y de la Mn-SOD.

**d) Catalasa (CAT).**

La actividad de la enzima CAT se estimó midiendo la reducción de la concentración de peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) a 240 nm (Aebi, 1984). Una unidad de actividad de CAT es definida como la cantidad de enzima necesaria para reducir  $1 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1}$ .

**e) Glutación S-transferasa (GST).**

La enzima GST cataliza la unión del glutatión reducido (GSH) con xenobióticos. La actividad de la GST es medida a 340 nm siguiendo la formación de tioéter glutatión dinitrobenzeno como producto de la reacción entre el GSH y el 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (Habig y Jakoby, 1981). Una unidad de actividad de GST se define como la cantidad de enzima que sintetiza  $1 \mu\text{mol}$  del producto  $\text{min}^{-1}$ .

**f) Glutación peroxidasa (GPx).**

La actividad de la GPx cataliza la reacción del  $\text{H}_2\text{O}_2$  con el GSH. La actividad de la GPx se midió a 340 nm siguiendo la reducción continua de la concentración de NADPH al mantener constantes los niveles de GSH y utilizando al  $\text{H}_2\text{O}_2$  como sustrato (Folhé and Günzler, 1984). Una unidad de actividad de GPx es definida como la cantidad de enzima que oxida  $1 \mu\text{mol}$  of NADPH  $\text{min}^{-1}$ .

**g) Peroxidación de lípidos (TBARS).**

Para evaluar el daño oxidativo a la membrana celular se estimó la peroxidación de lípidos por medio de la cuantificación de malondialdehído (MDA) a 532 nm, el producto de la reacción entre las membranas celulares y las sustancias reactivas de ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Ohkawa *et al.*, 1979; Persky *et al.*, 2000). Los resultados se expresan en nmoles de TBARS por  $\text{mg Hb}^{-1}$ .

**6.4.6. Elementos traza.**

Las muestras de sangre (5 mL), tomadas con tubos Vacutainer© sin anticoagulante, fueron digeridas colocándolas en un matraz (100 mL) con 7 mL de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) puro, utilizando una parrilla eléctrica (90 °C) de 40 a 120 minutos hasta completar la

digestión. El contenido final fue colocado en tubos de polipropileno y fue aforado con 10 mL de agua desionizada. La determinación de las concentraciones se realizó por medio de espectrofotometría de absorción atómica (GBC Scientific equipment, model AVANTA, Dandenong, Australia) utilizando flama de aire acetileno (Mg, Cd, Fe, Zn y Ni), flama de acetileno óxido nitroso (Sr y Si) y generación de hidruros (Se). Las muestras se analizaron por triplicado. Un blanco de reactivo fue inyectado cada 10 muestras para determinar interferencia en el método. Se utilizó un estándar certificado (TORT-2, National Research Council of Canada) para la validación de la técnica. El rango de recuperación osciló entre 83 y 106%. Los resultados se expresan en  $\mu\text{g g}^{-1}$  peso húmedo. Los datos de estroncio (Sr), Cd, Fe, Zn y Ni corresponden a resultados reportados previamente por Auriolés-López (2008) y los datos de magnesio (Mg), silicio (Si) y selenio (Se) a aquellos reportados por Parra (2009).

#### **6.4.7. Plaguicidas organoclorados (OC).**

La extracción y cuantificación de 25 plaguicidas distintos se realizó mediante la adaptación de los métodos descritos por Díaz (2004) y Gardner *et al.* (2003) para plasma y tejidos respectivamente, a partir de muestras de plasma obtenidas de tubos Vacutainer© con He/Li como anticoagulante. Los plaguicidas fueron agrupados de acuerdo a su estructura molecular en: (a) diclorodifeniltricloroetanos (DDT); (b) hexaclorociclohexanos (HCH), este grupo incluye los isómeros alfa, beta, gamma (lindano) y delta; (c) ciclodienos (aldrin, dieldrin, endrin y endosulfan); (d) clordanos; (e) heptacloros; (f) hexaclorobenceno; y (g) metoxicloro. La extracción se realizó utilizando solventes (pentano, hexano, isooctano, Across organic, Piscataway, NJ, USA) y reactivos (sulfato de sodio y florisil, Fisher Scientific International, Hampton NH, USA) grado HPLC. De cada muestra se tomaron 2 mL de plasma que fueron extraídos con solventes, purificados y fraccionados con florisil; el resultado fue concentrado a un volumen final de 100  $\mu\text{L}$  en isooctano. Las muestras y los estándares fueron diluidos en isooctano. Durante el análisis de la muestra se utilizaron como estándar interno el 1,7,8-trichlorodibenzo-*p*-dioxin (TriCDD, Accustandar, New Haven, CT, USA) y el 1,2,3,4-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TetraCDD, Accustandar, New Haven, CT, USA) como estándar surrogado, ambos utilizados para calcular el

porcentaje de recuperación durante el proceso. Una vez obtenidos los extractos de las muestras, estos fueron analizados inyectando 1  $\mu\text{L}$  a un cromatógrafo de gases (Network GC System, Mod. 6890N) acoplado a un detector de captura de electrones (ECD Niquel<sup>63</sup>, Mod. G2397-6505, Agilent Technologies, Inc., Palo Alto, CA, USA) con sistema de inyección automática y una columna de separación (30 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu\text{m}$ ) (HP-5MS, Agilent Wilmington, DE, USA). Se generaron curvas de calibración con 5 puntos (0.005 a 1.0  $\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$ ,  $r^2 \geq 0.99$ ) para cuantificar cada plaguicida de interés (Ultra Scientific, North Kingstown, RI, USA and CLP Pesticides Organochlorine mix, Supelco, Bellefonte, PA, USA). Se inyectó un blanco de reactivo cada 10 muestras para determinar interferencia en el método. Los resultados obtenidos son expresados en  $\text{ng mL}^{-1}$  de plasma. Los límites de detección específicos fueron de 0.005 y 0.001  $\text{ng mL}^{-1}$  dependiendo del plaguicida a tratar. El porcentaje de recuperación fue 86.4%

### 6.5. Análisis estadísticos.

Previo a todas las evaluaciones estadísticas se probaron los supuestos de normalidad (prueba de Kolmogorov-Smirnov) y de homocedasticidad de varianza (prueba de Barlett) de cada variable de estudio. Con excepción de los OC, los datos que así lo requirieran fueron transformados por medio de logaritmo natural ( $\ln$ ), previo a utilizar la estadística paramétrica, las proporciones celulares fueron transformadas con el arcoseno y la razón H/L por medio de la raíz cuadrada. Aquellos datos que no cumplieran con los supuestos de normalidad y homocedasticidad fueron analizados en sus unidades originales bajo estadística no paramétrica.

Las evaluaciones para probar diferencias entre grupos de estudio se realizaron por medio de las pruebas paramétricas de t-Student ó análisis de varianza (ANOVA), y las pruebas no paramétrica de U de Mann Whitney y de Kruskall Wallis según correspondiera. Posterior a los ANOVA se realizaron pruebas de comparaciones múltiples de Tukey. Un análisis de varianza por factores, ANOVA factorial, fue empleado para evaluar el efecto de la interacción entre los factores “estación” y “año” en la concentración de lípidos de las tortugas marinas capturadas en BMA. Dicho análisis no pudo ser realizado para las demás zonas por no contar con datos de ambas estaciones (PAO) ó años (LSI). En todas las

variables del estudio se evaluaron diferencias entre la apariencia física de los individuos (sanas y lesionadas), clases de talla (juveniles, subadultos y adultos), estación (verano e invierno), año (2005, 2006 y 2007) y zona de estudio (PAO, BMA, LSI) en ese orden. Cuando una variable mostraba diferencias significativas en algún factor, fue evaluada considerando los grupos de estudio por separado en los análisis subsecuentes. El uso de la estadística univariada tuvo como objetivo caracterizar y generar datos de referencia de las distintas variables fisiológicas y de contaminantes por los grupos de estudio de interés.

Los coeficientes de correlación de Pearson ó Spearman fueron utilizados, según correspondiera, para evaluar la correlación de cada una de las variables fisiológicas con el tiempo de manipulación, las variables morfométricas (peso, LRC), condición corporal (*Krel*) y contaminantes químicos (elementos traza y OC) de los individuos, por zona de estudio. El tiempo de manipulación de las tortugas marinas se definió como los minutos transcurridos entre el momento de la captura del individuo y el momento en que se tomó la muestra sanguínea. Además, la concentración de VTG se correlacionó con la concentración de los dos esteroides sexuales y con la  $T_4$  por zona de estudio.

Todos los resultados fueron considerados como significativos con un valor de  $\alpha \leq 0.05$ . Los análisis estadísticos fueron realizados por medio del paquete Statistica v.7 (StatSoft, Inc., 2004) y R v.2.11.1 (R Development Core Team, 2010).

### **6.5.1. Plaguicidas organoclorados (OC).**

Debido a que los datos de OC presentaron una distribución asimétrica positiva, como resultado del número de datos no detectados, se utilizó un método de estimación robusto propuesto por Helsel (1990) para el manejo de datos no detectados y la estimación robusta de estadísticos descriptivos. Estos métodos combinan las concentraciones observadas mayores al límite de detección con datos extrapolados a partir de las mismas, asumiendo un tipo de distribución normal para la estimación de los estadísticos. Los datos extrapolados no pueden ser considerados estimaciones para una muestra dada, simplemente son utilizados como una colección de datos para la estimación de los estadísticos. El procedimiento utilizado en este trabajo (“The probability plot procedure”) consistió en emplear el gráfico del modelo de dispersión que combina el logaritmo de las

---

concentraciones observadas de un plaguicida (mayores al límite de detección) en el eje  $y$ , con sus valores normalizados (NS, normal scores) calculados en el eje  $x$ . A partir de la ecuación lineal de dicha relación se estiman las concentraciones menores al límite de detección utilizando los NS generados para cada uno de los datos no detectados. Los NS fueron calculados por medio del paquete “outliers” versión 0.13-2 para R, v.2.11.1 (R Development Core Team, 2010). A partir de la colección de datos obtenida para cada plaguicida se estimaron la mediana como medida de tendencia central y el rango intercuartil (IQR, cuantil 0.25 – cuantil 0.75) como medida de variabilidad de los datos.

La estadística no paramétrica (U de Mann-Whitney y coeficiente de correlación de Spearman) fue empleada para evaluar diferencias en la concentración de los OC entre factores y su relación con el resto de las variables, utilizando las unidades originales de los datos y el valor del límite de detección en sustitución de aquellos datos no detectados. Sólo se realizaron evaluaciones estadísticas en aquellos OC que fueran detectados en al menos el 46% de las muestras analizadas, con la finalidad de conservar el poder de la prueba estadística (Helsel, 1990). Con la finalidad de incluir a la mayoría de los OC, se realizaron evaluaciones estadísticas también sobre las sumas de las concentraciones por grupos de OC ( $\Sigma$ HCH,  $\Sigma$ Ciclodienos,  $\Sigma$ Heptacloros y  $\Sigma$ DDT).

### **6.5.2. Estadística multivariada.**

El análisis de componentes principales (ACP) es una herramienta estadística que tiene como finalidad caracterizar la variación existente en un conjunto de datos y explicar, en términos de factores nuevos o componentes, la relación existente entre un gran número de variables (ambientales o biológicas) correlacionadas (co-variantes) y difíciles de interpretar. El objetivo principal del ACP es explicar la mayor variación posible de los datos con, idealmente, la menor cantidad de componentes posibles (Kleinbaum y Kupper, 1978; Horak y Cohen, 2010). El análisis puede utilizarse, a su vez, como herramienta exploratoria para la detección de datos extremos (Smith, 2002; Horak y Cohen, 2010). Los componentes, conceptualmente significativos e idealmente no correlacionados entre sí (ortogonales), estarán correlacionados con las variables originales permitiendo así su interpretación. El primer componente extraído explicará la mayor proporción posible de la

---

variación total de los datos. El segundo componente, ortogonal al anterior, explicará la mayor cantidad posible de la variación restante de los datos y así consecutivamente. El número de componentes extraídos representarán la mayor variación posible de los datos en distintos ejes ortogonales (componentes extraídos), generando una dimensionalidad al sistema en estudio. Esto permite identificar cuántos procesos independientes se requiere considerar para poder entender el grupo de datos (Horak y Cohen, 2010). El análisis de factores, a través de los factores iniciales obtenidos con el ACP, generará nuevas variables que podrán correlacionarse con variables biológicas y ser utilizadas para explicar procesos complejos que ninguna de las variables originales podría describir por sí misma. Este análisis puede hacer uso de algoritmos que permiten la rotación de los ejes con la finalidad de facilitar la interpretación de los factores, en términos de las variables originales (Kleinbaum y Kupper, 1978; Horak y Cohen, 2010).

En este estudio se eligió el ACP como prueba multivariada con la finalidad de evaluar y describir tres aspectos: 1) la existencia de patrones regionales en el estado fisiológico de las tortugas marinas y en la distribución de la concentración de los contaminantes químicos (elementos traza y OC); 2) patrones individuales y/o estacionales en el estado fisiológico observado en los individuos; y 3) para identificar al grupo de variables fisiológicas sensibles a la combinación de los distintos contaminantes químicos evaluados, con la intención final de identificar posibles marcadores útiles del estado de salud de la tortuga verde. En los análisis multivariados no pudo integrarse a LSI por no contar con datos suficientes para completar las bases de datos.

Debido a que no todas las tortugas marinas contaron con la información completa de todas las variables de salud y/o concentración de contaminantes, y considerando cada uno de los objetivos enumerados anteriormente, se tuvieron que generar distintos ACP a partir de diferentes arreglos de los datos, cada uno de los cuales integró información distinta. El arreglo de los datos incluyó a las variables de salud y de contaminantes (columnas) organizadas por cada uno de los individuos capturados (renglones). El primer arreglo incluyó a los individuos capturados tanto en BMA como PAO y estuvo conformado únicamente por la condición corporal, la concentración de TBARS, la actividad de las enzimas antioxidantes y la concentración de los contaminantes químicos. Con estos datos

---

se evaluaron diferencias regionales en la respuesta antioxidante y en la concentración de contaminantes. El segundo arreglo de datos incluyó únicamente a individuos capturados en PAO, éste, con excepción de la cuenta leucocitaria, logró integrar la concentración de contaminantes químicos y a todas las variables de salud del estudio (39 variables): condición corporal *Krel*, bioquímica sanguínea, concentración de hormonas, VTG y TBARS, y actividad de las enzimas antioxidantes. Dicho arreglo permitió evaluar patrones temporales e individuales del estado de salud de las tortugas verdes de PAO.

Finalmente, para evaluar el efecto de la combinación de los contaminantes presentes en los individuos sobre las variables fisiológicas, se realizó un ACP por zona de estudio por separado utilizando únicamente los datos de la concentración de los contaminantes. A partir de los valores factoriales (“factor scores”) calculados por dicho análisis para cada uno de los individuos, se realizaron correlaciones entre los factores (combinación lineal de todos los contaminantes químicos) y cada una de las variables de salud.

Todos los ACP se realizaron por medio del paquete estadístico Statistica v.7 (StatSoft, Inc., 2004). El análisis consideró únicamente componentes principales (CP) con eigenvalores  $>1.0$ . Se consideraron como significativas las cargas factoriales (“factor loadings”)  $>0.52$ . Las correlaciones entre los factores y las variables fisiológicas se realizaron utilizando el paquete R v.2.11.1 (R Development Core Team, 2010).



## 7. RESULTADOS

### 7.1. Estructura poblacional, CPUE y condición corporal.

Durante el periodo 2005-2007 se capturaron 118 tortugas marinas (*Ch. mydas*) con un esfuerzo de muestreo de 397.65 horas considerando las tres zonas de estudio. Se capturaron 53 tortugas verdes en PAO, 12 en LSI y 50 en BMA. PAO fue la zona donde la CPUE fue mayor seguida de LSI (Tabla II). BMA es la zona en la que se invirtió el mayor esfuerzo de muestreo (79.5%) y en donde se capturaron tortugas verdes en los tres años de estudio y en ambas estaciones (verano, invierno). En PAO se realizaron salidas al campo durante los años 2005 y 2006, obteniéndose organismos en invierno únicamente en el 2005. En LSI se capturaron organismos durante el verano del 2006 obteniéndose únicamente tortugas verdes juveniles.

El tiempo transcurrido entre la captura de los animales y su liberación fue de 20-195 minutos en PAO, de 100-585 minutos en LSI y de 5-840 minutos en BMA (Fig. 4). El 51% (n=44) de las tortugas verdes fueron liberadas entre 5 y 140 minutos después de su captura. El tiempo de manipulación empleado con los organismos fue significativamente menor en las tortugas verdes capturadas en PAO en comparación con LSI y BMA ( $H_{(2,60)}=12.8$ ,  $p=0.001$ ), entre las cuales no hubo diferencia significativa.

La categoría de edad predominante durante todo el periodo de estudio fue la de los juveniles (PAO 70%; LSI 100%; BMA 88%) seguida de los subadultos (PAO 25%; BMA 12%) (Fig. 3a). La talla promedio, LRC, de las tortugas capturadas en PAO fue de  $62.8 \pm 11.4$  cm (43.9-92.4 cm) y el peso promedio  $38.2 \pm 23.4$  kg (11.3-107.9 kg). En LSI el LRC promedio fue de  $49.3 \pm 6.9$  cm (39.7-62.2 cm) y el peso promedio de  $18.2 \pm 7$  kg (10-32 kg). En BMA el LRC y el peso promedio fueron  $56.2 \pm 8.96$  cm (40.4-80.3 cm) y  $28.2 \pm 15.5$  kg (4.7-68.1 kg) respectivamente. En PAO se capturaron las tortugas verdes con mayor intervalo de talla incluyendo los tres organismos adultos (>85 cm LRC) capturados en todo el estudio. Por el contrario, en LSI se capturaron a los individuos más pequeños incluida la tortuga de menor talla registrada (39.7 cm LRC) (Fig. 3b).

En las tres zonas se capturaron tortugas sanas y lesionadas (Fig. 5). De los 115 organismos evaluados en este estudio, el 47% (n=54) fueron considerados organismos sanos y el 39% (n=45) de los especímenes presentaron lesiones o ectoparásitos; del resto de

---

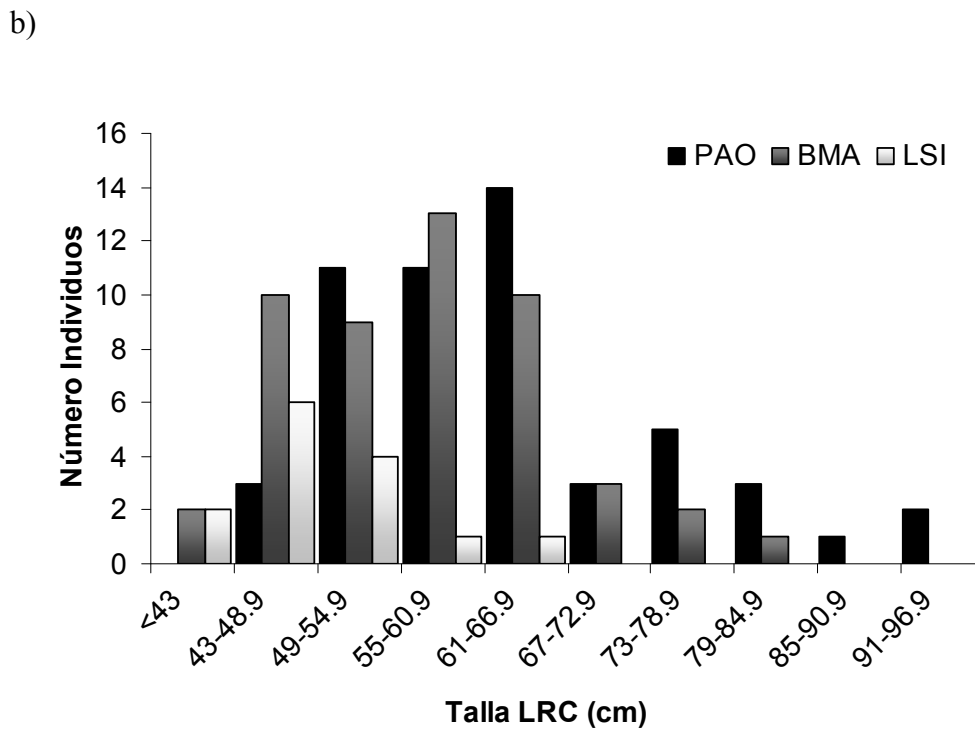
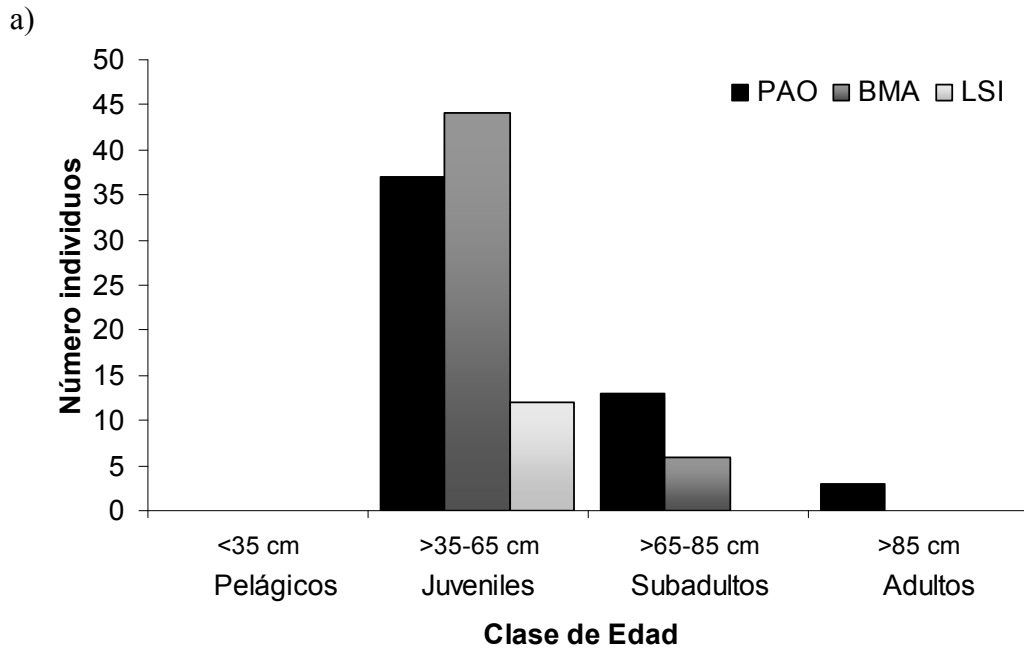
los individuos no se tuvo información del estado físico ( $n=7$ ). No se encontraron diferencias estacionales ( $F_{(1,8)}=4.51$ ,  $p=0.06$ ) ó anuales ( $F_{(2,6)}=1.18$ ,  $p=0.36$ ) en el número de organismos sanos o lesionados observados. Tampoco se detectaron diferencias significativas en el número de organismos entre categorías de salud ( $F_{(1,8)}=0.36$ ,  $p=0.56$ ) y no se encontró un efecto a la frecuencia observada de tortugas sanas y lesionadas por la estación ( $F_{(1,8)}=0.56$ ,  $p=0.56$ ) o año de captura ( $F_{(2,6)}=0.88$ ,  $p=0.45$ ).

Durante el exámen visual de las tortugas marinas se encontró como característica predominante la presencia de balanos y en menor grado de algas, ambos localizados en el caparazón, aletas, plastrón, boca y ojos. En 17 tortugas marinas (15% de los organismos) se encontró evidencia de heridas recientes como rasguños, cortaduras y hematomas en el cuerpo, aletas o caparazón. Ninguno de los ejemplares presentó signos de fibropapiloma. Se identificaron ectoparásitos con forma de gusanos en las aletas de un solo individuo capturado en BMA. No se observó evidencia de heridas ocasionadas durante la captura o generadas por la red de pesca.

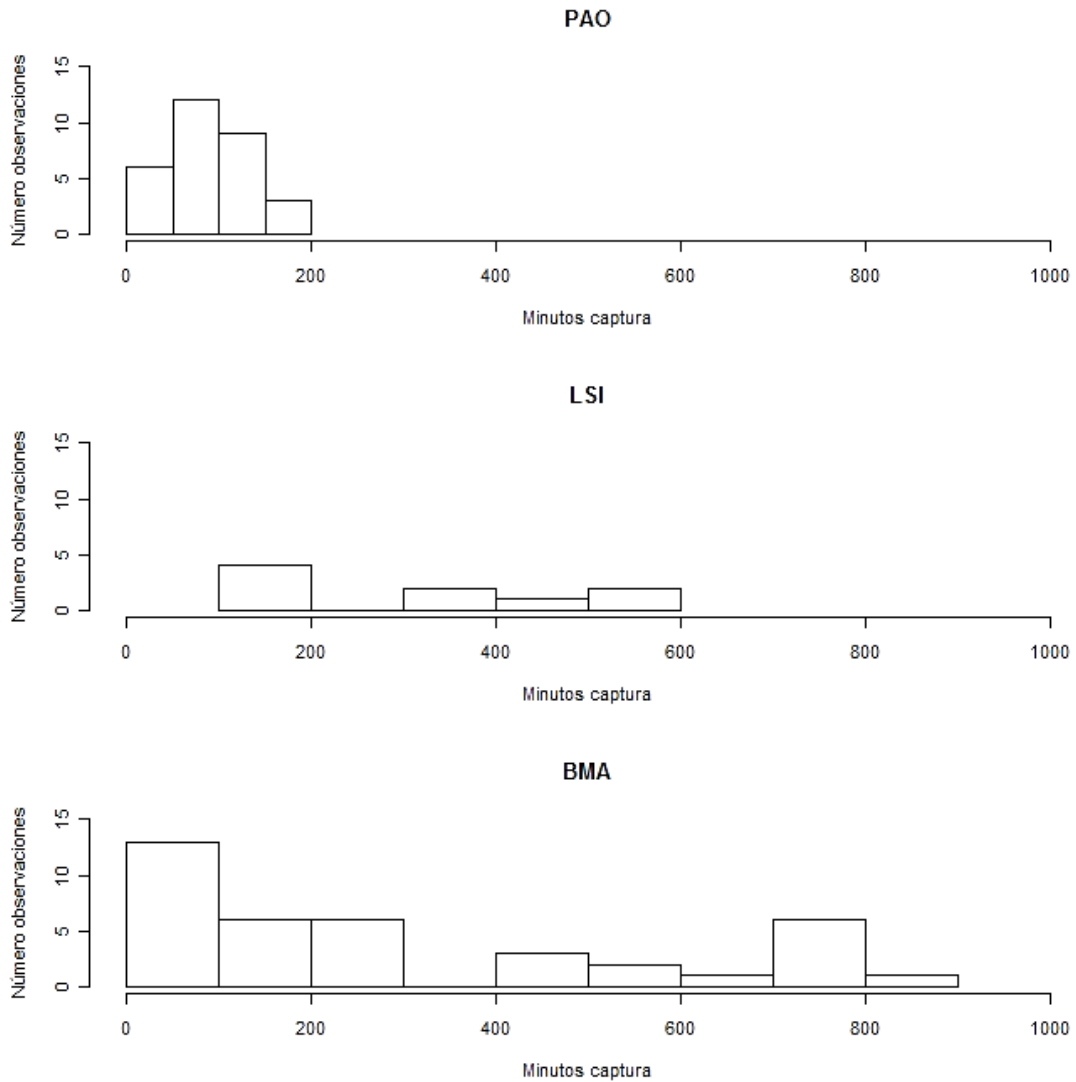
**Tabla II.** Número de tortugas verdes (*Chelonia mydas*) capturadas y captura por unidad de esfuerzo (CPUE) durante el periodo 2005-2007.

	Número de tortugas		% Recapturas	Número de salidas	Unidades esfuerzo	CPUE anual	CPUE por zona
	Capturas	Recapturas					
Punta Abreojos							
2005	41	0	NA	4	37	1.11	
2006	12	0	NA	2	15.65	0.77	
2007	0	0	NA	1	ND	ND	
Total	53		NA		52.65		1.01
Laguna San Ignacio							
			NA				
2005	NA	NA	NA	0	NA	NA	
2006	12	0	NA	3	29	0.41	
2007	NA	NA	NA	0	NA	NA	
Total	12				29		0.41
Bahía Magdalena							
2005	16	0	NA	5	98	0.16	
2006	15	2	3.8	5	85	0.21	
2007	19	0	NA	7	133	0.14	
Total	50				316		0.17

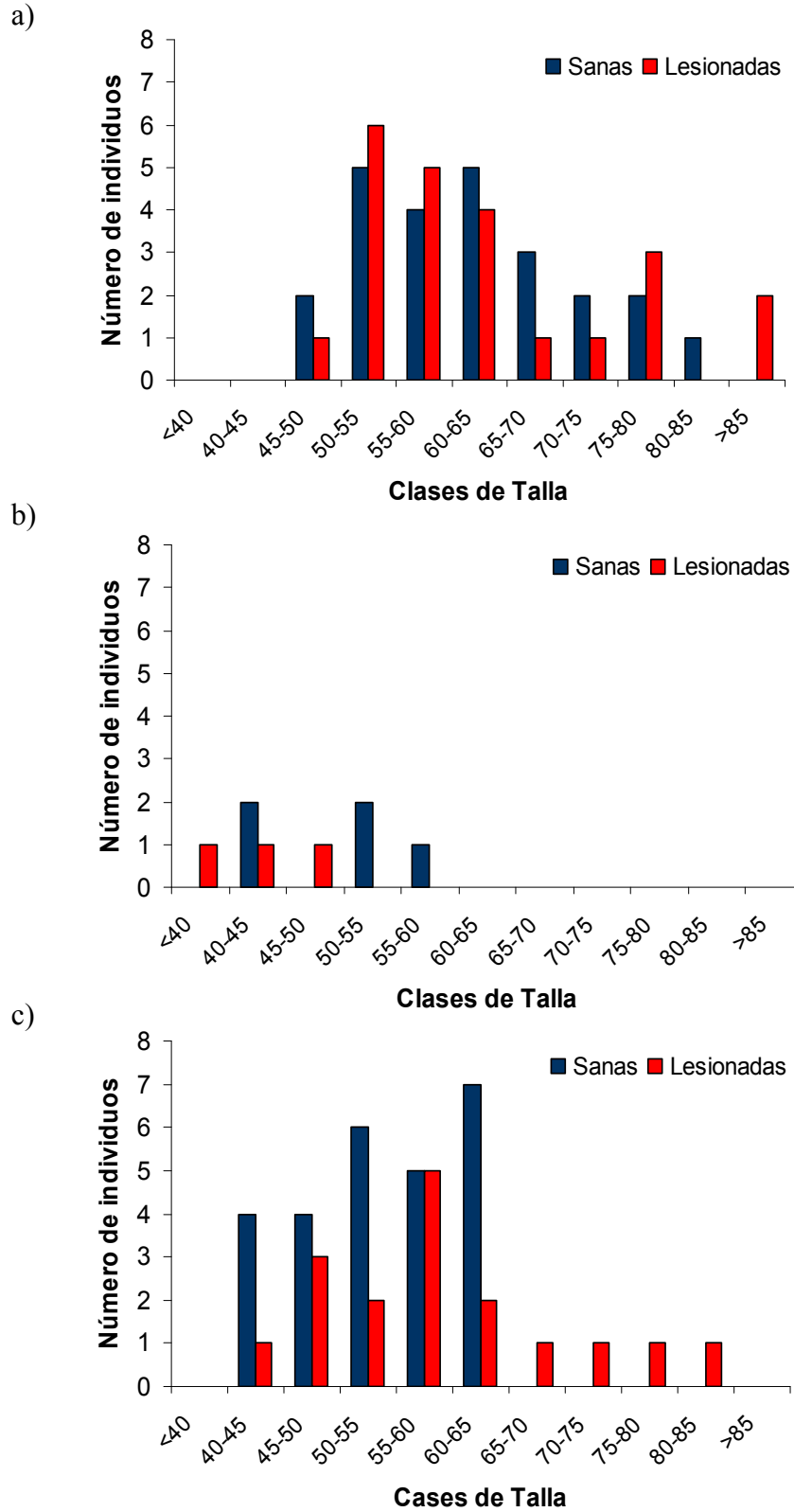
Abreviaturas: NA, no aplica; ND, no dato.



**Figura 3.** Número de tortugas verdes (*Chelonia mydas*) capturadas por a) clases de edad y b) rangos de talla. PAO=Punta Abreojos; LSI=Laguna San Ignacio; BMA=Bahía Magdalena.



**Figura 4.** Tiempo de manipulación de los individuos capturados de tortuga verde (*Chelonia mydas*) por zona de estudio. PAO=Punta Abrejos; LSI=Laguna San Ignacio; BMA=Bahía Magdalena.



**Figura 5.** Número de tortugas verdes (*Chelonia mydas*) sanas y lesionadas por clases de talla en a) Punta Abrejos, b) Laguna San Ignacio y c) Bahía Magdalena.

---

### 7.1.1. Factor de condición corporal estacional y anual.

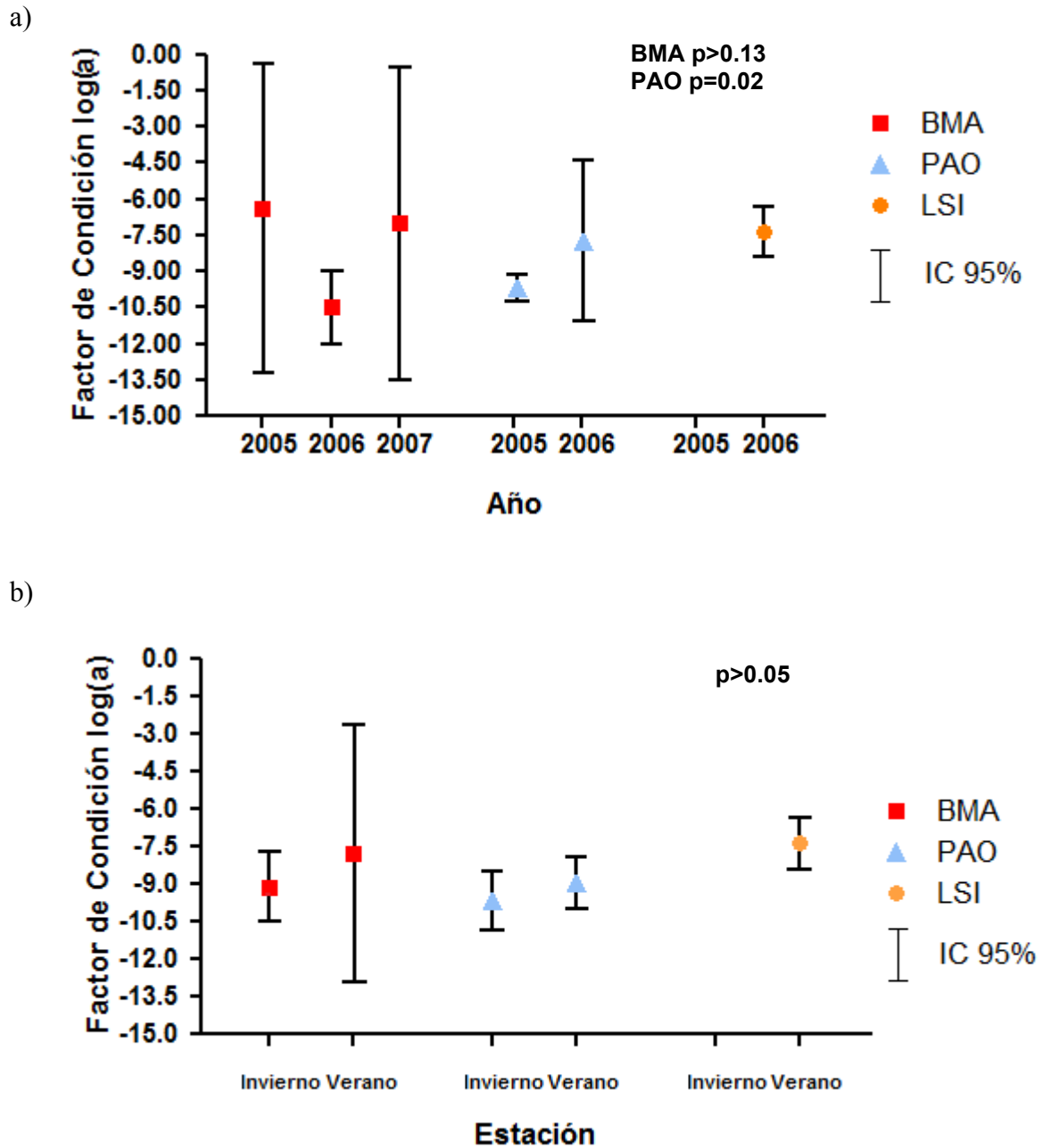
Se presentan los valores estimados del factor de condición de las tortugas marinas junto con los modelos correspondientes de la relación peso y talla por estación, año y zona de captura (Tabla III). Únicamente se encontraron diferencias significativas en la condición corporal de las tortugas verdes de PAO, siendo mayor durante el 2006 en comparación con las capturadas en el 2005 ( $p=0.02$ ) (Fig. 6a). En BMA, aunque no fue significativa la diferencia estadística, la condición corporal de las tortugas capturadas durante el 2006 disminuyó 98 y 96 veces en comparación con los años 2005 y 2007 respectivamente (Tabla III). Estacionalmente, en BMA y PAO se observa una tendencia de aumento, aunque no significativa, de la condición corporal de invierno a verano, siendo durante el verano 2 veces más alta en PAO y 4 veces mayor en BMA (Fig. 6b). La amplitud de los intervalos de confianza del factor de condición estimados refleja una gran variabilidad individual en el peso de las tortugas de BMA (Fig. 6).

**Tabla III.** Factor de condición anual y estacional en gramos ( $a \cdot 1000$ ) de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) obtenido de la relación peso (kg) y talla (cm) por zona de estudio.

Zona	Grupo	Relación Peso-Talla	$\log a$	IC 95%	Factor de condición corporal (g)	p	
<b>PAO</b>							
	<b>Año</b>	2005	$W = -9.68 + 3.19L$	-9.68	-10.18 a -9.19	0.06	0.02
		2006	$W = -7.72 + 2.73L$	-7.72	-11.03 a -4.42	0.44	
	<b>Estación</b>	Invierno	$W = -9.60 + 3.16L$	-9.60	-10.78 a -8.43	0.07	0.51
		Verano	$W = -8.93 + 3.01L$	-8.93	-9.96 a -7.91	0.13	
<b>LSI</b>							
	<b>Año</b>	2006	$W = -7.36 + 2.62L$	-7.36	-8.39 a -6.32	0.64	NA
	<b>Estación</b>	Verano	$W = -7.36 + 2.62L$	-7.36	-8.39 a -6.32	0.64	NA
<b>BMA</b>							
	<b>Año</b>	2005	$W = -6.36 + 2.4L$	-6.36	-13.14 a -0.42	1.73	0.13
		2006	$W = -10.47 + 3.38L$	-10.47	-11.96 a -8.99	0.03	
		2007	$W = -7.01 + 2.53L$	-7.01	-13.48 a -0.54	0.90	
	<b>Estación</b>	Invierno	$W = -9.11 + 3.05L$	-9.11	-10.50 a -7.72	0.11	0.63
		Verano	$W = -7.78 + 2.74L$	-7.78	-12.95 a -2.61	0.42	

Abreviaturas: PAO, Punta Abreojos; LSI, Laguna San Ignacio, BMA, Bahía Magdalena; IC, Intervalo de confianza; W, Peso; L, Talla; NA, no aplica.





**Figura 6.** Factor de condición  $\log a \pm$  intervalo confianza (IC, 95%) de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) obtenido de la relación peso (kg) y talla (largo recto caparazón LRC; cm) por a) año y b) estación de captura. PAO=Punta Abreojos; LSI=Laguna San Ignacio; BMA=Bahía Magdalena.

### 7.1.2. Índice relativo de condición corporal (*Krel*).

Los valores promedio de *Krel* y de la condición corporal estimada por medio del índice de Fulton se presentan en la Tabla IV de acuerdo a la apariencia física de los individuos. Las tortugas de LSI presentaron una condición corporal promedio menor, como resultado de su menor talla, aunque las diferencias entre zonas no fueron significativas ( $F_{(2,109)}=2.4$ ,  $p=0.09$ ).

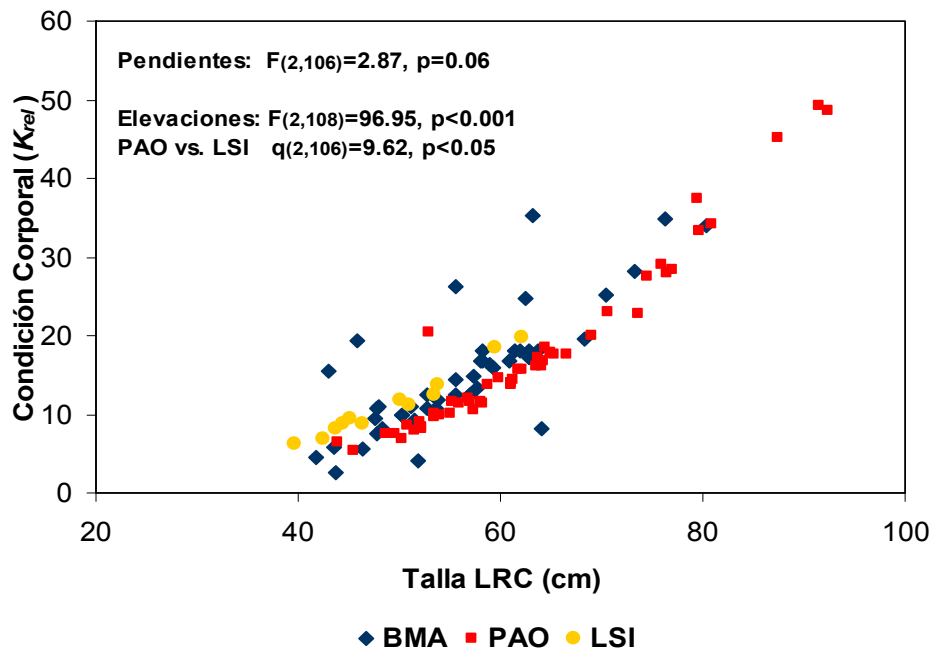
No se encontraron diferencias significativas entre zonas en la tasa de cambio de *Krel* por centímetro de LRC (pendientes:  $F_{(2,16)}=2.87$ ,  $p=0.06$ ). Sin embargo, se encontraron diferencias significativas en la condición corporal de las tortugas verdes de PAO y LSI (elevaciones:  $F_{(2,108)}=96.95$ ,  $p<0.001$ ), en donde a una misma talla los individuos de PAO presentaron una menor condición corporal en comparación con las de LSI (Fig. 7).

Al considerar la apariencia física de los individuos se observa una *Krel* menor en las tortugas verdes lesionadas en comparación con las sanas (Fig. 8), siendo significativas dichas diferencias en las tortugas verdes de PAO y BMA (elevaciones:  $p<0.01$ ) (Fig. 8). Los datos de LSI no fueron evaluados estadísticamente por no ser suficientes. Las tortugas verdes lesionadas de PAO presentaron además, una pendiente significativamente menor en comparación con los individuos sanos (pendientes:  $p<0.001$ ), lo cual indica que en PAO las tortugas lesionadas presentaron un menor incremento en su condición corporal individual por centímetro de LRC (Fig. 8a).

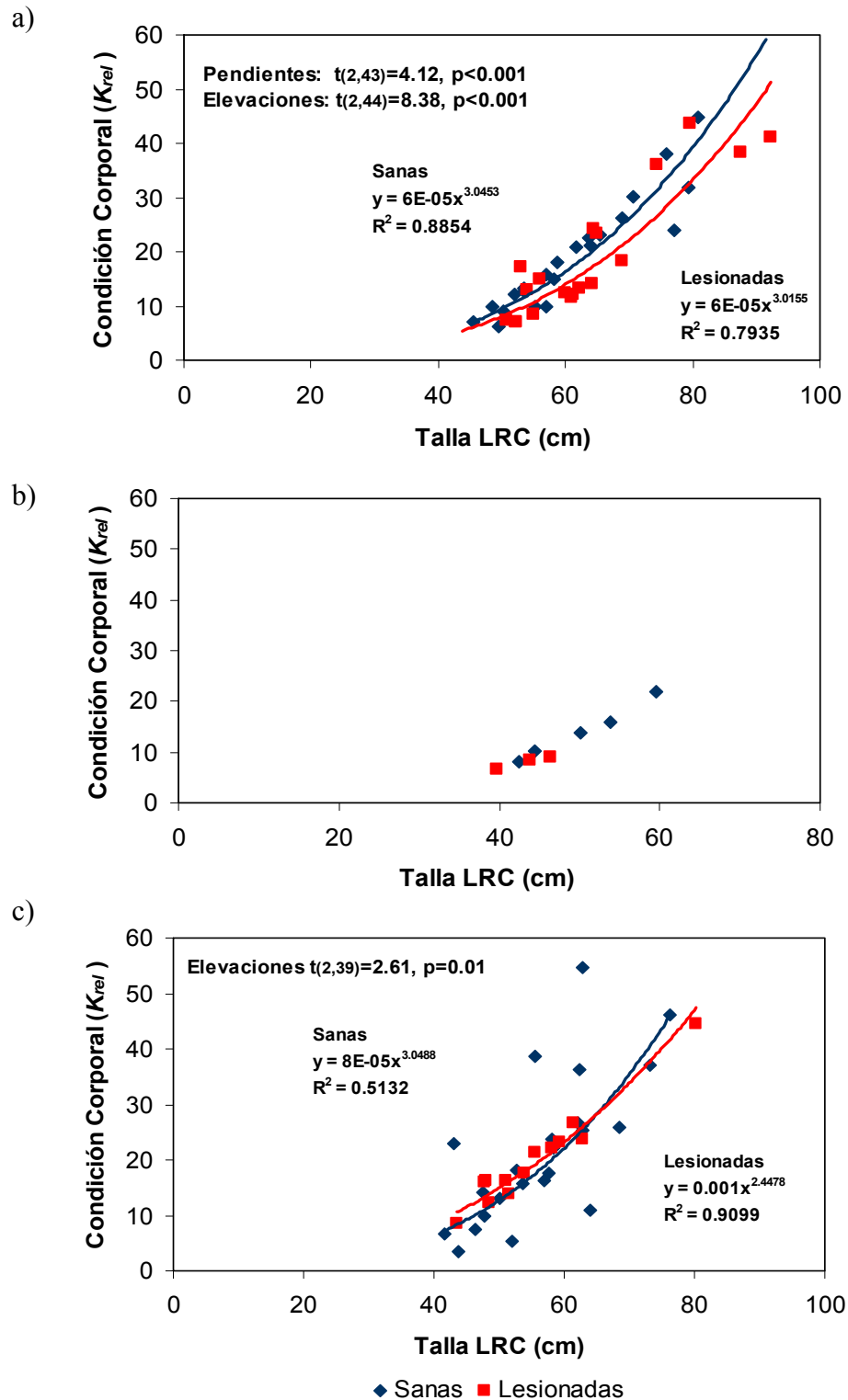
**Tabla IV.** Índice relativo de condición corporal (*Krel*) e índice de Fulton de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) estimado por zona de estudio y apariencia física de los individuos.

Zona	Apariencia física	<i>Krel</i>		n
		Media ± DE	Fulton	
PAO	Sanas	21.56 ± 10.55	1.37 ± 0.08	24
	Lesionadas	15.58 ± 10.00	1.42 ± 0.34	23
LSI	Sanas	14.03 ± 5.30	1.47 ± 0.07	5
	Lesionadas	7.96 ± 1.31	1.52 ± 0.10	3
BMA	Sanas	22.59 ± 11.89	1.67 ± 0.60	25
	Lesionadas	20.91 ± 12.66	1.34 ± 0.68	17

Abreviaturas: PAO, Punta Abreojos; LSI, Laguna San Ignacio, BMA, Bahía Magdalena; DE, desviación estándar.



**Figura 7.** Relación entre el índice relativo de condición corporal (*Krel*) y la talla (LRC) de las tortugas verdes (*Chelonia mydas*) por zona de estudio. PAO=Punta Abreojos; LSI=Laguna San Ignacio; BMA=Bahía Magdalena.



**Figura 8.** Relación entre el índice relativo de condición corporal ( $K_{rel}$ ) y la talla (LRC) de las tortugas verdes (*Chelonia mydas*) por apariencia física en a) Punta Abreojos, b) Laguna San Ignacio y c) Bahía Magdalena.

## 7.2. Bioquímica sanguínea.

La bioquímica sanguínea se realizó en un total de 77 muestras de suero correspondientes a 43 tortugas marinas de PAO, 24 de BMA y 10 capturadas en LSI. No se pudo realizar el análisis de la química sanguínea en 38 especímenes por ser insuficiente la muestra para el análisis ó por estar hemolizado el suero.

El 68% de las muestras sanguíneas de las que se tuvo dato ( $n=60$ ) fueron tomadas dentro de los primeros 200 minutos (3.3 h) posteriores a la captura de la tortuga marina. Durante dicho periodo se observó una gran variación individual en los parámetros bioquímicos, incluso entre muestras tomadas en el mismo lapso. En PAO ( $n=27$ ) la concentración de creatinina se correlacionó positivamente con el tiempo de manipulación de los individuos ( $r=0.60$ ,  $p<0.01$ ), mientras que la actividad de la fosfatasa alcalina ( $r=-0.39$ ,  $p=0.03$ ) y de la AST ( $r=-0.40$ ,  $p=0.03$ ) lo hicieron negativamente. En individuos de LSI ( $n=6$ ) la concentración de K, Ca, proteínas totales, globulina, fósforo inorgánico y la actividad de la AST ( $p<0.03$ ) presentaron una correlación positiva, y la concentración de las albúminas y la tasa A/G una correlación negativa con el tiempo de manipulación ( $p<0.03$ ). En los individuos capturados en BMA ( $n=22$ ) la concentración de glucosa se correlacionó positivamente con el tiempo de manipulación ( $r=0.58$ ,  $p<0.01$ ) y la concentración de triglicéridos se correlacionó negativamente con el mismo ( $r=-0.60$ ,  $p<0.01$ ).

Se presentan los parámetros bioquímicos por apariencia física de los individuos capturados por zona de estudio (Tabla V). En PAO las tortugas lesionadas presentaron menores niveles de Ca ( $p<0.001$ ), K ( $p<0.01$ ), fósforo inorgánico ( $p=0.02$ ) y mayor actividad de la enzima colinesterasa ( $p<0.001$ ) en comparación con las tortugas sanas (Tabla V). Aunque no fue significativo, las tortugas lesionadas presentaron una actividad de la enzima ALT 1.5 veces mayor, y concentración de ácido úrico 2 veces más elevada en comparación con los individuos sanos. En LSI no fue posible evaluar diferencias en la creatinina y la enzima colinesterasa por el reducido tamaño de muestra y no existen datos para realizar comparaciones entre estaciones o años. En esta zona, la concentración de ácido úrico fue mayor en las tortugas lesionadas en comparación con las sanas ( $p<0.04$ ). Las tortugas verdes de BMA no presentaron diferencias significativas en ninguna variable

bioquímica. Sin embargo, los organismos lesionados presentaron una concentración de ácido úrico 2 veces mayor y actividad de la enzima ALT 1.4 veces más elevada que los individuos sanos (Tabla V).

Al evaluar diferencias en los parámetros bioquímicos por clases de talla (Tabla VI) se observa que las tortugas adultas capturadas en PAO presentaron las concentraciones más elevadas de triglicéridos ( $p=0.02$ ) en comparación con juveniles y subadultos. Los adultos de PAO presentaron además niveles de proteínas totales 1.2 veces más elevados y de actividad de la enzima ALT 2.5 veces mayor en comparación con los juveniles (Tabla VI). En BMA, donde sólo fue posible evaluar diferencias entre juveniles y subadultos, se encontró una mayor concentración de glucosa ( $p=0.003$ ) en los juveniles. Los subadultos presentaron una mayor actividad de las enzimas AST (1.5 veces mayor) y ALT (2 veces mayor) en comparación con los juveniles (Tabla VI).

Durante el verano, las tortugas verdes capturadas en PAO presentaron mayores niveles de ácido úrico ( $p=0.01$ ), glucosa ( $p<0.01$ ), actividad enzimática de GGT ( $p<0.001$ ), K (en individuos sanos únicamente) ( $p=0.03$ ) y una menor concentración de Na ( $p<0.001$ ). En la misma estación en BMA, los organismos presentaron mayor concentración de lípidos (colesterol y triglicéridos) en comparación con las capturadas en invierno ( $p=0.04$ ). No se encontró una interacción significativa entre la estación y el año de captura ( $F_{(2,18)}=0.97$ ,  $p=0.39$ ); por lo tanto, el aumento de la concentración de lípidos durante el verano ocurrió en los tres años de estudio (Anexo 2).

En PAO se encontró que durante el 2006 los organismos presentaron mayores concentraciones de glucosa ( $p<0.001$ ), ácido úrico ( $p<0.001$ ), creatinina ( $p<0.001$ ), albúmina ( $p<0.001$ ) y una mayor razón A/G ( $p=0.02$ ). Durante ese mismo año se encontraron las concentraciones más bajas de globulinas ( $p=0.001$ ), fósforo inorgánico ( $p<0.01$ ), Na ( $p<0.01$ ), y menor actividad de las enzimas fosfatasa alcalina ( $p<0.001$ ), ALT ( $p<0.02$ ) y AST ( $p<0.001$ ). Los organismos lesionados presentaron menores concentraciones de Ca durante el 2006 ( $p=0.01$ ), diferencia no observada en los individuos sanos. Durante el 2007 no se capturaron tortugas en PAO por lo cual no se reportan resultados de los parámetros bioquímicos. Los individuos de BMA capturados durante el 2005 y 2006 presentaron mayores concentraciones de proteínas totales ( $p=0.04$ ), globulinas

---

( $p=0.02$ ), mayor actividad de la colinesterasa ( $p<0.001$ ) y menor actividad de la enzima ALT ( $p=0.02$ ). Durante el 2006 los organismos presentaron además mayor concentración de fósforo inorgánico ( $p=0.003$ ) (Anexo 3).

### **7.2.1. Diferencias entre zonas de estudio.**

Comparando los parámetros bioquímicos se encontró que las tortugas verdes de PAO presentaron la mayor concentración de colesterol ( $p=0.03$ ), colinesterasa ( $p<0.001$ ), proteínas totales ( $p<0.01$ ), albúminas ( $p<0.001$ ), razón A/G ( $p<0.01$ ), creatinina ( $p<0.001$ ) y Na ( $p<0.001$ ) en comparación a los ejemplares de BMA (Fig. 9). En LSI las tortugas tuvieron mayor actividad de la fosfatasa alcalina ( $p<0.001$ ) y mayor concentración de globulinas ( $p=0.03$ ) comparadas con las de BMA. Los organismos de BMA tuvieron mayor concentración de K ( $p<0.001$ ) y mayor actividad de la enzima GGT ( $p=0.01$ ) en comparación con los de PAO.

**Tabla V.** Parámetros de la química sanguínea de tortuga verde (*Chelonia mydas*) de Punta Abreojos, Laguna San Ignacio y Bahía Magdalena agrupados por apariencia física.

	Estado físico											
	Sanas				Lesionadas				Sin dato físico			
	Media	DE	Rango	n	Media	DE	Rango	n	Media	DE	Rango	n
<b>Punta Abreojos</b>												
<b>LRC (cm)</b>	63.3	8.9	48.6-80.9	20	64.5	12.1	50.2-92.4	19	64.4	19.8	43.9-91.5	4
<b>Proteínas totales (g/dL)</b>	5.53	1.30	1.16-7.39	19	5.51	0.98	3.90-7.94	19	5.82	0.79	4.70-6.51	4
<b>Albúmina (g/dL)</b>	1.20	0.33	0.79-2.00	19	1.37	0.45	0.69-2.10	18	1.25	0.34	0.79-1.60	4
<b>Globulina (g/dL)</b>	4.42	1.28	0.32-6.07	18	4.18	1.17	2.30-7.03	18	4.56	1.09	3.10-5.72	4
<b>Razón A/G</b>	0.40	0.56	0.15-2.61	18	0.37	0.20	0.13-0.74	18	0.30	0.16	0.14-0.52	4
<b>Alcalina Fosfatasa (U/L)</b>	46.27	22.89	5.25-112	20	37.34	27.27	0.00-91.07	19	51.79	33.03	2.84-74.51	4
<b>Colinesterasa (U/L)</b>	4005 <sup>a</sup>	422	3365-4652	18	4776 <sup>b</sup>	264	4277-5290	12	4426 <sup>a</sup>	762	3545-4869	3
<b>ALT (U/L)</b>	13.86	15.40	1.50-70.50	20	20.28	22.29	3.50-98	19	32.15	32.59	11-80	4
<b>AST (U/L)</b>	209	89.75	10.14-339	20	160	116	10.05-346	19	162	74.30	51.88-211	4
<b>GGT (U/L)</b>	0.74	1.17	0.003-2.50	7	2.11	1.69	0.01-5.28	18	0.84	0.97	0.04-2.10	4
<b>Potasio (mmol/L)</b>	5.36 <sup>a</sup>	1.63	3.05-8.95	19	3.88 <sup>b</sup>	1.00	2.60-6.65	19	4.40 <sup>a</sup>	1.57	3.10-6.60	4
<b>Sodio (mmol/L)</b>	160	11.39	144-184	8	160	18.29	142-211	14	177	21.80	155-198	3
<b>Creatinina (mg/dL)</b>	2.01	0.12	1.77-2.23	18	1.99	0.17	1.70-2.37	12	2.05	0.19	1.89-2.27	3
<b>Ácido Úrico (mg/dL)</b>	2.03	2.58	0.55-11.80	20	3.86	3.96	0.30-12.90	19	2.68	2.34	1.15-6.10	4
<b>Colesterol (mg/dL)</b>	170	46.26	96.50-239	19	162	48.47	81-279	19	158	44.1	109-195	3
<b>Triglicéridos (mg/dL)</b>	147	90.76	36-363	19	167	121	24-484	19	251	138	93.50-407	4
<b>Glucosa (mg/ dL)</b>	114	22.02	80.50-174	19	125	33.98	71.50-198	18	136	52.21	79-199	4
<b>Calcio (mg/dL)</b>	8.91 <sup>a</sup>	1.83	5.75-12.45	20	6.42 <sup>b</sup>	1.91	1.80-9.05	19	8.29 <sup>a</sup>	2.14	5.30-10	4
<b>Fósforo (mg/dL)</b>	13.36 <sup>a</sup>	6.12	0.64-27.60	18	8.75 <sup>b</sup>	3.61	1.77-14.40	18	11.91 <sup>a</sup>	5.21	5.88-17.10	4

(Continúa)



Tabla V (Continua)

	Estado físico											
	Sanas				Lesionadas				Sin dato físico			
	Media	DE	Rango	n	Media	DE	Rango	n	Media	DE	Rango	n
<b>Laguna San Ignacio</b>												
<b>LRC (cm)</b>	50.08	3.09	42.5-59.5	5	43.27	1.92	46.3-3.33	3	52.95	3.53	45.2-62.2	4
<b>Proteínas totales (g/dL)</b>	6.22	1.96	2.8-9.6	3	4.08	0.33	3.7-4.75	3	6.89	0.49	5.85-8	4
<b>Albúmina (g/dL)</b>	0.55	0.47	0.05-1.5	3	1.1	0.5	0.1-1.7	3	0.14	0.04	0.1-0.25	4
<b>Globulina (g/dL)</b>	5.67	2.38	1.3-9.5	3	2.98	0.84	2-4.65	3	6.75	0.48	5.75-7.9	4
<b>Razón A/G</b>	0.39	0.38	0.008-1.15	3	0.51	0.25	0.02-0.85	3	0.02	0.005	0.01-0.03	4
<b>Alcalina Fosfatasa (U/L)</b>	102.5	37.16	37.18-165	3	63.71	3.34	147-158	3	150	18.73	110-200	4
<b>Colinesterasa (U/L)</b>	3199	32.25	3167-3232	2	3402	NA	NA	1	3057	77.16	2909-3237	4
<b>ALT (U/L)</b>	20.29	0.41	19.5-20.87	3	24.83	7.62	12.89-39	3	23.62	2.18	19-29.5	4
<b>AST (U/L)</b>	139	62.48	14.87-211	3	112	94.94	13.32-302	3	224	16.05	200-268	4
<b>GGT (U/L)</b>	1.57	0.56	0.45-2.25	3	1.87	0.49	0.9-2.5	3	1.1	0.29	0.6-1.75	4
<b>Potasio (mmol/L)</b>	5.85	1.26	3.5-7.8	3	4.75	1.15	2.9-6.85	3	6.37	0.20	5.95-6.9	4
<b>Sodio (mmol/L)</b>	152	1.59	151-156	3	151	3.34	147-158	3	163	8.18	142-182	4
<b>Creatinina (mg/dL)</b>	1.97	0.07	1.9-2.05	2	2.2	NA	NA	1	2.06	0.07	1.85-2.15	4
<b>Ácido Úrico (mg/dL)</b>	4.23 <sup>a</sup>	0.69	3-5.4	3	6.23 <sup>b</sup>	1.01	4.5-8	3	2.51 <sup>a</sup>	0.82	1.2-4.85	4
<b>Colesterol (mg/dL)</b>	147	32.54	98-209	3	211	85.27	77.5-370	3	80.87	9.95	52-97.5	4
<b>Triglicéridos (mg/dL)</b>	151	39.74	85-222	3	167	46.51	114-260	3	130	27.26	79-178	4
<b>Glucosa (mg/ dL)</b>	142	8.41	127-156	3	139	11.94	116-157	3	131	9.91	118-160	4
<b>Calcio (mg/dL)</b>	6.45	0.97	4.5-7.5	3	6.65	1.18	5-8.95	3	6.91	0.69	5.75-8.8	4
<b>Fósforo (mg/dL)</b>	7.76	2	3.85-10.45	3	8.11	3.84	3.59-15.75	3	10.54	0.23	10.1-11.2	4

(Continua)

Tabla V (Continua)

Parámetro	Estado físico											
	Sanas				Lesionadas				Sin dato físico			
	Media	DE	Rango	n	Media	DE	Rango	n	Media	DE	Rango	n
<b>Bahía Magdalena</b>												
LRC (cm)	55.8	5.5	48-63.2	11	57.4	10.8	40.4-80.3	10	63.7	9.6	52.7-70.4	3
Proteínas totales (g/dL)	4.67	0.63	3.30-5.55	11	4.66	0.90	3.2-5.85	10	4.47	1.10	3.6-5.7	3
Albúmina (g/dL)	0.75	0.15	0.59-1.07	11	0.88	0.41	0.1-1.7	10	0.7	0.30	0.48-0.91	2
Globulina (g/dL)	3.92	0.60	2.65-4.65	11	3.781	1.01	2.00-5	10	4.2	0.83	3.61-4.78	2
Razón A/G	0.20	0.04	0.13-0.25	11	0.26	0.17	0.02-0.6	10	0.16	0.04	0.13-0.19	2
Alcalina Fosfatasa (U/L)	48.55	27.57	8.62-93.7	11	40.03	23.7	14.43-98.85	9	104.1	19.09	90.6-117	2
Colinesterasa (U/L)	2562	2700	306-7211	11	3134	2918	126-7452	8	4198	397	3942-4657	3
ALT (U/L)	19.86	10.15	6.00-43	11	28.681	23.98	3.5-78	10	25.5	16.97	13.5-37.5	2
AST (U/L)	205	39.63	156-300	11	168	102	17.52-341	10	189	41.01	160-218	2
GGT (U/L)	4.46	3.45	0.55-10.8	11	2.57	2.45	1.2-9.4	10	3.95	NA	NA	1
Potasio (mmol/L)	2.64	1.31	0.8-4.55	11	3.87	1.64	0.9-7.3	10	1.95	1.82	0.8-4.05	3
Sodio (mmol/L)	147	9.72	134-158	6	144	13.83	120-159	6	161	NA	NA	1
Creatinina (mg/dL)	1.66	0.48	0.53-2.1	11	1.44	0.58	0.5-1.85	8	1.018	0.87	0.51-2.03	3
Ácido Úrico (mg/dL)	1.56	0.95	0.35-3.5	11	3.01	2.60	0.75-8.5	10	2.03	1.68	0.55-3.85	3
Colesterol (mg/dL)	131	59.63	56-222	11	126	74.04	50.5-277	10	124	54.31	65-171	3
Triglicéridos (mg/dL)	115	65.26	40-263	10	165	84.44	38-311	10	181	118	72-307	3
Glucosa (mg/ dL)	143	35.13	92-206	11	116	32.19	73.5-164	10	102	28.02	74-130	3
Calcio (mg/dL)	8.00	0.83	7-9.8	11	7.5	1.61	5.5-10.55	10	7.23	1.05	6.05-8.05	3
Fósforo (mg/dL)	9.83	2.52	7.35-15.75	11	9.68	4.73	2.51-17.5	10	16.05	0.64	15.6-16.5	2

Abreviaturas: LRC, largo recto del caparazón; DE, desviación estándar; Razón A/G, razón albúmina/globulina; ALT, alanina aminotransferasa; AST, aspartato aminotransferasa; GGT, gamma glutamiltransferasa; NA, no aplica. Las letras en superíndices denotan diferencias estadísticamente significativas entre grupos  $p < 0.05$ .

**Tabla VI.** Parámetros de la química sanguínea de tortuga verde (*Chelonia mydas*) de Punta Abreojos y Bahía Magdalena agrupados por clases de talla.

	Clase de edad											
	Juveniles (>35-65 cm LRC)				Subadultos (>65-85 cm LRC)				Adultos (>85 cm LRC)			
	Media	DE	Rango	n	Media	DE	Rango	n	Media	DE	Rango	n
<b>Punta Abreojos</b>												
<b>Proteínas totales (g/dL)</b>	5.46	0.86	3.90-6.85	27	5.49	1.47	1.16-7.39	12	6.63	1.15	5.80-7.94	3
<b>Albúmina (g/dL)</b>	1.26	0.38	0.70-2.00	26	1.27	0.37	0.79-2.00	12	1.47	0.60	0.92-2.10	3
<b>Globulina (g/dL)</b>	4.28	1.03	2.30-5.80	25	4.21	1.41	0.32-6.08	12	5.16	1.70	3.70-7.03	3
<b>Razón A/G</b>	0.33	0.18	0.13-0.74	25	0.49	0.68	0.16-2.61	12	0.33	0.22	0.13-0.57	3
<b>Alcalina Fosfatasa (U/L)</b>	42.63	28.05	0.00-112	28	40.95	18.43	5.25-68.75	12	52.30	34.98	12.25-76.81	3
<b>Colinesterasa (U/L)</b>	4324	550	3365-5290	21	4245	558	3602-5181	10	4721	201	4579-4863	2
<b>ALT (U/L)</b>	18.84	20.72	3.50-98	28	10.10	6.98	1.50-21	12	47.43	34.50	11.28-80	3
<b>AST (U/L)</b>	191	111	10.05-346	28	169	74.90	10.14-264	12	167	131	18.7-271	3
<b>GGT (U/L)</b>	1.75	1.68	0.00-5.28	20	0.94	1.33	0.03-2.80	6	1.96	1.70	0.12-3.47	3
<b>Potasio (mmol/L)</b>	4.70	1.62	2.6-8.95	28	4.52	1.45	2.75-7.30	11	3.93	0.71	3.45-4.75	3
<b>Sodio (mmol/L)</b>	164	19.15	143-211	17	153	6.76	142-162	6	168	12.55	160-177	2
<b>Creatinina (mg/dL)</b>	1.97	0.13	1.70-2.25	21	2.01	0.11	1.88-2.23	10	2.32	0.07	2.27-2.37	2
<b>Ácido Úrico (mg/dL)</b>	2.64	2.67	0.30-9.90	28	3.06	4.40	0.30-12.90	12	4.58	4.58	1.2-9.80	3
<b>Colesterol (mg/dL)</b>	164	38.43	98-234	26	176	59.82	83-279	12	132	46.25	81-171	3
<b>Triglicéridos (mg/dL)</b>	144 <sup>a</sup>	83.62	24-363	28	181 <sup>a</sup>	134	36-484	11	318 <sup>b</sup>	160	133-415	3
<b>Glucosa (mg/ dL)</b>	123	31.19	80.50-199	27	119	32.17	71.5-198	12	164	116	79-298	3
<b>Calcio (mg/dL)</b>	7.52	2.17	1.8-10.5	28	8.17	2.41	4.00-12.45	12	8.32	2.15	5.9-10	3
<b>Fósforo (mg/dL)</b>	11.26	5.47	3.66-27.60	25	11.41	5.06	0.64-19.55	12	9.04	7.70	1.77-17.10	3

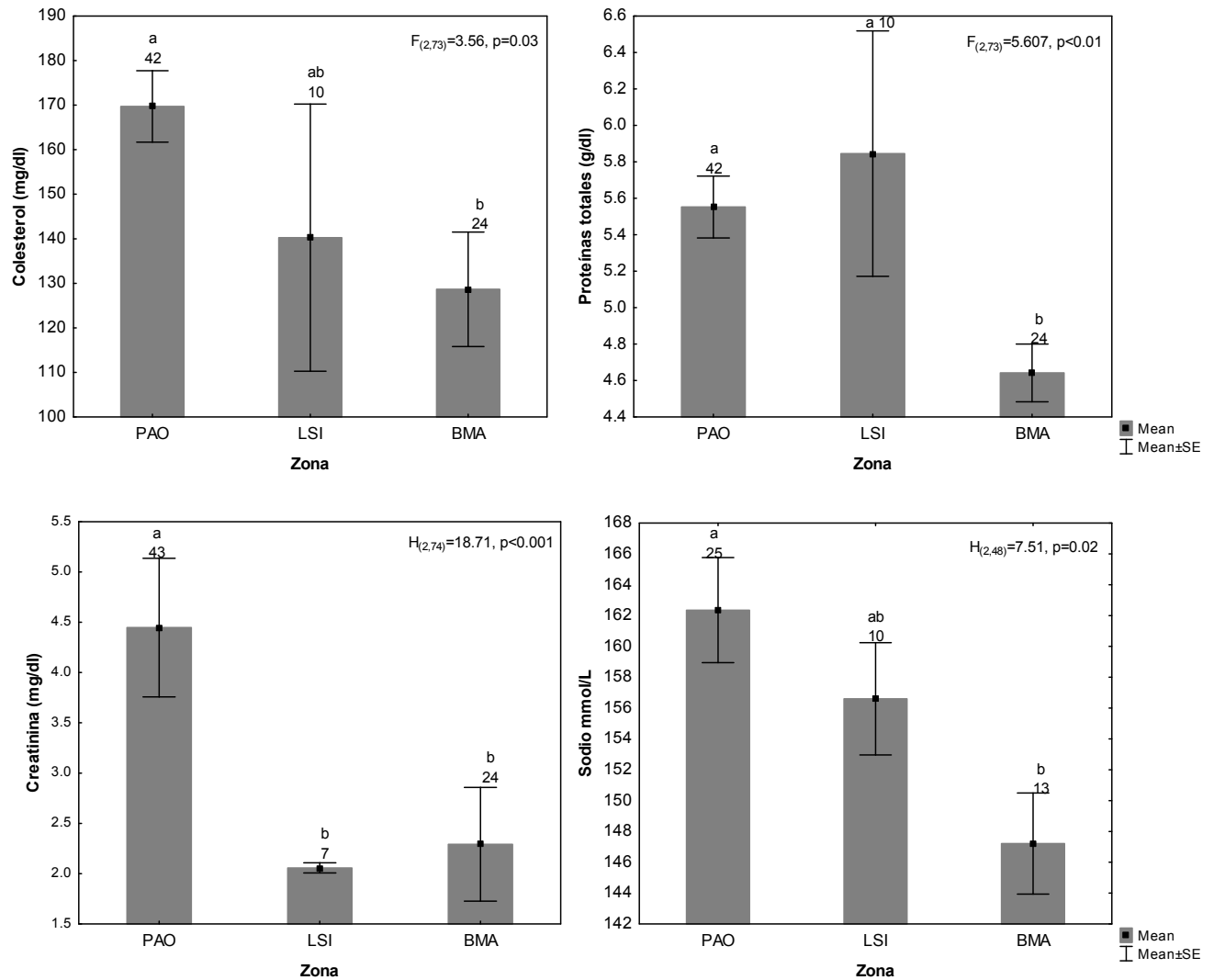
(Continúa)

Tabla VI (Continúa)

	Clase de edad							
	Juveniles (>35-65 cm LRC)				Subadultos (>65-85 cm LRC)			
	Media	DE	Rango	n	Media	DE	Rango	n
<b>Bahía Magdalena</b>								
Proteínas totales (g/dL)	4.65	0.76	3.2-5.85	21	4.58	1.06	3.6-5.7	3
Albúmina (g/dL)	0.81	0.31	0.1-1.7	21	0.71	0.29	0.5-0.915	2
Globulina (g/dL)	3.84	0.81	2.00-5.00	21	4.37	0.59	3.95-4.79	2
Razón A/G	0.23	0.12	0.02-0.60	21	0.16	0.05	0.13-0.19	2
Alcalina Fosfatasa (U/L)	47.70	27.33	8.62-93.85	20	74.33	61.20	31.05-117	2
Colinesterasa (U/L)	3032	2689	126-7452	19	2746	2119	299-3997	3
ALT (U/L)	22.28	17.22	3.5-78	21	44.25	9.55	37.5-51	2
AST (U/L)	179	68.28	17.52-300	21	280	86.97	218-341	2
GGT (U/L)	3.68	3.06	0.55-10.8	21	1.45	NA	NA	1
Potasio (mmol/L)	3.05	1.60	0.8-7.3	21	3.20	2.11	0.8-4.75	3
Sodio (mmol/L)	146	11.62	120-159	11	148	17.92	136-161	2
Creatinina (mg/dL)	1.5	0.57	0.51-2.10	19	1.41	0.80	0.51-2.02	3
Ácido Úrico (mg/dL)	2.15	1.99	0.35-8.5	21	2.70	1.86	0.55-3.85	3
Colesterol (mg/dL)	128	65.13	50.5-277	21	127	55.50	65-171	3
Triglicéridos (mg/dL)	141	78.00	38-311	20	174	120	72-307	3
Glucosa (mg/dL)	133 <sup>a</sup>	34.26	73.5-206	21	88.33 <sup>b</sup>	15.04	74-104	3
Calcio (mg/dL)	7.80	1.25	5.5-10.55	21	6.97	0.81	6.05-7.6	3
Fósforo (mg/dL)	10.15	3.90	2.51-17.5	21	11.93	5.20	8.25-15.6	2

Abreviaturas: LRC, largo recto del caparazón; DE, desviación estándar; Razón A/G, razón albúmina/globulina; ALT, alanina aminotransferasa; AST, aspartato aminotransferasa; GGT, gamma glutamiltransferasa; NA, no aplica. Las letras en superíndices denotan diferencias estadísticamente significativas entre grupos  $p < 0.05$ .

No hay datos de adultos en Bahía Magdalena. Los datos de los juveniles capturados en Laguna San Ignacio se presentan en la Tabla V.



**Figura 9.** Parámetros de la química sanguínea de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) por zona de estudio. Los resultados se presentan como promedio  $\pm$  error estándar. Los números sobre cada columna denotan el tamaño del grupo. Las letras diferentes denotan diferencias significativas entre zonas ( $p<0.05$ ). PAO=Punta Abrejos; LSI=Laguna San Ignacio; BMA=Bahía Magdalena

### 7.2.2. Parámetros bioquímicos, morfometría y condición corporal (*Krel*).

En las tortugas verdes de PAO la concentración de proteínas totales y triglicéridos se correlacionaron positivamente con el LRC, el peso y el índice *Krel* ( $p < 0.05$ ) (Tabla VII, Fig. 10a). Un gran número de parámetros bioquímicos se correlacionaron positiva o negativamente con la talla y el peso de los individuos de LSI ( $p < 0.05$ ). En esta misma zona el índice *Krel* se correlacionó positivamente con la concentración de proteínas totales y globulinas, y negativamente con la concentración de creatinina ( $p < 0.05$ ) (Tabla VII). En BMA, la concentración de glucosa se correlacionó negativamente con el LRC y el peso de los individuos y la concentración de globulina se correlacionó positivamente con el LRC y peso de las tortugas ( $p < 0.05$ ) (Tabla VII). En PAO y BMA la concentración de Ca de los individuos se correlacionó positivamente con el índice *Krel* ( $p < 0.05$ ) (Fig. 10b).

### 7.3. Proporción leucocitaria.

Durante la cuenta leucocitaria diferencial no se observaron variaciones en los tipos celulares de aquellos descritos previamente en tortuga verde. Durante los conteos se observaron eritrocitos inmaduros en el 18.7% de los individuos ( $n=9$ ) y deshechos nucleares de los eritrocitos en 27% de los individuos ( $n=13$ ) de las tres zonas de estudio ( $n=48$ ) (Fig. 11).

Los resultados hematológicos se presentan como media  $\pm$  error estándar por estado físico y zona de estudio (Tabla VIII). El 50% ( $n=18$ ) de las muestras sanguíneas de donde se obtuvieron los frotis, fueron tomadas en un rango de 5 a 120 minutos ( $< 2$  h) después de la captura de las tortugas. El número y la proporción de linfocitos se correlacionaron negativamente con el tiempo de manipulación de los individuos capturados en BMA ( $r_s = -0.57$ ,  $p < 0.001$ ).

La proporción celular no presentó diferencias significativas al comparar los organismos sanos y los lesionados en ninguna zona de estudio. Debido al tamaño de muestra, únicamente pudieron compararse las proporciones celulares entre clases de talla con las tortugas marinas capturadas en PAO, no encontrándose diferencias significativas entre juveniles, subadultos y adultos. Estacionalmente, únicamente las tortugas verdes de BMA presentaron diferencias significativas en la proporción de eosinófilos, la cual resultó

---

ser mayor en los individuos capturados durante el verano ( $p=0.01$ ). Con relación a los años, únicamente las tortugas de PAO capturadas durante el 2005 presentaron una proporción de monocitos significativamente mayor en comparación con aquellas capturadas en el 2006 ( $p<0.001$ ).

### **7.3.1. Diferencias entre zonas de estudio.**

Las tortugas verdes de LSI presentaron una menor proporción de linfocitos ( $p<0.001$ ) y una mayor proporción de heterófilos ( $p<0.001$ ) en comparación con las capturadas en PAO y BMA, por lo cual la razón H/L de los individuos de LSI fue significativamente mayor ( $p<0.001$ ) a la observada en dichas zonas. Así mismo las tortugas de LSI presentaron menor proporción de monocitos ( $p=0.01$ ) en comparación con el resto de las zonas (Fig. 12).

### **7.3.2. Proporción leucocitaria, morfometría y condición corporal (*Krel*).**

Únicamente en LSI se correlacionó la proporción de linfocitos positivamente con el peso y la talla de los individuos ( $p<0.05$ ) (Tabla VII). La proporción celular no se correlacionó con la condición corporal de las tortugas verdes en ninguna zona de estudio.

**Tabla VII.** Coeficientes de correlación de Pearson ( $r$ ) entre los parámetros de salud y la talla (LRC), peso e índice de condición corporal ( $Krel$ ) de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) por zona de estudio.

Parámetro	Punta Abreojos								
	LRC (cm)			Peso (kg)			$Krel$		
	$r$	$p$	n	$r$	$p$	n	$r$	$p$	n
<b>Bioquímica</b>									
Proteínas totales (g/dL)	0.29	0.05	42	0.34	0.02	42	0.32	0.04	42
Triglicéridos (mg/dL)	0.43	<0.001	42	0.52	<0.01	42	0.41	0.01	42
Calcio (mg/dL)	NC			NC			0.34	0.03	43
<b>Hematología</b>									
<b>Vitelogenina</b>									
<b>Hormonas</b>									
<b>Defensas Antioxidantes</b>									

(Continúa)



Tabla VII. (Continua)

Parámetro	Laguna San Ignacio								
	LRC (cm)			Peso (kg)			Krel		
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>n</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>n</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>n</i>
<b>Bioquímica</b>									
Proteínas totales (g/dL)	0.76	0.01	10	0.74	0.01	10	0.95	<0.01	10
Albúmina (g/dL)	-0.64	0.04	10	-0.63	0.05	10	NC		
Globulina (g/dL)	0.77	<0.01	10	0.75	0.01	10	0.93	<0.01	10
Razón A/G	-0.64	0.04	10	-0.62	0.05	10	NC		
Potasio (mmol/L)	0.68	0.02	10	0.67	0.03	10	NC		
Creatinina (mg/dL)	-0.92	<0.01	7	-0.97	<0.001	7	-0.99	0.05	7
Ácido Úrico (mg/dL)	-0.78	0.03	10	-0.62	0.05	10	NC		
<b>Hematología</b>									
Linfocitos (%)	0.72*	0.02	9	0.79*	0.01	9	NC		
<b>Vitelogenina</b>									
	NC			NC			NC		
<b>Hormonas</b>									
	NC			NC			NC		
<b>Defensas Antioxidantes</b>									
	NC			NC			NC		

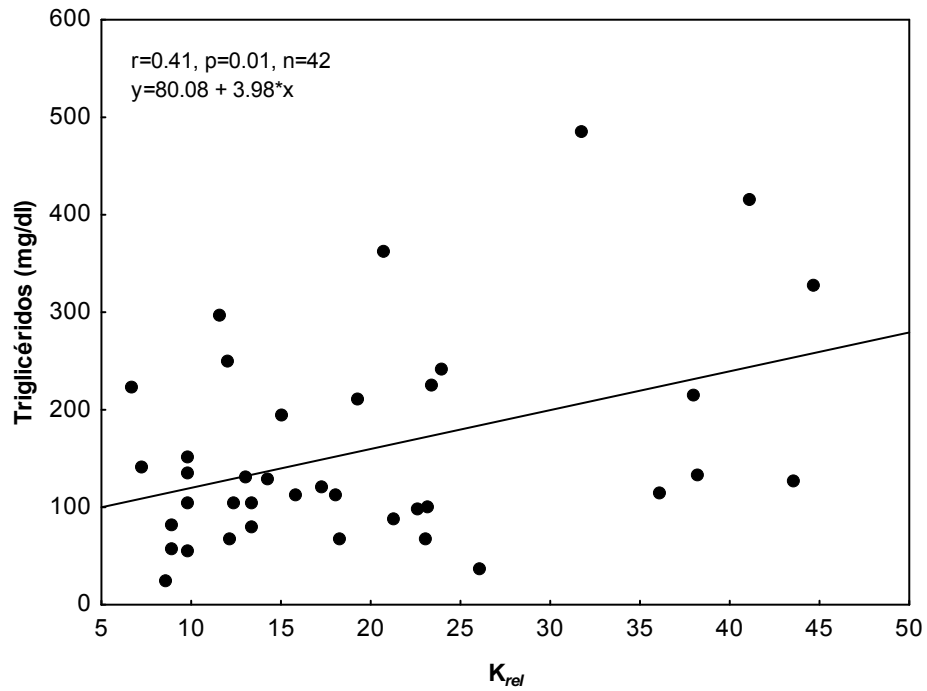
(Continua)

**Tabla VII. (Continúa)**

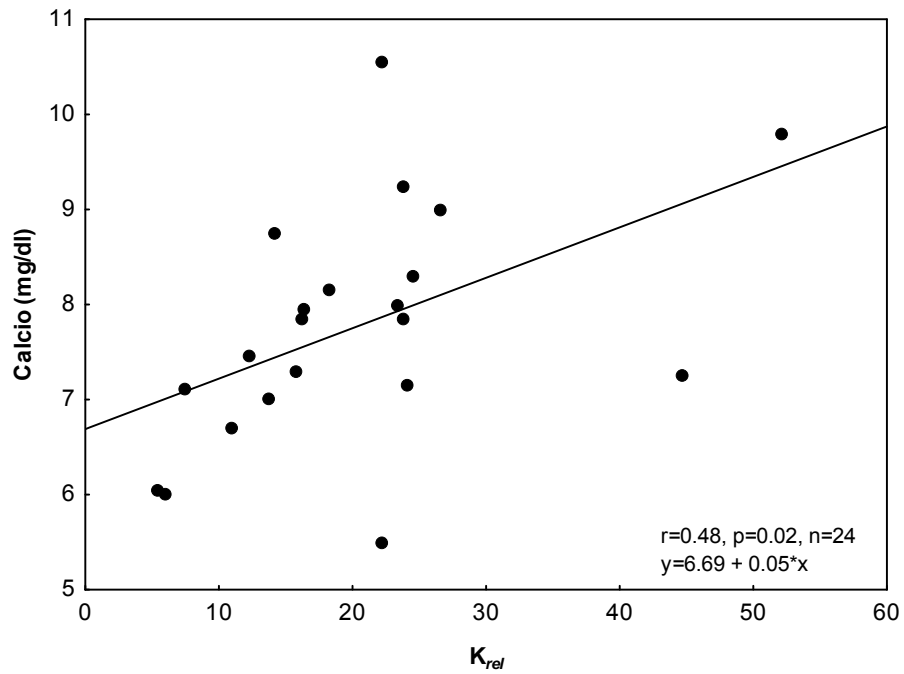
Parámetro	Bahía Magdalena								
	LRC (cm)			Peso (kg)			Krel		
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>n</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>n</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>n</i>
<b>Bioquímica</b>									
<b>Globulina (g/dL)</b>	0.40	0.05	23	0.45	0.03	23	NC		
<b>Glucosa (mg/dL)</b>	-0.46	0.02	24	-0.41	0.04	24	NC		
<b>Calcio (mg/dL)</b>	NC			NC			0.48	0.02	24
<b>Hematología</b>									
	NC			NC			NC		
<b>Vitelogenina</b>									
	NC			NC			NC		
<b>Hormonas</b>									
<b>Tiroxina (µg/100mL)</b>	-0.42*	0.04	22	-0.46*	0.02	22	NC		
<b>Defensas Antioxidantes</b>									
	NC			NC			NC		

Abreviaturas: LRC, largo recto del caparazón; Krel, índice relativo de condición corporal; \*, coeficiente de correlación de Spearman  $r_s$ ; NC, parámetros sin correlación estadísticamente significativa  $p < 0.05$ .

a)



b)



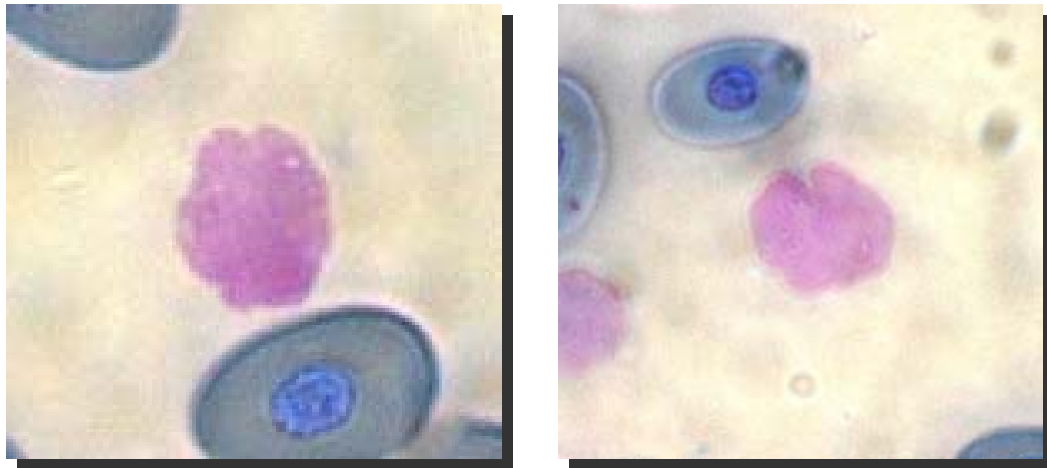
**Figura 10.** Relación entre la condición corporal ( $K_{rel}$ ) y la concentración de a) triglicéridos en Punta Abrejos y b) calcio en Bahía Magdalena de la tortuga verde (*Chelonia mydas*).

**Tabla VIII.** Proporción leucocitaria de tortuga verde (*Chelonia mydas*) por apariencia física de los individuos y zona de estudio.

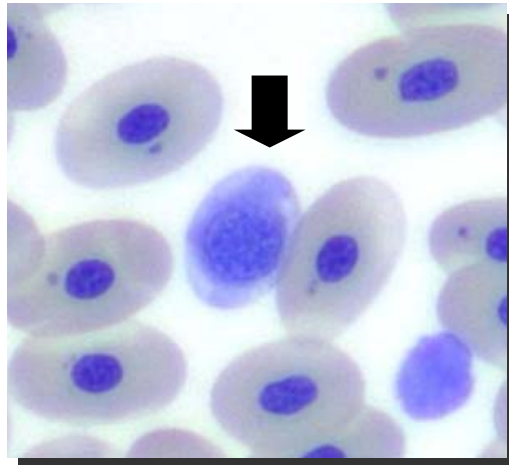
	Apariencia física							
	Sanas				Lesionadas			
	Media	ES	Rango	n	Media	ES	Rango	n
<b>Punta Abreojos</b>								
<b>LRC (cm)</b>	66.1	3.29	52-80.9	10	65.3	3.8	50.8-92.4	13
<b>Linfocitos (%)</b>	72.2	1.9	62-80	10	74	3.5	40-92	13
<b>Heterófilos (%)</b>	14.2	2.3	3-31	10	13.5	1.9	5-32	13
<b>Eosinófilos (%)</b>	2.6	0.8	0-9	10	1.9	0.5	0-5	13
<b>Monocitos (%)</b>	11	1.9	1-21	10	6.7	1.1	1-14	13
<b>Razón H/L</b>	0.2	0.03	0.73-1	10	0.2	0.03	0.74-1	13
<b>Laguna San Ignacio</b>								
<b>LRC (cm)</b>	48.1	5.6	42.5-53.8	2	43.3	1.9	39.7-46.3	3
<b>Linfocitos (%)</b>	41.5	10.5	31-52	2	47.6	0.6	47-49	3
<b>Heterófilos (%)</b>	57.5	10.5	47-68	2	43	2.5	38-46	3
<b>Eosinófilos (%)</b>	1	n.a.	n.a.	2	1.6	0.3	1-2	3
<b>Monocitos (%)</b>	0	n.a.	n.a.	2	7.6	4.6	5-13	3
<b>Razón H/L</b>	1.54	0.64	0.90-2.19	2	0.9	0.04	0.8-0.9	3
<b>Bahía Magdalena</b>								
<b>LRC (cm)</b>	55.5	2.06	48-63.2	8	59	5.77	46.3-80.3	5
<b>Linfocitos (%)</b>	70.8	4.8	41-86	8	71.8	4.5	60-86	5
<b>Heterófilos (%)</b>	14.6	2.4	6-25	8	20.2	5.6	3-35	5
<b>Eosinófilos (%)</b>	3.4	0.9	0-8	8	1.8	0.3	1-3	5
<b>Monocitos (%)</b>	11.1	5.4	0-48	8	6.2	2.1	0-10	5
<b>Razón H/L</b>	0.20	0.03	0.06-0.33	8	0.3	0.09	0.03-0.54	5

Abreviaturas: ES, error estándar; LRC, largo recto caparazón; Razón H/L, razón heterófilos/linfocito; n.a., no aplica.

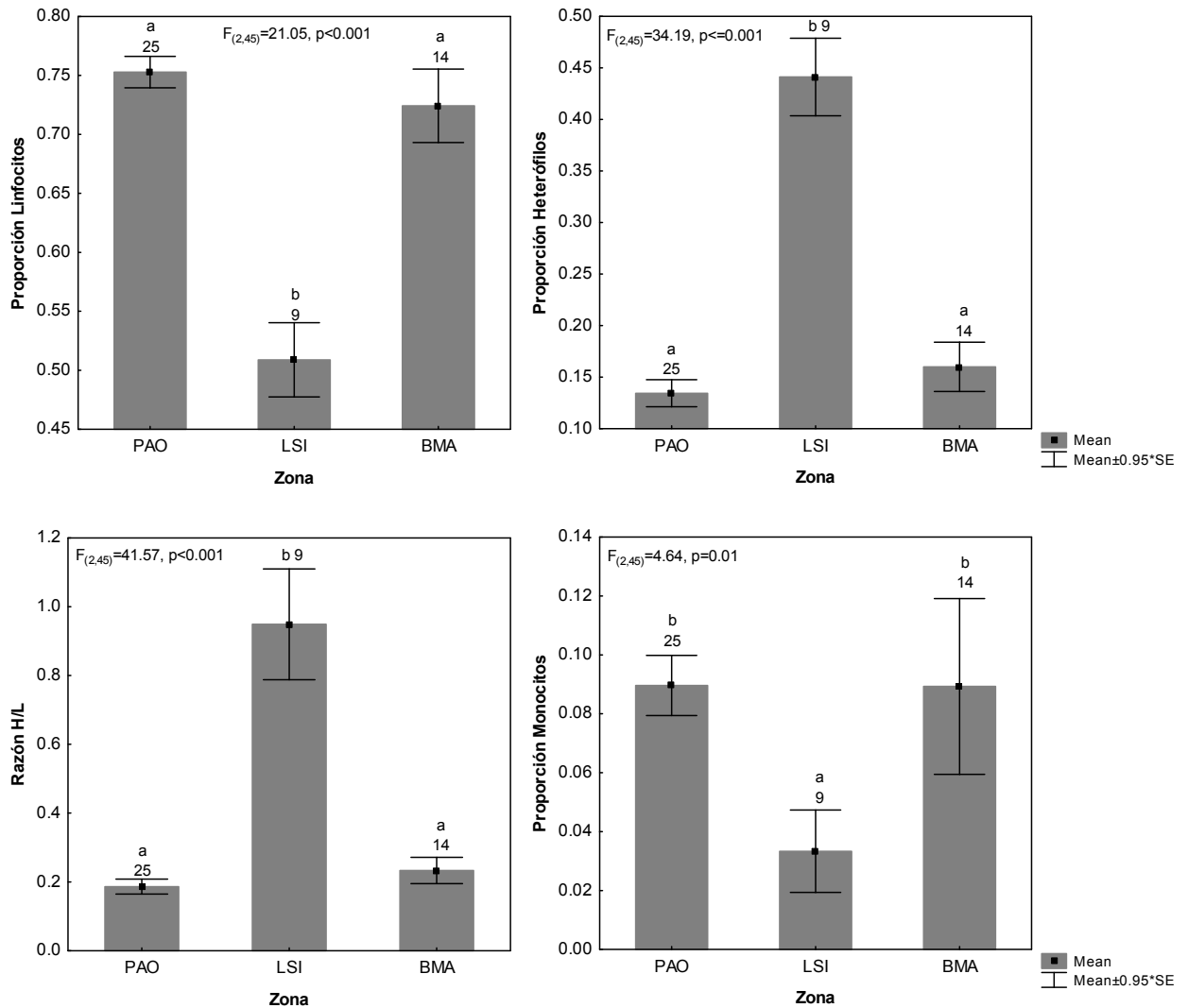
a)



b)



**Figura 11.** a) Deshecho nuclear de eritrocitos y b) eritrocito inmaduro de tortuga verde (*Chelonia mydas*) teñidos con tinción de Wright, observados con objetivo de inmersión en aceite (100X).



**Figura 12.** Proporción leucocitaria de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) por zona de estudio. Los resultados se presentan como promedio  $\pm$  error estándar. Los números sobre cada columna denotan el tamaño del grupo. Las letras diferentes denotan diferencias significativas entre zonas ( $p < 0.05$ ). Razón H/L=Razón heterófilos/linfocitos; PAO=Punta Abrejos; LSI=Laguna San Ignacio; BMA=Bahía Magdalena.

#### 7.4. Vitelogenina (VTG).

Todas las muestras de suero o plasma analizadas presentaron valores detectables de VTG. El rango de la concentración de VTG obtenido a partir de las muestras de suero-PMSF fue de 0.037 - 2.35 mg mL<sup>-1</sup> ( $0.66 \pm 0.29$  mg mL<sup>-1</sup>); el rango de concentración a partir de las muestras de plasma-sin PMSF fue de 0.049 - 1.98 mg mL<sup>-1</sup> ( $0.61 \pm 0.22$  mg mL<sup>-1</sup>). La concentración de VTG no presentó diferencias significativas relativas a los diferentes tipos de preparación de la muestra (suero y plasma con o sin aditivo PMSF). La concentración de VTG obtenida a partir de la ecuación común generada para ambos tipos de muestras se presenta como la media  $\pm$  error estándar por zona de estudio (Tabla IX). La concentración de VTG cuantificada no se correlacionó con el tiempo de manipulación de los individuos.

En ninguna de las tres zonas de estudio se encontraron diferencias significativas en la concentración de VTG entre los individuos clasificados como sanos y los lesionados. Las tortugas marinas capturadas en PAO, grupo en que pudo realizarse la evaluación estadística, tampoco presentaron diferencias significativas entre clases de talla. Sin embargo, se observó una concentración promedio de VTG 13% más elevada en los individuos clasificados visualmente como hembras adultas en comparación con los juveniles y subadultos de sexo indeterminado (Fig. 13a).

En PAO se encontró una mayor concentración de VTG durante el verano ( $0.63$  mg mL<sup>-1</sup>  $\pm$  0.14) en comparación al invierno ( $0.40$  mg mL<sup>-1</sup>  $\pm$  0.13) ( $p < 0.001$ ) (Fig. 14a), no encontrándose un efecto de la edad sobre dicho incremento estacional observado ( $F_{(2,34)}=0.24$ ,  $p=0.97$ ). En verano, la concentración de VTG fue más alta en las tortugas marinas capturadas en el 2006 ( $0.76$  mg mL<sup>-1</sup>  $\pm$  0.06) en comparación con las tortugas marinas del 2005 ( $0.57$  mg mL<sup>-1</sup>  $\pm$  0.14) ( $p < 0.001$ ) (Fig. 14b). No pudo evaluarse el efecto conjunto de los factores año y estación sobre la concentración de la proteína debido a que no se tuvieron datos de invierno para ambos años. En BMA no se encontraron diferencias en la concentración de VTG estacional o anualmente, aunque se observó una tendencia de disminución del 2005 hacia el 2007, siendo la concentración del 2007 un 22% menor en comparación con los dos años anteriores.

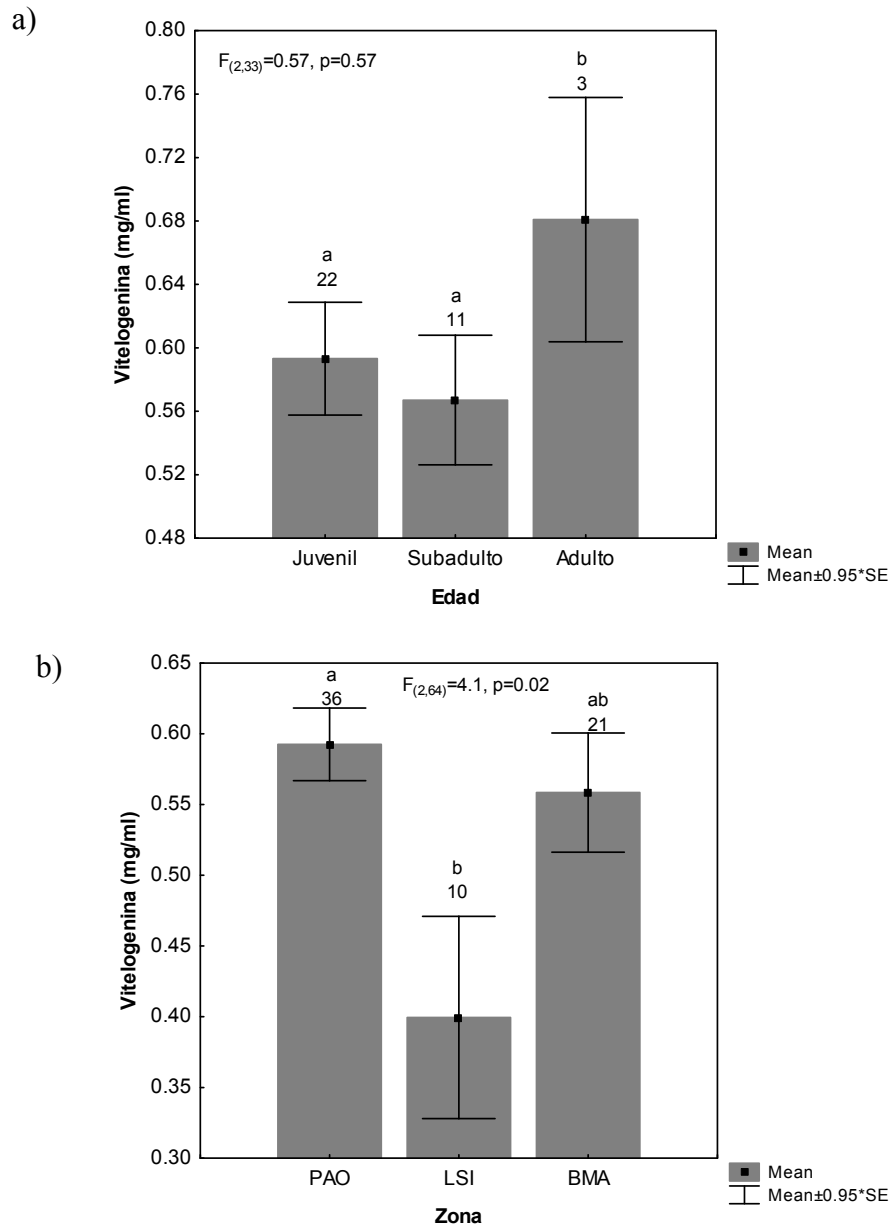
**7.4.1. Diferencias entre zonas de estudio.**

La concentración de VTG resultó ser distinta entre zonas ( $p=0.04$ ), siendo significativamente menor en las tortugas verdes capturadas en LSI en comparación con PAO ( $p=0.03$ ) (Fig. 13b). La concentración de VTG de las tortugas de BMA no fue distinta al resto de las zonas, aunque en BMA los individuos presentaron una concentración 18% mayor a la observada en las tortugas de LSI (Tabla IX).

**7.4.2. VTG, morfometría y condición corporal (*Krel*).**

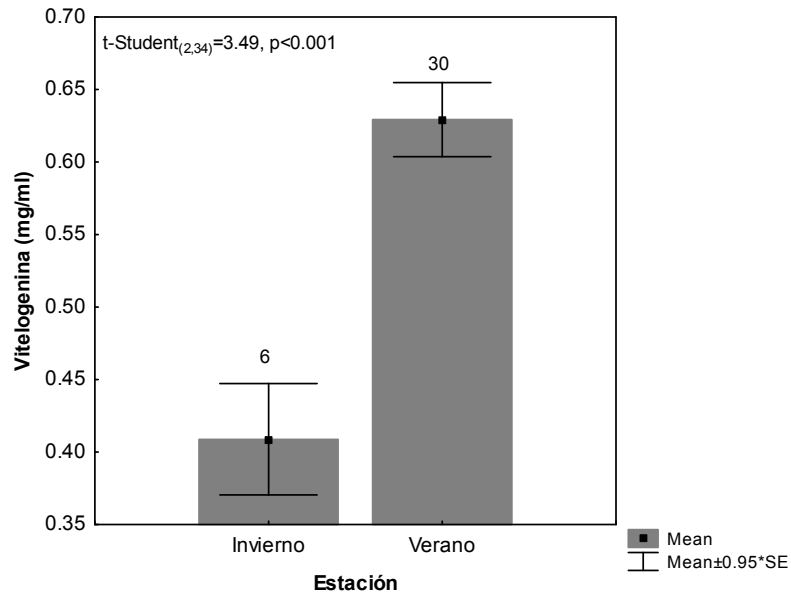
La concentración de VTG no se correlacionó con la talla, peso o el índice *Krel* de las tortugas marinas en ninguna zona de estudio.



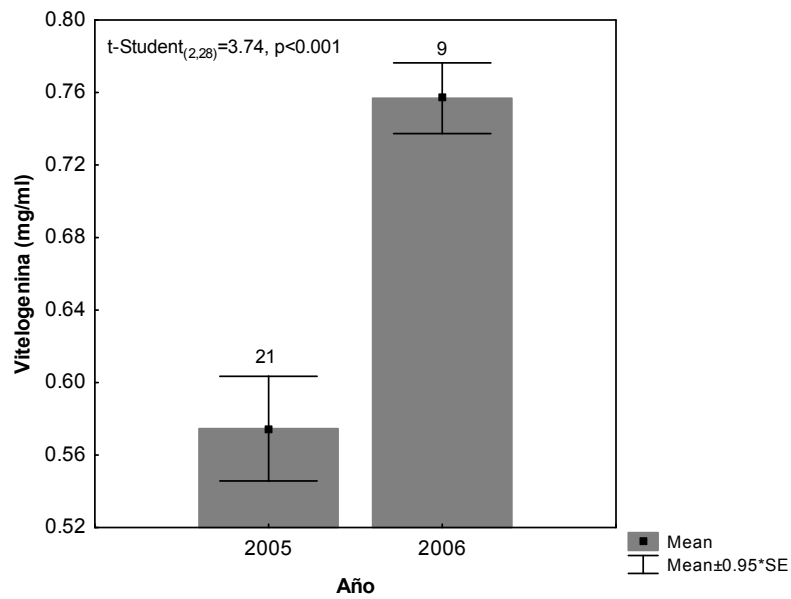


**Figura 13.** Concentración de vitelogenina de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) por a) categorías de edad en Punta Abrejos y b) zona de estudio. Los resultados se presentan como promedio  $\pm$  error estándar. Los números sobre cada columna denotan el tamaño del grupo. Las letras diferentes denotan diferencias significativas entre zonas ( $p < 0.05$ ). PAO=Punta Abrejos; LSI=Laguna San Ignacio; BMA=Bahía Magdalena.

a)



b)



**Figura 14.** Concentración de vitelogenina de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) capturada en Punta Abrejos por a) estación y b) año de captura. Los resultados se presentan como promedio ± error estándar. Los números sobre cada columna denotan el tamaño del grupo.

**Tabla IX.** Concentración de vitelogenina, esteroides sexuales y tiroxina de tortuga verde (*Chelonia mydas*) por zona de estudio.

	Zona											
	Punta Abreojos				Laguna San Ignacio				Bahía Magdalena			
	Media	ES	Rango	n	Media	ES	Rango	n	Media	ES	Rango	n
<b>LRC (cm)</b>	65.16	1.95	43.90 – 92.40	37	49.74	2.36	39.7 – 62.2	10	58.23	1.64	46.3 – 80.30	22
<b>Vitelogenina (mg/mL)</b>	0.59 <sup>a</sup>	0.03	0.22 – 0.87	36	0.40 <sup>b</sup>	0.07	0.13 – 0.69	10	0.56 <sup>a,b</sup>	0.04	0.15 - 0.86	21
<b>Estradiol (pg/mL)</b>	53.17 <sup>a</sup>	8.19	5.79 – 274	37	48.20 <sup>a,b</sup>	20.04	0.71 – 187	9	25.64 <sup>b</sup>	4.93	1.83 – 67.94	19
<b>Testosterona (ng/mL)</b>	2.58	0.57	0.06 – 17.10	35	3.90	2.11	0.03 – 22.25	10	1.08	0.32	0.005 - 5.13	21
<b>Tiroxina (µg/100mL)</b>	2.15 <sup>a</sup>	0.13	0.65 – 3.40	37	2.55 <sup>a,b</sup>	0.10	2.10 – 3.06	10	2.64 <sup>b</sup>	0.07	1.77 - 3.31	22

Abreviaturas: ES, error estándar; LRC, largo recto caparazón. Las letras en superíndices, diferencias significativas  $p < 0.05$ .

### 7.5. Esteroides sexuales y tiroxina (T<sub>4</sub>).

Se presenta la concentración de las hormonas por zona de estudio como la media  $\pm$  error estándar (Tabla IX). La concentración de E<sub>2</sub> de las tortugas verdes capturadas en BMA se correlacionó negativamente con el tiempo de manipulación transcurrido ( $r_s=-0.51$ ,  $p=0.03$ ). Con excepción de dos individuos, existe un evidente traslape en la concentración de T de los organismos (Fig. 15). Únicamente 7 organismos (10%) presentaron una talla superior a la talla promedio de anidación (Fig. 16). Una tortuga verde de LSI clasificada como juvenil (E<sub>2</sub>=187.6 pg mL<sup>-1</sup>, T=22 ng mL<sup>-1</sup>) y una tortuga verde de PAO clasificada como hembra adulta (E<sub>2</sub>=274.5 pg mL<sup>-1</sup>, T=17 ng mL<sup>-1</sup>) presentaron niveles de esteroides en concentraciones aproximadamente el doble del valor máximo observado en el resto de los individuos (Fig. 16). Eliminando dichos datos el rango de la concentración de T observada en las tres zonas de estudio fue menor a 10 ng mL<sup>-1</sup> y de E<sub>2</sub> menor a 145 pg mL<sup>-1</sup> (Fig. 16). La concentración de T se correlacionó con la concentración de E<sub>2</sub> de los organismos ( $r=0.83$ ,  $p<0.001$ ), dicha correlación se conserva aun después de quitar los datos extremos de las tortugas de PAO y LSI ( $r=0.68$ ,  $p<0.001$ ). La concentración de E<sub>2</sub>, T y T<sub>4</sub> no estuvieron correlacionados con la concentración de VTG de los individuos en ninguna zona de estudio.

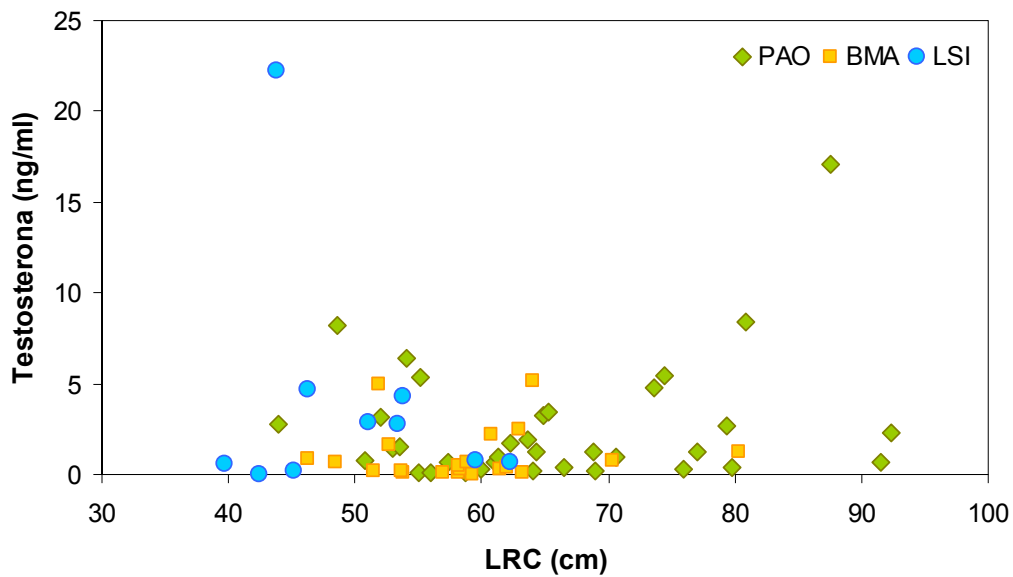
Con relación a la apariencia física, los individuos lesionados de BMA presentaron una mayor concentración de T en comparación con los sanos ( $p=0.02$ ). En LSI las tortugas verdes lesionadas presentaron una mayor concentración de tiroxina en comparación con los sanos ( $p=0.04$ ). No se encontraron diferencias significativas en ninguna zona de estudio en la concentración de las hormonas por clases de talla. En PAO se encontraron diferencias anuales en la concentración de T<sub>4</sub> la cual fue mayor durante el 2006 en comparación con el 2005 ( $p<0.001$ ).

#### 7.5.1. Diferencias entre zonas de estudio.

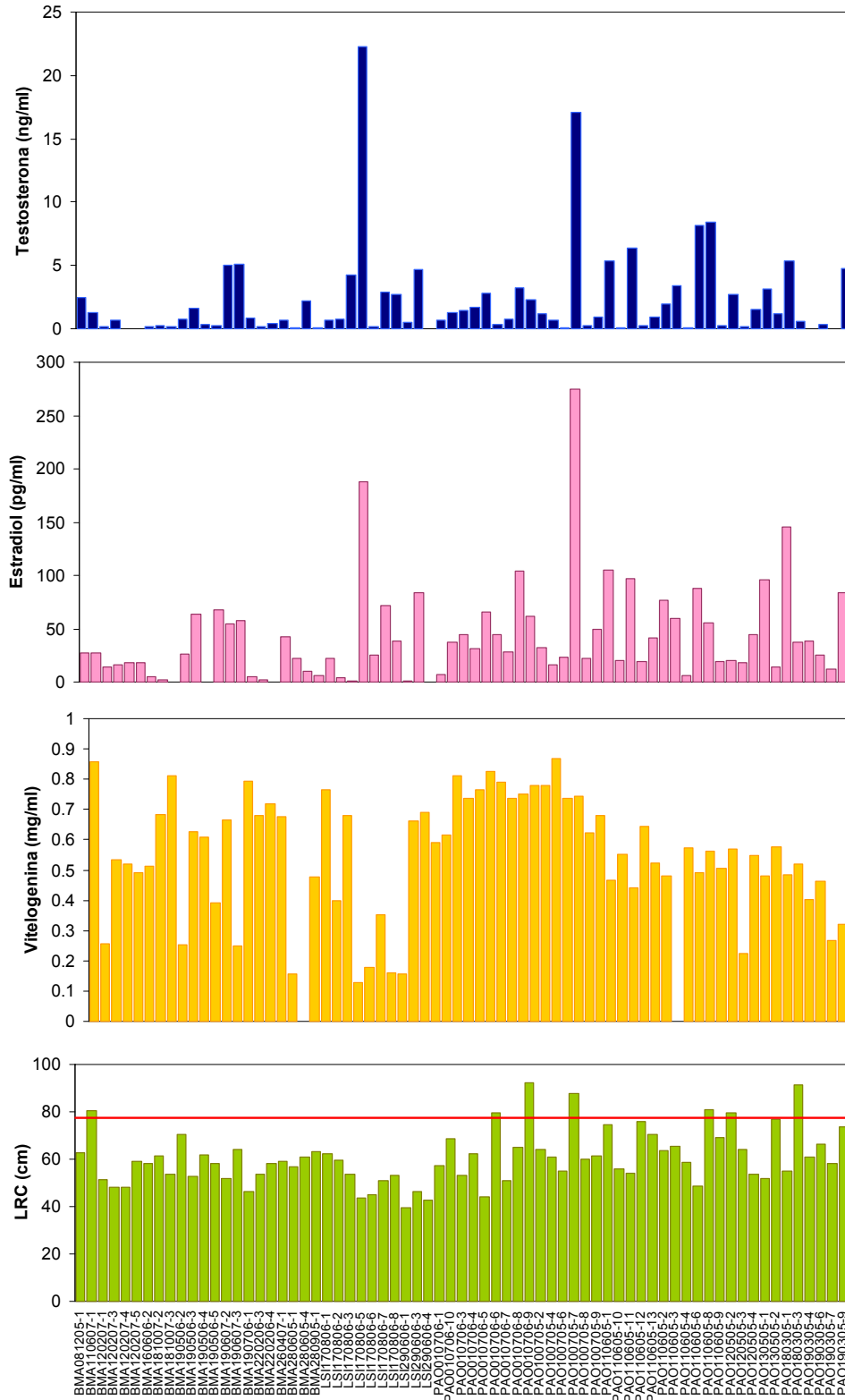
Las tortugas verdes capturadas en PAO presentaron una mayor concentración de E<sub>2</sub> ( $p=0.03$ ) y una menor concentración de T<sub>4</sub> ( $p=0.03$ ) en comparación con los individuos capturados en BMA. Las tortugas verdes de LSI no presentaron diferencias en la concentración de dichas hormonas con ninguna de las dos zonas (Fig. 17).

**7.5.2. Hormonas, morfometría y condición corporal (Krel).**

En BMA se encontró una correlación negativa entre la concentración de T<sub>4</sub> con la talla (LRC) y el peso de los individuos (p<0.05) (Tabla VII). En ninguna de las zonas de estudio se encontró una correlación entre la concentración de las hormonas evaluadas con el índice Krel de los individuos.

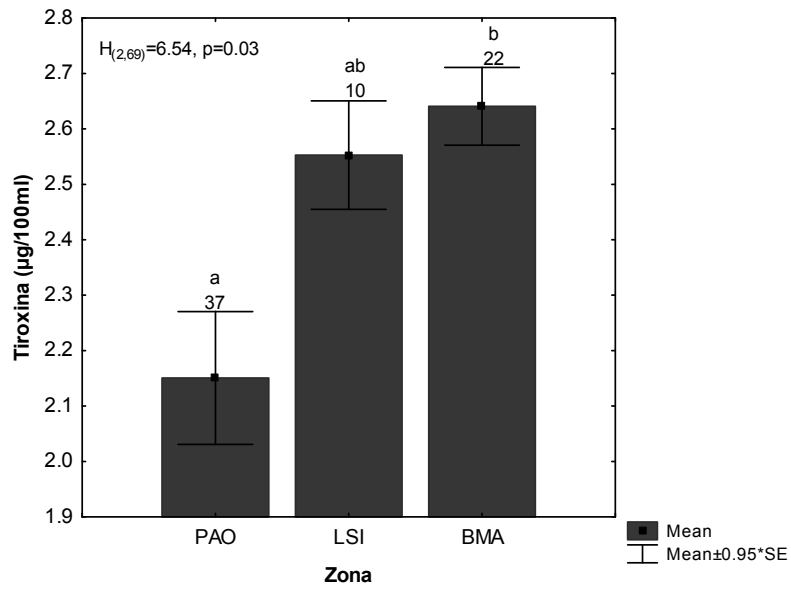


**Figura 15.** Concentración de testosterona de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) por zona de estudio. PAO=Punta Abreojos; LSI=Laguna San Ignacio; BMA=Bahía Magdalena.

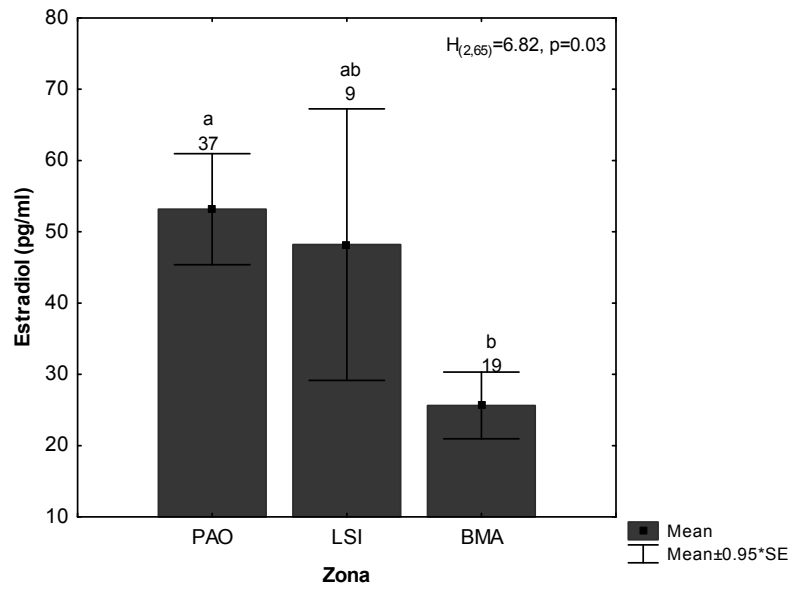


**Figura 16.** Concentración de esteroides sexuales, tiroxina, vitelogenina y largo recto del caparazón de las tortugas verdes (*Chelonia mydas*). La abscisa denota las claves de cada organismo capturado. La línea roja señala la talla promedio de anidación (77.3 cm LRC).

a)



b)



**Figura 17.** Concentración de a) tiroxina y b) estradiol de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) por zona de estudio. Los resultados se presentan como promedio  $\pm$  error estándar. Los números sobre cada columna denotan el tamaño del grupo. Las letras diferentes denotan diferencias significativas entre zonas ( $p < 0.05$ ). PAO=Punta Abreojos; LSI=Laguna San Ignacio; BMA=Bahía Magdalena.

## 7.6. Defensas antioxidantes y daño oxidativo.

Los valores de la actividad enzimática de las defensas antioxidantes y de peroxidación de lípidos se presentan como media  $\pm$  error estándar por zona de estudio (Tabla X). En esta sección no se presentan datos de LSI. En BMA la actividad de la enzima t-SOD ( $r_s=0.75$ ,  $p=0.01$ ), Mn-SOD ( $r_s=0.73$ ,  $p=0.02$ ) y la concentración de TBARS ( $r_s=0.64$ ,  $p=0.04$ ) estuvieron correlacionadas positivamente con el tiempo de manipulación de las tortugas marinas.

Únicamente en BMA se encontraron diferencias por apariencia física en la actividad de la Mn-SOD la cual fue mayor en los individuos sanos ( $p=0.01$ ). Es en esta misma zona donde se encontraron diferencias estacionales en la actividad de la GPx ( $p=0.01$ ) y en la concentración de TBARS ( $p=0.03$ ) siendo mayores durante el invierno (Fig. 18a). Las diferencias anuales se encontraron en los individuos capturados en PAO en donde la actividad de la CAT ( $p=0.04$ ) y de la Mn-SOD ( $p=0.03$ ) y la concentración de TBARS ( $p=0.001$ ) fueron mayores durante el 2005 en comparación con el 2006 (Fig. 18b); al contrario de la actividad de la GST ( $p<0.001$ ) la cual fue mayor durante el 2006.

### 7.6.1. Diferencias entre zonas de estudio.

Al comparar las zonas de estudio, la actividad de la t-SOD ( $p<0.001$ ), Mn-SOD ( $p<0.001$ ) y CuZn-SOD ( $p<0.001$ ) fue mayor en BMA, mientras que la actividad de la CAT ( $p<0.001$ ) fue mayor en PAO (Fig. 19).

### 7.6.2. Defensas antioxidantes, morfometría y condición corporal (*Krel*).

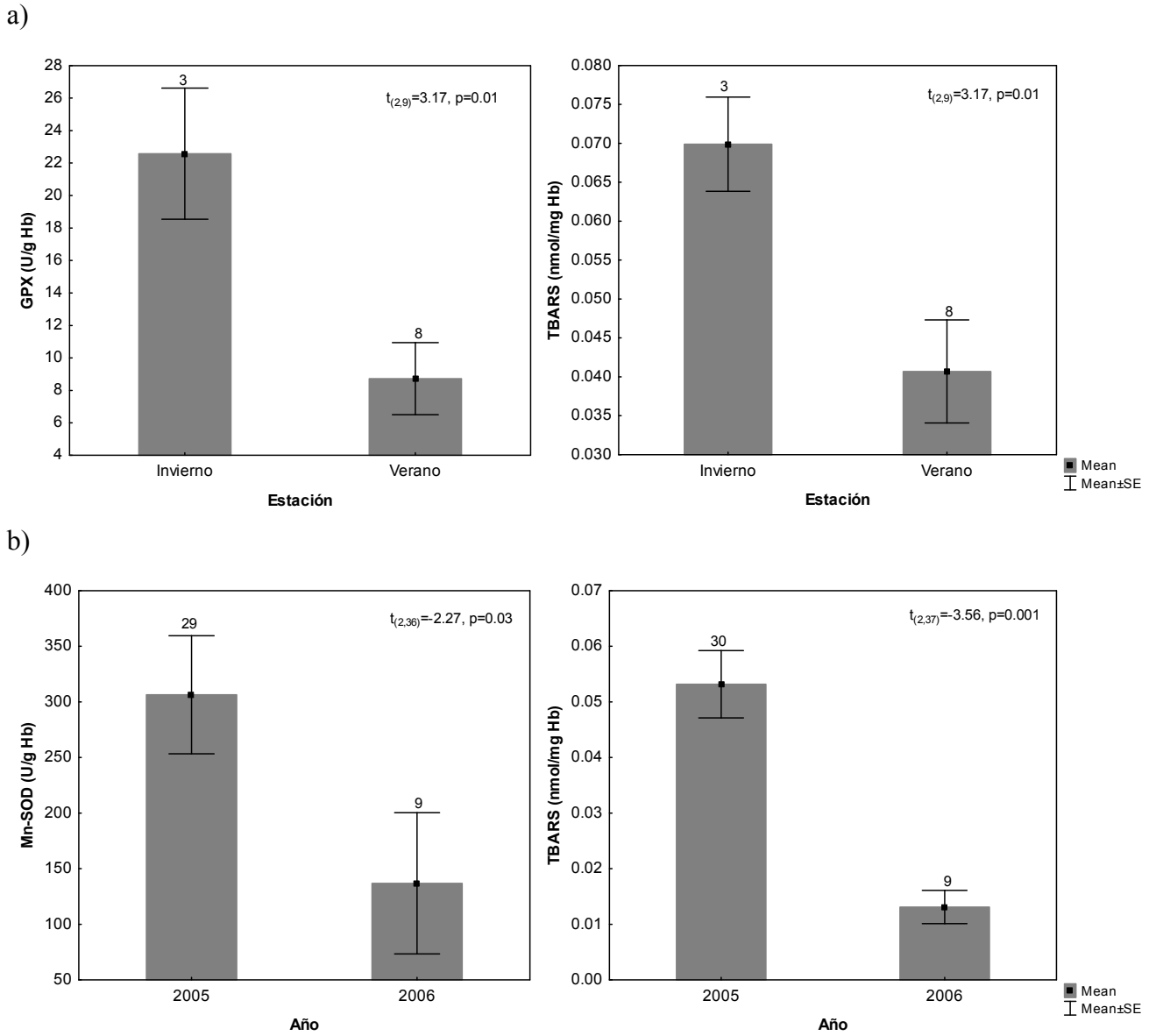
No se encontró una correlación significativa entre ninguna de las defensas antioxidantes o TBARS con la condición corporal de los individuos.



**Tabla X.** Actividad de las defensas antioxidantes y concentración de la peroxidación de lípidos (TBARS) de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) por zona de estudio.

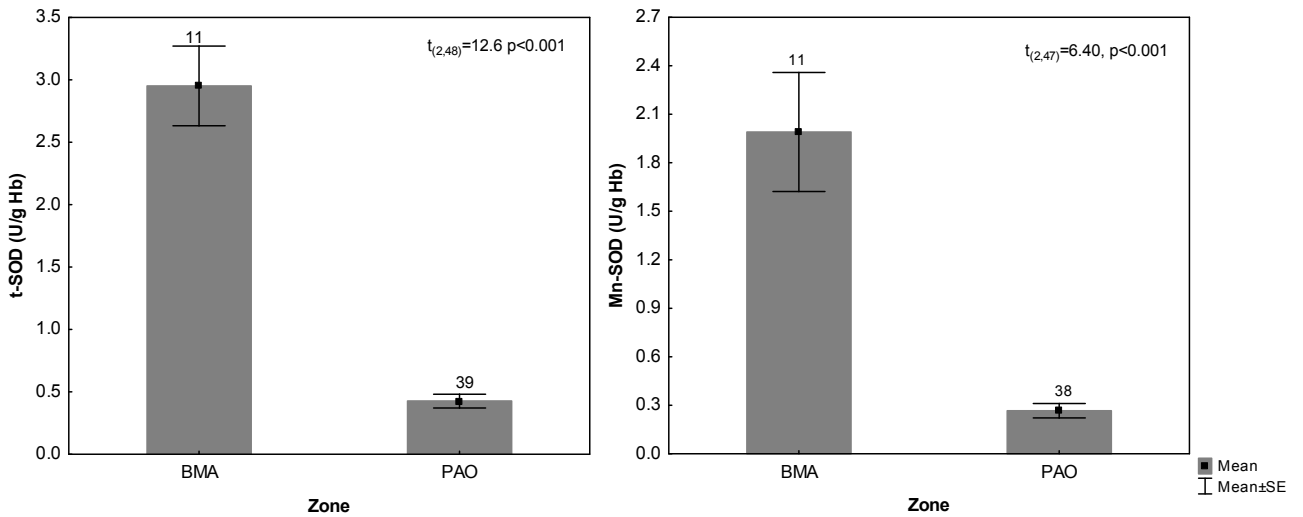
	Zona							
	Punta Abreojos				Bahía Magdalena			
	Media	ES	Rango	n	Media	ES	Rango	n
<b>LRC (cm)</b>	62.99	1.78	43.90-92.40	39	59.74	1.49	52.70-70.40	11
<b>TBARS (nmol/mg Hb)</b>	0.04	0.01	0.001-0.19	39	0.05	0.01	0.02-0.07	11
<b>GST (U/g Hb)</b>	0.99	0.17	0.09-4.62	39	0.62	0.11	0.17-1.37	11
<b>CAT (U/g Hb)</b>	223*	19.77	64.82-559	39	92.22*	14.07	36.37-172	11
<b>GPx (U/g Hb)</b>	12.39	0.97	0.89-32.80	39	12.50	2.68	1.43-27.90	11
<b>t-SOD (U/g Hb)</b>	0.43*	0.06	0.137-2.21	39	2.95*	0.32	1.37-4.62	11
<b>Mn-SOD (U/g Hb)</b>	0.27*	0.04	0.013-1.09	38	1.99*	0.37	0.36-4.25	11
<b>CuZn-SOD (U/g Hb)</b>	0.20*	0.03	0.021-1.12	33	0.96*	0.24	0.12-2.91	11

Abreviaturas: ES, error estándar; LRC, largo recto caparazón; GST, glutatión S-transferasa; CAT, catalasa; GPx, glutatión peroxidasa; t-SOD, superóxido dismutasa total; Mn-SOD, superóxido dismutasa mitocondrial; CuZn-SOD, superóxido dismutasa citosólica; \*, diferencias significativas  $p < 0.05$ .

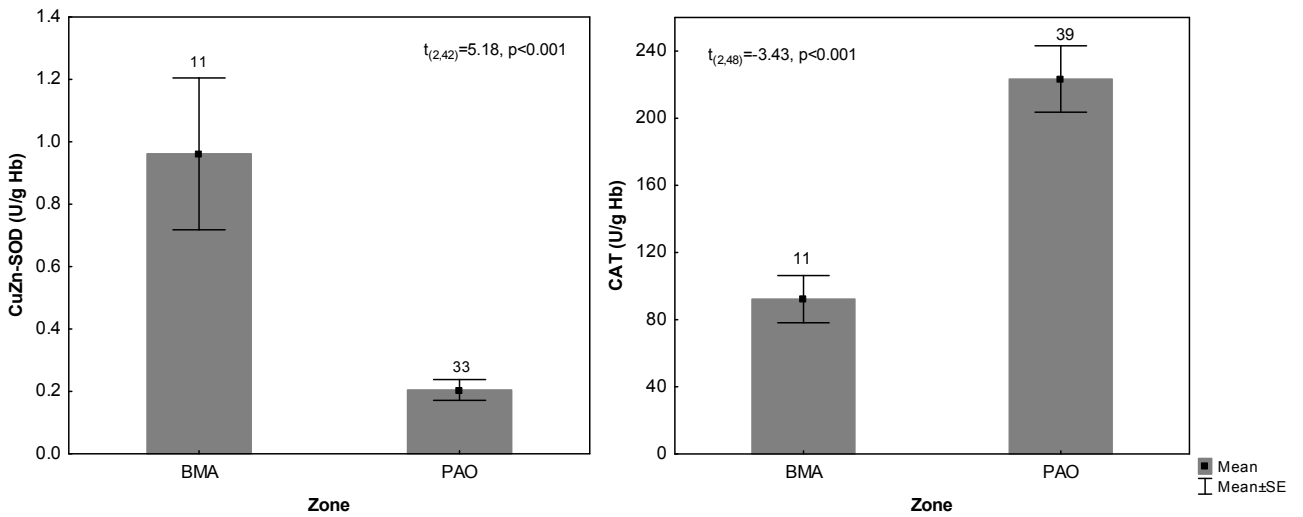


**Figura 18.** Actividad de las enzimas glutación peroxidasa (GPx), superóxido dismutasa mitocondrial (Mn-SOD) y concentración de TBARS de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) capturada en a) Bahía Magdalena por estación y en b) Punta Abrejos por año de captura. Los resultados se presentan como promedio ± error estándar. Los números sobre cada columna denotan el tamaño del grupo.

a)



b)



**Figura 19.** Actividad de enzimas catalasa (CAT), superóxido dismutasa total (t-SOD), mitocondrial (Mn-SOD) y citosólica (CuZn-SOD) de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) por zona de estudio. Los resultados se presentan como promedio  $\pm$  error estándar. Los números sobre cada columna denotan el tamaño del grupo. PAO=Punta Abreojos; BMA=Bahía Magdalena.

### 7.7. Elementos traza.

Las concentraciones de los elementos traza se presentan como media  $\pm$  el error estándar por zona de estudio (Tabla XI). Un dato extremo fue excluido de los análisis: una tortuga marina juvenil, sexo indeterminado, de PAO, con una concentración de Ni de  $488.93 \mu\text{g g}^{-1}$ .

Al comparar las concentraciones de elementos traza por apariencia física de los individuos, únicamente se encontraron diferencias significativas en la concentración de Si en las tortugas de PAO, siendo significativamente mayor en los individuos sanos en comparación con los lesionados ( $p < 0.01$ ). No se encontraron diferencias en la concentración de los elementos traza entre individuos juveniles y subadultos capturados en PAO, así como tampoco entre estaciones en PAO ó BMA. En PAO la concentración de Cd ( $p < 0.001$ ) y Si ( $p < 0.001$ ) fue significativamente mayor en las tortugas capturadas durante el 2005 en comparación con las tortugas del 2006 (Fig. 20a). En BMA las tortugas verdes presentaron mayores concentraciones de Si ( $p = 0.02$ ), Se ( $p = 0.02$ ) y Mg ( $p = 0.03$ ) durante el 2005 en comparación con el 2006 (Fig. 20b). No se tienen datos de la concentración de elementos traza del 2007 en BMA.

#### 7.7.1. Diferencias entre zonas de estudio.

Las tortugas verdes capturadas en PAO presentaron concentraciones más elevadas de Si ( $p = 0.02$ ) en comparación con BMA (Fig 20a). La concentración de Cd ( $p = 0.02$ ) fue mayor en los individuos de LSI y PAO en comparación con aquellos de BMA (Fig. 21b). En LSI las tortugas verdes presentaron una menor concentración de Ni ( $p < 0.001$ ) y Mg ( $p < 0.001$ ) en comparación con BMA y PAO (Tabla XI).

#### 7.7.2. Elementos traza, morfometría y condición corporal (*Krel*).

Al considerar a todas las tortugas verdes de las tres zonas en conjunto, la concentración de Zn en sangre se correlacionó positivamente con el LRC ( $r = 0.29$ ,  $p = 0.03$ ,  $n = 54$ ) y la concentración de Cd negativamente con el índice *Krel* ( $r = -0.32$ ,  $p = 0.01$ ,  $n = 54$ ) (Fig. 22). En las tortugas verdes de PAO no se encontró una correlación entre la concentración de los elementos traza y las variables morfológicas de los individuos. En LSI

la concentración de Fe se correlacionó negativamente con el LRC, el peso y el índice *Krel* de los individuos ( $p < 0.03$ ), y en BMA la concentración de Cd se correlacionó negativamente con el LRC de las tortugas verdes ( $p = 0.05$ ) (Tabla XII).

#### **7.7.3. Elementos traza y bioquímica sanguínea.**

La relación entre la concentración de los elementos traza con los parámetros bioquímicos únicamente pudo ser evaluado en las tortugas verdes capturadas en PAO. Las concentraciones de Ni, Si, Cd y Fe se correlacionaron con al menos dos de los parámetros bioquímicos siguientes: glucosa, colesterol, ácido úrico, calcio, enzimas transaminasas (ALT, AST), K y fósforo de las tortugas verdes ( $p < 0.05$ ) (Tabla XII). En esta zona los individuos que presentaron la mayor concentración de Cd y Si presentaron la mayor actividad de la enzima transaminasa AST ( $p < 0.04$ ) (Tabla XII, Fig. 23).

#### **7.7.4. Elementos traza y proporción leucocitaria.**

En PAO la concentración de Sr y Se en sangre se correlacionaron negativamente con la proporción de linfocitos y positivamente con la proporción de heterófilos (Tabla XII). En esta misma zona los individuos con mayores concentraciones de Si en sangre presentaron mayor proporción de monocitos (Tabla XII, Fig. 24). En LSI, por el contrario, la concentración de Zn se correlacionó positivamente con la proporción de linfocitos y negativamente con la proporción de heterófilos (Tabla XII). En BMA la concentración de Cd se correlacionó negativamente con la proporción de monocitos (Tabla XII).

#### **7.7.5. Elementos traza, VTG y hormonas.**

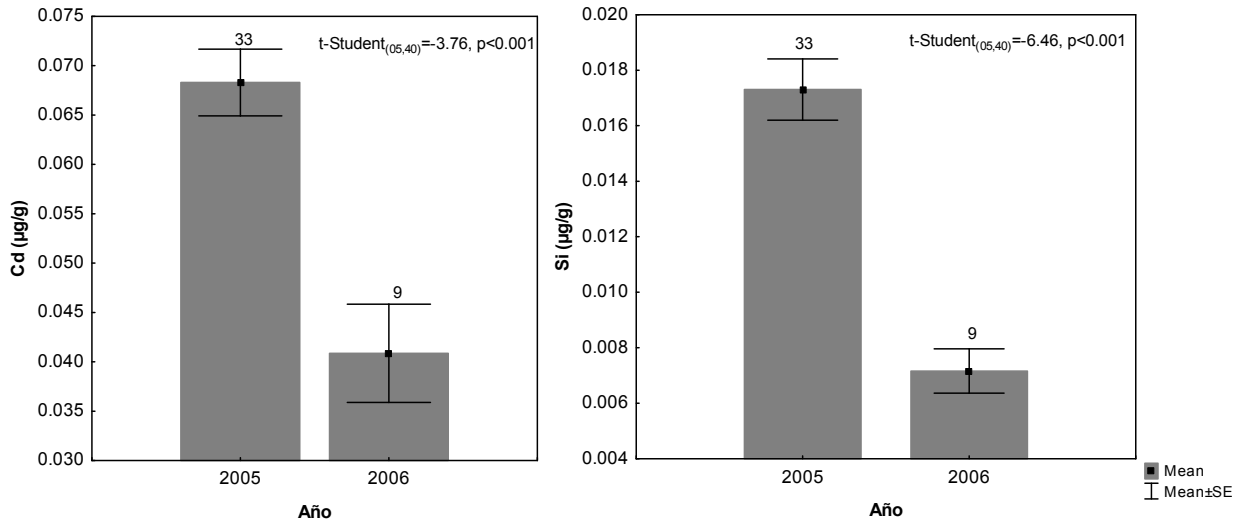
El Si se correlacionó negativamente con la concentración de  $T_4$  de los individuos de PAO ( $p = 0.008$ ) (Fig. 25a) y LSI ( $p = 0.03$ ) (Tabla XII). Así mismo, el Si se correlacionó negativamente con la concentración de VTG de las tortugas verdes de PAO ( $p < 0.001$ ) (Fig. 25b; Tabla XII). En LSI la concentración de Sr se correlacionó positivamente con la concentración de T de los individuos ( $p < 0.01$ ) (Tabla, XII). En BMA ninguno de los elementos traza medidos en sangre se correlacionó con la concentración de hormonas de los individuos.

**Tabla XI.** Concentración de elementos traza ( $\mu\text{g g}^{-1}$  peso seco) en sangre de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) por zona de estudio.

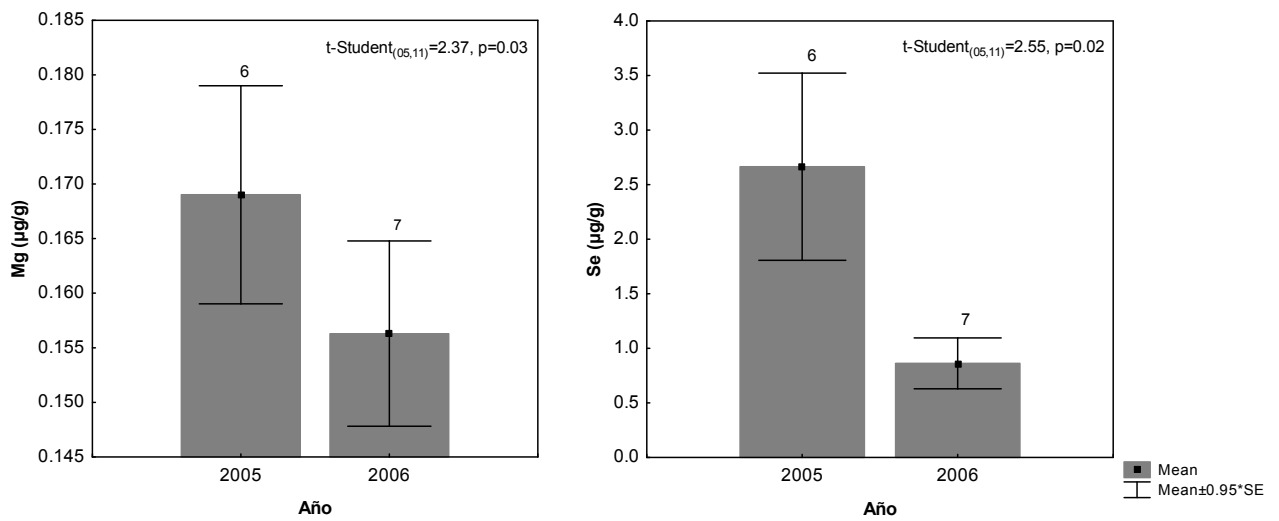
	Zona											
	Punta Abreojos				Laguna San Ignacio				Bahía Magdalena			
	Media	ES	Rango	n	Media	ES	Rango	n	Media	ES	Rango	n
<b>SCL (cm)</b>	63.93	1.81	43.7-92.4	42	49.74	2.36	39.7-62.2	10	57.33	1.71	43.7-70.4	15
<b>Cd (<math>\mu\text{g/g}</math>)</b>	0.06 <sup>a</sup>	0.00	0.008-0.12	42	0.05 <sup>a</sup>	0.03	0.02-0.13	10	0.03 <sup>b</sup>	0.00	0.01-0.05	14
<b>Sr (<math>\mu\text{g/g}</math>)</b>	0.28	0.03	0.05-0.48	14	0.17	0.13	0.006-0.38	10	0.18	0.04	0.03-0.38	11
<b>Fe (<math>\mu\text{g/g}</math>)</b>	343	13.02	109-520	42	326	35.13	280-401	10	302	10.38	232-410	14
<b>Zn (<math>\mu\text{g/g}</math>)</b>	13.92	0.49	0.46-19.91	42	11.64	1.62	8.27-13.62	10	13.58	0.59	10.97-18.55	14
<b>Ni (<math>\mu\text{g/g}</math>)</b>	76.47 <sup>a</sup>	11.02	19.61-488	41	35.62 <sup>b</sup>	5.02	25.11-45.26	10	73.30 <sup>a</sup>	9.3	41.51-157	14
<b>Si (<math>\mu\text{g/g}</math>)</b>	0.02 <sup>a</sup>	0.00	0.003-0.04	42	0.01 <sup>ab</sup>	0.004	0.004-0.02	10	0.01 <sup>b</sup>	0.01	0.001-0.08	14
<b>Se (<math>\mu\text{g/g}</math>)</b>	1.59	0.19	0.03-5.66	40	0.99	0.67	0.16-2.33	10	1.81	0.43	0.15-4.65	14
<b>Mg (<math>\mu\text{g/g}</math>)</b>	0.19 <sup>a</sup>	0.01	0.08-0.31	42	0.11 <sup>b</sup>	0.023	0.08-0.16	10	0.17 <sup>a</sup>	0.01	0.14-0.21	14

Abreviaturas: ES, error estándar; LRC, largo recto caparazón; Cd, cadmio; Sr, estroncio; Fe, hierro; Zn, zinc; Ni, níquel; Si, silicio; Se, selenio; Mg, magnesio; Las letras en superíndices, diferencias significativas  $p < 0.05$ .

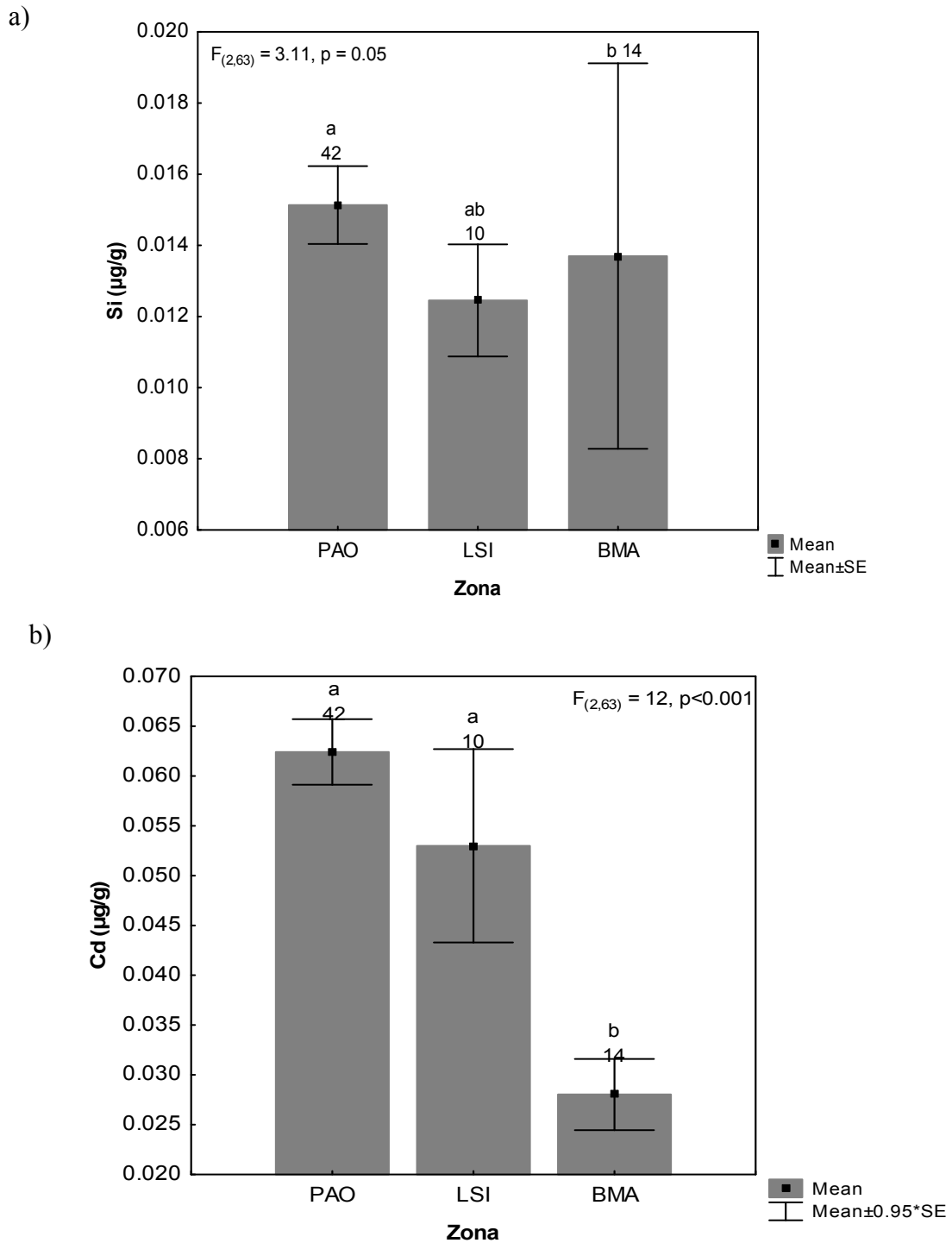
a)



b)

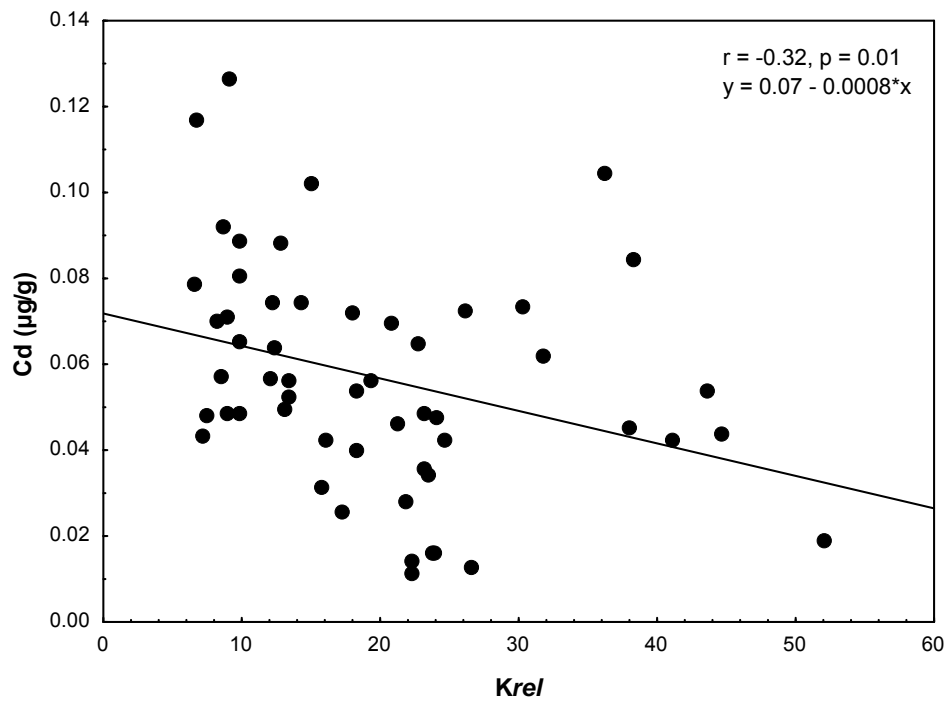


**Figura 20.** Concentración de elementos traza de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) de a) Punta Abrejos y b) Bahía Magdalena por año de captura. Los resultados se presentan como promedio  $\pm$  error estándar. Los números sobre cada columna denotan el tamaño del grupo.



**Figura 21.** Concentración de a) silicio (Si) y b) cadmio (Cd) en sangre de tortuga verde (*Chelonia mydas*) por zona de estudio. Los resultados se presentan como promedio  $\pm$  error estándar. Los números sobre cada columna denotan el tamaño del grupo. Las letras diferentes denotan diferencias significativas entre zonas ( $p < 0.05$ ). PAO=Punta Abreojos; LSI=Laguna San Ignacio; BMA=Bahía Magdalena.





**Figura 22.** Relación entre la concentración de cadmio (Cd) y el índice de condición corporal, *Krel*, de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) de la península de Baja California Sur.

**Tabla XII.** Coeficientes de correlación de Pearson [ $r$  ( $p$ -valor) [ $n$ ]] entre los elementos traza ( $\mu\text{g g}^{-1}$  peso seco) y las variables morfométricas, parámetros bioquímicos, proporción leucocitaria, concentración de esteroides sexuales, tiroxina ( $T_4$ ), vitelogenina (VTG), peroxidación de lípidos (TBARS) y actividad de las enzimas antioxidantes de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) por zona de estudio.

Parámetro	Punta Abreojos							
	Cd	Sr	Se	Si	Ni	Fe	Mg	Zn
Ácido Úrico (mg/dL)	-0.36 (0.03) [35]			-0.56* (<0.001) [35]				
Calcio (mg/dL)	0.37 (0.02) [35]			0.51* (<0.001) [35]	0.33* (0.05) [35]			
AST (U/L)	0.51 (<0.001) [35]			0.35* (0.04) [35]				
ALT (U/L)				-0.39* (0.02) [35]				
Glucosa (mg/dL)				-0.58* (<0.001) [35]				
Fósforo (mg/dL)				0.66* (<0.001) [35]				
K (mmol/L)					0.36* (0.03) [35]	0.33 (0.05) [35]		
Colesterol (mg/dL)						0.32 (0.05) [35]		
Linfocitos (%)		-0.61 (0.05) [10]	-0.42 (0.04) [24]					
Heterófilos (%)		0.86 (<0.01) [10]	0.45 (0.02) [24]					
Monocitos (%)				0.54* (<0.01) [24]				
VTG (mg/ml)				-0.71* (<0.001) [37]				

(Continúa)

**Table XII. (Continua)**

Parámetro	Punta Abreojos							
	Cd	Sr	Se	Si	Ni	Fe	Mg	Zn
<b>T<sub>4</sub></b> ( $\mu\text{g}\%$ )				-0.42* ( $<0.01$ ) [37]				
<b>Mn-SOD</b> (U/g Hb)	0.36 (0.03) [37]							
<b>TBARS</b> (nmol/mg Hb)	0.42* ( $<0.01$ ) [38]							

(Continua)

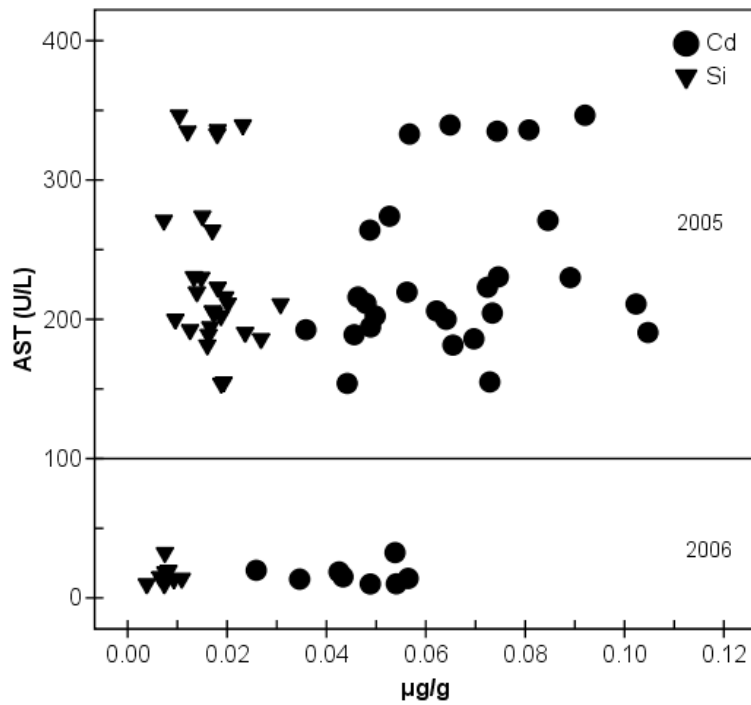
Parámetro	Laguna San Ignacio							
	Cd	Sr	Se	Si	Ni	Fe	Mg	Zn
<b>LRC</b> (cm)						-0.87 (0.02) [6]		
<b>Peso</b> (kg)						-0.84 (0.03) [6]		
<b>Krel</b>						-0.84 (0.03) [6]		
<b>Linfocitos</b> (%)								0.81 ( $<0.01$ ) [9]
<b>Heterófilos</b> (%)								-0.75 (0.02) [9]
<b>T<sub>4</sub></b> ( $\mu\text{g}\%$ )				-0.66* (0.03) [10]				
<b>T</b> (ng/ml)		0.63* ( $<0.01$ ) [10]						

(Continua)

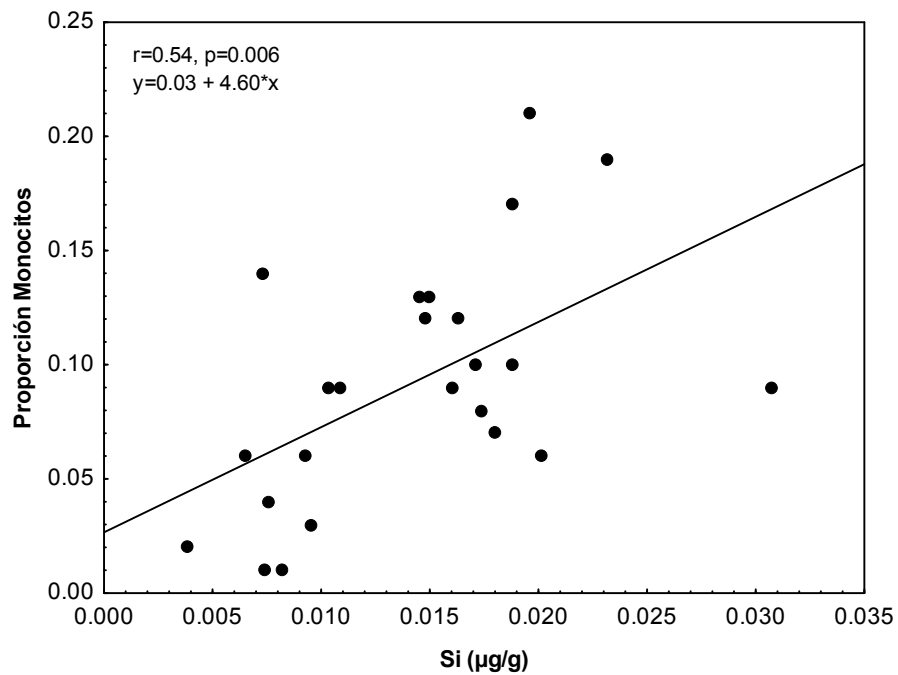
Table XII. (Continua)

	Bahía Magdalena							
	Cd	Sr	Se	Si	Ni	Fe	Mg	Zn
<b>LRC</b> <b>(cm)</b>	-0.62 (0.05) [10]							
<b>Monocitos</b> <b>(%)</b>	-0.83 (0.02) [7]							
<b>CAT</b>				0.61* (0.04) [11]	-0.72* (0.01) [11]	-0.60 (0.04) [11]		-0.59 (0.05) [11]
<b>t-SOD</b>			0.6* (0.05) [11]					-0.62* (0.04) [11]
<b>Mn-SOD</b>			0.74* (0.01) [11]					

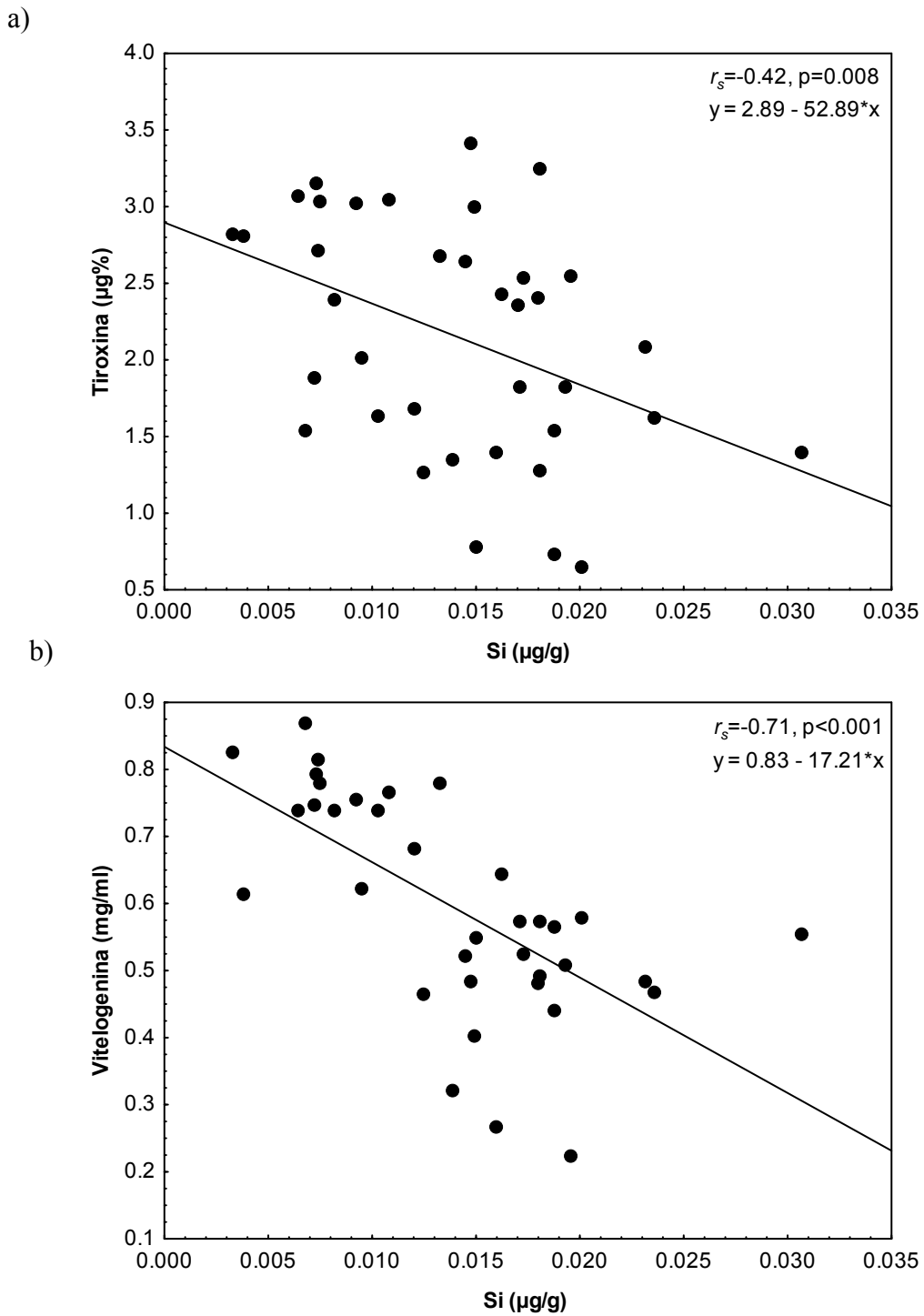
Abreviaturas: LRC, largo recto del caparazón; *Krel*, índice relativo de condición corporal; AST, aspartato aminotransferasa; ALT, alanina aminotransferasa; T, testosterona; t-SOD, superóxido dismutasa total; Mn-SOD, superóxido dismutasa mitocondrial; CAT, catalasa; \*, coeficiente de correlación de Spearman  $r_s$ ; espacios en blanco, no correlación estadísticamente significativa  $p < 0.05$ .



**Figura 23.** Relación entre la concentración de silicio (Si) y cadmio (Cd) con la actividad de la enzima aspartato aminotransferasa (AST) de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) capturada en Punta Abreojos. La línea dibujada no tiene significado estadístico.



**Figura 24.** Relación entre la concentración de silicio (Si) y la proporción de monocitos de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) capturada en Punta Abreojos.



**Figura 25.** Relación entre la concentración de silicio (Si) con la concentración de a) tiroxina y b) vitelogenina en suero de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) capturada en Punta Abreojos.

#### 7.7.6. Elementos traza, defensas antioxidantes y daño oxidativo.

En los individuos capturados en PAO la concentración de Cd se correlacionó positivamente con la actividad de la Mn-SOD ( $p=0.03$ ) y la concentración de TBARS ( $p<0.01$ ) (Tabla, XII, Fig. 26). No se presentan resultados de las tortugas de LSI debido a que no se cuenta con datos de estrés oxidativo de estos individuos. En las tortugas verdes de BMA la actividad de la CAT se correlacionó negativamente con la concentración de Fe ( $p=0.04$ ), Zn ( $p=0.05$ ) y Ni ( $p=0.01$ ), y positivamente con la concentración del Si ( $p=0.04$ ) (Tabla, XII). En esa misma zona la actividad de las enzimas t-SOD ( $p=0.05$ ) y Mn-SOD ( $p=0.01$ ) se correlacionó positivamente con la concentración de Se de los individuos, y la actividad de la t-SOD se correlacionó negativamente con la concentración de Zn ( $p=0.04$ ) (Tabla, XII).

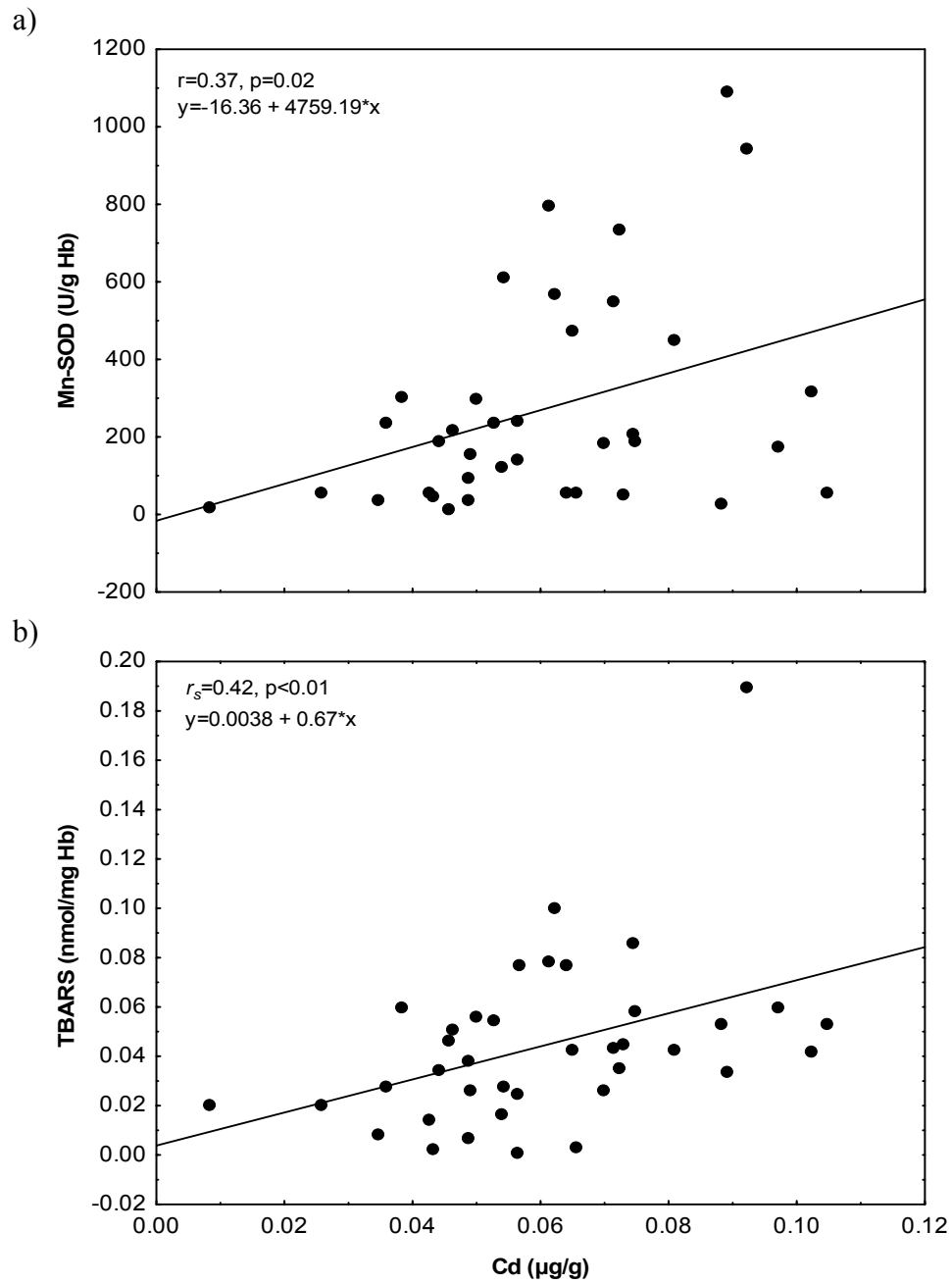
#### 7.8. Plaguicidas organoclorados (OC).

Los resultados de las concentraciones de OC se presentan como mediana y el IQR en la tabla XIII. De los 25 OC analizados, 72% ( $n=18$ ) fueron detectados en al menos una muestra. El grupo de OC más frecuentemente encontrado en los individuos fue el de los HCH. El  $\delta$ -hexaclorociclohexano ( $\delta$ -HCH), fue el plaguicida más prevalente, detectándose en el 85% de los individuos de tortugas verde (Fig. 27). Tres datos extremos no fueron considerados en los análisis estadísticos: 1 hembra subadulto de BMA, con una concentración de aldrin de  $389 \text{ ng mL}^{-1}$ ; 1 subadulto de sexo indefinido, de PAO con concentración de endrin de  $177.8 \text{ ng mL}^{-1}$ ; y 1 hembra subadulto, de PAO con una concentración de endrin sulfato de  $439.7 \text{ ng mL}^{-1}$ . En LSI se encontraron únicamente 10 de los 25 OC analizados, debido al reducido tamaño de muestra no se presentan datos de LSI en esta sección.

No se encontraron diferencias significativas en la concentración de los OC entre apariencia física de los individuos o por clases de talla. En BMA las tortugas verdes capturadas en invierno presentaron una mayor concentración de  $\gamma$ -clordano ( $p=0.04$ ) en comparación con las capturadas en verano. En PAO las tortugas verdes capturadas durante el 2005 presentaron mayor concentración de aldrin ( $p=0.01$ ) en comparación con el 2006,

año en el que las tortugas verdes presentaron mayor concentración de  $\beta$ -HCH ( $p=0.02$ ) en comparación con el 2005.

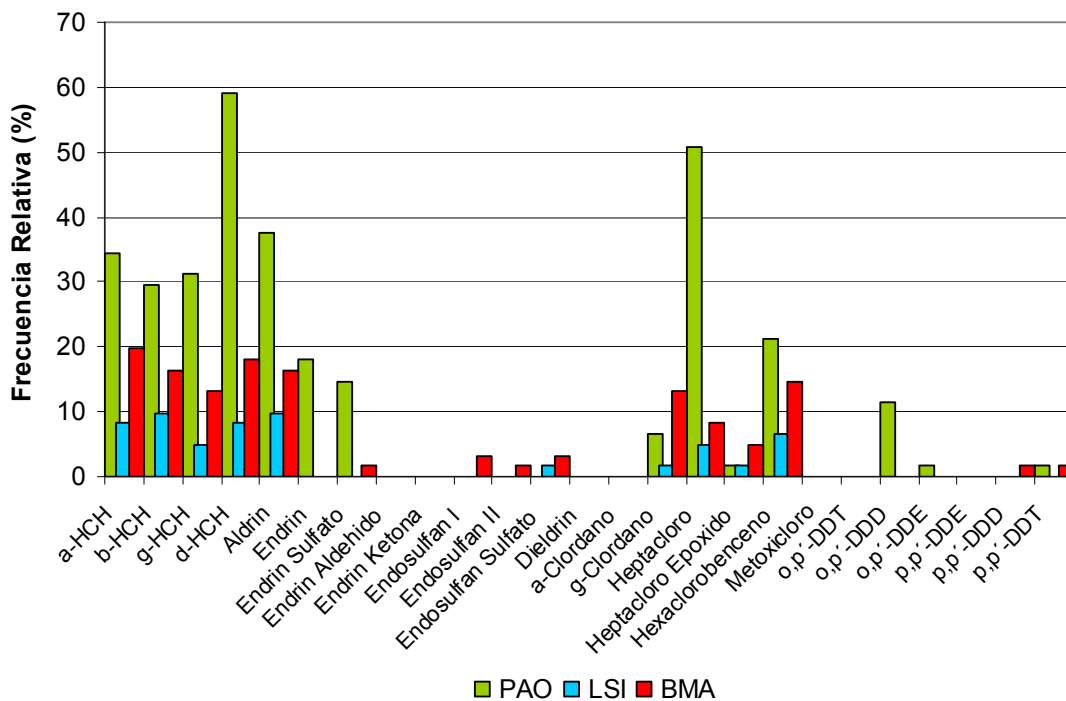




**Figura 26.** Relación entre la concentración de cadmio (Cd) con a) la actividad de la enzima superóxido dismutasa dependiente de manganeso (Mn-SOD) y b) la concentración de TBARS de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) capturada en Punta Abreojos.

**7.8.1. Diferencias entre zonas de estudio.**

La laguna costera en la que se detectó la mayor frecuencia de individuos con residuos de OC fue PAO (Fig. 27). En esta zona se registró la mayor frecuencia de individuos con heptacloro, así como la concentración más elevada del mismo ( $p=0.01$ ) en comparación con BMA. Las tortugas verdes capturadas en BMA presentaron concentraciones más elevadas de  $\alpha$ -HCH ( $p<0.001$ ),  $\delta$ -HCH ( $p=0.01$ ), aldrin ( $p<0.01$ ) y  $\gamma$ -clordano ( $p<0.01$ ) en comparación con las capturadas en PAO (Fig. 28).

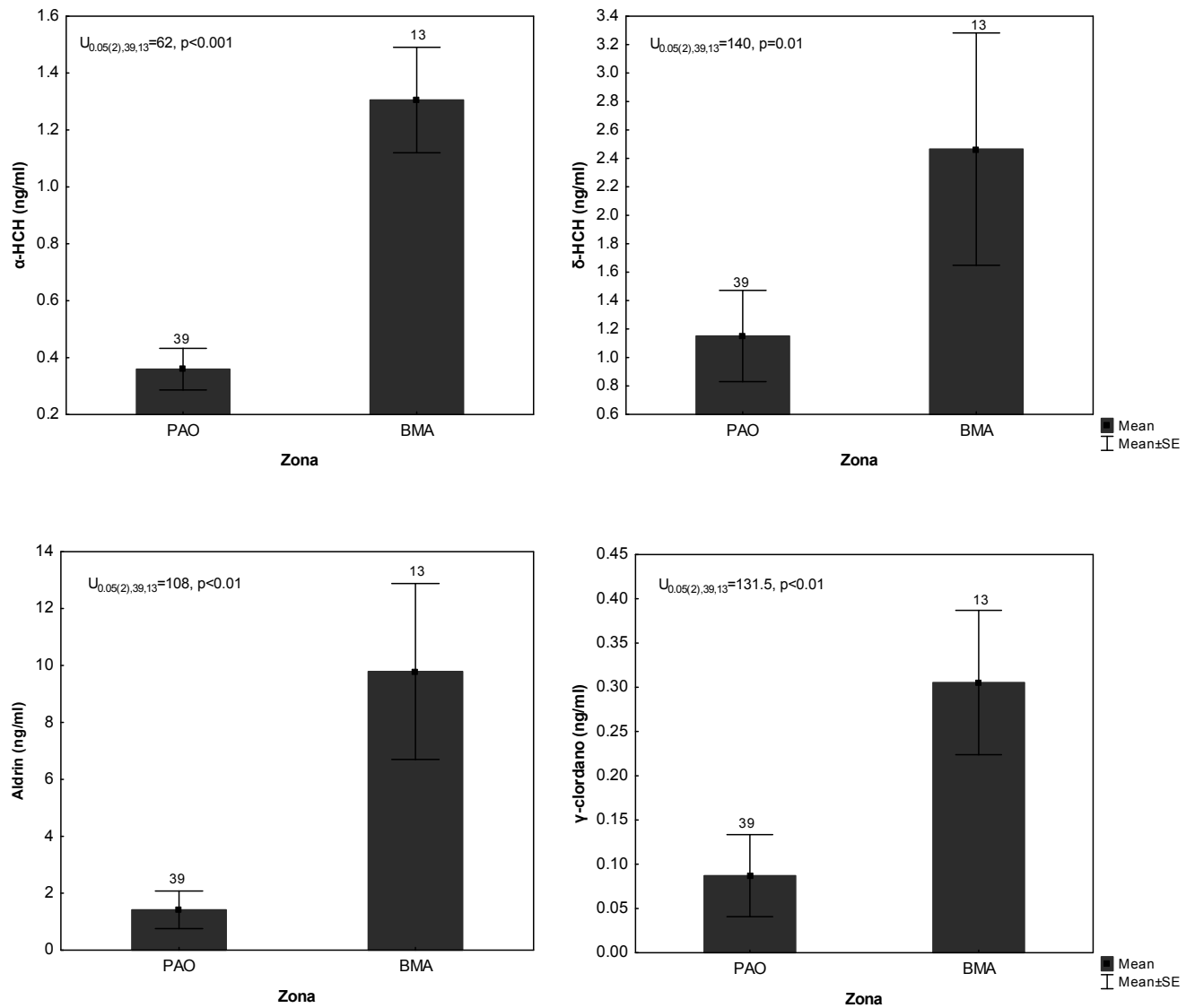


**Figura 27.** Frecuencia de tortugas verdes (*Chelonia mydas*) con residuos de plaguicidas organoclorados en la costa occidental de la península de Baja California Sur. PAO=Punta Abreojos; LSI=Laguna San Ignacio; BMA=Bahía Magdalena.

**Tabla XIII.** Concentración de plaguicidas organoclorados (ng mL<sup>-1</sup>) en plasma de tortuga verde, (*Chelonia mydas*) por zona de estudio.

	Zona														
	Punta Abreojos					Laguna San Ignacio					Bahía Magdalena				
	Rango	Mediana	IQR	%	N	Rango	Mediana	IQR	%	N	Rango	Mediana	IQR	%	N
<b>LRC (cm)</b>	43.9-92.4				39	39.7-62.2				8	46.3-70.4				13
<b>α-HCH</b>	0.001-1.34	0.161	0.443	53.8	39	0.001-1.86	0.3181	0.3805	62.5	8	0.001-2.37	1.323	0.347	92.3	13
<b>β-HCH</b>	0.001-10.71	1.170	3.664	46.2	39	0.001-10.54	3.6835	2.9889	75	8	0.001-23.35	4.584	4.308	76.9	13
<b>γ-HCH</b>	0.001-9.8	0.773	2.241	46.2	39	0.001-2.52	0.6500	1.2219	37.5	8	0.001-9.64	2.960	1.296	61.5	13
<b>δ-HCH</b>	0.001-9.83	0.790	0.792	92.3	39	0.001-4.34	0.4081	0.8825	62.5	8	0.001-10.57	2.614	1.041	84.6	13
<b>Aldrin</b>	0.005-25.94	0.958	0.383	59	39	0.005-3.97	3.5905	1.5127	75	8	0.005-27.86	10.433	17.887	75	12
<b>Endrin</b>	0.005-5.17	1.064	0.000	26.3	38	nd	-	-	0	8	nd	-	-	0	13
<b>Endrin sulfato</b>	0.005-36.79	1.398	1.856	40	20	na	-	-	-	0	0.001-1.36	-	-	100	1
<b>Endrin aldehido</b>	nd	-	-	0	19	nd	-	-	0	8	nd	-	-	0	12
<b>Endrin ketona</b>	nd	-	-	0	39	nd	-	-	0	8	nd	-	-	0	13
<b>Endosulfan I</b>	nd	-	-	0	39	nd	-	-	0	8	0.005-1.22	-	-	15.4	13
<b>Endosulfan II</b>	nd	-	-	0	39	nd	-	-	0	8	0.005-7.54	-	-	7.7	13
<b>Endosulfan sulfato</b>	nd	-	-	0	19	0.005-0.84	-	-	12.5	8	0.005-12.99	-	-	16.7	12
<b>Dieldrin</b>	nd	-	-	0	39	nd	-	-	0	8	nd	-	-	0	13
<b>α-Clordano</b>	nd	-	-	0	19	nd	-	-	0	8	nd	-	-	0	12
<b>γ-Clordano</b>	0.001-1.31	0.230	0.000	10.3	39	0.001-0.39	-	-	12.5	8	0.001-0.84	0.314	0.261	61.5	13
<b>Heptacloro</b>	0.001-36.49	8.607	11.435	82.1	39	0.001-23.02	5.5263	9.9534	37.5	8	0.001-13.77	2.731	3.523	38.5	13
<b>Heptacloro epoxido</b>	0.005-7.88	-	-	2.6	39	0.005-1.62	-	-	12.5	8	0.005-1.69	1.845	0.000	23.1	13
<b>o,p'-DDT</b>	nd	-	-	0	20	na	-	-	-	0	na	-	-	-	0
<b>o,p'-DDD</b>	0.005-29.43	0.745	0.012	33.3	21	na	-	-	-	0	nd	-	-	0	1
<b>o,p'-DDE</b>	0.005-0.32	-	-	5	20	na	-	-	-	0	nd	-	-	0	1
<b>p,p'-DDT</b>	0.001-0.26	-	-	2.6	39	nd	-	-	0	8	0.001-3.98	-	-	7.7	13
<b>p,p'-DDD</b>	nd	-	-	0	39	nd	-	-	0	8	0.005-11.82	-	-	7.7	13
<b>p,p'-DDE</b>	nd	-	-	0	39	nd	-	-	0	8	nd	-	-	0	13
<b>Hexaclorobenceno</b>	0.001-1.90	0.540	0.219	31.5	19	0.001-2.87	0.4414	0.4043	50	8	0.001-7.61	0.960	0.996	75	12
<b>Methoxychlor</b>	nd	-	-	0	39	nd	-	-	0	8	nd	-	-	0	13

Abreviaturas: IQR, rango intercuartil; LRC, largo recto caparazón. Las letras en superíndices, diferencias significativas  $p < 0.05$ .



**Figura 28.** Concentración de plaguicidas organoclorados en plasma de tortuga verde (*Chelonia mydas*) por zona de estudio. Los resultados se presentan como promedio  $\pm$  error estándar. Los números sobre cada columna denotan el tamaño del grupo. Las letras diferentes denotan diferencias significativas entre zonas ( $p < 0.05$ ). PAO=Punta Abrejos; BMA=Bahía Magdalena.

### **7.8.2. OC, morfometría y condición corporal (*Krel*).**

En PAO la concentración de  $\beta$ -HCH estuvo negativamente correlacionada con *Krel* ( $p=0.02$ ) y con el LRC ( $p=0.01$ ), y la concentración total de la suma de los HCH se correlacionó negativamente con el LRC de las tortugas ( $p=0.02$ ). En BMA la concentración de  $\gamma$ -HCH se correlacionó negativamente con el índice *Krel* ( $p=0.01$ ) (Tabla XIV).

### **7.8.3. OC y bioquímica sanguínea.**

Los OC se correlacionaron positiva o negativamente con la concentración de calcio, proteínas totales, K, fósforo, ácido úrico, lípidos, glucosa y la actividad de las enzimas ALT y AST de las tortugas verdes ( $p<0.05$ ) (Tabla XIV). En BMA únicamente los plaguicidas HCH se correlacionaron con la bioquímica, mientras que en PAO se correlacionaron además los ciclodienos, el  $\gamma$ -clordano, heptacloro y la suma de DDT (Tabla XIV).

### **7.8.4. OC y proporción leucocitaria.**

Únicamente en PAO la suma de las concentraciones de todos los ciclodienos se correlacionó positivamente con la proporción de monocitos de los individuos ( $p=0.02$ ) (Tabla XIV).

### **7.8.5. OC, VTG y hormonas.**

En PAO la suma de las concentraciones de todos los DDT y la concentración de aldrin estuvieron correlacionados negativamente con la concentración de  $T_4$  de las tortugas verdes ( $p<0.05$ ) (Tabla XIV). En BMA la concentración de heptacloro se correlacionó positivamente con la concentración de T de los individuos ( $p=0.02$ ) (Tabla XIV). En ninguna de las zonas de estudio se encontró una correlación entre los OC y la concentración de VTG de los individuos.

---

**7.8.6. OC, defensas antioxidantes y daño oxidativo.**

En PAO las concentraciones de diversos OC se correlacionaron positivamente con la actividad de las enzimas CAT y GST, mientras que en BMA se correlacionaron con la actividad de la CAT y GPx ( $p < 0.05$ ) (Tabla XIV). La concentración de TBARS se correlacionó en PAO con la concentración de ciclodienos y la suma de las concentraciones de los DDT, mientras que en BMA se correlacionó con la concentración de  $\gamma$ -clordano y heptacloro ( $p < 0.05$ ) (Tabla XIV).

**Tabla XIV.** Coeficientes de correlación de Spearman [ $r_s$  ( $p$ -valor) [n]] entre los plaguicidas ( $\text{ng mL}^{-1}$ ) y las variables morfométricas, parámetros bioquímicos, proporción leucocitaria, concentración de esteroides sexuales, tiroxina ( $T_4$ ), peroxidación de lípidos (TBARS) y actividad de las enzimas antioxidantes de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) por zona de estudio.

Parámetro	Punta Abreojos										
	$\alpha$ - HCH	$\beta$ - HCH	$\gamma$ - HCH	$\Sigma$ HCH <sup>a</sup>	Aldrin	Endrin	$\Sigma$ Ciclodienes <sup>b</sup>	$\gamma$ - Clordano	Heptacloro	$\Sigma$ DDT <sup>c</sup>	Hexacloro- benceno
LRC (cm)		-0.38 (0.01) [39]		-0.34 (0.02) [39]							
<i>Krel</i>		-0.38 (0.02) [39]									
Colesterol (mg/dL)					-0.31 (0.05) [38]		0.34 (0.03) [38]				
Glucosa (mg/dL)						-0.35 (0.03) [37]					
Potasio (mmol/L)								-0.40 (0.01) [37]		-0.36 (0.02) [37]	
Triglicéridos (mg/dL)						0.31 (0.05) [37]		-0.37 (0.02) [37]		-0.34 (0.04) [37]	
Ácido Úrico (mg/dL)						-0.32 (0.05) [37]					
Proteínas (g/dL)								-0.35 (0.03) [38]			

(Continúa)

Table XII. (Continua)

Parámetro	Punta Abreojos										
	$\alpha$ -HCH	$\beta$ -HCH	$\gamma$ -HCH	$\Sigma$ HCH <sup>a</sup>	Aldrin	Endrin Sulfato	$\Sigma$ Ciclodienos <sup>b</sup>	$\gamma$ -Clordano	Heptacloro	$\Sigma$ DDT <sup>c</sup>	Hexacloro-benceno
<b>Calcio (mg/dL)</b>		-0.50 (<0.001) [38]	-0.37 (0.02) [38]		0.44 (<0.01) [38]				-0.34 (0.03) [38]		
<b>Fósforo (mg/dL)</b>	-0.38 (0.01) [38]	-0.31 (0.05) [38]							-0.37 0.02 [38]		
<b>ALT (U/L)</b>					-0.34 (0.03) [38]		-0.37 (0.02) [38]		0.38 (0.02) [38]		
<b>AST (U/L)</b>							0.35 (0.03) [38]				
<b>Monocitos (%)</b>							0.45 (0.02) [23]				
<b>T<sub>4</sub> (µg%)</b>					-0.44 (<0.01) [36]					-0.32 (0.05) [36]	
<b>TBARS (nmol/mg Hb)</b>		-0.46 (<0.01) [35]			0.43 (<0.01) [35]		0.41 (0.01) [35]			0.33 (0.05) [35]	
<b>GST (U/g Hb)</b>	0.42 (0.01) [35]	0.40 (0.01) [35]	0.45 (<0.01) [35]	0.39 (0.01) [35]				0.42 (0.01) [35]	0.42 (0.01) [35]		0.47 (0.04) [19]
<b>CAT (U/g Hb)</b>						0.49 (0.04) [17]					

(Continua)



Table XIV. (Continua)

Parámetro	Bahía Magdalena						
	$\alpha$ -HCH	$\beta$ -HCH	$\gamma$ -HCH	$\Sigma$ HCH <sup>a</sup>	$\gamma$ -Clordano	Heptacloro	$\Sigma$ DDT <sup>c</sup>
LRC (cm)							
<i>Krel</i>			-0.69 (0.01) [13]				
Calcio (mg/dL)	1 (<0.01) [6]		-0.81 (0.04) [6]				
Proteínas (g/dL)	0.82 (0.05) [6]						
Fósforo (mg/dL)		-0.94 (0.01) [5]		-0.94 (0.01) [6]			
ALT (U/L)	-0.88 (0.03) [6]						
AST (U/L)	-0.82 (0.05) [6]		0.87 (0.02) [6]				
T (ng/ml)						0.65 (0.02) [12]	
TBARS (nmol/mg Hb)					0.78 (<0.01) [10]	0.69 (0.02) [10]	
CAT (U/g Hb)					0.83 (<0.01) [10]		0.62 (0.05) [10]
GPx (U/g Hb)					0.80 (<0.01) [10]		

Abreviaturas: LRC, largo recto del caparazón; *Krel*, índice relativo de condición corporal; AST, aspartato aminotransferasa; ALT, alanina aminotransferasa; T<sub>4</sub>, tiroxina; T, testosterona; GST, glutatión S-transferasa; CAT, catalasa; GPx, glutatión peroxidasa; espacios en blanco, no correlación estadísticamente significativa p<0.05.

<sup>a</sup>  $\Sigma$ HCH = suma de los isómeros  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ .

<sup>b</sup>  $\Sigma$ Ciclodienos = aldrin, endrin, endrin sulfato, endrin aldeído, endrin ketona, endosulfan I, endosulfan II, endosulfan sulfato, dieldrin

<sup>c</sup>  $\Sigma$ DDT = o,p'-DDT, o,p'-DDD, o,p'-DDE, p,p'-DDT, p,p'-DDD, p,p'-DDE.

## **7.9. Caracterización integral de la información.**

### **7.9.1. Caracterización regional del estado de salud.**

Un ACP generado a partir de una base de datos conformada por 25 variables medidas en 45 tortugas marinas permitió caracterizar dos grupos de individuos de acuerdo a la concentración de contaminantes químicos presentes en las mismas y las diferencias en su respuesta antioxidante. Dicho análisis generó tres CP los cuales explicaron el 43.3% de la varianza total de los datos (19.0%, 13.8% y 10.5 % respectivamente). Las cargas factoriales, que describen la correlación entre los CP y las variables originales, se presentan en la Tabla XV. En la proyección del CP1 y CP2 se observan dos grupos de individuos, uno correspondiente a las tortugas verdes capturadas en BMA y el otro a aquellas capturadas en PAO (las líneas dibujadas sin significado estadístico) (Fig. 29). El CP1 se correlacionó con la concentración de los cuatro isómeros de HCH y con la suma de los mismos de las tortugas verdes (Tabla XV), mostrando un gradiente en la concentración de estos residuos entre los individuos. Las tortugas verdes que presentaron las concentraciones más elevadas de HCH se agruparon sobre los valores negativos del eje del CP1 (Fig. 29). El CP2 separó a las tortugas verdes capturadas en BMA de aquellas capturadas en PAO. Las tortugas verdes que se agruparon hacia los valores negativos del eje del CP2 son individuos capturados en BMA los cuales se caracterizan por presentar las mayores concentraciones de aldrin y la mayor actividad de la enzima Mn-SOD (Fig. 29). Por el contrario, los individuos capturados en PAO agrupados hacia los valores más altos del CP2 se caracterizaron por presentar las concentraciones más elevadas de heptacloro endrin, y Cd en comparación con el resto (Fig. 29). El CP3 explicó la separación de dos individuos de PAO (no mostrados gráficamente). Estas tortugas se agruparon en los valores positivos del CP3 separándose del resto por presentar la mayor concentración de TBARS medida en los individuos, la mayor actividad de la enzima GPx y la mayor concentración de la suma de los clordanos, en comparación con lo observado en el resto de las tortugas verdes.

**Tabla XV.** Cargas factoriales del análisis de componentes principales realizado sobre 25 variables (contaminantes químicos y defensas antioxidantes) medidas en 45 tortugas verdes capturadas en Punta Abreojos (PAO) y Bahía Magdalena (BMA). Valores obtenidos sin rotación de ejes. Los valores  $>0.57$  fueron considerados como significativos (en negritas).

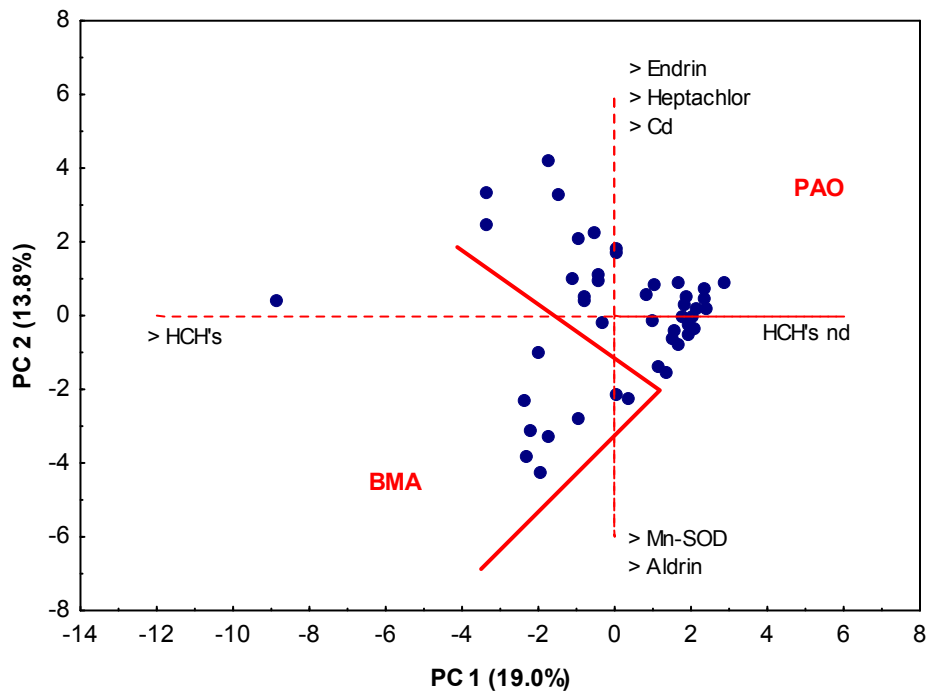
	CP 1 (19%)	CP 2 (13.8%)	CP 3 (10.5%)
Varianza acumulada (%)	19.0	32.8	43.3
<i>Krel</i>	-0.0634	-0.2853	0.0135
TBARS	0.1460	0.0065	<b>-0.6604</b>
GST	-0.1558	0.4172	-0.3547
CAT	0.2184	0.5072	-0.3679
GPx	0.1436	0.0043	<b>-0.7625</b>
Mn-SOD	-0.4147	<b>-0.5701</b>	-0.3233
CuZn-SOD	-0.3783	-0.4261	0.0847
Cd	0.5356	<b>0.5911</b>	-0.1502
Fe	0.4160	0.2092	0.2416
Zn	0.1532	0.0935	0.3158
Ni	-0.0686	0.2734	0.2117
Si	0.5254	0.3271	0.0495
Se	0.0520	0.0420	-0.4712
Mg	0.2618	0.3267	0.3256
$\alpha$ -HCH	<b>-0.8336</b>	-0.1257	-0.1023
$\beta$ -HCH	<b>-0.8166</b>	0.3490	0.2027
$\gamma$ -HCH	<b>-0.7053</b>	0.4384	-0.1917
$\delta$ -HCH	<b>-0.6668</b>	0.2229	0.1232
$\Sigma$ HCH <sup>a</sup>	<b>-0.8881</b>	0.3644	0.0720
Aldrin	-0.3678	<b>-0.5971</b>	-0.0808
Endrin	-0.2359	<b>0.5833</b>	-0.0249
$\Sigma$ Clordanos <sup>b</sup>	-0.0352	-0.2069	<b>-0.6624</b>
Heptacloro	-0.2393	<b>0.6346</b>	-0.3264
Heptacloro epóxido	-0.3868	0.2245	0.1515
$\Sigma$ DDT <sup>c</sup>	0.0624	-0.1708	0.0304

Abreviaturas: CP, componente principal; *Krel*, índice relativo de condición corporal; TBARS, peroxidación de lípidos, GST, glutatión S-transferasa; CAT, catalasa; GPx, glutatión peroxidasa; Mn-SOD, superóxido dismutasa mitocondrial; CuZn-SOD, superóxido dismutasa citosólica; Cd, cadmio; Fe, hierro; Zn, zinc; Ni, níquel; Si, silicio; Se, selenio; Mg, magnesio; HCH, hexaclorociclohexano;

<sup>a</sup>  $\Sigma$ HCH = suma de los isómeros  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ .

<sup>b</sup>  $\Sigma$ Clordanos = suma de isómeros  $\alpha$ ,  $\delta$

<sup>c</sup>  $\Sigma$ DDT = o,p'-DDT, o,p'-DDD, o,p'-DDE, p,p'-DDT, p,p'-DDD, p,p'-DDE.



**Figura 29.** Proyección gráfica de 45 tortugas verdes en el plano de los dos primeros componentes principales (PC1, PC2; 32.8% varianza explicada), extraídos con un análisis de componentes principales realizado sobre las variables de estrés oxidativo y contaminantes químicos. PAO=Punta Abreojos; BMA=Bahía Magdalena; Mn-SOD=Superóxido dismutasa mitocondrial; HCH=Hexaclorociclohexanos; Cd=Cadmio. Las líneas dibujadas no tienen significado estadístico.

### 7.9.2. Caracterización temporal del estado de salud.

A partir de la base de datos de 35 tortugas marinas capturadas en PAO las cuales contaron con datos de las 39 variables consideradas en el estudio (parámetros de salud y concentración de contaminantes) se realizó un ACP con rotación ortogonal por medio del método “varimax normalizada” para una mejor interpretación. Los dos primeros CP generados por el análisis explicaron el 29% de la varianza total de los datos. Las cargas factoriales, que describen la relación entre las variables originales y los CP obtenidos se presentan en la Tabla XVI. La proyección gráfica de las tortugas verdes en el plano del CP1 (16.3% de la varianza total) y CP2 (12.7% de la varianza total) se presentan en la figura 28b. El CP 1 separó claramente dos grupos de individuos, los cuales corresponden a los dos años de captura del estudio. Sobre los valores negativos del eje del CP1 se agruparon aquellas tortugas verdes (captura del 2006) que presentaron la mayor concentración de glucosa, ácido úrico, VTG y T<sub>4</sub> (Fig. 29). En los valores positivos del mismo eje se agrupan el resto de las tortugas verdes (captura del 2005) las cuales se caracterizaron por presentar una mayor concentración de P, Si y la mayor actividad de la enzima AST (Fig. 30). Sobre el eje del CP2 es posible diferenciar a los individuos capturados en el 2005. Las tortugas que presentaron los valores más altos sobre el CP2 se caracterizaron por presentar la mayor concentración observada de los cuatro isómeros de HCH, de heptacloro y endrin; mientras que los valores cercanos a 0 sobre el mismo eje son todos aquellos individuos con valores no detectados de residuos OC (Fig. 30).

**Tabla XVI.** Cargas factoriales del análisis de componentes principales realizado sobre 39 variables (parámetros de salud y contaminantes químicos) medidas en 35 tortugas verdes capturadas en Punta Abreojos. Valores obtenidos a partir de la rotación ortogonal de los ejes por el método “varimax normalizada”. Los valores >0.57 fueron considerados como significativos (en negritas).

	CP 1 (16.3%)	CP 2 (12.7)	CP 3 (8.4%)
<b>Varianza acumulada (%)</b>	16.3	29	37.4
<b>Krel</b>	-0.1926	0.0880	0.2594
<b>TBARS</b>	0.3136	0.0484	0.0413
<b>GST</b>	-0.5273	-0.4104	0.0057
<b>CAT</b>	0.2201	-0.1559	-0.4701
<b>GPx</b>	-0.0433	-0.0695	0.1400
<b>Mn-SOD</b>	0.2118	0.0002	<b>-0.5805</b>
<b>CuZn-SOD</b>	0.0929	-0.0149	<b>-0.8534</b>
<b>Colesterol</b>	0.2554	-0.1923	0.3197
<b>Glucosa</b>	<b>-0.7669</b>	0.1330	0.0615
<b>K</b>	0.3106	0.0205	-0.0463
<b>Triglicéridos</b>	-0.0530	-0.1734	0.0712
<b>Ácido úrico</b>	<b>-0.9084</b>	-0.1239	0.0427
<b>Calcio</b>	0.4707	0.3614	0.1622
<b>ALT</b>	-0.0312	-0.1447	0.0574
<b>AST</b>	<b>0.7619</b>	0.1377	-0.0752
<b>Proteínas totales</b>	0.0507	0.0517	-0.2044
<b>Fósforo</b>	<b>0.6764</b>	0.1495	-0.0182
<b>T</b>	0.0950	0.0129	-0.1697
<b>T<sub>4</sub></b>	<b>-0.5747</b>	-0.0210	-0.5020
<b>E<sub>2</sub></b>	0.0228	-0.0407	-0.3628
<b>VTG</b>	<b>-0.7612</b>	0.2300	0.0074
<b>Cd</b>	0.3735	0.1365	-0.2699
<b>Fe</b>	0.2274	0.1866	0.3268
<b>Zn</b>	0.0597	0.1462	0.1725
<b>Ni</b>	0.1360	-0.0217	<b>-0.8417</b>
<b>Si</b>	<b>0.7454</b>	0.1054	0.0488
<b>Se</b>	-0.2950	0.1359	0.0331
<b>Mg</b>	0.1772	-0.0702	0.3190
<b>α-HCH</b>	-0.0145	<b>-0.8309</b>	-0.2453
<b>β-HCH</b>	-0.1260	<b>-0.7832</b>	-0.2284
<b>γ-HCH</b>	-0.2666	<b>-0.7189</b>	-0.1615
<b>δ-HCH</b>	0.1125	<b>-0.6181</b>	0.1876
<b>ΣHCH<sup>a</sup></b>	-0.1294	<b>-0.9401</b>	-0.1308
<b>Aldrin</b>	0.0839	0.1707	0.1893

(Continúa)

**Table XVI.** (Continua)

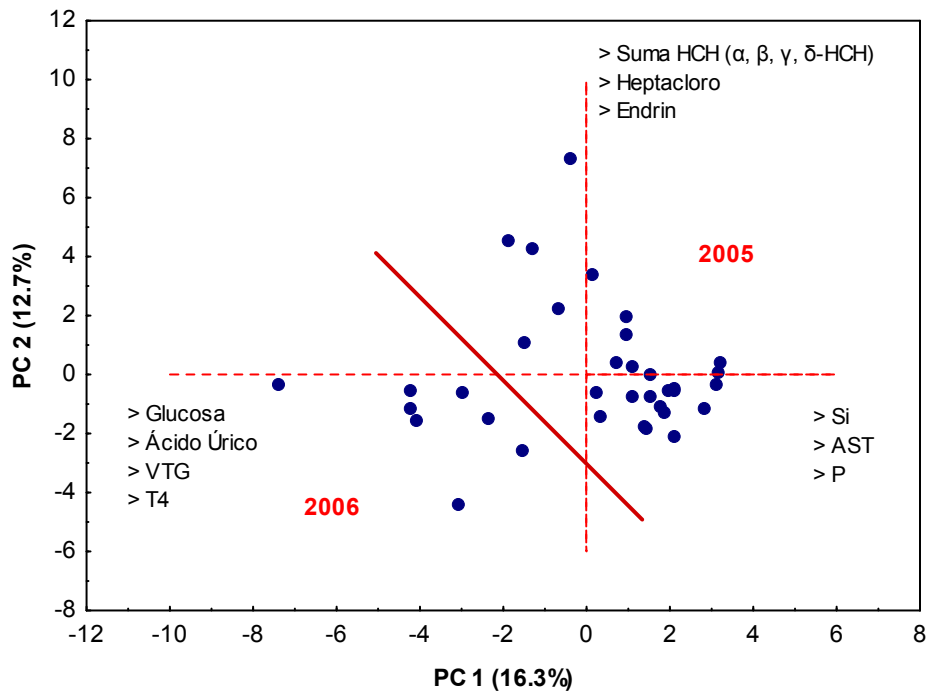
<b>Endrin</b>	0.3308	<b>-0.5857</b>	-0.5581
<b>ΣClordanos<sup>b</sup></b>	-0.1804	0.0498	-0.0209
<b>Heptacloro</b>	-0.3193	<b>-0.7997</b>	0.1834
<b>Heptacloro epóxido</b>	0.2054	-0.4917	0.1173
<b>ΣDDT<sup>c</sup></b>	0.1148	0.0717	0.2334

Abreviaturas: CP, componente principal; *Krel*, índice relativo de condición corporal; TBARS, peroxidación de lípidos, GST, glutatión S-transferasa; CAT, catalasa; GPx, glutatión peroxidasa; Mn-SOD, superóxido dismutasa mitocondrial; CuZn-SOD, superóxido dismutasa citosólica; K, potasio; ALT, alanina aminotransferasa; AST, aspartato aminotransferasa; T, testosterona, T<sub>4</sub>, tiroxina; E<sub>2</sub>, estradiol; VTG, vitelogenina; Cd, cadmio; Fe, hierro; Zn, zinc; Ni, níquel; Si, silicio; Se, selenio; Mg, magnesio; HCH, hexaclorociclohexano;

<sup>a</sup> ΣHCH = suma de los isómeros α, β, γ, δ.

<sup>b</sup> ΣClordanos = suma de isómeros α, δ

<sup>c</sup> ΣDDT = o,p'-DDT, o,p'-DDD, o,p'-DDE, p,p'-DDT, p,p'-DDD, p,p'-DDE.



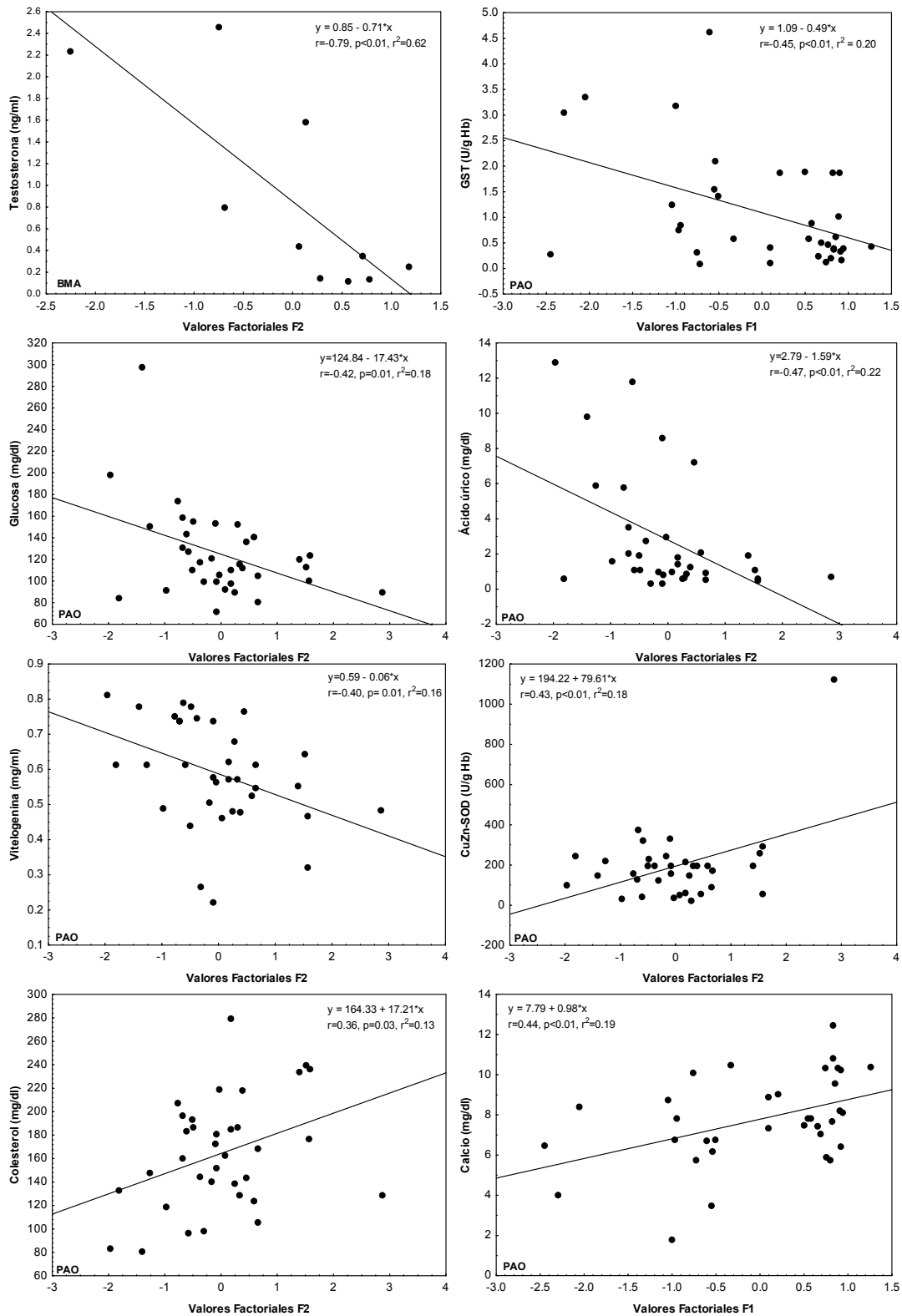
**Figura 30.** Proyección gráfica de 35 tortugas verdes capturadas en Punta Abrejos en el plano de los dos primeros componentes principales (PC1, PC2; 29% varianza explicada), extraídos con el análisis de componentes principales realizado sobre las variables de salud y contaminantes químicos. HCH=Hexaclorociclohexanos; VTG=Vitелogenina; T<sub>4</sub>=Tiroxina; Si=Silicio; AST=Aspartato aminotransferasa; P=Fósforo. La línea dibujada no tiene significado estadístico.



### 7.9.3. Efecto de los contaminantes químicos sobre los parámetros de salud.

Un ACP realizado a partir de 20 contaminantes químicos (elementos traza y OC) medidos en 10 tortugas verdes capturadas en BMA generó tres factores los cuales extrajeron el 67.3% de la varianza total de los datos. Solamente los dos primeros factores extraídos presentaron cargas factoriales significativas (cargas factoriales  $>0.83$ ) con relación a las variables originales. El primer factor (F1, 33.6% de la varianza total) se correlacionó con la concentración de los isómeros de HCH, del heptacloro epoxido y el hexaclorobenceno; el segundo factor (F2, 19.1% de la varianza total) se correlacionó con el heptacloro (Anexo, 4). Al correlacionar los factores generados a partir de la combinación de todos los contaminantes con los parámetros de salud (esteroides, T<sub>4</sub>, VTG, TBARS, enzimas antioxidantes) de las tortugas verdes de BMA se encontró una correlación negativa significativa entre los valores factoriales del eje F2 y la concentración de T de las tortugas verdes ( $r=-0.79$ ,  $p<0.01$ ,  $n=10$ ) (Fig. 31)

El ACP realizado sobre los 20 contaminantes químicos medidos en 35 tortugas verdes de PAO generó tres componentes los cuales explicaron el 49% de la varianza total de los datos. Sólo los dos primeros factores extraídos presentaron cargas factoriales significativas (cargas factoriales  $>0.53$ ) con relación a las variables originales. El F1 (27.1% de la varianza total) estuvo correlacionado con la concentración de todos los isómeros de HCH, endrin, y con el heptacloro mientras que el F2 (11.4% de la varianza total) se correlacionó con la concentración de Zn, Ni y Se (Anexo, 5). En PAO los valores factoriales de F1 se correlacionaron significativamente con la concentración de Ca ( $r=0.44$ ,  $p<0.01$ ,  $n=35$ ) y la actividad de la GST ( $r=-0.45$ ,  $p<0.01$ ,  $n=35$ ) de los individuos. Los valores factoriales del eje F2 se correlacionaron con la concentración de VTG ( $r=-0.40$ ,  $p=0.01$ ,  $n=35$ ), ácido úrico ( $r=-0.47$ ,  $p<0.01$ ,  $n=35$ ), glucosa ( $r=-0.42$ ,  $p=0.01$ ,  $n=35$ ), colesterol ( $r=0.36$ ,  $p=0.03$ ,  $n=35$ ) y la actividad de la CuZn-SOD ( $r=0.43$ ,  $p<0.01$ ,  $n=35$ ) (Fig. 31).



**Figura 31.** Regresión entre los valores factoriales del análisis de componentes y las variables de salud de las tortugas verdes. PAO=Punta Abreojos; BMA=Bahía Magdalena; GST=Glutacion S-transferasa; CuZn-SOD=Superóxido dismutasa citosólica.

## 8. DISCUSIONES

Existen numerosas definiciones de salud en la literatura. La salud a nivel individuo es definida como la ausencia de enfermedad (Ostfeld *et al.*, 2002). La definición biológica, y por ende dinámica, establece que salud es el estado de un individuo o grupo de organismos que les permite respuestas biológicas y sociales adecuadas a los estímulos del ambiente (*e.g.* clima) y la adaptación adecuada a los estímulos nuevos (Jenicek, 1996). Un organismo sano tiene la habilidad para resistir a infecciones o perturbaciones no infecciosas y la capacidad de recuperarse ante las mismas una vez enfermo (Ostfeld *et al.*, 2002).

La enfermedad, entonces, la definiremos como el estado alterado del organismo en el que existe una pérdida o anormalidad anatómica (estructura) o fisiológica (función), la cual puede ser temporal (enfermedad aguda) o permanente (estado crónico). La etiología de la enfermedad incluye a una gran variedad de factores biológicos (*e.g.* microorganismos), físicos (*e.g.* temperatura, radiación) y químicos (*e.g.* contaminantes) a los cuales está expuesto el organismo (Jenicek, 1996). Diversos factores causales, endógenos o exógenos, pueden actuar conjuntamente de manera sinérgica e incrementando el riesgo de enfermedad en el organismo. El nivel y dirección de las respuestas biológicas o fisiológicas que presente el organismo serán variables dependiendo si el estímulo es percibido como nuevo o conocido y del nivel inicial en el que se encuentre la función biológica al momento del estímulo (Jenicek, 1996). Se requiere de un gran esfuerzo para poder explicar la diversidad de respuestas generadas por la interacción entre el organismo y su ambiente, para determinar los factores perjudiciales al organismo y las respuestas “sanas” o no a los mismos (Jenicek, 1996).

En poblaciones silvestres, se puede definir la enfermedad como cualquier limitación que interfiera o modifique la función normal, incluídas las respuestas a agentes infecciosos, defectos congénitos y factores ambientales (*e.g.* nutrición, toxinas y condiciones climáticas) ó, la combinación de dichos factores (Wobeser, 1981). Todas éstas limitantes afectarán negativamente la subsistencia de las poblaciones a largo plazo y la habilidad de otras poblaciones sanas de reemplazar dichos roles ecológicos en el ecosistema (Deem *et al.*, 2001).

---

La medicina de la conservación es el nexo entre la salud humana, la salud animal y el estado de conservación de las poblaciones en vida silvestre desde el punto de vista interdisciplinario (Tabor, 2002). Es una disciplina reciente que representa la integración del conocimiento generado por la medicina veterinaria, toxicología, ecología y la biología de la conservación, entre otros, tal como es el estudio de las fuentes ambientales de agentes infecciosos y contaminantes, la determinación de dosis letales, determinación de los efectos médico-veterinarios (*e.g.* sistema inmune, nervioso, reproductivo), la evaluación del efecto al estado de salud de las poblaciones en vida silvestre, la evaluación de las rutas de transmisión (*e.g.* infecciones), evaluación de los efectos a la cadena trófica, salud pública y finalmente al estado de conservación de las poblaciones (Ostfeld *et al.*, 2002; Tabor, 2002).

En este estudio se presentan por vez primera valores de una variedad de parámetros clínicos, bioquímicos y endócrinos medidos en sangre de organismos vivos de tortuga verde del Pacífico Oriental que habita en la costa occidental de Baja California Sur, México. El estudio provee información fisiológica básica de la tortuga verde, caracterizada por distintos factores bióticos (estado físico, clases de talla, condición corporal) y abióticos (estación, año, zona, presencia de contaminantes), que podrá ser utilizada como línea de referencia para trabajos posteriores con esta especie.

### **8.1. Estructura poblacional y estado físico de las tortugas verdes.**

Con excepción de BMA, es escasa la información en torno a las poblaciones y estado de salud de la tortuga verde que habita en la costa occidental de Baja California Sur debido, probablemente, a la accesibilidad y lejanía de la costa con los sitios urbanos. A partir de cifras de la CPUE se infiere que PAO es un área de alimentación de gran importancia para la tortuga verde, dado que en ella se agrupan un gran número de individuos. La CPUE en PAO (1.01) y en LSI (0.41) fue mayor a la de BMA (0.17) en los años de captura de este estudio. La similitud en el número de individuos capturados en BMA y PAO se debió al gran esfuerzo de muestreo empleado en la primera (BMA, 316 horas; PAO, 53 horas). La diferencia en la CPUE entre ambas zonas ha sido observada anteriormente y atribuida a diferencias en la disponibilidad de alimento, lo cual pudiera

estar contribuyendo a las diferentes densidades poblacionales observadas (Koch *et al.*, 2007).

La ausencia en las tres lagunas costeras de individuos pelágicos (<25cm LRC) apoya la teoría sobre una fase oceánica de las crías de tortuga verde, como se ha sugerido con tortuga verde (Musick y Limpus, 1997). Así mismo, la ausencia de juveniles menores a 40 cm LRC en este estudio coincide y apoya la idea del cambio ontogénico de hábitat, de oceánico a nerítico en la fase juvenil de la tortuga verde de esta región (Nichols, 2003). En este estudio se empleó la clasificación de clases de talla propuesta para tortuga verde de Hawai con la única finalidad de hacer posible la comparación de los resultados con la literatura. Considerando la talla promedio de anidación (77.3 cm LRC) empleada para diferenciar individuos juveniles de adultos de tortuga verde en el pacífico mexicano, se hace aun más evidente la gran abundancia de organismos juveniles (>87%) en la costa occidental de Baja California Sur, como se ha reportado previamente (Brooks *et al.*, 2004; Koch *et al.*, 2006; 2007).

Los rangos de talla observados en PAO sugieren que esta laguna es hábitat de individuos juveniles y adultos (>77.3 cm LRC, n=7). Por el contrario, en LSI se capturaron los organismos más pequeños y se observó el menor rango de talla (<62 cm LRC). Esta diferencia puede atribuirse al hecho de que el estero La Bocana en PAO está en contacto directo con el Océano Pacífico. La escasez de individuos adultos en BMA (>77.3 cm LRC, n=1) puede deberse a que en este estudio todas las capturas fueron realizadas en el interior del estero Banderitas, el cual se caracteriza por ser un canal somero y protegido por campos de dunas, llanuras y barras de arena (INEGI, 1995). La distribución diferencial por tallas de la tortuga verde, entre ambientes profundos y expuestos (organismos más grandes) y los someros y protegidos (tallas menores) se ha observado tanto en BMA como en el Golfo de California en Bahía de los Ángeles (Seminoff *et al.*, 2003; López-Mendilaharsu *et al.*, 2005). En BMA los individuos adultos han sido observados en las inmediaciones con el océano Pacífico (López-Mendilaharsu *et al.*, 2005; Koch *et al.*, 2007).

El estado físico de las tortugas verdes capturadas en este estudio es considerado de manera general como bueno. Ningún organismo presentó signos de fibropapiloma, epidemia que afecta actualmente a todas las especies de tortugas marinas alrededor del

---

mundo (Aguirre y Lutz, 2004). No se encontraron signos de desnutrición ni evidencia de problemas médicos o físicos que sugirieran una reducción en la movilidad o en la capacidad de obtención de alimento (George, 1997). Solamente el 15% de los organismos presentaron heridas recientes, tales como hematomas, rasguños o pequeñas cortadas en el cuerpo, aletas o caparazón. Ese tipo de heridas o abrasiones pudieran haber sido generadas por depredadores como aves, peces o tiburones (George, 1997); sin embargo, no se observaron amputaciones ó mordidas severas. En ninguna de las tortugas verdes muestreadas en este estudio se observó evidencia de daño antropogénico por coalición con embarcaciones ó enmallamiento, como se ha reportado en BMA y el Golfo de California (Seminoff *et al.*, 2003; Mancini, 2009). Los balanos fueron los epibiontes más frecuentes, los cuales se presentaron en el caparazón, plastrón, boca, cola, aletas e incluso ojos. Los balanos no pueden ser considerados como epibiontes inocuos, ya que éstos pueden llegar a ocasionar lesiones en el caparazón, obstrucción oro-faríngea y lesiones viscerales (Herbst y Jacobson, 1995), particularmente cuando las tortugas marinas presentan un moderado o elevado número de balanos (Seminoff, comm. pers.). Individuos débiles o lesionados pueden presentar epibiontes de mayor tamaño y en mayor abundancia, dificultando la locomoción y aumentando el gasto energético del individuo (Herbst y Jacobson, 1995; George, 1997), por lo que en este estudio la presencia de epibiontes, particularmente balanos, fue considerado un criterio de clasificación al momento de definir el estado físico de las tortugas marinas. Algunos individuos con lesiones en los bordes de las aletas presentaron balanos incrustados en las mismas, generando sangrado y probablemente retrasando el proceso de cicatrización. La presencia de algunas variedades de balanos pueden dañar la piel y caparazón al grado de permitir el ingreso de bacterias y hongos (George, 1997). Recientemente, se ha sugerido a los ectoparásitos como probables agentes de transmisión mecánica de herpes virus asociados a fibropapiloma en tortugas marinas de Hawai (Greenblatt *et al.*, 2004). Las sanguijuelas son otro tipo de ectoparásitos de las tortugas marinas comúnmente encontrados en la superficie de tejidos suaves (George, 1997). En un individuo de BMA se encontraron ectoparásitos no identificados con forma de gusano en la parte ventral de la aleta delantera.

---

En este estudio no fue posible tomar en consideración el sexo de las tortugas verdes capturadas, debido a que la determinación sexual en juveniles de tortugas marinas no es posible por medio de la inspección visual de las características morfológicas (Owens *et al.*, 1978). Un método ampliamente aceptado y validado para la determinación del género en juveniles de tortugas marinas, particularmente de tortugas caguama (*C. caretta*), ha sido la determinación de los rangos de la concentración de T en sangre (Owens *et al.*, 1978; Wibbels *et al.*, 1987b; Braun-McNeill *et al.*, 2007). Aún cuando en este estudio se cuantificó la concentración de T de las tortugas verdes, el uso de dicho método requiere ser validado por medio de técnicas laparoscópicas para la verificación del género, previo a ser utilizado en juveniles de tortugas marinas (Wibbels *et al.*, 2000).

Durante el trabajo de campo de este estudio se clasificaron visualmente como hembras a los tres adultos capturados en PAO, tomando en cuenta el criterio de la longitud de la cola. Los machos desarrollan como característica sexual secundaria, a partir de la madurez sexual, una larga y musculosa cola prensil que se extiende fuera del caparazón, criterio empleado para la determinación sexual en adultos (Wibbels *et al.*, 2000; Casale *et al.*, 2005). Las longitudes de la cola de los machos varían entre especies y posiblemente entre poblaciones (Wibbels *et al.*, 2000) y en juveniles no es un buen indicador del género de las tortugas marinas (Wibbels *et al.*, 1987b). Existe la posibilidad de subestimar el número de organismos clasificados como machos en poblaciones donde individuos cercanos a la talla de madurez sexual aún no desarrollan sus caracteres secundarios (Owens *et al.*, 1978; Casale *et al.*, 2005). Lo anterior se ha reportado en tortugas verdes capturadas en el Golfo de California (Owens *et al.*, 1978), en donde los juveniles maduran a tallas mayores que la talla promedio de anidación de la tortuga verde del Pacífico Este (77.3 cm) (Seminoff *et al.*, 2002b). Es muy probable que las tortugas verdes del noroeste de México cercanas a la talla de madurez sexual (estimada a partir de hembras anidantes y desconocida en machos) no muestren diferencias morfológicas evidentes, por lo cual es muy probable que exista un sesgo en la clasificación de “hembras” en esta población cuando se toma en consideración únicamente el criterio de la longitud de la cola.

## 8.2. Evaluación clínica y estado nutricional de la tortuga verde.

La citometría hemática es la medición del número y características de las células de la sangre. La interpretación de la información que provee dicho estudio permite establecer diagnósticos definidos sobre las enfermedades (Ruiz y Ruiz, 1994). Un estudio completo de la citometría hemática debería incluir idealmente datos de la serie roja (*e.g.* concentración de hemoglobina, hematocrito), de la serie blanca (*e.g.* conteo absoluto de glóbulos blancos) y serie trombocítica (Ruiz y Ruiz, 1994). Es necesario generar el análisis detallado de cada uno de los índices para tener una interpretación correcta de las anomalías observadas (Ruiz y Ruiz, 1994; Bossart *et al.*, 2001). En este estudio únicamente se determinó la proporción leucocitaria a partir del conteo diferencial de leucocitos en frotis sanguíneos, por lo que se ve limitada la comparación de los resultados de este estudio con los de la literatura. Para determinar la concentración absoluta de leucocitos y de cada uno de los tipos celulares de la serie blanca, era necesario haber realizado durante el muestreo el conteo absoluto de células sanguíneas a partir de muestras de sangre recién obtenida.

El manejo de las muestras para la obtención de datos hematológicos es importante. En estudios con tortugas marinas se ha sugerido realizar los conteos absolutos de células utilizando muestras de sangre refrigeradas por un máximo de 12 horas (Herbst y Jacobson, 2003), aunque en tortuga verde se ha visto que pueden utilizarse muestras refrigeradas hasta por 4 días sin obtener determinaciones erróneas (Muñoz-Tenería, comm. pers.). Los frotis sanguíneos deben prepararse inmediatamente después de haber obtenido la muestra de sangre cada que sea posible (George, 1997; Stahl, 2006). La ventaja de los frotis sanguíneos es que cuando son correctamente secados y fijados, éstos pueden guardarse indefinidamente a temperatura ambiente para ser examinados posteriormente (Herbst y Jacobson, 2003). Proveen una manera sencilla para evaluar la morfología de las células y la abundancia relativa de las mismas, así como la presencia de parásitos en la sangre (Herbst y Jacobson, 2003).

En las tortugas marinas, los heterófilos son los granulocitos más abundantes (Muñoz-Tenería, 2003; Montilla *et al.*, 2006); éstos, junto con los linfocitos, conformaron la mayor proporción de células blancas de la tortuga verde durante los conteos diferenciales, tal como en reportes previos (Aguirre *et al.*, 1995; Montilla *et al.*, 2006). Los



heterófilos en reptiles son funcionalmente análogos a los neutrófilos en mamíferos (Work *et al.*, 1998), su principal función es la fagocitosis y destrucción de microorganismos (bacterias, parásitos, protozoarios, virus, hongos), por lo que son la primer línea de defensa contra infecciones (Benjamin, 1991; Jain, 1993; Rojas-Espinosa, 2006). Los trombocitos, fueron células muy comunes en los frotis sanguíneos, presentando, las mismas características descritas en otras especies de tortugas marinas (Work *et al.*, 1998; Casal *et al.*, 2007). Los trombocitos son células nucleadas análogas a las plaquetas de los mamíferos; debido a que su función es el mantenimiento de la hemostasis e integridad vascular (Jain, 1993) no son considerados en las pruebas veterinarias hematológicas (Benjamin, 1991).

En tortugas verdes adultas únicamente se han reportado diferencias sexuales en el número absoluto de leucocitos durante una temporada reproductiva, lo cual fue resultado del mayor porcentaje de eosinófilos presente en las hembras en comparación con los machos (Grumbles *et al.*, 1990). El no haber encontrado diferencias en las proporciones celulares entre clases de talla en este estudio coincide con lo reportado en tortuga verde (Montilla *et al.*, 2006). Los reptiles por ser animales poiquilotermos, presentan un sistema inmune ampliamente modulado por el medio ambiente (Muñoz-Tenería, 2003). Los valores sanguíneos de los animales varían entre especies, edad y en tortugas marinas posiblemente por variaciones geográficas y estacionales (Benjamin, 1991; Work *et al.*, 1998; Bossart *et al.*, 2001). Las tortugas verdes de BMA presentaron mayor proporción de eosinófilos durante el verano y en PAO se observó una mayor proporción de monocitos durante el 2005. Los eosinófilos participan en la regulación de respuestas alérgicas y de inflamaciones agudas (Jain, 1993). Los monocitos son los precursores de los macrófagos, participan en la fagocitosis durante los procesos inflamatorios (Benjamin, 1991; Rojas-Espinosa, 2006). En reptiles se ha considerado que los monocitos tienen poca variación estacional y que su número permanece relativamente constante (Muñoz-Tenería, 2003).

A diferencia de otros estudios con tortugas verdes (Wood y Ebanks, 1984; Aguirre *et al.*, 1995), en este estudio no se identificaron basófilos en la sangre de la tortuga verde. Esta discrepancia, ha sido atribuida a diferencias estacionales, geográficas o de edad (Work *et al.*, 1998). No todos los tipos celulares han sido documentados en todas las especies de

tortugas marinas (George, 1997), en la tortuga de Kempí (*L. kempíi*) no se han identificado basófilos (Cannon, 1992 en Work *et al.*, 1998). La presencia de este tipo celular ha sido reportada como un evento raro en sangre de tortuga verde y de caguama (*C. caretta*), por lo que algunos autores no la han considerado en sus estudios hematológicos con tortugas marinas (Work *et al.*, 1998; Casal *et al.*, 2007). Los basófilos son granulocitos que participan en la respuesta inmune, en general son poco comunes en la sangre y médula ósea de los animales por lo que en la veterinaria se conoce poco de su función y respuesta a enfermedades (Jain, 1993).

En este estudio las proporciones de heterófilos y linfocitos observadas en las tortugas verdes de PAO y BMA coinciden con los rangos reportados para tortugas verdes sanas (Aguirre *et al.*, 1995), particularmente, con los valores reportados de muestras sanguíneas tomadas de 3 a 4 horas después de la captura de las tortugas. Los valores hematológicos se alteran por la secreción de glucocorticoides (Sapolsky *et al.*, 2000) como resultado de la estrecha conexión entre los sistemas neuro-endócrino e inmune existente en los vertebrados (Rice y Arkoosh, 2002). En este estudio el 30% de las muestras fueron tomadas en un periodo mayor a 3 horas después de la captura de la tortuga. En BMA, en donde dicho intervalo fue mayor, se encontró una correlación negativa entre el número de linfocitos y el tiempo de manipulación de las tortugas. Estos cambios en la proporción celular de las tortugas marinas por estrés post-captura han sido reportados antes en tortuga verde (Aguirre *et al.*, 1995; Montilla *et al.*, 2006), por lo que se recomienda en futuros estudios tomar la muestra inmediatamente después de la captura de las tortugas marinas.

Todas las tortugas verdes capturadas en LSI (n=12) se caracterizaron por presentar una elevada proporción de heterófilos, por lo cual presentaron una mayor razón de H/L en comparación con las capturadas en PAO y BMA. Las proporciones de heterófilos y linfocitos así como la elevada razón de H/L observadas en este estudio, coinciden con observaciones realizadas en tortugas verdes de Hawai severamente afectadas por la presencia de tumores de fibropapiloma (Aguirre *et al.*, 1995; Work y Balazs, 1999; Work *et al.*, 2001). En los estudios hematológicos, la cuenta leucocitaria diferencial debe de valorarse junto con la total, de manera que pueda observarse el número absoluto de cada tipo celular. Esto proveerá diagnósticos más certeros y útiles para la evaluación y

monitoreo de los cambios dinámicos de las cuentas diferenciales y absolutas en los animales (Benjamin, 1991, Bossart *et al.*, 2001; Work *et al.*, 2001). En este estudio no es posible determinar con certeza si la elevada razón H/L está determinada por una heterofilia en respuesta a un proceso inflamatorio agudo (*e.g.* intoxicación, infecciones, neoplasias), o si es debida a una linfopenia asociada a infecciones crónicas (Benjamin, 1991, Ruiz y Ruiz, 1994). Las tortugas marinas que presentan estados crónicos de estrés, resultado de enfermedades como fibropapiloma, presentan cambios en los parámetros bioquímicos como hipoproteinemia y reducción de la concentración de lípidos que se relacionan con una menor condición corporal (Aguirre *et al.*, 1995; Aguirre y Balazs, 2000). Considerando los resultados bioquímicos, tales como la elevada concentración de globulinas, y la buena condición corporal observada en las tortugas verdes de LSI, se sugiere que las tortugas capturadas durante el verano del 2006 presentaban un proceso infeccioso o inflamatorio agudo.

Los frotis teñidos con tinción de Wright, como en este estudio, permiten reconocer a los eritrocitos pequeños, redondos, teñidos intensamente, que se observan en diversos estados hemolíticos. Así mismo, es posible observar deformaciones regulares o irregulares de la membrana del eritrocito e identificar fracturas y pedazos de los mismos, los cuales sugieren lesiones en las células rojas que pueden tener un origen mecánico o metabólico (Erslev y Gabuzda, 1981). Una de las características tomada en consideración durante la selección de los frotis de este estudio fue la presencia de eritrocitos rotos o con fracturas celulares, las cuales sugerían daño mecánico durante la preparación de los frotis. Para este estudio, también se eliminaron todos aquellos frotis que presentaran evidencia de contaminación por bacterias u hongos.

En este estudio únicamente se observaron eritrocitos inmaduros en 18% de las muestras. No se observaron alteraciones de las membranas celulares de los eritrocitos maduros en ninguno de los frotis sanguíneos (n=45); sin embargo, fue posible observar restos celulares en el 27% de las muestras. A estos restos celulares se les conoce, en la hematología veterinaria, como células fantasma. Son membranas residuales de eritrocitos que han sufrido de una lisis intravascular, la cual puede estar asociada a procesos inmunes (Reagan *et al.*, 1999). La presencia de células fantasma también ha sido asociada a procesos

degenerativos por envejecimiento de los eritrocitos. Las células rojas tienen cambios celulares durante su envejecimiento, tales como la pérdida de membrana superficial, disminución del contenido acuoso y disminución de actividad de los sistemas enzimáticos (Erslev y Gabuzda, 1981). La presencia de células rojas en estado degenerativo ha sido reportada en estudios hematológicos de muy pocas especies, como el pez puye (*Galaxias maculatus*) (Jaramillo, 2005), el pez pulmonado (*Protopterus aethiopicus*) (DeLaney *et al.*, 1976) y la rana leopardo (*Rana pipiens*) (Rouf, 1969). En dichos estudios, los eritrocitos en plasmólisis, o proceso de destrucción, han sido descritos como células con citoplasma pálido en las que se ha modificado la posición y volumen del núcleo así como la forma y coloración del citoplasma (DeLaney *et al.*, 1976; Jaramillo, 2005). Lo que se observa al término del proceso de plasmólisis son restos citoplasmáticos los cuales han sido descritos como sombras pálidas e irregulares de color rosado tenue (Rouf, 1969; Reagan *et al.*, 1999; Jaramillo, 2005), como las observadas en este estudio.

Este es el primer estudio que reporta y describe restos citoplasmáticos de eritrocitos en tortugas marinas. La hemólisis, ruptura de los glóbulos rojos, puede ser consecuencia de una técnica inadecuada de muestreo, como la venopunción con restos de alcohol, el uso de agujas muy pequeñas o la agitación vigorosa de los tubos Vacutainer® (Grant, 2003). Sin embargo, el uso de agujas y tubos Vacutainer®, como las utilizadas en este estudio, han resultado ser la mejor opción para evitar la hemólisis en las muestras sanguíneas en pacientes humanos (Kennedy *et al.*, 1996; Grant, 2003). Así mismo, en este estudio se eligió la heparina de litio como anticoagulante para evitar la hemólisis de la sangre de tortugas marinas (Owens, 2000; Stahl, 2006).

Los eritrocitos en tortugas tienen una vida promedio de 330 días (Jain, 1993). La destrucción prematura de los eritrocitos circulantes puede generar anemia hemolítica, la cual ocurre por muchas causas, incluyendo la presencia de infecciones bacterianas, virales, parasitarias, trastornos enzimáticos o daño oxidativo en la célula roja, como resultado de un medio nocivo por la presencia de químicos y drogas (Erslev y Gabuzda, 1981; Jain, 1993). Cuando se observa un elevado porcentaje de eritrocitos inmaduros se puede inferir que la tortuga padece de anemia (Montilla *et al.*, 2006). La anemia en reptiles ha sido asociada a pérdida de sangre, infecciones crónicas, desnutrición y exposición a toxinas (Stahl, 2006).

---

Una hemólisis prematura, ya sea moderada o crónica, puede generar anemia en los organismos, sobre todo si se produce junto con otras enfermedades, tales como estados neoplásicos inflamatorios (*e.g.* fibropapiloma), o bien, durante estados con deficiencia de nutrientes esenciales, en particular de hierro (Erslev y Gabuzda, 1981).

Los resultados hematológicos de este estudio no son concluyentes. Se sugiere no descartar observaciones como la presencia de restos citoplasmáticos y eritrocitos inmaduros en los frotis sanguíneos y la elevada razón H/L de las tortugas verdes de LSI. Es necesario corroborar dichos hallazgos con un estudio hematológico más completo que incluya el conteo celular absoluto y el hematocrito para emitir un diagnóstico adecuado. No está por demás mencionar que el primer reporte de fibropapilomatosis en tortuga verde del Pacífico Oriental se hizo en una tortuga verde capturada en LSI durante el 2010 (Reséndiz *et al.*, 2011). Debido al reducido tamaño de muestra no fue posible evaluar la relación entre las variables hematológicas de las tortugas verdes con las variables de estrés oxidativo y la concentración de contaminantes presentes en las mismas. La gran variedad de compuestos químicos presentes en las tortugas verdes y el desconocimiento de sus efectos en las mismas, hace imprescindible generar estudios hematológicos nuevos y más completos que permitan diagnosticar correctamente el estado clínico de las poblaciones de Baja California Sur, así como evaluar la relación entre los parámetros hematológicos y la concentración de xenobióticos en *Ch. mydas*. Dicha información servirá como línea de referencia para monitorear a largo plazo las respuestas inmunes de las tortugas verdes que habitan en Baja California Sur ante la presencia de xenobióticos o enfermedades como el fibropapiloma.

Cuando se trabaja con fauna silvestre resulta imperativo prestar atención en el manejo del animal así como en el manejo y tratamiento de las muestras para obtener resultados clínicos significativos (Bossart *et al.*, 2001). La sangre de los reptiles es frágil por lo que debe procesarse inmediatamente y, en el caso de tortugas marinas, debe utilizarse únicamente heparina de litio o de sodio como anticoagulante para evitar hemólisis (Owens, 2000; Stahl, 2006). Para la determinación de los parámetros bioquímicos, las muestras de sangre deberán de centrifugarse lo más pronto posible debido a que la exposición prolongada del plasma al paquete celular puede alterar los valores de

---

concentración de glucosa, fósforo y potasio (Bossart *et al.*, 2001; Stahl, 2006). La hemólisis en las muestras puede alterar también otros resultados clínicos como la concentración de K, la cual puede ser sobreestimada debido al aumento de la hemoglobina libre en el suero (Grant, 2003). El estrés producido por la captura e inmovilización de los reptiles también puede alterar los valores clínicos como el hematocrito y la concentración de hemoglobina, glucosa y lactato (Franklin *et al.*, 2003). En este estudio, parámetros bioquímicos como la concentración de glucosa, proteínas y triglicéridos, entre otros, estuvieron correlacionados con el tiempo de manipulación de las tortugas marinas.

Los valores de referencia de los parámetros fisiológicos empleados en la medicina veterinaria deben determinarse en organismos sanos por especie, edad, sexo y estado reproductivo de los animales (Bossart *et al.*, 2001). Se considera como prioritario el establecer valores de referencia de los parámetros bioquímicos en tortugas marinas con la finalidad de utilizarlos durante las evaluaciones de salud, manejo y conservación de estas especies (Aguirre y Balazs, 2000). La información disponible sobre niveles basales y datos fisiológicos de referencia de tortugas marinas sanas en el mundo es escasa (Aguirre y Balazs, 2000; Milton y Lutz, 2003) y en lo que se refiere a la tortuga verde del Pacífico Oriental es prácticamente inexistente (Gardner, 2003). Debido a lo anterior, este estudio se ve limitado para hacer comparaciones o para generar conclusiones acerca del estado de salud de la tortuga verde que habita en Baja California Sur.

Cuando se comparan los resultados de los parámetros bioquímicos, los valores observados de las tortugas sanas de PAO resultan ser ligeramente mayores a los intervalos de referencia publicados. Esta diferencia puede estar relacionada con la talla de los individuos, ya que el espectro de talla de las tortugas verdes de PAO fue mayor a las tallas reportadas en la literatura (Bolten y Bjorndal, 1992; Aguirre y Balazs, 2000; Hamann *et al.*, 2006; Whiting *et al.*, 2007). Los niveles de ácido úrico y colesterol medidos en este estudio se encontraron dentro de los rangos reportados en tortugas verdes de Australia y el Océano Índico analizados por medio de los mismos kits comerciales (Hamman *et al.*, 2006; Whiting *et al.*, 2007). Los valores promedio de los parámetros bioquímicos de los juveniles sanos de tortuga verde que habitan en la costa occidental de Baja California Sur se encontraron, de manera general, dentro de los rangos de referencia reportados para individuos juveniles de

tortuga verde de las Bahamas (Bolten y Bjorndal, 1992), Hawai (Aguirre y Balazs, 2000), Australia (Hamann *et al.*, 2006) y Océano Índico (Whiting *et al.*, 2007). Esta comparación sugiere que los parámetros de salud de las poblaciones silvestres de tortuga verde de México están, en términos generales, dentro de los rangos típicamente observados en esta especie.

En este estudio, las concentraciones de triglicéridos, globulinas y proteínas totales de las tortugas verdes se correlacionaron positivamente con la talla de los individuos, al igual que en otras poblaciones de tortugas verdes. Se han reportado diferencias en los parámetros bioquímicos entre clases de talla y una correlación positiva entre la talla de las tortugas verdes y su concentración de creatinina, proteínas totales, albúmina, globulinas y triglicéridos (Bolten y Bjorndal, 1992; Hamann *et al.*, 2006; Whiting *et al.*, 2007).

El no haber encontrado diferencias en la bioquímica sanguínea entre tortugas sanas y lesionadas en BMA reafirma la idea de que el estado de salud de la tortuga verde en esta zona es bueno. La sintomatología severa de enfermedades tales como fibropapiloma y parasitismo incluye alteraciones en la bioquímica sanguínea y en los valores hematológicos de las tortugas marinas, incluyendo variaciones en la concentración de proteínas y urea, así como en las actividades enzimáticas (Aguirre *et al.*, 1995; Aguirre y Balazs, 2000; Swimmer, 2000). Solamente las tortugas verdes lesionadas de LSI ( $n=3$ ) presentaron una concentración mayor de ácido úrico en comparación con las sanas. Los organismos lesionados de PAO presentaron menores concentraciones de Ca, K y P, lo cual puede ser un indicador de deficiencia de minerales en la dieta de los individuos (Benjamín, 1991) y de cierto grado de deshidratación.

La creatinina fue el único analito de este estudio que se encontró en concentraciones 10 veces mayor a los rangos de referencia reportados para tortuga verde (Bolten y Bjorndal, 1992; Hasbún *et al.*, 1998; Aguirre y Balazs, 2000; Hamann *et al.*, 2006; Whiting *et al.*, 2007) y en tortugas caguama (*C. caretta*) lesionadas o en rehabilitación (Harms *et al.*, 2002; Raidal *et al.*, 2006). En tortugas marinas el uso de distintos tipos de analizadores o de anticoagulantes empleados puede generar diferentes resultados al momento de evaluar parámetros sanguíneos (Bolten *et al.*, 1992). La marcada diferencia en los niveles observados de creatinina pudiera deberse a diferencias en el tipo de muestra empleada entre

este estudio (suero) y los valores de referencia citados (plasma), aunque la variabilidad de la concentración de creatinina evaluada entre diferentes anticoagulantes y analizadores no fue significativa en tortuga caguama (*C. caretta*) (Bolten *et al.*, 1992). En general, el manejo de las muestras sanguíneas puede afectar los resultados bioquímicos; por ejemplo, el uso de muestras de sangre hemolizada puede disminuir la concentración de creatinina en delfines (*Tursiops truncatus*) y en foca común (*Phoca vitulina*) (Bossart *et al.*, 2001). En un estudio con manatíes rehabilitados el incremento anormal de la concentración de creatinina se relacionó a un excesivo catabolismo del músculo esquelético y a factores nutricionales, observándose además disminución del peso corporal (Manire *et al.*, 1999 en Bossart *et al.*, 2001). En el presente estudio es poco probable que los altos niveles de creatinina encontrados puedan atribuirse a causas similares, dado el buen estado físico general y la condición corporal observados en las tortugas verdes capturadas, aunado a la tendencia de aumento de la condición corporal de las tortugas verdes que habitan en BMA en los últimos años (Koch *et al.*, 2007).

Durante el verano, las tortugas verdes de BMA presentaron una mayor concentración de lípidos (triglicéridos, colesterol) en los tres años de estudio. La composición de la flora marina y la composición de la dieta de las tortugas que habitan dentro de la laguna BMA varían estacionalmente (López-Mendilaharsu, 2003; Hernández-Carmona *et al.*, 2007). La reducción invernal de la concentración de lípidos y albúmina promedio en sangre de la tortuga verde apoya la idea de que en BMA las tortugas marinas sufren una pérdida de energía durante el invierno debido a la reducción del alimento y de la actividad de forrajeo de las tortugas en el área (Koch *et al.*, 2007). También es posible que las tortugas verdes hibernen (Nichols, 2003), pero incluso si no hibernaran podría haber una reducción de la tasa metabólica de los individuos debido a la menor temperatura corporal durante el invierno (Spotila y Standora, 1985).

Las tortugas verdes capturadas en PAO durante el verano y en el 2006 presentaron mayor concentración de glucosa, ácido úrico, creatinina y albúmina. El incremento de la concentración de glucosa en sangre es un indicador de un mayor consumo de carbohidratos en la dieta. En la macroalga del género *Sargassum* la mayor concentración de alginatos (polisacáridos) presentes en las mismas se encuentra durante el verano (Hernández-



Carmona *et al.*, 2007). Así mismo, se han observado diferencias estacionales en el contenido de proteínas de diferentes especies de algas (Serviere-Zaragoza *et al.*, 2002). Las variaciones estacionales en la presencia, abundancia (Núñez-López *et al.*, 1998; Hernández-Carmona *et al.*, 2007) y en la composición química (Serviere-Zaragoza *et al.*, 2002) de las algas marinas de lagunas costeras de Baja California Sur, pueden ser una explicación sobre las diferencias estacionales de la concentración de glucosa y proteínas observadas en las tortugas verdes. El incremento en la concentración de glucosa también puede atribuirse al incremento de la concentración de glucocorticoides en sangre resultado del estrés de la captura (Franklin *et al.*, 2003). Sin embargo, en PAO el tiempo de manipulación de las tortugas no se correlacionó con la concentración de glucosa.

En reptiles, el ácido úrico es el producto catabólico final en la eliminación del nitrógeno, cuyo aumento se ha asociado a la dieta (Stahl, 2006). En tortugas marinas, el ácido úrico se ha considerado como una señal de mayor ingesta de proteínas en la dieta, resultado de una dieta omnívora (Whiting *et al.*, 2007). Las tortugas verdes tienen la capacidad de asimilar un gran porcentaje de nitrógeno de las proteínas cuando éstas están disponibles en su dieta (Wood y Wood, 1981 en Bjorndal, 1985). El ácido úrico, producto de excreción con la mayor concentración de nitrógeno, puede ser también un indicador de un incremento del catabolismo de proteínas (Laguna, 1967; Randall *et al.*, 1997), resultado del daño a los tejidos por una dieta inadecuada (Whiting *et al.*, 2007), o por cambios metabólicos durante los periodos reproductivos de la tortuga verde (Hamman *et al.*, 2002). Sin embargo, los resultados de este estudio, como son la elevación de la concentración de albúmina y de la condición corporal durante el mismo periodo y la dieta omnívora de la tortuga verde en la región (Santos-Baca, 2008; Rodríguez-Barón, 2010), apoyan el primer escenario de un ambiente nutricionalmente rico en PAO durante el verano y el año 2006.

Los lípidos tienen como principal función el ser material de reserva energética (Laguna, 1967; Randall *et al.*, 1997; Hamann *et al.*, 2002). Los triglicéridos son una herramienta útil para la determinación de la condición corporal general de la tortuga verde (Aguirre y Balazs, 2000; Swimmer, 2000; Hamman *et al.*, 2005). Los niveles de triglicéridos varían ampliamente con los cambios en la dieta (Bossart *et al.*, 2001) y se ha sugerido que, en conjunto con otros metabolitos, la determinación de los triglicéridos sea

incorporada y utilizada en estudios sobre dieta y alimentación de tortugas marinas (Bolten y Bjorndal, 1992; Hamman *et al.*, 2005; Whiting *et al.*, 2007).

En PAO fue también en el verano y durante el 2006 cuando las tortugas verdes presentaron mayor concentración de K, mayor actividad de la enzima GGT y menor concentración de Na. Existe poca información para interpretar estos cambios estacionales observados en la concentración de electrolitos y actividad de la GGT. Desde un punto de vista médico, la información relativa a los electrolitos es útil para evaluar el estado de hidratación de los organismos, el cual puede verse alterado por alteraciones patológicas que ocasionan pérdida de agua y sales (Laguna, 1967). La GGT es una proteína que contribuye en el catabolismo extracelular del GSH y, por ende, participa en la homeostasis de dicho antioxidante (Zhang *et al.*, 2005; Grundy, 2007). En humanos, la mayor proporción de GGT presente en el suero se deriva del hígado y es principalmente transportada por lipoproteínas y por la albúmina. Su concentración está determinada por muchos factores tales como la concentración de lipoproteínas, niveles de glucosa y grasa corporal, entre otros (Grundy, 2007). La distribución de la GGT en tejidos de animales domésticos varía entre especies, encontrándose en mayor concentración en el hígado, riñón, páncreas e intestino (Braun *et al.*, 1983). El aumento de GGT se ha asociado a alteraciones metabólicas, cardíacas, diabetes, hipertensión, desórdenes hepato-biliares y daño hepático, tanto en humano como en ganado, animales domésticos, de granja y mamíferos en vida libre (Braun *et al.*, 1983; Bossart *et al.*, 2001; Grundy, 2007; Lee *et al.*, 2007). La medición en orina se ha empleado también en animales como marcador de daño renal por intoxicación (Braun *et al.*, 1983). En osos polares (*Ursus maritimus*) en vida libre se han observado fluctuaciones estacionales en la actividad de la enzima GGT (Bossart *et al.*, 2001). En elefante marino (*Mirounga angustirostris*) se ha reportado un aumento de la GGT durante el periodo de ayuno de las crías destetadas, el cual se ha sugerido, junto con otros factores, como un mecanismo preventivo de daño oxidativo (Vázquez-Medina *et al.*, 2011).

Las diferencias observadas entre BMA y PAO en la variabilidad de los parámetros bioquímicos asociados a diferentes factores como la apariencia física, clases de talla, estación etc., son un reflejo de la variabilidad generada por las diferencias de hábitat,

condiciones ambientales y respuestas individuales. En la costa de Baja California Sur existen diferencias regionales y estacionales en la abundancia, distribución y composición química de las algas y pastos marinos (Dawson, 1951; Serviere-Zaragoza *et al.*, 2002) lo cual genera variabilidad en la composición de la dieta de la tortuga verde entre sitios (*e.g.* Seminoff *et al.*, 2002a; López-Mendilaharsu *et al.*, 2005). La dieta de la tortuga verde depende de la disponibilidad del recurso alimenticio y de la selección de cada individuo (López-Mendilaharsu *et al.*, 2005). Estudios realizados con isótopos estables medidos en sangre han demostrado que la tortuga verde del Pacífico Oriental utiliza diferentes estrategias alimenticias, no sólo a nivel regional (Golfo de California y costa occidental de Baja California Sur) sino también a nivel local entre lagunas costeras (*e.g.* PAO, LSI, BMA) (Santos-Baca, 2008; Seminoff, comm. pers.). Existen incluso variaciones individuales en la dieta de esta especie dentro de una misma laguna costera. En BMA las algas rojas predominan en la dieta de las tortugas verdes capturadas dentro del estero Banderitas, mientras que en la zona adyacente al Océano Pacífico predomina el pasto marino *Phyllospadix torreyi* (López-Mendilaharsu, 2003b; 2005). Los resultados de este estudio demostraron que durante el verano y durante los años 2005 (BMA) y 2006 (PAO) los organismos presentaron un mejor estado nutricional, sugiriendo que durante dichos periodos el hábitat de las tortugas marinas presentó mayor disponibilidad de alimento, de mejor calidad nutricional o ambas.

Las interpretaciones sobre las variaciones temporales y geográficas de los resultados de la bioquímica clínica deben ser tomadas con prudencia debido a la escasa información sobre el estado de salud de las tortugas marinas (Bolten y Bjorndal, 1992). En este trabajo dichas interpretaciones fueron hechas tomando en consideración que 1) los individuos se encontraron en términos generales con buen estado de salud y apariencia física y 2) todos los parámetros bioquímicos estuvieron dentro de los rangos de referencia reportados para tortugas marinas sanas. Al comparar resultados y sobre todo, al evaluar o monitorear grupos e individuos de tortugas marinas por medio de los rangos de referencia aquí reportados, se deberá de considerar que dichos valores fueron generados a partir de condiciones particulares de hábitat, región geográfica, condiciones climáticas, estación,

año, dieta, condición corporal, peso, talla y estado de salud de los organismos (Whiting *et al.*, 2007).

### **8.3. Condición corporal de la tortuga verde.**

Cuando se refiere a la condición corporal de un animal, se habla en términos generales, en referencia al estado energético del mismo; se asume que un animal con buena condición corporal tiene mayores reservas energéticas que un animal con condición pobre (Harder y Kirkpatrick, 1996 en Copeland, 2004). El enfoque tradicional de la biología de la conservación ha sido evaluar el estado de salud de las especies desde un nivel poblacional. Se considera que una población crece o se encuentra en declive como resultado del estado de salud de los individuos (Stevenson y Woods, 2006). En estudios que involucran la evaluación del estado fisiológico y clínico de salud de las tortugas marinas resulta prioritaria la creación de criterios específicos para la determinación de la condición corporal. Lo anterior permitirá una mejor interpretación de los niveles base de los parámetros de salud evaluados en la tortuga verde del Pacífico Oriental y una adecuada comparación entre especies alrededor del mundo.

En el conocimiento del autor, en este trabajo se presenta por primera vez una estimación de la condición corporal de la tortuga verde que habita en PAO y LSI. A pesar del tamaño reducido de las tortugas verdes capturadas en LSI (<62 cm SCL), la condición corporal de estos organismos fue mayor a la estimada en juveniles del Golfo de California con tallas mayores a 77.3 cm SCL (Seminoff *et al.*, 2003). Los juveniles de BMA también presentaron una condición corporal más elevada ( $1.56 \pm 0.67$ ) en comparación con las tortugas verdes del Golfo de California ( $1.42 \pm 0.015$ ) (Seminoff *et al.*, 2003). Koch *et al.* (2007) han sugerido la existencia de una tendencia de incremento en la condición corporal en las tortugas verdes que habitan en BMA en los últimos años. Los resultados de este estudio apoyan dicha hipótesis, al comparar la condición corporal promedio estimada en BMA ( $1.50 \pm 0.6$ ) (2005-2007) con la reportada en años previos ( $1.35 \pm 0.12$ ) (2000-2003) (Koch *et al.*, 2007). Debido a que los juveniles fueron la clase de talla más abundante (70% - 100%), se puede afirmar que la estimación de la condición corporal de este estudio está representada por juveniles de los tres sitios de alimentación más importantes de la costa occidental de Baja California Sur.

La condición corporal de las tortugas verdes de PAO fue menor a la de las tortugas capturadas en LSI al comparar el índice *Krel* por centímetro de talla. PAO fue también la única zona que presentó diferencias anuales en el factor de condición. Previo a este estudio, no se habían reportado diferencias anuales en la condición corporal de la tortuga verde que habita en BMA o el Golfo de California (Seminoff *et al.*, 2003; Koch *et al.*, 2007). Es probable que la alta densidad poblacional de PAO influya en la condición corporal de los individuos. Individuos juveniles de tortuga verde capturados en una zona de alimentación de las Bahamas presentaron una condición corporal menor durante los años en que se registró una mayor densidad relativa de tortugas marinas, resultando estar correlacionadas negativamente ambas variables (Bjorndal *et al.*, 2000). Un ambiente con una densidad poblacional menor a la capacidad de carga y, por ende, con mayor abundancia de alimento por tortuga marina puede conducir a una mejor condición corporal de los individuos (Seminoff *et al.*, 2003).

La condición corporal de las tortugas lesionadas de PAO y BMA fue menor en comparación a las tortugas clasificadas como sanas. Adicionalmente, las tortugas lesionadas de PAO presentaron una menor tasa de incremento de la condición corporal por centímetro de talla. Dichas diferencias en la condición corporal entre organismos sanos y lesionados no fueron observadas en tortugas verdes capturadas en el Golfo de California (Seminoff *et al.*, 2003). En PAO se capturó la mayor proporción de individuos lesionados (44%) en comparación con el resto de las zonas y es, en esta zona, en donde se encontraron menores concentraciones de algunos de los parámetros bioquímicos (*e.g.* K, Ca, fósforo) en organismos lesionados en comparación con los sanos, diferencias que no fueron observadas en las tortugas marinas de BMA o LSI. El contenido nutricional de la dieta de los animales es determinado por la composición química del alimento consumido (Villegas, 2006). La nutrición de las tortugas marinas (eficiencia digestiva y capacidad de asimilación) dependen, al igual que en otros reptiles, del tipo y cantidad de alimento consumido, de la temperatura y el tamaño corporal del organismo (Bjorndal, 1985). Los pastos marinos presentan una alta proporción de fibra y un bajo contenido energético y protéico en comparación con las macroalgas (Serviere-Zaragoza *et al.*, 2002; McDermid *et al.*, 2007). En términos generales las algas rojas presentan los mayores niveles de carbohidratos

(McDermid *et al.*, 2007). En PAO los pastos marinos *Ruppia maritima* y *Zostera marina* han sido reportados como los principales componentes de la dieta de la tortuga verde (Rodríguez-Barón, 2010), a diferencia de lo observado en LSI y BMA en donde predominan las algas rojas (López-Mendilaharsu, 2003b; 2005; Rodríguez-Barón, 2010). La costa de la península de Baja California tiene muchas variaciones oceanográficas (*e.g.* surgencias, temperatura superficial del mar, masas de agua) que modifican la productividad primaria y afectan a la cadena trófica (Peterson *et al.*, 2006). Lo anterior se refleja en la fitoflora observada en las tortugas verdes de PAO, característica de ambientes templados (Rodríguez-Barón, 2010). Es posible que las tortugas verdes de PAO sean más susceptibles a los cambios ambientales y a la disponibilidad de alimento debido a la proximidad que existe entre la laguna costera y el Océano Pacífico, lo cual se refleja en las diferencias regionales observadas en la condición corporal y variaciones de los parámetros bioquímicos. Es importante continuar con estudios que monitoreen a largo plazo la dieta, la condición corporal y el estado clínico de la tortuga verde que habita en la laguna costera con la mayor agregación de juveniles en la costa occidental de Baja California Sur.

El factor de condición corporal estacional y anual estimado en BMA presentó IC muy amplios debido a la gran variabilidad en el peso de los individuos. Lo anterior pudiera deberse, por un lado, a variaciones individuales en las técnicas de medición y, por otro lado, a una relación entre el comportamiento de forrajeo y la mayor área de alimentación disponible en el estero Banderitas en comparación con el estero la Bocana en PAO. Aunque la tortuga verde muestra gran fidelidad a sus sitios de alimentación en la costa occidental de la península de Baja California Sur, los individuos realizan movimientos entre los diversos parches de vegetación dentro de las lagunas, los cuales están definidos en BMA por los marcados cambios de marea y corrientes (Nichols, 2003; Talavera-Saenz *et al.*, 2007). Es muy probable que existan diferencias individuales en la dieta (cantidad y/o calidad), lo cual se refleja en la selectividad por la dieta (López-Mendilaharsu *et al.*, 2005), en la nutrición de las tortugas marinas (Bjorndal, 1985) y, por tanto, en el peso y condición corporal de los individuos.

Las tortugas marinas capturadas en PAO y BMA presentaron un factor de condición mayor en verano en comparación con el invierno (2 y 4 veces mayor, respectivamente).

Dichas diferencias estacionales de la condición corporal de las tortugas verdes de BMA ha sido reportado antes y se ha sugerido, específicamente para las lagunas costeras, que la mayor condición corporal observada durante el verano pudiera ser resultado de los cambios de temperatura del agua y la disponibilidad de alimento (Koch *et al.*, 2007). La composición de la flora marina, así como la composición de la dieta de la tortuga verde que habita en el complejo lagunar de BMA, varían estacionalmente (López-Mendilaharsu, 2003; Hernández-Carmona *et al.*, 2007), lo cual ya ha sido comprobado incluso en organismos recapturados (Rodríguez-Barón, 2010).

Durante el verano y en los años 2005 en BMA, 2006 en PAO en los cuales las tortugas verdes presentaron una mayor condición corporal, coincidieron con ser los periodos en que los organismos presentaron mayores concentraciones de lípidos (triglicéridos y colesterol), glucosa, albúminas, ácido úrico, creatinina y K. La concentración de las proteínas totales, globulinas, Ca, y triglicéridos se correlacionaron positivamente con el índice *Krel*, aunque ninguna correlación fue significativa cuando el efecto de la covariante “talla” fue eliminado del análisis. En juveniles de tortuga verde de Florida se ha reportado una correlación positiva entre la masa corporal y la concentración de proteínas totales, albúminas y globulinas; dichos analitos estuvieron correlacionados también con la temperatura del agua, siendo mayor su concentración durante el verano (Osborne *et al.*, 2010), como en este estudio. Los índices de condición corporal y los parámetros bioquímicos sanguíneos evaluados en conjunto resultaron ser marcadores útiles del estado físico y nutricional de las tortugas marinas. Los índices de condición corporal empleados sugieren que las tortugas verdes tuvieron una mayor condición corporal durante el verano y durante los años 2005 (BMA) y 2006 (PAO), complementando la información obtenida a partir de los parámetros clínicos los cuales sugieren una mayor disponibilidad y/o calidad nutricional del alimento durante dichos periodos.

Los índices propuestos en este trabajo resultaron ser estimaciones útiles y prácticas para la evaluación de la condición corporal de las tortugas marinas a partir de los datos de peso y talla de los individuos. El comparar las pendientes del índice relativo de condición corporal, *Krel*, permite no sólo comparar diferencias estacionales, anuales (evaluadas en este estudio por medio del factor de condición *a*) ó regionales, sino también permitió

---

identificar individuos sanos y lesionados, así como alteraciones en el incremento de la condición corporal relativas al incremento en talla de las tortugas marinas. Cuando el objetivo de estudio es evaluar la relación entre alguna medida biológica (*e.g.* condición corporal) con una o más variables independientes (*e.g.* ambiente, estado de salud), generalmente las mediciones se obtienen a través de un gran número de condiciones de estrés (Cattet *et al.*, 2002). En ese sentido, el uso de las pendientes provee de un panorama general de la tendencia de los datos, evidenciando el desempeño de la medida biológica a través de las variables independientes en diferentes situaciones (en este estudio *Krel* por estado físico y zona), a diferencia de utilizar las medidas de tendencia central (*e.g.* media aritmética) que únicamente provee una descripción de la preponderancia de los valores alrededor del valor central del rango de los valores observados (Zar, 1996).

Se recomienda utilizar el índice de condición corporal relativo en lugar del factor de condición *a*, debido a los amplios IC que pueden generarse como resultado de las variaciones individuales en el peso de las tortugas marinas. En peces, se ha cuestionado el uso de un solo estadístico (*i.e.* factor de condición *a*) para evaluar la condición de los mismos, debido a la pérdida de información que conlleva y la representación inadecuada de la relación entre la talla y el peso de los organismos (Cone, 1989 en Jones *et al.*, 1999). La interpretación de la condición corporal dentro de una misma especie está sujeta a errores debido a las diferencias en las medidas particulares y dimensiones empleadas, tales como la forma del cuerpo, la longitud promedio, la estación, el género, edad y/o desarrollo gonadal (Le Cren 1951 en Froese, 2006). Por lo tanto, se recomienda, a partir de los resultados de este estudio, considerar los factores bióticos (edad, talla, peso, género) y abióticos (estación, año, región geográfica) en la estimación de la condición corporal de las tortugas verdes. Al emplear esta herramienta se debe tener cuidado al generar conclusiones sobre el estado de salud de las poblaciones de tortugas marinas, debido a que una sobreestimación de la condición corporal puede conllevar a la toma de decisiones inadecuadas cuando el objetivo sea la conservación de las poblaciones y especies.



#### 8.4. Estado endócrino de la tortuga verde.

La vitelogenénesis es el proceso en el cual las proteínas y lípidos son progresivamente almacenados en los ovocitos en desarrollo (futuros óvulos) de los animales ovíparos, incluidos los reptiles (Guraya, 1989 en Hamman *et al.*, 2003). En los reptiles, la producción de estrógenos por los ovarios parece ser el principal estímulo para la síntesis de VTG (Ho, 1987 en Hamman *et al.*, 2003). Como resultado de lo anterior, se ha asumido que los niveles de VTG en sangre debieran ser normalmente encontrados en hembras de tortugas marinas sexualmente maduras preparándose fisiológicamente para la anidación, ó en hembras que se aproximan a la madurez sexual (Herbs *et al.*, 2003; Valverde *et al.*, 2008). Por el contrario, la inducción de la síntesis y secreción de VTG por estrógenos en organismos inmaduros y machos adultos ha originado la idea de que la cuantificación de VTG en tortugas marinas puede ser utilizada como un biomarcador útil de exposición a xenoestrógenos (Heck *et al.*, 1997; Herbst *et al.*, 2003; Sifuentes-Romero *et al.*, 2006; Valverde *et al.*, 2008). Debido a lo anterior ha surgido interés por purificar VTG y desarrollar la técnica de ELISA para la cuantificación de esta proteína en tortugas marinas (Sifuentes-Romero *et al.*, 2006; Herbst *et al.*, 2003; Vargas, 2000 en Hamann *et al.*, 2003).

En este estudio, todas las tortugas verdes presentaron niveles de VTG detectables. El reportar concentraciones de VTG en tortugas verdes inmaduras es un resultado respaldado por la especificidad del método de cuantificación empleado, en el cual se utilizó un anticuerpo policlonal específico a VTG, que no presenta especificidad cruzada por ningún otra proteína plasmática de *Ch. mydas* (Sifuentes *et al.*, 2006). Anteriormente, se había reportado la detección de VTG en tortugas verdes inmaduras (Herbst *et al.*, 2003) y en tortuga caguama (*C. caretta*) en un alto porcentaje (76%) (Zaccaroni *et al.*, 2010). En los vertebrados los esteroides sexuales son sintetizados tanto en las gónadas como en la corteza adrenal de ambos sexos (Randall *et al.*, 1997), lo cual se ha sugerido como una posible explicación de la síntesis de VTG en tortugas marinas inmaduras (Zaccaroni *et al.*, 2010). La síntesis y secreción de esteroides (*e.g.* progesterona, E<sub>2</sub> y T) por la corteza adrenal ocurre durante el desarrollo temprano de los reptiles, específicamente en el periodo embrionario de diferenciación sexual de tortugas dulce acuícolas (*Trachemys scripta*), en el

cual se ha observado que las gónadas se encuentran inactivas (White y Thomas, 1992). En tortuga caguama y tortuga verde se ha demostrado la existencia de niveles de esteroides sexuales endógenos desde el nacimiento (Gross *et al.*, 1995; Ikonomopoulou *et al.*, 2008).

El rango de la concentración de VTG detectado en este estudio (0.13-0.87 mg mL<sup>-1</sup>) es 1 orden de magnitud mayor al observado en tortugas verdes de 2 años de edad (5.5 – 8 kg; 2-4 µg mL<sup>-1</sup>), coincide con el valor reportado para una hembra adulta no anidante (0.2 mg mL<sup>-1</sup>) y es 1 orden de magnitud menor al valor de VTG observado en una hembra anidante (4.0 mg mL<sup>-1</sup>) (Herbst *et al.*, 2003). Dichas comparaciones permiten inferir una tendencia de aumento de la concentración de VTG con el tamaño y estado reproductivo de la tortuga verde. Aunque la concentración de VTG observada en este estudio no se correlacionó con la talla, peso o condición corporal de las tortugas verdes, los organismos clasificados como hembras adultas capturadas en PAO presentaron una concentración 13% mayor en comparación con los juveniles y subadultos, lo cual era de esperarse considerando la función reproductiva de esta proteína en hembras adultas (Hamman *et al.*, 2003). Así mismo, se observó una tendencia de aumento de los niveles de VTG por zona de estudio, la concentración de VTG fue significativamente menor en las tortugas de LSI (menor rango de tallas) en comparación con las capturadas en BMA y en PAO, siendo en esta última zona donde se determinaron los niveles más elevados de VTG debido probablemente al mayor rango de tallas y posiblemente mayor desarrollo gonádico. Los genes que codifican a la VTG son activados por estrógenos, principalmente por el E<sub>2</sub> (Sumpter y Jobling, 1995). El no encontrar una correlación entre el E<sub>2</sub> y la VTG en este estudio no permite sugerir como otros autores (Zaccaroni *et al.*, 2010) la idea de que los niveles de VTG observados sean el resultado de una activación de los estrógenos para la preparación de la madurez gonádica.

Actualmente se desconocen los factores que determinan el inicio de la vitelogénesis en las tortugas marinas (Hamman *et al.*, 2003). Se sabe que las condiciones climáticas alteran la abundancia, calidad y distribución del alimento de las tortugas marinas y que éstas a su vez, pueden influir en la cantidad de alimento consumido y en la eficiencia digestiva. Se ha sugerido que factores ambientales, tales como la temperatura, pueden ser señales que junto con el estado energético de la tortuga determinen el inicio o no de la vitelogénesis (Hamman *et al.*, 2003). En los neonatos de tortuga verde se ha determinado

que a una elevada temperatura corporal (36°C) las proteínas de unión de esteroides se vuelven inactivas, lo que conlleva a un aumento de la concentración de T y E<sub>2</sub> libre en la circulación (Ikonomopoulou *et al.*, 2008), lo que significa que están biodisponibles en el plasma.

El aumento de la temperatura del agua durante el verano en la costa de Baja California Sur y/o la mayor disponibilidad de alimento (Koch *et al.*, 2007) pudieran ser algunos de los factores que estén determinando los niveles de VTG observados en las tortugas verdes inmaduras. En este estudio la mayor concentración de VTG se observó en los ejemplares capturados durante el verano y en el año 2006 en PAO. En BMA aunque no fue significativa la diferencia se observó una mayor concentración en las tortugas capturadas durante el 2005. Dichos periodos resultan ser los mismos en los que los organismos presentaron un mejor estado nutricional, sugerido a través de sus parámetros bioquímicos, y una mayor condición corporal. La información que se tiene actualmente sobre los procesos fisiológicos y bioquímicos de la vitelogénesis en tortugas marinas es escasa, por lo que aún resulta necesario determinar detalladamente aspectos como la producción y movilización de la VTG en estos organismos (Hamman *et al.*, 2003).

Aun cuando el conocimiento acerca del sistema endocrino y variaciones hormonales durante el periodo reproductivo y de anidación de las tortugas marinas adultas es amplio (ver revisiones de Owens y Morris, 1985; Owens, 1997; Hamman *et al.*, 2003), dicho conocimiento en organismos juveniles y a lo largo de un ciclo anual en individuos en vida libre es escaso (Wibbels *et al.*, 1987a; 1987b; Jessop *et al.*, 2004; Braun-McNeill *et al.*, 2007). La información disponible sobre los niveles hormonales normales, las variaciones estacionales y las variaciones a lo largo de las diferentes etapas de vida de la tortuga verde del Pacífico Oriental (*e.g.* madurez sexual, migración, cópula, anidación) es prácticamente nula. Lo anterior dificulta la interpretación de los resultados del presente estudio, ya que en términos generales, las concentraciones de los esteroides sexuales y T<sub>4</sub> en individuos inmaduros de Baja California Sur difieren con aquellas concentraciones reportadas en organismos en vida libre de tortuga verde (*Ch. mydas*) alrededor del mundo (Licht *et al.*, 1985a; Wibbels *et al.*, 1992; Moon *et al.*, 1998; Hamman *et al.*, 2002; 2005; Al-Habsi *et*

*al.*, 2006; Ikonopoulou, 2008). Este estudio difiere incluso del único trabajo publicado, dentro del conocimiento del autor, realizado con organismos adultos de tortuga verde durante el periodo reproductivo en la costa de Michoacán (Licht *et al.*, 1980).

La diferencia en la técnica de determinación de la concentración de las hormonas pudiera pensarse como una explicación de la discrepancia entre los trabajos publicados previamente (uso de radioinmunoanálisis, RIA) y el presente estudio (ELISA). Se ha considerado que de manera general el ELISA tiene menor precisión y menor sensibilidad que el RIA (Zambrano y Díaz, 1996). Sin embargo, la ELISA ha resultado ser una técnica precisa, reproducible y sencilla para la cuantificación de hormonas como esteroides sexuales y adrenales, en tortugas marinas (Coufal *et al.*, 2003; Franklin *et al.*, 2003; Ikonopoulou, 2008). Debido que los esteroides sexuales de los reptiles son idénticos a los de otros grupos de vertebrados, estas hormonas pueden evaluarse de manera sencilla y precisa utilizando kit comerciales estándares con procedimientos mínimos de validación (Licht, 1979; Licht, 1982). Los kit comerciales de ELISA empleados en este estudio han sido empleados y validados previamente para la cuantificación de T y T<sub>4</sub> en *Ch. mydas* (Ikonopoulou, 2008). Todas las muestras de este estudio, con excepción del 8% (n=6) de las muestras cuando fueron analizadas para E<sub>2</sub>, se encontraron dentro de los rangos de las curvas de calibración suministradas por el proveedor sin necesidad de modificar los protocolos. Todas las muestras fueron analizadas por duplicado y la variación en la respuesta de los ELISA (CV <6%) fue comparable a la reportada por el proveedor y durante la validación de los kit para *Ch. mydas* (Ikonopoulou, 2008). Otras de las fortalezas de la técnica es que los esteroides sexuales tienen la ventaja de ser muy estables, por lo que las muestras de suero pueden ser almacenadas a -20° C sin ser analizadas, incluso por años, sin que las hormonas sufran degradación (Wibbels *et al.*, 2000).

La concentración de T de este estudio no presentó una distribución bimodal que sugiriera diferencias sexuales como lo que se ha reportado en tortugas caguama (*C. caretta*) y tortugas carey (*E. imbricata*) inmaduras (Wibbels *et al.*, 1987a; Dellinger *et al.*, 2005; Jessop *et al.*, 2004). Por el contrario, se observó una elevada variación individual y traslape en los niveles de T en organismos de diferentes tallas como lo reportado previamente en juveniles de *Ch. mydas* (Bolten *et al.*, 1992; Wibbels *et al.*, 2000). Por lo tanto, la

determinación de los niveles de T no debe emplearse como única herramienta para el sexado de juveniles de tortuga verde en la península de Baja California, es necesario validar su uso con laparoscopia y establecer, de ser posible, el rango de traslape dentro del cual las tortugas no pueden ser clasificadas bajo este método (Wibbels *et al.*, 2000).

En este estudio se confirma, como en estudios previos (Caldwell, 1962 en Owens *et al.*, 1978), que la talla y la ausencia de caracteres sexuales secundarios, como el tamaño de la cola, no son indicadores factibles del estado reproductivo y/o sexo de la tortuga verde si se utilizan como único criterio de clasificación. Una tortuga verde “juvenil” capturada en LSI con una talla menor a la talla promedio de anidación, sin caracteres sexuales secundarios evidentes, así como una de las tres tortugas verdes clasificadas como hembras adultas, presentaron concentraciones de T ( $>17,000$  pg mL<sup>-1</sup>) y E<sub>2</sub> ( $>180$  pg mL<sup>-1</sup>) que coinciden con las reportadas para machos y hembras, respectivamente, de tortugas caguama adultas (Wibbels *et al.*, 1987b; 1992), sugiriendo que son organismos maduros sexualmente.

Durante la interpretación de los cambios de las concentraciones de hormonas que se observen en una población, deben considerarse tanto los factores bióticos (*e.g.* el ciclo reproductivo, edad, condición corporal) como los abióticos (*e.g.* temperatura) (Owens y Morris, 1985). En este estudio los esteroides sexuales no presentaron diferencias entre clases de talla y no estuvieron correlacionados con la talla, peso o condición corporal de los organismos. La concentración de T y T<sub>4</sub> tampoco estuvo correlacionada con el tiempo de manipulación de las tortugas verdes. Dichos resultados se han reportado previamente en tortugas marinas, en las cuales la concentración de T y T<sub>4</sub> no se ha correlacionado con el estrés ocasionado por la captura o con la condición corporal de los animales (Wibbels *et al.*, 1987a; Moon *et al.*, 1999; Jessop *et al.*, 2004; Hamann *et al.*, 2005).

La temperatura y el fotoperiodo son factores que influyen el sistema endócrino de las tortugas marinas (Licht *et al.*, 1985a; Owens y Morris, 1985). El rango de T de este estudio coincide con los valores máximos reportados en juveniles de tortuga caguama, en las cuales la gran variabilidad individual observada estuvo correlacionada con la estacionalidad, mayor temperatura superficial del agua y el fotoperiodo (Wibbels *et al.*, 1987b; Brau-McNeill *et al.*, 2007). Sin embargo, en este estudio ninguno de los esteroides

sexuales presentó diferencias estacionales o anuales. En machos adultos de tortuga verde mantenidos en cautiverio se han reportado diferencias estacionales y variaciones a lo largo del día en la concentración de T, no así entre años (Licht *et al.*, 1985a). En hembras adultas de la misma especie, capturadas en zonas de alimentación en periodo no reproductivo, se han observado diferencias anuales en los niveles de T debido, presumiblemente, a diferencias de las condiciones ambientales (Hamann *et al.*, 2005). Se ha sugerido que los organismos mantenidos en cautiverio o aquellas que habitan en océanos tropicales y subtropicales, pueden presentar menor variación de los niveles hormonales dentro de un ciclo anual e interanualmente, debido a la estabilidad térmica (Licht *et al.*, 1985a; Wibbels *et al.*, 1990).

Al momento de realizar comparaciones de los niveles absolutos de hormonas entre estudios de tortugas marinas debe de tomarse en cuenta la existencia de variaciones interespecíficas significativas (Licht, 1982). Así mismo, la frecuencia, la temporada y hora del día en que se realiza el muestreo puede tener consecuencias en las interpretaciones de los resultados, ya que los niveles de hormonas reproductivas en el plasma pueden tener cambios dramáticos en horas o días (Licht, 1982; Licht *et al.*, 1985a), a lo largo del periodo reproductivo y en un ciclo anual (*e.g.* Lance *et al.*, 1979; Licht, *et al.*, 1979; Owens y Morris, 1985; Wibbels *et al.*, 1990; Whittier *et al.*, 1997; Rostal *et al.*, 2001; Hamman *et al.*, 2002). El valor máximo de los rangos de la concentración de T de las tortugas verdes de las tres zonas de estudio ( $<10 \text{ ng mL}^{-1}$ ) resultó ser mayor a los rangos reportados para individuos inmaduros de la misma especie o de otras especies (Owens *et al.*, 1978; Wibbels *et al.*, 1987a; 1987b; Jessop *et al.*, 2004). El rango de T observado también resultó ser mayor a los niveles reportados en hembras adultas de tortuga verde durante el periodo reproductivo (Licht *et al.*, 1980; Wibbels *et al.*, 1992; Hamman *et al.*, 2002; 2005; Al-Habsi *et al.*, 2006) y fue mayor incluso, al rango observado durante el periodo reproductivo en machos adultos de tortugas caguama y de tortugas verdes, incluidas las capturadas en las costas de Michoacán (Licht *et al.*, 1980; 1985a; Wibbels *et al.*, 1990).

El E<sub>2</sub> presentó gran variabilidad entre organismos, y es de resaltar que en este trabajo se obtuvieron valores detectables en todas las muestras aún a pesar de ser organismos inmaduros, lo cual difiere con la literatura. No existen datos de E<sub>2</sub> en tortugas

---

marinas juveniles, pero en hembras adultas de tortugas verdes que anidan en México y en otras regiones del mundo se han reportado valores mínimos o valores no detectados de E<sub>2</sub> en todas las muestras analizadas durante el periodo de anidación (Licht *et al.*, 1980; Wibbels, *et al.*, 1992; Al-Habsi *et al.*, 2006). Se ha sugerido que la diferencia en la concentración de E<sub>2</sub> medida entre poblaciones y especies puede deberse al volumen de plasma obtenido en la muestra (valores de E<sub>2</sub> detectables en mayores volúmenes de plasma) (Whittier *et al.*, 1997). Otra posible razón es el grado de afinidad de los receptores en los tejidos, las tortugas con elevada afinidad por E<sub>2</sub> requerirán menos hormona para la activación de las respuestas (Owens y Morris, 1985). También se ha sugerido que la estrona, en lugar del E<sub>2</sub>, es el estrógeno de mayor circulación en el plasma de las hembras adultas en las tortugas verdes y tortugas caguamas (Coufal y Whittier, 2003; Coufal *et al.*, 2003). En este estudio el kit empleado para la medición de E<sub>2</sub> tuvo una reacción cruzada con estrona de sólo el 2.10%, por lo que resulta poco probable estar reportando concentraciones de ambas hormonas.

Las elevadas concentraciones de E<sub>2</sub> y T observadas en este estudio coinciden con los rangos reportados en hembras de tortuga laúd (Rostal *et al.*, 2001), así como hembras y machos de tortuga caguama, medidos al inicio del periodo reproductivo y de anidación (Wibbels *et al.*, 1987b; 1990). La mayor concentración de E<sub>2</sub> en hembras de tortugas marinas ha sido observada durante los meses previos a la temporada de anidación, lo cual señala el periodo de vitelogénesis y de maduración de los folículos en los ovarios (Licht, *et al.*, 1979; Licht, 1982; Wibbels *et al.*, 1990). Es muy probable que los juveniles de tortuga verde de este estudio, próximos a alcanzar la madurez sexual, presenten esteroides sexuales en concentraciones similares a las observadas en hembras adultas en proceso de vitelogénesis (Owens y Morris, 1985). Este es primer estudio que mide la concentración de E<sub>2</sub> durante esta etapa de vida de las tortugas marinas.

Estudios previos han demostrado la presencia de niveles endógenos de esteroides sexuales (E<sub>2</sub> y T) en el plasma, desde el nacimiento y durante el desarrollo de las tortugas marinas (Wibbels *et al.*, 1987a; Gross *et al.*, 1995; Braun-McNeill *et al.*, 2007). Tortugas caguama inmaduras, de la misma talla que las tortugas de este estudio, han presentado elevados niveles de T con valores máximos reportados en el mismo orden de magnitud que

el presente estudio (Dellinger *et al.*, 2005; Braun-McNeill *et al.*, 2007). Es de resaltar que concentraciones promedio de E<sub>2</sub> y T encontradas en neonatos de tortuga caguama (Gross *et al.*, 1995) y neonatos de tortuga verde (Ikonopoulou, comm. pers.) se encuentran, a diferencia de los organismos adultos, dentro de los rangos observados en las tortugas verdes de este estudio. En organismos recién nacidos también se ha identificado la presencia de proteínas de unión a esteroides sexuales al igual que en hembras anidantes (Ikonopoulou *et al.*, 2006; 2008). Aunque aún se desconoce su función, los especialistas han sugerido la existencia de una producción, probablemente periódica, de los esteroides sexuales, los cuales tanto en su forma libre como unidos a globulinas deben de presentar funciones específicas a lo largo del desarrollo de las tortugas marinas, especialmente durante periodos críticos como el desarrollo gonádico, la eclosión y la madurez sexual (Gross *et al.*, 1995; Ikonopoulou *et al.*, 2008).

Los rangos de la concentración de la T<sub>4</sub> de las tortugas verdes de PAO, coinciden con los reportados en organismos inmaduros mantenidos en cautiverio con temperatura constante (26°C) (Moon *et al.*, 1999) y en machos adultos mantenidos en cautiverio (Licht *et al.*, 1985a). Sin embargo, en términos generales, los individuos utilizados en este estudio presentaron mayores rangos de los niveles de T<sub>4</sub> en comparación con tortugas verdes adultas en vida libre, capturadas durante el periodo reproductivo en Michoacán, Oaxaca y Australia (Moon *et al.*, 1998). También se encontraron diferencias en la concentración de T<sub>4</sub> entre especies de tortugas marinas, los niveles reportados en el presente estudio fueron mayores a las concentraciones observadas en tortugas caguama inmaduras (Moon *et al.*, 1998) y tortugas juveniles de la especie *L. kempi* (Heck *et al.*, 1997).

La concentración de T<sub>4</sub> parece estar correlacionada con la temperatura y el tipo de alimento ingerido por las tortugas marinas. Se ha observado que las tortugas marinas en cautiverio que consumen alimento artificial rico en proteínas, tienden a presentar mayores concentraciones de T<sub>4</sub> en comparación con aquellas capturadas en vida libre (Moon *et al.*, 1998). Así mismo, se ha reportado que ocurre un decremento en los niveles de T<sub>4</sub> cuando las tortugas marinas son sometidas a ayuno y una recuperación de la concentración basal de la hormona cuando vuelven a ser alimentadas (Moon *et al.*, 1999). En este estudio, la concentración de T<sub>4</sub> en las tortugas de PAO, fue mayor en el año en que las tortugas



presentaron una mejor condición corporal y en que se observó evidencia de un mayor consumo de proteínas. Así mismo, las tortugas de PAO presentaron menores concentraciones de  $T_4$  en comparación con las capturadas en LSI y BMA, lo cual pudiera ser reflejo de las diferencias de las condiciones de hábitat y calidad nutricional del alimento.

La actividad de la  $T_4$  parece influir en el comportamiento de los reptiles (*e.g.* promueve la cópula) y en las funciones fisiológicas que conllevan un gasto energético tales como, la reproducción, la asimilación de nutrientes y la actividad. Sin embargo, la función de la  $T_4$  en las tortugas marinas ha sido poco estudiada y por lo tanto, aún es desconocida (Licht *et al.*, 1985b; Moon *et al.*, 1998). En tortugas se han observado variaciones diurnas y estacionales en los niveles de  $T_4$  al igual que las observadas en la concentración de T (Licht *et al.*, 1985a; 1985b; Moon *et al.*, 1998). A pesar de que se considera que la  $T_4$  contribuye a la reproducción en los reptiles de la clase squamata (Dickhoff y Darling, 1983), en tortugas marinas dicha función esta en duda. En tortugas dulceacuícolas (*Chrysemys picta*) y en tortugas verdes no se ha encontrado una correlación entre la concentración de  $T_4$  y T, al igual que en el presente estudio. Por lo tanto, las variaciones estacionales de ambas hormonas en las tortugas, parecen reflejar respuestas independientes de las gonadas y de la tiroides ante los estímulos ambientales (Licht *et al.*, 1985a; 1985b). En este estudio la concentración de  $T_4$  no estuvo correlacionada con la concentración de  $E_2$  ó de VTG de las tortugas verdes. El mismo resultado ha sido reportado en organismos inmaduros de la tortuga Kempí, por lo cual se ha sugerido que los receptores proteicos de la  $T_4$  y su concentración en suero no son alterados por las fluctuaciones en la concentración de la VTG (Heck *et al.*, 1997).

Los datos del presente estudio proveen información nueva sobre la concentración de hormonas en juveniles de tortugas marinas en vida libre e información base para futuros estudios con tortuga verde del Pacífico Oriental. Es recomendable continuar evaluando, a lo largo del tiempo, las elevadas concentraciones de  $E_2$  y T en las tortugas verdes de Baja California Sur, ya que aún cuando las concentraciones de los esteroides sexuales y de la hormona  $T_4$  no estuvieron correlacionadas con la VTG detectada en los juveniles, no es posible descartar algún efecto xenoestrógeno en estas poblaciones. Los genes que

codifican a la VTG son activados principalmente por E<sub>2</sub> (Mewes *et al.*, 2002); sin embargo, ahora es reconocido que existen otras hormonas moduladoras de los ciclos de los ovarios en reptiles como la progesterona, T, prolactina y la hormona del crecimiento, las cuales pueden activar la síntesis de VTG en los organismos (Licht, 1982; revisado por Rosanova *et al.*, 2002). La T en particular, al ser la hormona precursora del E<sub>2</sub> (Randall *et al.*, 1997), puede ser convertida a esta última en los tejidos de las tortugas (Callard *et al.*, 1978 en Licht, 1982). En las tortugas verdes la concentración de T presentó una fuerte correlación con los niveles de E<sub>2</sub> ( $r=0.83$ ). Se requieren nuevos estudios con marcadores más sensibles que permitan distinguir los efectos endógenos y exógenos de los estrógenos presentes en el plasma, entre otro tipo de hormonas, sobre la síntesis de VTG (Heck *et al.*, 1997; Hamman *et al.*, 2003; Herbst *et al.*, 2003; Valverde *et al.*, 2008). Es prioritario establecer los rangos normales de VTG en las tortugas marinas y evaluar sus cambios estacionales (Heck *et al.*, 1997; Herbst *et al.*, 2003), así como determinar los niveles hormonales normales en la tortuga verde del Pacífico Oriental por categorías de tallas, edad, estado reproductivo y ciclos estacionales.

### **8.5. Defensas antioxidantes y estrés oxidativo de la tortuga verde.**

Este es el primer reporte sobre la actividad de las defensas antioxidantes y el daño oxidativo medido en sangre (material intracelular) de tortugas marinas vivas. Estos resultados puede considerarse una descripción del sistema antioxidante de tortugas verdes sanas que habitan en una región prístina. Por lo cual se sugiere que dicha información sea empleada como datos de referencia para futuros estudios con tortuga verde del Pacífico Oriental que habitan en Baja California Sur y en cualquier otra zona dentro de su distribución.

Las comparaciones de los resultados de este trabajo se ven limitadas ya que, en el conocimiento del autor, existen solamente dos trabajos publicados acerca del metabolismo oxidativo de la tortuga verde del Pacífico Oriental, los cuales se han realizado a partir de muestras de tortugas marinas varadas o capturadas incidentalmente (Valdivia *et al.*, 2007; Richardson *et al.*, 2010). Se ha demostrado en diferentes especies de anfibios y reptiles como en la tortuga dulceacuícola (*Trachemys scripta*), que la hypoxia puede incrementar la

---

actividad de las defensas antioxidantes en sus tejidos (Hermes-Lima y Zenteno-Savín, 2002). El rango de la actividad de la enzima GST de este estudio coincide con los valores reportados en hígado de tortugas golfinas (*L. olivacea*), caguama (*C. caretta*) y tortugas verdes varadas en la península de Baja California (Richardson *et al.*, 2010). La concentración de TBARS y la actividad de las enzimas SOD y GST medidas en sangre de las tortugas verdes fueron menores a los rangos reportados en el hígado, riñón, músculo, pulmón y corazón de tortugas verdes capturadas incidentalmente en BMA (Valdivia *et al.*, 2007). El hígado es la mayor fuente de GST en los vertebrados (Stegeman *et al.*, 1992) debido a su función detoxificante. La mayor actividad de las enzimas SOD, GST y CAT y la mayor concentración de TBARS se ha encontrado en el hígado de la tortuga verde en comparación con otros tejidos (Valdivia *et al.*, 2007).

En animales de vida silvestre, el estudio del daño oxidativo y de las defensas antioxidantes bajo un punto de vista ecológico comenzó a partir de las dos últimas décadas (McGraw *et al.*, 2010). Algunas de las preguntas que se han planteado giran en torno a las diferencias y fuentes de variación natural de las defensas antioxidantes entre especies, entre individuos de una misma especie por hábitat, condición corporal, tejido y a través del tiempo (McGraw *et al.*, 2010; Cohen y McGraw, 2009). En este trabajo únicamente se encontraron diferencias estacionales en la actividad de la enzima GPx de las tortugas verdes de BMA, siendo mayor durante el invierno. En organismos acuáticos, como peces y almejas, se han reportado diferencias estacionales en el metabolismo oxidativo (Wilhelm-Filho *et al.*, 2001; Bocchetti y Regoli, 2006; Pavlovic *et al.*, 2009). Peces como la carpa (*Tinca tinca*) y el pez dorado (*Carassius auratus*) presentan marcados cambios estacionales en la actividad de las defensas antioxidantes en los eritrocitos, siendo mayor durante la primavera (Gabryelak *et al.*, 1983 en Martínez-Álvarez *et al.*, 2005). Se sabe que las tortugas marinas durante el invierno, reducen su actividad y puede disminuir su ritmo cardiaco e incluso hibernar (Spotila y Standora, 1985), lo cual se ha sugerido particularmente en las tortugas verdes de BMA (Nichols, 2003; Koch *et al.*, 2007). Dichos factores favorecen la disminución de la producción de ROS en organismos marinos (Abele y Puntarulo, 2004 en Martínez-Álvarez *et al.*, 2005). Sin embargo, para organismos ectotermos la temperatura del agua puede ser una condición de estrés que genere una mayor

---

producción de ROS (revisado por Martínez-Álvarez *et al.*, 2005) y por ende un aumento de la actividad de las defensas antioxidantes. Es necesario generar más información para comprender los ciclos estacionales de la síntesis de ROS y defensas antioxidantes en las tortugas marinas.

Los ciclos específicos de las defensas antioxidantes se deben, en parte, a variaciones en la disponibilidad de alimento y al incremento en la temperatura del agua durante el verano (Wilhelm-Filho *et al.*, 2001; Bocchetti y Regoli, 2006; Pavlovic *et al.*, 2009). En el presente estudio, la actividad antioxidante de las enzimas y la concentración de lípidos peroxidados (TBARS) no estuvieron correlacionados con la talla, peso o condición corporal de las tortugas verdes. Sin embargo, durante los periodos en que la condición corporal de las tortugas verdes de PAO (2005) y BMA (invierno) fue menor, se encontró una mayor actividad de las enzimas GPx, CAT, Mn-SOD y una mayor concentración de TBARS. El mismo patrón se ha observado en peces sometidos a periodos de ayuno (Morales *et al.*, 2004 en Martínez-Álvarez *et al.*, 2005). La dieta de los organismos influye en las defensas antioxidantes y en su estado oxidativo. En peces, la actividad de la SOD, CAT y los niveles de peroxidación de lípidos se ven afectados de acuerdo al contenido en lípidos, almidón, carbohidratos y vitaminas en la dieta. Dietas con elevado contenido de carbohidratos, lípidos y almidón incrementa las tasas de oxidación de los peces (revisado por Martínez-Álvarez *et al.*, 2005). Es probable que la reducción de la temperatura superficial del agua durante el invierno-primavera, de hasta 6° C (Lluch-Belda *et al.*, 2000b), la disponibilidad y/o calidad nutrimental del alimento en las lagunas costeras de la península durante dichos periodos (ver apartado 8.3.), sean factores que también estén relacionados con el metabolismo oxidativo de la tortuga verde. El no haber encontrado una correlación entre los parámetros de estrés oxidativo evaluados y la condición corporal de las tortugas verdes, sugiere una protección efectiva de las defensas antioxidantes, incluso durante el invierno.

La actividad de la Mn-SOD fue la única variable que resultó diferente entre organismos lesionados y sanos de BMA. Debido a que en este estudio la clasificación de los individuos lesionados se basó únicamente en la inspección visual de la apariencia física, dicho término no puede hacer referencia estrictamente hablando de tortugas enfermas, como se mencionó previamente. Son necesarios nuevos estudios para entender las

variaciones temporales de las defensas antioxidantes y las diferencias de las mismas entre tortugas marinas sanas y enfermas, como aquellas tortugas marinas de Hawai y Florida severamente afectadas por el fibropapiloma (Aguirre y Lutz, 2004). Las variaciones regionales de las defensas antioxidantes encontradas en este estudio podrían estar relacionadas con las variaciones regionales de los xenobióticos que presentan las tortugas marinas, como se discutirá más adelante en el apartado 8.7.

### **8.6. Concentración de xenobióticos en la tortuga verde.**

Debido a que los resultados de este estudio fueron obtenidos a partir de muestras de sangre, se asume que la concentración de xenobióticos medidos en el presente estudio refleja la exposición reciente de la tortuga verde del Pacífico Oriental a dichos contaminantes ambientales. El Cd en particular, cuando se encuentra en la sangre de los organismos, es considerado como resultado de una exposición reciente. El tiempo de absorción y distribución de los elementos traza a través de los tejidos varía dependiendo del elemento del que se trate (Hooser, 2007a). Las evidencias que apoyan la idea de la exposición o ingesta reciente de las tortugas verdes a los contaminantes evaluados incluyen: Las concentraciones de OC y elementos traza en sangre son bajas en comparación con aquellas reportadas en hígado y riñón en la misma especie y región (Gardner *et al.*, 2003); las concentraciones de Fe, Cd y Zn observadas en la sangre de las tortugas verdes en BMA son similares a aquellas en las algas que componen su dieta (Talavera-Saenz *et al.*, 2007); la tasa de recambio de la sangre (116-152 días) y del plasma (40-128 días) de las tortugas marinas, como de otros vertebrados, es elevada (Seminoff, comm. pers.; Nussey *et al.*, 2009), la condición corporal de los organismos capturados puede considerarse como buena.

La información disponible para realizar comparaciones de los datos obtenidos en este trabajo es limitada, particularmente en lo que se refiere a la concentración de Mg, Si y Sr. Los niveles de los elementos traza en sangre de este estudio, con excepción del Ni, estuvieron por debajo de las concentraciones reportadas en hígado, riñón, músculo y tejido adiposo de tortugas verdes recolectadas en el noroeste de México, Japón, Hawai y el Mar Mediterráneo, así como en otras especies alrededor del mundo (Aguirre *et al.*, 1994; Sakai *et al.*, 2000a; Storelli y Marcotrigiano, 2003; Frías-Espericueta *et al.*, 2006; Gardner *et al.*,

2006; Talavera-Saenz *et al.*, 2007). Los niveles de Cd y Zn en sangre resultaron ser 3 ordenes de magnitud menores a aquellos reportados en hígado y riñón de tortuga verde; la concentración de Cd fue 2 ordenes de magnitud menor a la reportada en músculo y 1 orden de magnitud menor al tejido adiposo (Gardner *et al.*, 2006).

La elevada concentración de Ni encontrada en este estudio ha sido reportada previamente en hígado y riñón de tortuga verde de la península de Baja California Sur (Gardner *et al.*, 2006; Talavera-Saenz *et al.*, 2007). La tortuga verde tiende a concentrar Zn y Ni en comparación con otras especies de tortugas marinas en Baja California, lo cual ha sido explicado como resultado de su preferencia por rodofitas en esta región (Gardner *et al.*, 2006). Las algas rojas tienen una mayor capacidad de acumulación de elementos traza en comparación con otras macroalgas (Sánchez-Rodríguez *et al.*, 2001; Rodríguez-Meza, 2007). En BMA se han reportado elevadas concentraciones de Ni, Co, Se, Zn, entre otros elementos, en sedimento y en macroalgas (Rodríguez-Meza, 2007), algunas de las cuales son parte de la dieta de la tortuga verde, como los géneros *Sargassum* y *Ulva* (López-Mendilaharsu *et al.*, 2005). Se ha demostrado que el *Sargassum* en particular presenta una elevada afinidad por elementos como Cd, Zn y Cu, como resultado de la composición bioquímica de su pared celular (Davis *et al.*, 2003).

El Ni se ha reportado en mayores concentraciones en moluscos recolectados en zonas industriales, pesqueras, con depósitos de combustible o zonas influenciadas por la agricultura (Páez-Osuna *et al.*, 1993; 1995; Méndez *et al.* 2006). La concentración de Ni de las tortugas verdes de BMA de este estudio (<157 ppm en sangre) fue 1 orden de magnitud mayor a la reportada en hígado de tortugas verdes recolectadas en el mismo sitio durante el 2002-2003 (<31 ppm, Talavera-Saenz *et al.*, 2007). Aunado a esto, el 38% de las tortugas verdes evaluadas presentaron una concentración de Ni superior al límite máximo permitido para mariscos destinados al consumo humano (80 ppm) (Food and Drug Administration, 2007). El Ni es un metal tóxico que puede ocasionar inmunosupresión en los animales (Sharma, 2007). En este estudio, la concentración de Ni se correlacionó con la concentración de Ca y K de las tortugas verdes de PAO, sugiriendo una respuesta fisiológica de los organismos a dicho tóxico. Es necesario generar estudios con enfoque

---

precautorio en Baja California Sur, estado que actualmente presenta un elevado índice de desarrollo humano (Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo, 2009).

La concentración de Fe en sangre fue mayor a la reportada en músculo y tejido adiposo de tortuga verde de BMA (Gardner *et al.*, 2006). El Fe se distribuye en diferentes formas químicas y fisiológicas en los organismos. Entre el 60 y el 70% de la concentración de Fe en el cuerpo se encuentra dentro de la hemoglobina en las células rojas de la sangre (De Gruchy y Dacie, 1970), como constituyente del grupo hemo encargado del almacenaje y transporte de oxígeno en dicha proteína (Hooser, 2007b). La concentración de Se y Fe en sangre fue mayor a aquella observada en riñones de tortugas verdes enfermas de Hawai (Aguirre *et al.*, 1994). La deficiencia en Fe puede ser el resultado de una dieta inadecuada, sobre todo en situaciones de pérdida excesiva de Fe o en estados fisiológicos alterados (revisado por Rubio, 2002), tales como los que podrían estar presentando las tortugas verdes de Hawai varadas y severamente afectadas por fibropapiloma (Aguirre *et al.*, 1994).

El Se, en mínimas concentraciones, es un elemento esencial con funciones fisiológicas en los animales, como por ejemplo respuestas inmunes (Schwarz, 1976). Es un micronutriente que ofrece protección contra los efectos tóxicos del Cd, metilmercurio y mercurio inorgánico (Peraza *et al.*, 1998). Es un elemento esencial para la actividad de ciertas enzimas antioxidantes, específicamente de la GPx y se ha demostrado, que el Se junto con la vitamina E previenen la peroxidación de lípidos y el estrés oxidativo en peces (revisado por Martínez-Álvarez *et al.*, 2005). Sin embargo, el Se en altas concentraciones puede ser tóxico (Hall, 2007) aunque, en reptiles, se desconoce los niveles de Se críticos para la salud. En huevos de cocodrilos y serpientes se han reportado concentraciones aparentemente normales entre 1 y 3 ppm (revisado por Lam *et al.*, 2006). Las tortugas verdes de este estudio presentaron niveles de Se dentro de los rangos reportados en huevos de tortuga verde de Hong Kong (Lam *et al.*, 2006), similares a aquellas concentraciones de Se relacionadas con alteraciones reproductivas en aves tales como malformaciones y reducción de la supervivencia y eclosión de crías (Heinz *et al.*, 1989) y superiores al rango requerido para un buen estado de salud humana (0.04 - 0.1 ppm) (Wilber, 1980 en Peraza *et al.*, 1998).

Las tortugas verdes capturadas en PAO presentaron las mayores concentraciones de Si y Cd registradas. Las diatomeas son los organismos que, debido a su requerimiento de Si con fines estructurales, hacen biodisponible a este elemento en la cadena trófica, aún cuando los consumidores secundarios o herbívoros no tengan necesidades específicas por dicho elemento (Ragueneau *et al.*, 2005). La información en torno a la utilidad biológica del Si en los animales es escasa. Existe evidencia de que el Si es importante en el proceso de osificación, específicamente en la síntesis de colágeno y tejido óseo; y se sugiere que es esencial para evitar toxicidad por aluminio (revisado por Aguirre *et al.*, 2007). Las diatomeas son un componente importante del fitoplancton marino en regiones de alta productividad primaria, donde los nutrientes, incluido el Si, están disponibles (Aguirre *et al.*, 2007). En Punta Eugenia, al noroeste de PAO, se han reportado elevadas concentraciones de Cd y Sr en el plancton, 1 orden de magnitud mayor con respecto a las muestras obtenidas al sur de California y en el Océano Pacífico (Martin y Broenkow, 1975). Específicamente, las diatomeas de Punta Eugenia, han presentado concentraciones mayores a 16.5 ppm, mientras que aquellas diatomeas colectadas en la Bahía Monterey, California, EUA presentaron valores de Cd menores a 4.8 ppm (Martin y Broenkow, 1975).

Así mismo, las algas rojas componente de la dieta de los juveniles de tortuga verde, tienden a acumular mayor concentración de Cd en comparación con otras macroalgas de la costa de la península de Baja California (Sánchez-Rodríguez *et al.*, 2001). La elevada concentración de Cd en la península de Baja California ha sido atribuida, principalmente, a fuentes naturales ya sea de origen geológico u oceanográfico (Méndez *et al.*, 1998; Segovia-Zavala *et al.*, 2004; Méndez *et al.*, 2006). Al norte de Punta Eugenia se localiza una región caracterizada por la presencia de un giro ciclónico persistente, el cual genera la propagación del agua en dirección suroeste (Espinosa-Carreón *et al.*, 2004; Batteen *et al.*, 2003). Este tipo de ambientes altamente dinámicos son fuente de enriquecimiento y productividad primaria elevada (Lluch-Belda, 2000a).

El Cd es un elemento traza no esencial que debiera encontrarse en mínimas concentraciones en los animales, particularmente en los recién nacidos. Este puede ser ingerido o inhalado y se acumula a lo largo de toda la vida. El Cd tiene un tiempo de vida medio de 17 a 30 años en el ser humano. El 90% del Cd es almacenado en el riñón y en el



hígado de los organismos (Perry *et al.*, 1976; Peraza *et al.* 1998; Rubio, 2002; Méndez *et al.*, 2006). La correlación negativa entre la concentración de Cd y la talla de las tortugas verdes de este estudio ha sido reportada anteriormente en la misma especie (Sakai *et al.*, 2000a; 2000b). Se ha sugerido que la reducción de los niveles de contaminantes con la edad de las tortugas verdes es resultado de una reducción de la ingesta de los mismos, asociada al cambio ontogénico de los hábitos alimenticios de esta especie, de una dieta carnívora en los primeros años de vida a una dieta principalmente herbívora en la etapa juvenil y adulta (Mckenzie *et al.*, 1999; Sakai *et al.*, 2000a; 2000b). En el noroeste mexicano la concentración de Cd medida en hígado de la tortuga verde y en riñón de tortuga golfinia (*L. olivacea*) han sido las más altas reportadas para dichas especies en el mundo (Gardner *et al.* 2006). El Cd en el hígado induce la síntesis de proteínas de bajo peso molecular, como la metalotioneína a la cual se fija (Perry *et al.*, 1976; Rubio, 2002). La liberación en sangre de este complejo es muy lento lo que conlleva a la acumulación del Cd en el hígado (Rubio, 2002) protegiendo a los organismos de sus efectos tóxicos (O'Hara y O'Shea, 2001).

En este estudio se reportan por primera vez datos de concentración de OC medidos en plasma de organismos vivos de tortuga verde del Pacífico Oriental. El patrón de acumulación de los residuos de OC en sangre de las tortugas verdes coincide de manera general, con lo reportado previamente en otros tejidos de la misma especie y en la misma región (Gardner *et al.*, 2003). El rango de la concentración del lindano ( $\gamma$ -HCH) en plasma de las tortugas verdes de este estudio coincide con el reportado en hígado, riñón, músculo y tejido adiposo de la misma especie en BMA (Gardner *et al.*, 2003). En este estudio, el  $\delta$ -HCH fue el pesticida con mayor prevalencia, encontrándose en el 85% de las tortugas verdes capturadas. El lindano y el isómero  $\delta$ -HCH, tienen efectos neurológicos en el humano, pueden inducir convulsiones y actuar como neurodepresor respectivamente (Cristofol *et al.*, 1993).

Los grupos de pesticidas detectados en menor frecuencia o en menor concentración fueron los ciclodienos y los DDT, al igual que lo descrito en reportes previos (Gardner *et al.*, 2006). La suma de la concentración de todos los DDT estuvo por debajo del rango reportado en hígado, riñón y tejido adiposo de tortugas marinas del Mediterráneo y el Océano Atlántico (Mckenzie *et al.*, 1999). Únicamente en dos tortugas verdes de BMA se

detectaron residuos de p,p'-DDD y de p,p'-DDT; los pesticidas dieldrin y p,p'-DDE no fueron detectados en ningún individuo. La ausencia de dichos OC contrasta con un reporte previo realizado en la misma zona (Gardner *et al.*, 2003) y con lo observado en tortugas marinas de Carolina del Norte, Grecia, Chipre y Escocia (Mckenzie *et al.*, 1999; Keller *et al.*, 2004a; 2004b).

Los OC al ser ingeridos por los organismos son bioacumulados y biomagnificados en la cadena trófica, lo que hace más susceptibles a los depredadores tope (Clark, 2001; Porte *et al.*, 2006). Al ser altamente lipofílicos, tienden a acumularse principalmente en el tejido adiposo seguido del hígado, riñones y músculo, lo cual está correlacionado con el contenido de lípidos de los órganos (Clark, 2001; O'Hara y O'Shea, 2001). Las tortugas marinas con una dieta omnívora son las que tienden a acumular mayores concentraciones de OC (Mckenzie *et al.*, 1999). La correlación negativa entre la concentración de los HCH con la talla y la condición corporal de las tortugas verdes de PAO puede deberse, como se mencionó anteriormente, al cambio ontogénico de los hábitos alimenticios de la tortuga verde. La disminución de la concentración de clorobifenilos y p,p'-DDE con el aumento de la talla de las tortugas verdes ha sido sugerido como resultado del cambio en la dieta con la edad de esta especie (Mckenzie *et al.*, 1999).

Las concentraciones de aldrin, DDT y heptacloro medidas en el plasma de las tortugas verdes se encontraron por debajo de los niveles máximos establecidos de dichos compuestos para mariscos de consumo humano (Food and Drug Administration, 2007). Solamente una tortuga marina de BMA presentó una concentración de aldrin que excedió dicho límite (0.3 ppm). El rango de aldrin de este estudio fue cinco veces más elevado que el rango reportado en el 2003 en músculo y riñón de tortugas verdes colectadas en la misma región (Gardner *et al.*, 2003). La concentración de endrin de ocho tortugas verdes de PAO fue mayor a aquella reportada en el Mar Mediterráneo (Mckenzie *et al.*, 1999). Así mismo, las concentraciones de p,p'-DDD y de p,p'-DDT, de las dos únicas tortugas verdes de BMA en donde se detectaron estos residuos, fueron mayores a la concentración reportada en hígado de tortugas marinas del Mar Mediterráneo, una zona altamente industrializada (Mckenzie *et al.*, 1999).

La concentración y tipo de OC presentes en los organismos pueden mostrar variaciones regionales relacionadas al tipo de hábitat (costero, pelágico) y al grado de contaminación y actividad humana presente en la costa (revisado por O'Hara y O'Shea, 2001). Históricamente la mayor concentración de HCH se ha reportado en el Océano Ártico, ya que los compuestos más volátiles pueden ser transportados por la atmósfera (O'Hara y O'Shea, 2001; EPA, 2011). La ubicación de PAO, laguna costera en conexión directa con el Océano Pacífico, puede explicar de la elevada concentración de elementos traza, específicamente de Si y Cd, así como la mayor frecuencia de tortugas verdes con residuos de OC en comparación con las tortugas verdes que habitan los canales interiores y protegidos de BMA. Los procesos naturales que ocurren en la costa occidental de Baja California, tales como las surgencias han sido considerados como una explicación de la elevada concentración de elementos traza en la zona (Cheng *et al.*, 1976; Martin y Broenkow, 1975; Shumilin *et al.*, 2000, 2001; Rodríguez-Meza *et al.*, 2007), así como de la distribución y concentración de PCB y OC (Gutierrez-Galindo *et al.*, 1998).

La elevada concentración de OC encontrada en las tortugas verdes de BMA, en comparación con las de PAO, puede ser el resultado de la actividad agrícola desarrollada desde hace 50 años en la zona (SAGARPA, 2004). En Baja California la mayor concentración de OC y PCB ha sido reportada en las desembocaduras de los arroyos que atraviesan los campos agrícolas, así como en las zonas costeras con asentamientos urbanos en donde existen descargas de drenaje (Gutierrez-Galindo *et al.*, 1998; Gardner *et al.*, 2003). Al este de BMA se localiza el campo agrícola conocido como el Valle de Santo Domingo. Dicho valle es atravesado por el arroyo más grande de la zona, llamado Las Bramonas, el cual transporta agua natural y sedimentos estacionalmente hacia BMA (Cardona *et al.*, 2004).

Los OC, compuestos de alto peso molecular creados por el hombre, son insolubles en agua, altamente persistentes y móviles en el ambiente. A pesar de que paulatinamente ha habido una reducción en el uso de los OC como resultado de sus efectos tóxicos, éstos se han distribuido ampliamente por aire, por el transporte de sedimentos en los ríos y por el drenaje urbano, llegando a acumularse en el suelo, nieve, agua subterránea, en la superficie oceánica y en el sedimento marino (Kennish, 1997; Clark, 2001; EPA, 2011). En Norte

---

América, compuestos como el lindano y sus subproductos (otros isómeros de HCH) se siguen utilizando actualmente en la agricultura y en el sector público como plaguicida (EPA, 2011). En México, el lindano y el DDT han sido utilizados por décadas en programas de salud pública para el control de enfermedades de transmisión por insectos, como la malaria. Estos plaguicidas han sido detectados en poblaciones humanas que habitan en áreas tropicales del país (Waliszewski *et al.*, 2000). Los insecticidas lindano y DDT pueden producir anemia aplásica o leucemia en el humano por estar relacionados con el radical benceno. Los productos metabólicos intermedios también pudieran resultar tóxicos aun sin presentar el radical benceno de la molécula original (Erslev y Gabuzda, 1981). La Agencia de Protección Ambiental (EPA, por sus siglas en inglés) de los Estados Unidos, ha considerado que las comunidades que dependen tradicionalmente de comida proveniente del mar, como ballenas y focas, tienen un mayor potencial de estar expuestos a HCH por medio de su dieta (EPA, 2011).

Los resultados de este estudio confirman la biodisponibilidad de los OC en la cadena trófica en el noroeste de México. Los resultados de este trabajo son un motivo de preocupación, tanto en términos de la medicina de la conservación como de la salud pública, si se consideran las preferencias culinarias en Baja California Sur por el consumo de carne de tortuga marina (Koch *et al.*, 2006; Mancini y Koch, 2009; Senko *et al.*, 2010), así como la gama de efectos toxicológicos que los OC y elementos no esenciales como el Cd pueden tener sobre los animales y el humano, tales como efectos neurotóxicos, inmunosupresión, carcinogénesis y disrupción endocrina, entre otros (revisado por O'Hara y O'Shea, 2001; Van der Oost *et al.*, 2003; Aguirre *et al.*, 2006; Porte *et al.*, 2006; Levengood y Beasley, 2007).

### **8.7. Efectos fisiológicos de los xenobióticos en la tortuga verde: variaciones temporales y regionales.**

Dentro de la disciplina de la toxicología ambiental, el empleo de biomarcadores (bioquímicos, fisiológicos, histopatológicos) permite cuantificar la condición o salud de un organismo en su medio. Bajo este contexto, el estado de salud puede definirse como la capacidad residual del organismo para resistir al estrés. El estrés es el estado producido por

---

las condiciones del ambiente u otros factores que conllevan al organismo a respuestas adaptativas superiores a su rango normal. Entre más estresado se encuentre un organismo la probabilidad de supervivencia se verá reducida, como resultado del desbalance del funcionamiento normal debido a la movilización de recursos y gasto energético (Mayer *et al.*, 1992). De ahí radica la ventaja de integrar el uso de biomarcadores en estudios con vida silvestre, tienen el potencial de ser medidas sensitivas a nivel bioquímico, celular o tisular, de las condiciones adversas procedentes de la población, previo a los efectos ecológicos evidentes (*e.g.* enfermedades, patologías reproductivas, reducción poblacional) (Mayer *et al.*, 1992). Aun cuando los biomarcadores no específicos no son útiles para identificar la causa (*e.g.* tipo de contaminante) de los efectos observados, resultan muy útiles para la evaluación integral de los impactos simultáneos de múltiples tóxicos o factores ambientales a los que está sometido el organismo. Sin embargo, para dar una adecuada interpretación es primordial conocer la variabilidad de estos biomarcadores ante factores tales como la edad, la temperatura, el sexo, estacionalidad y manejo de la muestra (Mayer *et al.*, 1992), conocimiento prácticamente nulo en tortugas marinas.

Los ecosistemas marinos presentan múltiples factores de estrés que pueden afectar la salud de los vertebrados. Los organismos marinos tienen que ajustarse a las variaciones temporales y espaciales del ambiente para mantenerse en homeostasis y ser capaces de crecer y reproducirse (Aguirre *et al.*, 2002; Lesser, 2006). Las tortugas marinas tienden a concentrarse en la zona costera en hábitats particulares para la reproducción, alimentación y desarrollo, lo cual los hace más susceptibles a condiciones de contaminación, florecimientos algales, agentes infecciosos y mayor interacción con las pesquerías (Aguirre *et al.*, 2002; Van Houtan *et al.*, 2010). A pesar de que las tortugas marinas son potenciales indicadores del estado de salud del ambiente marino en el que se encuentran (Aguirre *et al.*, 2002), son muy pocos y muy recientes los estudios que han evaluado la relación y el efecto de los contaminantes químicos a la respuesta de biomarcadores tales como los inmunológicos, la VTG, proteínas de unión específica a esteroides sexuales y la actividad de enzimas antioxidantes como la GST (Keller *et al.*, 2005; Valverde *et al.*, 2008; Ikonopoulou *et al.*, 2009; Richardson *et al.*, 2010). El presente estudio es pionero dentro de su área al realizar por primera vez una evaluación integral del estado de salud de las

---

poblaciones de tortugas marinas en estado silvestre por medio de la cuantificación de diversos parámetros de salud. A partir de la captura y liberación de organismos vivos en un hábitat de desarrollo y alimentación de la tortuga verde del Pacífico Oriental, fue posible identificar diferencias en las respuestas de los parámetros fisiológicos, endócrinos y clínicos como resultado de las diferencias en la calidad del hábitat, sugiriendo el potencial uso de los mismos como biomarcadores en tortugas marinas.

El ACP, empleado en el presente trabajo, es un método estadístico que caracteriza la variación existente en un grupo de datos y que describe la relación entre un conjunto de variables (Kleinbaum y Kupper, 1978; Horak y Cohen, 2010). Este método, como otros análisis multivariados (*e.g.* análisis discriminante, índices generalizados), ha sido utilizado para distinguir factores ambientales y biológicos que permitan caracterizar, en tiempo y espacio, el hábitat de los organismos a partir de la evaluación de las respuestas de una serie de biomarcadores moleculares y bioquímicos (Talavera-Saenz *et al.*, 2007; Cohen y McGraw, 2009; Pereira *et al.*, 2009; Rodríguez-Ortega *et al.*, 2009; Horak y Cohen, 2010). En este estudio, el ACP permitió identificar aquellas variables que contribuyeron más en la varianza total de los datos, como la concentración de los HCH por citar un ejemplo, y reveló grupos de tortugas verdes con características peculiares como aquellas capturadas en PAO durante el 2005. El análisis contribuyó de manera significativa a un mejor entendimiento e interpretación de las variaciones regionales y temporales observadas en las respuestas fisiológicas correlacionadas con las variaciones en la concentración de los xenobióticos presentes en las tortugas verdes, confirmando la existencia de diferentes condiciones ambientales y del hábitat de las tortugas durante el periodo de este estudio.

Como se mencionó anteriormente (ver apartado 8.6.), las tortugas verdes de PAO parecen ser más susceptibles a las alteraciones oceanográficas dado a su cercanía con el Océano Pacífico, mientras que las tortugas de BMA presentan características relacionadas a la actividad agrícola de la zona. Con relación a las diferencias encontradas en la respuesta inmune de las tortugas verdes de LSI, éstas podrían explicarse por las diferencias hidrográficas entre las lagunas costeras. La calidad del ambiente, definida con base en la temperatura, contaminantes, biotoxinas y eutrofización, es un factor de estrés crítico para el estado fisiológico de las tortugas marinas (Milton y Lutz, 2003; Van Houtan *et al.*, 2010).

---

La laguna de BMA, a diferencia de LSI, presenta características oceánicas por la combinación de surgencias y corrientes de marea que transportan agua hacia dentro y fuera de la laguna (Lluch-Belda *et al.*, 2000b; Zaitsev *et al.*, 2007). En la zona oceánica adyacente a la boca ocurren procesos importantes de surgencias costeras que aportan altas concentraciones de nutrientes. El resultado es un aumento de la actividad fotosintética la cual incrementa los niveles de oxígeno y reduce la acumulación de nutrientes (Álvarez-Borrego *et al.*, 1975; Zaitsev *et al.*, 2007). La temperatura y salinidad de BMA se correlaciona con la batimetría del sitio presentando los valores más altos en las zonas de menor profundidad como la zona de canales (Álvarez-Borrego *et al.*, 1975). Por lo tanto, es muy probable que la característica anti-estuarina de LSI y su batimetría somera predominante, genere un ambiente de mayor temperatura, salinidad, con acumulación de sedimentos y/o contaminantes y reducida concentración de oxígeno disuelto. Todas ellas condiciones críticas para la salud de las tortugas marinas (Milton y Lutz, 2003).

Gran variedad de factores endógenos y exógenos a los que se enfrentan las tortugas marinas pueden alterar la capacidad fisiológica de los organismos y de las poblaciones para responder a las situaciones de estrés en su ambiente (Jessop *et al.*, 2004). La inmunosupresión, está íntimamente ligada con la presencia de fibropapilomatosis en tortugas marinas (Aguirre *et al.*, 1995) y, como se discutió anteriormente, en LSI es la laguna donde se encontró el primer caso de fibropapiloma de la península de Baja California (Reséndiz *et al.*, 2011). En las tortugas caguama y en otros organismos marinos se ha determinado que existe una elevada sensibilidad del sistema inmune ante la presencia de elementos traza y contaminantes como los PCB (Rice y Arkoosh, 2002; Keller *et al.*, 2005; 2006; Day *et al.*, 2007; Frouin *et al.*, 2010). En este estudio no fue posible evaluar el estado oxidativo de las tortugas de LSI y no se obtuvieron datos de OC en las mismas; con relación a los elementos traza, únicamente el Zn se correlacionó con la proporción de heterófilos y linfocitos de las tortugas verdes. Las infecciones, como la que aparentemente presentaron las tortugas verdes de LSI, estimulan la respuesta inmune innata mediada por los granulocitos (heterófilos y macrófagos) los cuales liberan y producen compuestos citotóxicos como ROS con la finalidad de controlar la infección y la presencia de patógenos (Bertrand *et al.*, 2006). Los resultados de este trabajo señalan la importancia de generar un

estudio más completo del estado de salud de las tortugas verdes de LSI que considere las características particulares de su hábitat.

La cuantificación del incremento de la actividad de ciertas enzimas (*e.g.* transaminasas, fosfatasa alcalina) o de biomoléculas en un tejido (*e.g.* citocromo P<sub>450</sub>, metalotioneinas) son ejemplos de biomarcadores específicos a un compuesto tóxico u órgano. La presencia de ciertas enzimas en la sangre se utiliza como un indicador del daño y del grado del mismo a un órgano específico (Mayer *et al.*, 1992). En humanos, el incremento en la actividad de las enzimas transaminasas en la sangre es un indicador de daño hepático entre otras funciones (Laguna, 1967). La AST es una enzima no específica citosólica y mitocondrial encontrada en una variedad de tejidos; la ALT, enzima citosólica, es específica del hígado (Mayer *et al.*, 1992). Ambas enzimas han sido utilizadas como medida de estrés en peces e invertebrados; múltiples estudios han reportado un incremento en la actividad de las transaminasas en organismos expuestos a concentraciones tóxicas de elementos traza y xenobióticos orgánicos (revisado por Mayer *et al.*, 1992). En este estudio, se encontraron correlaciones positivas (AST) y negativas (ALT) entre la actividad de las transaminasas y la concentración de Cd, Si y OC (aldrin y suma de ciclodienos) de las tortugas verdes. Resultados similares han sido reportados previamente en tortugas marinas, la concentración de OC, tales como DDT's y PCB's, en sangre y tejido adiposo, se ha correlacionado con la actividad de la AST en la tortuga carey (*E. imbricata*), por lo cual esta enzima ha sido sugerida como probable indicador de daño celular hepático en tortugas marinas (Keller *et al.*, 2004a).

El hígado de las tortugas marinas es el segundo tejido en importancia en la acumulación de metilmercurio y OC (Gardner *et al.*, 2003, Aguirre *et al.*, 2006; Kampalath *et al.*, 2006). Se ha sugerido que la gran variedad de OC presentes en tejidos de tortuga verde es debida a una exposición desde las primeras etapas de vida cuando su dieta es carnívora (Gardner *et al.*, 2003). En este estudio, los subadultos y adultos tendieron a presentar una mayor actividad de las enzimas ALT (50%) en PAO y BMA, y de AST (35%) en BMA en comparación con las tortugas juveniles, aunque dichos parámetros no se correlacionaron con la talla de las tortugas. Las diferencias fisiológicas por edad y sexo de los individuos son factores que determinan los efectos que la acumulación de



contaminantes químicos puedan generar en las tortugas marinas (Milton y Lutz, 2003). La mayor actividad de las enzimas transaminasas observada en los adultos de tortuga verde pudiera ser resultado de la acumulación de los contaminantes a lo largo de toda su vida. Es probable que los adultos sean más susceptibles a presentar daño hepático por bioacumulación de contaminantes en comparación con juveniles y crías.

El estado nutricional de las tortugas marinas es otro factor que debe estar relacionado con la susceptibilidad a enfermedades y con los efectos tóxicos de los contaminantes. Los cambios cíclicos de las concentraciones de lípidos en las reservas de grasa, correlacionados a la estacionalidad, migración, ayuno, entre otros factores, generan una movilización y aumento de los contaminantes químicos (*e.g.* OC) en la circulación sanguínea, lo cual pudiera aumentar su toxicidad en el organismo y las interpretaciones toxicológicas (Clark, 2001; O'Hara y O'Shea, 2001). Por otro lado, los efectos biológicos a concentraciones mínimas de Cd dependerán de su distribución en los órganos, dentro de un tejido determinado, así como de la concentración de otros micronutrientes con los cuales puede interactuar, tales como el Zn, Fe, Ca y Cu (Perry *et al.*, 1976; Peraza *et al.* 1998). Una dieta pobre en proteínas y vitaminas genera mayor susceptibilidad a intoxicación por Cd (revisado por Peraza *et al.*, 1998). Micronutrientes como el Se y Zn participan en la prevención de estrés oxidativo al ser catalizadores y elementos estructurales de las enzimas antioxidantes, por lo que la deficiencia de dichos micronutrientes en la dieta puede generar una disminución de la actividad de enzimas como SOD y GPx y aumentar el efecto tóxico del Cd (Peraza *et al.* 1998; Martínez-Álvarez *et al.*, 2005).

Las tortugas verdes de PAO tuvieron una mayor concentración de Cd y Si durante el 2005, año en que las tortugas presentaron una menor condición corporal y en el que, de acuerdo a la información obtenida con los parámetros clínicos (*e.g.* menor concentración de proteínas; ver apartado 8.2), los organismos se encontraron en un ambiente de menor disponibilidad y/o calidad nutricional. Dichas características pudieron haber influido en los efectos tóxicos del Cd y Si en las tortugas verdes de PAO durante el 2005. La correlación positiva observada entre la concentración del Cd y Si con la actividad de las enzimas transaminasas, TBARS y Mn-SOD en el 2005 apoya esa hipótesis. La concentración de Cd y Si en las tortugas verdes también se correlacionaron con múltiples parámetros clínicos

---

como el ácido úrico, el calcio, glucosa y la proporción monocitaria sugiriendo una afectación a la salud de las tortugas verdes. Son pocos los síntomas de los organismos por la exposición crónica a Cd y, cuando éstos son aparentes, los animales presentan múltiples efectos tóxicos por la acumulación tales como hipertensión, enfermedades coronarias, anemia, efectos autoinmunes, edema pulmonar, afecciones renales, alteraciones óseas, al sistema reproductor y posible carcinogénesis (Perry *et al.*, 1976; Peraza *et al.*, 1998; Rubio, 2002).

Las alteraciones a nivel bioquímico reflejan tanto la exposición como el efecto en el organismo ante cambios en el ambiente químico. Los indicadores bioquímicos son los primeros en ser detectados y los más sensibles, que pueden sugerir los posibles efectos adicionales que pueda sufrir el órgano o individuo en cuestión (Stegeman *et al.*, 1992). En este estudio, tanto la concentración de los OC como de los elementos traza estuvieron correlacionadas con múltiples parámetros clínicos y hematológicos. El mismo resultado ha sido observado previamente en tortugas caguamas, dichas correlaciones, positivas o negativas, reflejan alteraciones a la concentración en la concentración de carbohidratos, proteínas y regulación de electrolitos y, por ende, sugieren una afectación a la salud de las tortugas marinas (Keller *et al.*, 2004a; 2005).

Las correlaciones entre los contaminantes químicos y los parámetros clínicos, así como las variaciones observadas en la actividad de las transaminasas en las tortugas verdes (*e.g.* mayor actividad en organismos lesionados y en adultos), deben ser tomadas como un resultado precautorio ya que previamente se ha reportado hiperplasia en conductos biliares de hígado de tortugas verdes de BMA, lo cual pudiera ser resultado de los efectos tóxicos de la exposición a contaminantes químicos (Cordero-Tapia, 2005). Así mismo, los valores máximos de AST y ALT reportados en este estudio son mayores a los valores de referencia reportados para *Ch. mydas* (Bolten y Bjorndal, 1992; Aguirre y Balazs, 2000; Whiting *et al.*, 2007) y otras especies de reptiles como el cocodrilo (*Crocodylus palustris*) (Stacy y Whitaker, 2000). Es necesario realizar nuevos estudios que examinen la concentración y distribución de las enzimas transaminasas en los órganos de las tortugas marinas (Keller *et al.*, 2004a) y su relación con la concentración de OC y elementos traza.

La función central de las defensas antioxidantes es la de evitar la formación de ROS, tales como el radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) y el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), o reducir su flujo en los sistemas biológicos para prevenir la producción del radical hidroxilo ( $HO^{\cdot}$ ), el más reactivo y dañino de los radicales (Lesser, 2006). La intoxicación por ciertos metales de transición, como el Fe, Cu y Mn, pueden promover estrés oxidativo (*e.g.* peroxidación de lípidos y daño a ADN) en los organismos debido a que pueden actuar como catalizadores en diversas reacciones generadoras de ROS (Stohs y Bagchi, 1995; Pinto *et al.*, 2003). Ejemplos de ello son la reacción de Fenton ( $Fe^{2+}$  y  $Cr^{5+}$ ) y el ciclo de Haber-Weiss ( $Cu^{2+}$  y  $Fe^{3+}$ ) en los cuales los metales catalizan la formación de  $HO^{\cdot}$  (Halliwell y Gutteridge, 1999). Otros elementos como el Pb, Hg, Cd y Ni, pueden promover el estado pro-oxidante y la producción de ROS al reducir las concentraciones de otros antioxidantes, como el tripéptido glutatión, y afectar las uniones de los grupos sulfidrilos (Stohs y Bagchi, 1995; Pinto *et al.*, 2003).

Entre zonas de estudio se encontraron diferencias en la actividad de las defensas antioxidantes de las tortugas verdes. Estas diferencias pudieran estar relacionadas a las diferencias regionales en la concentración de contaminantes químicos. La actividad de las enzimas t-SOD, CuZn-SOD y MnSOD resultó ser mayor en las tortugas de BMA, mientras que las tortugas de PAO presentaron mayor actividad de la CAT. En las tortugas verdes de PAO, la actividad de las enzimas antioxidantes CAT y GST estuvieron correlacionadas con la concentración de un gran número de OC, mientras que en BMA la actividad de la CAT, t-SOD y Mn-SOD estuvieron correlacionadas principalmente con la concentración de los elementos traza. En peces, los parámetros de estrés oxidativo se han propuesto como marcadores de contaminantes; sin embargo, no se ha encontrado un patrón claro en las respuestas de las defensas antioxidantes, ya que existe gran variación entre especies, en una misma especie entre tejidos e, incluso, los tejidos pueden desarrollar respuestas adaptativas específicas para proteger a las células expuestas a pesticidas (revisado por Martínez-Álvarez *et al.*, 2005).

De manera general, se ha reportado en la literatura una mayor actividad de las enzimas SOD, CAT, GPx y GST en peces que han estado expuestos a contaminantes como metales pesados y OC (revisado por Van der Oost *et al.*, 2003; Martínez-Álvarez *et al.*,

2005; Elia *et al.*, 2006; Hansen *et al.*, 2006), tal como las correlaciones observadas entre las enzimas antioxidantes y los OC de las tortugas verdes de este estudio. Sin embargo, la exposición de las tortugas verdes a aldrin y a los ciclodienos genero tanto un incremento de la actividad de la GST (PAO) como una disminución de la misma (BMA). En muchas especies de peces se ha reportado tanto la reducción como el incremento de la actividad de las defensas antioxidantes por la exposición de los organismos a compuestos biodegradables, tales como los hidrocarburos aromáticos (revisado por Van der Oost *et al.*, 2003). En tortugas marinas es necesario entender las respuestas selectivas de las enzimas antioxidantes a los contaminantes químicos, ya que una misma enzima puede estar correlacionada, tanto negativa como positivamente, con los elementos traza.

Todas las isoformas de SOD tienen propiedades antioxidantes, la enzima Cu,Zn-SOD es principalmente citosólica, mientras que la enzima Mn-SOD se encuentra principalmente en la mitocondria; su función es la de dismutar el  $O_2^{\bullet-}$  en  $H_2O_2$  y oxígeno (Halliwell y Gutteridge, 1999; Lesser, 2006) reduciendo la posibilidad de daño oxidativo. En este estudio las isoformas de SOD estuvieron correlacionadas con la concentración de Se, Cd y Zn presentes en sangre de las tortugas verdes. Se ha reportado previamente un incremento en la actividad de la enzima SOD como resultado de la exposición a Cd en camarón (*Palaemonetes pugio*) (Downs *et al.*, 2001), a Fe en pez dorado (*C. auratus*) (Bagnyukova *et al.*, 2006) y como resultado de la exposición a metales pesados en trucha (*Salmo trutta*) (Hansen *et al.*, 2006).

La CAT es una enzima que cataliza la conversión del  $H_2O_2$  a  $H_2O$  y  $O_2$  (Lesser, 2006). Esta en las tortugas verdes se correlacionó con diversos elementos traza como Ni y Si y con la concentración del clordano, endrin sulfato y la suma de DDT. La enzima GST se conjuga con los xenobióticos lipofílicos (*e.g.* OC) actuando como una enzima acarreadora de los compuestos tóxicos e incrementando su solubilidad en agua, promoviendo de esta manera su eliminación ó la reducción de su capacidad para unirse con otras macromoléculas celulares, tales como el ADN (Stegeman *et al.*, 1992). En este trabajo la actividad de la GST de las tortugas verdes de PAO se correlacionó con gran variedad de OC. El hígado de los vertebrados es la mayor fuente de GST (Stegeman *et al.*, 1992). En la tortuga verde, la mayor actividad de la GST se ha encontrado en el hígado seguido de los

riñones (Valdivia *et al.*, 2007). Las correlaciones encontradas en este trabajo entre las enzimas antioxidantes CAT, t-SOD y GST con los OC y elementos traza sugieren que, por su función detoxificante, pueden ser biomarcadores útiles y sensibles a la exposición a contaminantes químicos persistentes en la tortuga verde del Pacífico Oriental, lo cual ha sido sugerido en otros grupos animales, como peces (Elia *et al.*, 2006).

La toxicidad del  $O_2$  se debe a una sobre producción de  $O_2^{\cdot-}$  en los organismos aerobios (Halliwell y Gutteridge, 1999). La tasa de producción de  $O_2^{\cdot-}$  puede ser utilizada como una medida de la potencial síntesis de ROS y estrés oxidativo de los tejidos (Valdivia *et al.*, 2007). La cuantificación de la peroxidación de lípidos es utilizada como indicador de daño inducido por ROS. Se considera que los niveles de TBARS son proporcionales a la producción de  $O_2^{\cdot-}$  (Valdivia *et al.*, 2007). El Cd compite con metales de transición esenciales en los sitios activos de enzimas, generando un aumento de iones de  $Fe^{2+}$  y  $Cu^{2+}$  y, por ende, un incremento en la generación de ROS (Martínez-Álvarez *et al.*, 2005). Se ha reportado que el Cd puede incrementar los niveles de peroxidación de lípidos en tejidos tan pronto como éstos han sido expuestos al metal (Stohs y Bagchi, 1995). Peces expuestos a concentraciones de Cd presentan un aumento en la actividad de SOD, GPx y CAT en hígado y riñón (revisado por Martínez-Álvarez *et al.*, 2005) y en la actividad de Mn-SOD en sangre de las tortugas verdes de este estudio. La correlación positiva de los niveles de TBARS y la concentración de Cd, clordano y heptacloros en las tortugas verdes de PAO, sugiere que dicho parámetro oxidativo puede ser utilizado como un marcador temprano y sensible de la exposición a xenobióticos en tortugas marinas. La concentración de TBARS y la actividad de las enzimas t-SOD y GPx observadas en este estudio son menores a las reportadas en plasma de tortugas verdes del mar Arábico con concentraciones de Cd en hígado mayores a las de este estudio (Bicho *et al.*, 2006).

La VTG es la proteína encargada del transporte y almacenamiento de importantes cantidades de material lipídico, principalmente triglicéridos, además de carbohidratos y calcio durante la maduración sexual de las hembras (revisado por Hamman *et al.*, 2003). Las hormonas tiroideas tienen múltiples efectos en el crecimiento y desarrollo de los vertebrados; intervienen en el desarrollo de las gónadas, en el metabolismo intermediario y en la regulación del crecimiento somático, entre otras funciones (Mayer *et al.*, 1992). La

activación del sistema tiroideo es la señal hormonal de que el animal se encuentra en un adecuado estado nutricional para proceder hacia funciones fisiológicas que conllevan un gasto energético, tales como la reproducción y el crecimiento (Dickhoff y Darling, 1983; Licht *et al.*, 1985b). La tiroides de peces, anfibios y reptiles se encuentra activa durante condiciones favorables para la supervivencia y el sistema se inactiva en periodos de inanición o hibernación (Dickhoff y Darling, 1983). En crías de focas grises (*Halichoerus grypus*) recién destetadas, se ha reportado una correlación significativa entre los niveles de T<sub>4</sub> y la condición corporal de las focas (Hall *et al.*, 2003). Los resultados de este trabajo sugieren que la T<sub>4</sub> y la VTG son parámetros endócrinos que pueden ser utilizados como biomarcadores de la condición corporal de las tortugas marinas así como de condiciones ambientales desfavorables. Ambos parámetros se encontraron en mayor concentración en el plasma de las tortugas verdes durante los periodos en que los organismos presentaron un mejor estado nutricional y mayor condición corporal.

La evaluación de los niveles de hormonas como la T<sub>4</sub> predicen, en términos generales, problemas en el crecimiento y desarrollo de los organismos (Mayer *et al.*, 1992). En este estudio las menores concentraciones de T<sub>4</sub> observadas estuvieron correlacionadas con la elevada concentración de Si de las tortugas verdes de PAO y LSI durante el 2005. Adicionalmente, en PAO, la T<sub>4</sub> se correlacionó negativamente con la concentración de aldrin y la suma de los DDT. En los Grandes Lagos en Michigan, a partir de 1970 se encontraron efectos evidentes en la tiroides y en la concentración de las hormonas tiroideas de los salmones y gaviotas relacionados a las elevadas concentraciones de OC y PCB. A pesar del control de dichos contaminantes en 1980, los efectos continuaron observándose en años recientes (Colborn, 2002). En focas grises en vida libre también se ha reportado correlación entre los niveles de T<sub>4</sub> en sangre y la concentración de éteres difenilos polibrominados acumulados en la capa de grasa de los organismos (Hall *et al.*, 2003).

En los últimos años se ha prestado mucha atención en el potencial uso de la VTG como proteína marcadora de disrupción endócrina y exposición a contaminantes ambientales en los ecosistemas acuáticos (ver revisiones de Van der Oost *et al.*, 2003; Porte *et al.*, 2006). El no haber encontrado una correlación entre los OC y la concentración de VTG es un resultado favorable que sugiere que la disrupción endócrina por los

---

contaminantes persistentes presentes en las tortugas verdes no es un problema en estas poblaciones, sobre todo si se considera que los niveles de VTG fueron menores a los reportados en hembras adultas en periodo reproductivo (Herbst *et al.*, 2003). Este resultado puede deberse a las mínimas concentraciones de contaminantes encontradas en la sangre de las tortugas verdes. En el Mar Mediterráneo, localizado en una de las zonas más industrializadas y contaminadas del mundo, se encontró una dramática inducción de VTG en machos adultos de pelágicos mayores como el pez espada (*Xiphias gladius*) y el atún de aleta azul (*Thunnus thynnus thynnus*) (revisado por Porte *et al.*, 2006).

Sin embargo, no todos los estudios realizados con organismos en vida libre han encontrado diferencias en la concentración de VTG entre sitios contaminados y no contaminados (revisado por Mayer *et al.*, 1992; Foster *et al.*, 2001), correlaciones significativas entre la concentración de VTG y los contaminantes químicos (OC y PCB) (Foster *et al.*, 2001) ó evidencia de niveles de VTG como en las tortugas caguama machos que habitan en un ambiente potencialmente estrogénico (Valverde *et al.*, 2008). La evaluación de los efectos directos de los compuestos químicos persistentes y elementos traza, principalmente Cd, sobre los niveles de VTG y la expresión génica de la proteína se ha realizado principalmente en peces e invertebrados *in vitro* (Pereira *et al.*, 1993; Sumper y Jobling, 1995; Novillo *et al.*, 2005). Debido a la escasez de estudios, es muy poca la información para comprender las variaciones encontradas entre estudios, como el incremento, disminución o efecto nulo de los contaminantes químicos sobre los niveles de VTG (Melancon *et al.*, 1992). Con la finalidad de descartar la disrupción endócrina en las tortugas verdes juveniles de esta región es necesario correlacionar los niveles de VTG con las concentraciones de OC presentes en órganos de almacenamiento como el tejido adiposo y las gónadas, ó aquellos con función detoxificante, como el hígado y el riñón, así como realizar estudios enfocados a definir y entender los patrones normales de la producción de VTG en tortugas marinas.

Los contaminantes químicos pueden alterar el sistema endócrino sin limitarse a un órgano o mecanismo molecular específico, por ejemplo, la alteración de la producción de esteroides, la alteración de las hormonas pituitarias o hipofisarias, la biotransformación de las hormonas en el hígado y la competencia directa con las hormonas (Guillette y

Gunderson, 2001). Para dar una mejor interpretación sobre los efectos directos ocasionados por los contaminantes en el ambiente acuático y la potencial evidencia de disrupción endócrina en organismos en vida libre, es necesario generar estudios meticulosos que incluyan una evaluación extensiva de los mecanismos de disrupción, muestreos de seguimiento continuos con los que se puedan generar índices de disrupción, así como estudios comparativos con subpoblaciones reproductivamente sanas y/o intensamente contaminadas como punto de referencia (Guillette y Gunderson, 2001; Wasser *et al.*, 2002).

Los esteroides sexuales en fauna silvestre, incluidos los cocodrilos y tortugas marinas, han resultado ser marcadores sensibles a las alteraciones ambientales. Se ha demostrado que como la ketotestosterona, T y E<sub>2</sub> presentan alteraciones en su concentración en ambientes altamente contaminados (Guillette *et al.*, 1994; revisado por Guillette y Gunderson, 2001); pueden presentar correlaciones directas con contaminantes químicos como los OC (Foster *et al.*, 2001; Hall *et al.*, 2003) e incluso se ha demostrado que pueden competir por los sitios de unión de los receptores protéicos con muchos de los pesticidas evaluados en este estudio (*e.g.* dieldrin, endosulfan, DDT, clordano) (Vonier *et al.*, 1996; Arnold *et al.*, 1997; Ikonopoulou *et al.*, 2009).

Se ha reportado que la combinación e interacción de diversos contaminantes químicos pueden inhibir con mayor efectividad la unión entre el E<sub>2</sub> y sus receptores protéicos, incluidos los contaminantes que por sí solos presentan una actividad estrogénica débil o nula como el dieldrin y el clordano reportados en el presente estudio (Sumpter y Jobling 1995; Vonier *et al.*, 1996; Arnold *et al.*, 1997). La mezcla de diversos contaminantes ambientales puede presentar efectos endócrinos más pronunciados que la concentración de un solo compuesto químico de manera independiente (Sumpter y Jobling 1995). En este trabajo la combinación de todos los contaminantes químicos medidos en las tortugas verdes se correlacionó con la concentración de T (BMA), glucosa, calcio, ácido úrico, VTG, colesterol y la actividad de las enzimas GST y Cu,Zn-SOD (PAO), sugiriendo una sinergia de la mezcla de contaminantes químicos presentes en las tortugas verdes con efectos fisiológicos perjudiciales.

Aunque las respuestas hormonales en los tejidos no son inmediatamente letales, pueden reducir el tiempo de vida de los organismos y en términos del funcionamiento, la



---

alteración endócrina puede tener efectos serios en el éxito reproductivo y en el crecimiento de la población (Colborn, 2002). Las alteraciones reproductivas, tales como disminución del tamaño y número de huevos, disminución de la supervivencia de embriones y crías eclosionadas y alteraciones morfológicas de las gónadas en organismos juveniles, reportadas en organismos ovíparos, como aves, peces y el cocodrilo americano (*Alligator mississippiensis*), pudieran también presentarse en tortugas marinas que habiten ambientes altamente contaminados (Guillette *et al.*, 1994; Guillette y Gunderson, 2001; Foster *et al.*, 2001).

El haber encontrado correlaciones significativas entre los OC y los elementos traza medidos en sangre con múltiples parámetros clínicos y bioquímicos de los organismos, sugiere que dichos contaminantes químicos tienen efectos directos y a corto plazo en el estado de salud y metabolismo oxidativo de las tortugas verdes de PAO, LSI y BMA. Es probable que los OC medidos en el plasma tengan un efecto a largo plazo, no evaluado en el presente estudio, como resultado de sus características lipofílicas y sus patrones de bioacumulación y detoxificación. Evaluar la relación entre los OC acumulados en órganos como el hígado, riñón y tejidos adiposo con los parámetros clínicos y hematológicos de las tortugas verdes ampliaría el conocimiento sobre el efecto clínico de estos xenobióticos a la salud de las poblaciones de tortugas marinas.

## 9. CONCLUSIONES

1. La población de tortugas verdes en la costa occidental de Baja California Sur estuvo conformada principalmente por organismos juveniles. La laguna costera de PAO presentó la mayor densidad de tortugas verdes con el mayor rango de tallas.
2. El estado físico de las tortugas verdes es considerado bueno al no encontrarse evidencia de lesiones por depredación, daño antropogénico o signos de enfermedades. Los parámetros bioquímicos sanguíneos y hematológicos se encontraron dentro de los rangos de referencia de poblaciones sanas de la misma especie alrededor del mundo, por lo que la población de Baja California Sur se considera saludable.
3. Los índices de condición corporal empleados en este estudio resultaron ser herramientas útiles y prácticas para la evaluación de la condición corporal de las tortugas marinas a partir de los datos individuales de peso y talla. El índice *Krel* resultó ser un mejor estimador para evaluar diferencias en la condición corporal entre diversos factores bióticos y abióticos.
4. Las tortugas verdes de BMA presentaron una condición corporal mayor a la reportada en años previos. Las tortugas lesionadas de BMA y PAO presentaron una condición corporal menor en comparación con las sanas y, en PAO, presentaron incluso una reducción en la tasa de incremento de la condición corporal por centímetro de talla.
5. Las tortugas verdes de LSI presentaron una mayor condición corporal en comparación con PAO y poblaciones del Golfo de California. Los valores clínicos sanguíneos normales y el hemograma alterado sugiere un evento infeccioso agudo durante el verano del 2006.
6. Los índices de condición corporal, evaluados en conjunto con los parámetros bioquímicos sanguíneos y el perfil hormonal, resultaron ser marcadores útiles del estado físico y nutricional de la tortuga verde. Las tortugas verdes presentaron una mayor condición corporal en el verano y durante los años 2005 (BMA) y 2006 (PAO), periodos en que los organismos presentaron las mayores concentraciones de proteínas, ácido úrico, glucosa, triglicéridos, colesterol,  $T_4$  y VTG.
7. Los rangos de la concentración de  $T$ ,  $E_2$  y  $T_4$  de las tortugas verdes resultaron ser similares a los rangos reportados en neonatos de la misma especie y mayores a las reportadas en organismos adultos durante el periodo reproductivo. No existe evidencia de disrupción estrogénica en la población, al no haber encontrado una correlación entre la concentración de VTG, detectada en todos los organismos, con la concentración de OC y  $E_2$  de las tortugas verdes.

8. La concentración de elementos traza y OC medidos en sangre fue menor a las reportadas previamente en hígado, riñón, músculo y tejido adiposo en tortugas verdes de BMA y en poblaciones de la misma especie alrededor mundo.
9. Las diferencias del hábitat, de disponibilidad de alimento y/o diferencias en las condiciones ambientales, se reflejaron en la variabilidad temporal y regional de los parámetros de salud (clínicos, endócrinos, hematológicos, metabolismo oxidativo) y concentración de los contaminantes químicos.
10. PAO presentó la mayor frecuencia de individuos con residuos de OC y la mayor concentración de Cd, Si y heptacloro en los organismos, mientras que las tortugas verdes de BMA presentaron las mayores concentraciones de HCH y la mayor actividad antioxidante de la SOD.
11. La elevada concentración de Cd y Si encontrada en las tortugas verdes de PAO durante el 2005 estuvo correlacionada con un aumento de la proporción de monocitos, concentración de TBARS (daño oxidativo) y mayor actividad de las enzimas AST y Mn-SOD, así como con una disminución de la concentración de T<sub>4</sub>, VTG, glucosa y ácido úrico.
12. La dirección de las correlaciones encontradas entre los parámetros de salud y la concentración de elementos traza y OC en las tortugas verdes confirmaron la hipótesis planteada en este trabajo, observándose un incremento de los niveles de TBARS, T, aumento de la respuesta inmune y de la actividad de enzimas como la AST y defensas antioxidantes, entre otros, en respuesta a una mayor concentración de xenobióticos.
13. Las múltiples correlaciones entre los los parámetros de salud y los contaminantes demostraron la elevada sensibilidad fisiológica de *Ch. mydas* a mínimas concentraciones de contaminantes, sin mostrar signos evidentes de enfermedad, por lo que se propone como una especie centinela de sus hábitats locales.
14. Se sugieren como marcadores de condición corporal y estado nutricional de las tortugas marinas la cuantificación de glucosa, ácido úrico, proteínas, colesterol y triglicéridos y, como potenciales marcadores de condiciones ambientales específicas y de exposición a xenobióticos, la cuantificación de la actividad de las enzimas GST, SOD, AST y de la concentración de TBARS, VTG y T<sub>4</sub>.

## 10. RECOMENDACIONES

- Realizar la toma de las muestras sanguíneas en la embarcación, inmediatamente después de haber liberado a la tortuga marina de la red durante los muestreos, con la finalidad de reducir el estrés en los animales y el efecto del mismo en la cuantificación de los parámetros clínicos.
- Incluir la ubicación y el conteo de epibiontes presentes en los organismos durante el examen físico visual de las tortugas marinas, con el objetivo de incorporar el grado de parasitismo en la clasificación del estado físico y durante las evaluaciones de salud.
- Utilizar el hemocolorante rápido de tres pasos marca Hysel para la tinción de los frotis sanguíneos.
- Incluir la cuantificación del hematocrito, concentración de hemoglobina y la cuantificación leucocitaria y eritrocitaria absoluta, en los estudios que tengan por objetivo la evaluación del estado de salud de la tortuga verde del Pacífico Oriental.

---

## 11. LITERATURA CITADA

- **Abele, D. y S. Puntarulo. 2004.** Formation of reactive species and induction of antioxidant defense systems in polar and temperate marine invertebrates and fish. *Comp. Biochem. Physiol., A*, 138: 405-415.
- **Aebi, H., 1984.** Catalase in vitro. In: Packer, L. (Ed.). *Oxygen Radicals in Biological Systems. Methods in Enzymology*, Vol. 105. Academic Press, New York, pp. 121-126.
- **Aguirre, A. A., G. H. Balazs, B. Zimmerman y F. D. Galey. 1994.** Organic contaminants and trace metals in tissues of green turtles (*Chelonia mydas*) afflicted with fibropapillomas in the Hawaiian Islands. *Mar. Pollut. Bull.*, 28(2): 109-114.
- **Aguirre, A. A., G. H. Balazs, T. R. Spraker y T. S. Gross. 1995.** Adrenal and hematological responses to stress in juvenile green turtles (*Chelonia mydas*) with and without Fibropapilloma. *Physiol. Zool.*, 68(5): 831-854.
- **Aguirre, A. A. y G. H. Balazs. 2000.** Blood biochemistry values of green turtles, *Chelonia mydas*, with and without fibropapillomatosis. *Comp. Haematol. Int.*, 10: 132-137.
- **Aguirre, A. A., T. M. O'Hara, T. R. Spraker y D. A. Jessup. 2002.** Monitoring the health and conservation of marine mammals, sea turtles and their ecosystems. En: Aguirre, A. A., R. S. Ostfeld, G. M. Tabor, C. House y M. C. Pearl. (Eds.). *Conservation medicine, ecological health in practice*. Oxford University Press, New York, pp. 79-94.
- **Aguirre, A. A. y P. L. Lutz. 2004.** Marine turtles as sentinels of ecosystem health: Is fibropapillomatosis an indicator? *EcoHealth*, 1: 275-283.
- **Aguirre, A. A., E. Gardner, J. C. Marsh, S. G. Delgado, C. J. Limpus y W. J. Nichols. 2006.** Hazards associated with the consumption of sea turtle meat and eggs: A review for health care workers and the general public. *EcoHealth*, 3: 141-153.
- **Aguirre, C., T. Chávez, P. García y J. C. Raya. 2007.** El silicio en los organismos vivos. *Interciencia*, 32(8): 504-509.
- **Al-Habsi, A. A., A. Y. A. Alkindi, I. Y. Mahmoud, D. Wm. Owens, T. Khan y A. Al-Abri. 2006.** Plasma hormone levels in the green turtle *Chelonia mydas* during peak period of nesting at Ras Al-Hadd-Oman. *J. Endocrinol.*, 19: 19-14.
- **Alvarado, J. y A. Figueroa. 1989.** Breeding dynamics of the black turtle (*Chelonia agassizi*) in Michoacan, Mexico. En: Eckert, S. A., K. L. Eckert y T. H. Richardson.

- (Eds.). Proceedings of the 9<sup>th</sup> International Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation, NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFC-232, Miami, pp. 5-7.
- **Alvarado, J., C. Delgado y I. Suazo. 2001.** Evaluation of the black turtle project in Michoacán, Mexico. *Mar. Turtle Newsl.*, 924-927.
  - **Álvarez-Borrego, S., L. A. Galindo y A. C. Barragán. 1975.** Características hidroquímicas de Bahía Magdalena, B. C. S. *Cienc. Mar.*, 2(2): 94-109.
  - **Arnold, S. F., P. M. Vonier, B. M. Collins, D. M. Klotz, L. J. Guillette y J. A. McLachlan. 1997.** In vitro synergistic interaction of alligator and human estrogen receptors with combinations of environmental chemicals. *Environ. Health Perspect.*, 105(3): 615-618.
  - **Arriaga, L., E. Vázquez-Domínguez, J. González-Cano, R. Jiménez, E. Muñoz, V. Aguilar. 1998.** Regiones prioritarias marinas de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, D. F.
  - **Auriolés-López, V. 2008.** Concentración de metales pesados en la tortuga negra, *Chelonia mydas agassizii* en Baja California Sur. Tesis Maestría, CIBNOR, La Paz, 109 p.
  - **Ávila, S. y L. Saad. 1998.** Valuación de la ballena gris (*Eschrichtius robustus*) y la ballena jorobada (*Megaptera novaeangliae*) en México. En: Benitez, D. H., E. Vega, A. Peña y S. Ávila. (Eds.). Aspectos económicos sobre la biodiversidad de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad-INE, D. F., pp. 123-143.
  - **Bagnyukova, T. V., O. I. Chahrak y V. I. Lushchak. 2006.** Coordinated response of goldfish antioxidant defenses to environmental stress. *Aquat. Toxicol.*, 78(4): 325-331.
  - **Balazs, G. H., 2000.** Factores a considerar en el mercado de tortugas. En: Eckert, K. L., K. A. Bjorndal, F. A. Abreu-Grobois y M. Donnelly. (Eds.). Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas. (Traducción al español). Grupo Especialista en Tortugas Marinas, UICN/CSE Publicación No. 4, D.C., pp. 116-125.
  - **Batteen, M. L., N. J. Cipriano, J. T. Monroe. 2003.** A large-scale seasonal modeling study of the California Current System. *J. Oceanogr.*, 59: 545-562.
  - **Benjamin, M. M. 1991.** Manual de patología clínica en veterinaria. Ed. Limusa, D. F., 421 p.

- 
- **Bertrand, S., F. Criscuolo, B. Faivre y G. Sorci, G. 2006.** Immune activation increases susceptibility to oxidative tissue damage in Zebra Finches. *Funct. Ecol.*, 20: 1022-1027.
  - **Bicho, R., N. Joaquim, V. Mendonca, A. Kiyumi, I. Y. Mahmoud y A. Al-Kindi. 2006.** Levels of heavy metals and antioxidant enzymes in the green turtle (*Chelonia mydas*) in the Arabian Sea, Sultanate of Oman. En: Frick, M., A. Panagopoulou, A. F. Rees y K. Williams. (Eds.). 26<sup>th</sup> Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation, International Sea Turtle Society, Athens, pp. 49-50.
  - **Bjorndal, K. A. 1985.** Nutritional ecology of sea turtles. *Copeia*, (3): 736-751.
  - **Bjorndal, K. A., A. B. Bolten y M. Y. Chaloupka. 2000.** Green turtle somatic growth model: evidence for density dependence. *Ecol. Appl.*, 10(1): 269-282.
  - **Bocchetti, R. y F. Regoli, F., 2006.** Seasonal variability of oxidative biomarkers, lysosomal parameters, metallothioneins and peroxisomal enzymes in the Mediterranean mussel, *Mytilus galloprovincialis*, from Adriatic Sea. *Chemosphere* 65: 913-921.
  - **Bolten, A. B. y K. A. Bjorndal. 1992.** Bood profiles for a wild population of green turtles (*Chelonia mydas*) in the southern Bahamas: size-specific and sex-specific relationships. *J. Wildl. Dis.*, 28(3): 407-413.
  - **Bolten, A. B., K. A. Bjorndal, J. S. Grumbles y D. Wm. Owens. 1992.** Sex ratio and sex specific growth rates of immature green turtles, *Chelonia mydas*, in the southern Bahamas. *Copeia*, (4): 1098-1103.
  - **Bolten A. B. 2000.** Técnicas para la medición de tortugas. En: Eckert, K. L., K. A. Bjorndal, F. A. Abreu-Grobois y M. Donnelly. (Eds.). Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas. (Traducción al español). Grupo Especialista en Tortugas Marinas, UICN/CSE Publicación No. 4, D. C., pp. 126-131.
  - **Bolten, A. B. 2003.** Variation in sea turtle life history patterns: Neritic vs. Oceanic developmental stages. En: Lutz, P. L., J. A. Musick y J. Wyneken. (Eds.). The biology of sea turtles. Volume II. CRC Press, Boca Ratón, pp. 243-257.
  - **Bossart, G. D., T. H. Reidarson, L. A. Dierauf y D. A. Duffield. 2001.** Clinical pathology. En: Dierauf, L. A. y F. M. D. Gulland (Eds.). Handbook of marine mammal medicine. CRC Press, Florida, pp. 383-436.
  - **Bowen, B. W., A. B. Meylan, J. P. Ross, C. J. Limpus, G. H. Balazs y J. C. Avise. 1992.** Global population structure and natural history of the green turtle (*Chelonia mydas*) in terms of matriarchal phylogeny. *Evolution*, 46: 865-881.

- 
- **Bowen, B. W. y Karl, S. A. 1999.** In war, truth is the first casualty. *Conserv. Biol.*, 13(5): 1013-1016.
  - **Braun, J. P., P. Bernard, V. Burgat y A. G. Rico. 1983.** Gamma glutamil transferase in domestic animals. *Vet. Res. Comm.*, 6: 77-90.
  - **Braun-McNeill, J., S. P. Epperly, D. Wm. Owens, L. Avens, E. Williams y C. Harms. 2007.** Seasonal reliability of testosterone radioimmunoassay (RIA) for predicting sex ratios of juveniles Loggerhead (*Caretta caretta*) turtles. *Herpetologica*, 63(3): 275-284.
  - **Brooks, L., W. J. Nichols, V. Koch y A. Hernández. 2004.** Preliminary results on the distribution and movement of green turtle (*Chelonia mydas*) in Estero Banderitas, Baja California Sur, Mexico. En: Coyne, M.S. y R.D. Clark. (Eds.). *Proceedings of the 21<sup>st</sup> Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*, NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-528, Miami, pp. 127-129.
  - **Byles, R., J. Alvarado y D. C. Rostal. 1995.** Preliminary analysis of post-nesting movements of the black turtle (*Chelonia agassizi*) from Michoacan, Mexico. En: Richardson, J. I. y T. H. Richardson (Eds.). *Proceeding sof the 12<sup>th</sup> International Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*, NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-361, Miami, pp. 12-13.
  - **Cadena-Cárdenas, L., L. Méndez, T. Zenteno-Savín, J. García-Hernández y B. Acosta-Vargas. 2009.** Heavy metal levels in marine mollusks from areas with or without mining activities along the Gulf of California, Mexico. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 57: 96-102.
  - **Caldwell, D. K. 1962.** Carapace length-body weight relationship and size and sex ratio of the northeastern Pacific green sea turtle, *Chelonia mydas carrinegra*. *Contrib. Sci. Los Angeles City Mus.*, 62: 3-10.
  - **Callard, I. P., V. Lance, A. R. Salhanick y D. Barad. 1978.** The annual ovarian cycle of *Chrysemys picta*: correlated changes in plasma steroids and parameters of vitellogenesis. *Gen. Comp. Endocrinol.* 35: 245-257.
  - **Cannon, M. S. 1992.** The morphology and cytochemistry of the blood leukocytes of Kemp's Ridley sea turtle (*Lepidochelys kempfi*). *Can. J. Zool.*, 70: 1336-1340.
  - **Consejo de Recursos Mineros. 1999.** Monografía Geológico-Minera del Estado de Baja California Sur. Coordinación de Comercio y Fomento Industrial. Coordinación General de Minería, SECOFI, 237 p.



- 
- **Cardona, A., J. J. Carrillo-Rivera, R. Huizar-Álvarez, E. Graniel-Castro. 2004.** Salinization in coastal aquifers of arid zones: an example from Santo Domingo, Baja California Sur, Mexico. *Environ. Geol.*, 45: 350–366.
  - **Carr, A. 1978.** Handbook of Turtles, The turtles of the United States, Canada and Baja California. Comstock Publishing Associates, New York, 535 p.
  - **Casal, A. B., F. Freire, G. Bautista-Harris, A. Arencibia y J. Orós. 2007.** Ultrastructural characteristics of blood cells of juveniles Loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). *Anat. Histol. Embryol.*, 36: 332-335.
  - **Casale, P., D. Freggi, R. Basso y R. Argano. 2005.** Size at male maturity, sexing methods and adult sex ration in Loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from Italian waters investigated through tail measurements. *Herpetol. J.*, 15: 145-148.
  - **Castellanos, A. y R. Mendoza. 1991.** Aspectos socioeconómicos. En: Ortega A., L. Arriaga (Eds.). La reserva de la biosfera El Vizcaíno en la península de Baja California Sur. Centro de Investigaciones de Baja California Sur, La Paz, pp. 33-52.
  - **Cattet, M. R. L., N. A. Caulkett, M. E. Obbard y G. B. Stenhouse. 2002.** A body-condition index for ursids. *Can. J. Zool.*, 80(7): 1156–1161.
  - **Clark, R. B. 2001.** Marine pollution. Oxford University Press, New York, 237 p.
  - **Cliffton, K., D. O. Cornejo y R. S. Felger. 1995.** Sea turtles of the Pacific coast of Mexico. En: Bjorndal, K. A. (Ed.). Biology and Conservation of sea turtles, Smithsonian Institution Press, Washington, pp. 199-209.
  - **Cohen, A.A. y K .J. McGraw. 2009.** No simple measures for antioxidant status in birds: complexity in inter- and intraspecific correlations among circulating antioxidant types. *Funct. Ecol.*, 23: 310–320.
  - **Colborn, T. 2002.** Effects of endocrine disruptors on human and wildlife health. En: Aguirre, A. A., R. S. Ostfeld, G. M. Tabor, C. House y M. C. Pearl. (Eds.). Conservation medicine, ecological health in practice. Oxford University Press, New York, pp. 62-75.
  - **Cone, R. S. 1989.** The need to reconsider the use of condition indices in fishery science. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 118(5): 510–514.
  - **Copeland, T. 2004.** An evaluation of relative weight as an indicator of body composition and nutritional status in wildfish. PhD Dissertation, Blacksburg, Virginia. 214 p.

- 
- **Cordero-Tapia, A., S. C. Gardner, J. Arrellano-Blanco y R. B. Inohuye-Rivera. 2004.** Learedius learedi infection in black turtles (*Chelonia mydas agassizii*), Baja California Sur, Mexico. *J. Parasitol.*, 90(3): 645-647.
  - **Cordero-Tapia, A. 2005.** Evaluación histopatológica de las etiologías comunes asociadas a fibropapiloma en tortuga verde (*Chelonia mydas agassizii*) de Bahía Magdalena, Baja California Sur, México. Tesis de Doctorado en Ciencias, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, 79 p.
  - **Coufal, K. A. y J. M. Whittier. 2003.** Identification of estrone as the major circulating estrogenic steroid in marine turtle plasma. En: Seminoff, J. A. (Ed.). *Proceedings of the 22nd Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*, NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-503, Miami, pp. 200-201.
  - **Coufal, K. A., J. M. Whittier y C. J. Limpus. 2003.** Quantification of estrone in plasma of female *Chelonia mydas*, *Caretta caretta*, *Eretmochelys imbricata*, and *Natator depressus* populations in Eastern Australia. En: Seminoff, J. A. (Ed.). *Proceedings of the 22nd Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*, NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-503, Miami, pp. 186.
  - **Cristofol, R. M., E. Rodriguez-Farré y C. Sanfeliu, 1993.** Effects of gamma and delta hexachlorocyclohexane isomers on inositol phosphate formation in cerebral cortex and hippocampus slices from developing and adult rat. *Neurotoxicology*, 14(4): 451-458.
  - **Crowell, D. K. y D. Wm. Owens. 1990.** A quantitative analysis of courtship behavior in captive green sea turtles (*Chelonia mydas*). *Herpetologica*, 46(2): 195-202.
  - **Davis, T. A., B. Volesky y A. Mucci. 2003.** A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. *Water Res.*, 37: 4311-4330.
  - **Downs, C. A., J. E. Fauth y C. M. Woodley. 2001.** Assessing the health of grass shrimp (*Palaeomonetes pugio*) exposed to natural and anthropogenic stressors: a molecular biomarker system. *Mar. Biotechnol.*, 3(4): 380-397.
  - **Dawson, E.Y. 1951.** A further study of upwelling and associated vegetation along Pacific Baja California, Mexico. *J. Mar. Res.*, X(1): 39-58.
  - **Day, R. D., A. L. Segars, M. D. Arendt, M. Lee y M. M. Peden-Adams. 2007.** Relationship of blood mercury levels to health parameters in the loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*). *Environ. Health Perspect.*, 115(10): 1421-1428.
  - **Deem, S. L., W. B. Karesh y W. Weisman. 2001.** Putting theory into practice: Wildlife health in conservation. *Conserv. Biol.*, 15(5): 1224-1233.

- 
- **De Gruchy, G. C. y J. V. Dacie. 1970.** Clinical haematology in medical practice. Third edition, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 800 p.
  - **De la Lanza, G. 1991.** Oceanografía de los mares mexicanos. AGT, D. F., 569 p.
  - **De la Lanza, G. y C. Cáceres. 1994.** Lagunas costeras y el litoral mexicano. Universidad Autónoma de Baja California Sur, La Paz.
  - **DeLaney, R. G, C. Shub y A. P. Fishman. 1976.** Hematologic observations on the aquatic and estivating African Lungfish, *Protopterus aethiopicus*. Copeia, (3): 423-434.
  - **Delgado, S. y W. J. Nichols. 2005.** Saving Sea turtles from the ground up: Awakening sea turtle conservation in Northwestern Mexico. Mast., 3(2) y 4(1): 89-104.
  - **Dellinger, T., C. Delgado y A. Canário. 2005.** Preliminary results on the sex ratio of North Atlantic juvenile pelagic loggerheads assessed through serum testosterone. En: Coyne, M. S. y R. D. Clark. (Eds.). Proceedings of the 21st International Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation, NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-528, Miami, pp. 76-77.
  - **Diario Oficial de la Federación. 1986.** Decreto por el que se determinan como zonas de reserva y sitios de refugio para la protección, conservación, repoblación, desarrollo y control, de las diversas especies de tortuga marina, los lugares en que anida y desova dicha especie. 29 de Octubre de 1986. D. F.
  - **Diario Oficial de la Federación. 2002a.** Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. 6 de Marzo, 2002. D. F.
  - **Diario Oficial de la Federación. 2002b.** Acuerdo por el que se establece la veda para las especies y subespecies de tortugas marinas en aguas de jurisdicción federal del Golfo de México y Mar Caribe, así como en las costas del Océano Pacífico incluyendo el Golfo de California. 31 de Mayo de 1990. D. F.
  - **Diario Oficial de la Federación. 2006.** Acuerdo mediante el cual se aprueba la actualización de la Carta Nacional Pesquera. 25 de Agosto de 2006. D. F.
  - **Diario Oficial de la Federación. 2007.** Norma Oficial Mexicana NOM-061-PESC-2006, Especificaciones técnicas de los excluidores de tortugas marinas utilizados por la flota de arrastre camaronera en aguas de jurisdicción federal de los Estados Unidos Mexicanos. 22 de Enero de 2007. D. F.
  - **Díaz, B. F. 2004.** Informe sobre metales y contaminantes orgánicos persistentes en niños y muestras ambientales de 10 sitios contaminados de México. Instituto Nacional

---

de Ecología, Facultad de Medicina de la Universidad de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México.

- **Dickhoff, W. W. y D. S. Darling. 1983.** Evolution of thyroid function and its control in lower vertebrates. *Am. Zool.*, 23: 697-707.
- **Elia, A. C., R. Galarini, A. J. M. Dörr y M. I. Taticchi. 2006.** Bioaccumulation of heavy metals, organochlorine pesticides, and detoxication biochemical indexes in tissues of *Ictalurus melas* of Lake Trasimeno. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 76: 132-139.
- **Environmental Protection Agency (EPA). 2011.** Lindane and other HCH isomers: EPA risk assessment fact sheet. The United States Environmental Protection Agency. Disponible en: [http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDS/factsheets/lindane\\_isomers\\_fs.htm](http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDS/factsheets/lindane_isomers_fs.htm). Enero, 2011.
- **Erslev A. J. y T. G. Gabuzda, 1981.** Hematología. Aspectos Fisiopatológicos. Nueva editorial Interamericana, D.F., 206 p.
- **Espinosa-Carreón, T. L., P. T. Strub, E. Beier, F. Ocampo-Torres y G. Gaxiola-Castro. 2004.** Seasonal and interannual variability of satellite-derived chlorophyll pigment, surface height and temperature off Baja California. *J. Geophys. Res.*, 109(C3): C03039.1- C03039.20.20.
- **Figuroa, A. y J. Alvarado. 1990.** Morphometric comparison of the *Chelonia* populations of Michoacan, Mexico, and Tortuguero, Costa Rica. En: Richardson, T. H., J. I. Richardson y M. Donnelley. (Eds.). Proceedings of the Tenth Annual Workshop on Sea Turtle Biology and Conservation, NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFC-278, Miami, pp. 179-182.
- **Fitzgerald, S. L. 2004.** Los metales pesados en cuatro especies de tortugas marinas de Baja California, México. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz. 109 p.
- **Flohé, L. y W. A. Günzler. 1984.** Assays for glutathione peroxidase. In: Packer, L. (Ed.). *Methods in Enzymology. Oxygen Radicals in Biological Systems*, 105. Academic Press, Inc., New York, pp. 114–120
- **Food and Drug Administration. 2003.** Guide for the control of molluscan shellfish. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Food and Drug Administration. Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/Product-SpecificInformation/Seafood/FederalStatePrograms/NationalShellfishSanitationProgram/ucm046353.htm>. Septiembre, 2009.

- 
- **Foster, E. P., M. S. Fitzpatrick, G. W. Feist, C. B. Schreck, J. Yates, J. M. Spitsbergen y J. R. Heidel. 2001.** Plasma androgen correlation, EROD induction, reduced condition factor, and the occurrence of organochlorine pollutants in reproductively immature white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) from the Columbia River, USA. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 41: 182-191.
  - **Franklin, C. E., B. M. Davis, S. K. J. Peucker, H. Stephenson, R. Mayer, J. Whittier, J. Lever y G. C. Grigg. 2003.** Comparison of stress induced by manual restraint and immobilization in the estuarine crocodile, *Crocodylus porosus*. *J. Exp. Zool.*, 298A: 86-92.
  - **Frías-Espericueta, M. G., J. I. Osuna-López, A. Ruiz-Telles, J. M. Quintero-Alvarez, G. López-López, G. Izaguirre-Fierro y D. Voltolina. 2006.** Heavy metals in the tissue of the sea turtle *Lepidochelys olivacea* from a nesting site of the Northwest coast of Mexico. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 77: 179-185.
  - **Froese, R. 2006.** Cube law, condition factor and weight-length relationships: history, meta-analysis and recommendation. *J. Appl. Ichthyol.*, 22: 241-253.
  - **Frouin, H., L. Ménard, L. Measures, P. Brousseau y M. Fournier. 2010.** T Lymphocyte-proliferative responses of a grey seal (*Halichoerus grypus*) exposed to heavy metals and PCBs in vitro. *Aquat. Mamm.*, 36(4): 365-371.
  - **Gabryelak, T., M. Piatrowska, W. Leyko y G. Peres. 1983.** Seasonal variation in the activities of peroxide metabolism enzymes in erythrocytes of freshwater fish species. *Comp. Biochem. Physiol., C*, 75: 383-385.
  - **Gardner, S. C. y W. J. Nichols. 2001.** Assessment of sea turtle mortality rates in the Bahía Magdalena Region, Baja California Sur, Mexico. *Chelonian Conserv. Biol.*, 4(1): 197-199.
  - **Gardner, S. C. 2003.** Assessment of health of sea turtle populations in the Baja California Peninsula. En: In: Seminoff, J. A. (Ed.). *Proceedings of the Twenty Second International Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-503, U.S. Department of Commerce, Miami, pp. 94-95.
  - **Gardner, S. C., M. D. Pier, R. Wesselman y J. A. Juárez. 2003.** Organochlorine contaminants in sea turtles from the Eastern Pacific. *Mar. Pollut. Bull.*, 46: 1082-1089.
  - **Gardner, S. C., S. L. Fitzgerald, B. Acosta-Vargas y L. Méndez. 2006.** Heavy metal accumulation in four species of sea turtles from the Baja California peninsula, Mexico. *BioMetals*, 19: 91-99.
  - **George, R. H. 1997.** Health problems and diseases of sea turtles. En: Lutz, P. L. y J. A. Musick (Eds.). *The biology of sea turtles*. CRC Press, Boca Raton, pp. 363- 385.

- 
- **Giesy, J. P., S. L. Pierens, E. M. Snyder, S. Miles-Richardson, V. J. Kramer, S. A. Snyder, K. M. Nichols y D. A. Villeneuve. 2000.** Effects of 4-nonylphenol on fecundity and biomarkers of estrogenicity in fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Environ. Toxicol. Chem.*, 19(5): 1368-1377.
  - **Gil-del Valle, L., G. Martínez-Sánchez, I. González-Blanco y L. J. Pérez-Avila. 1999.** Estrés oxidativo: mecanismos generales involucrados y su relación con el virus de la inmunodeficiencia humana. *Bioquímica*, 24: 85–93.
  - **Golet, W. J. y T. A. Haines. 2001.** Snapping turtles (*Chelydra serpentina*) as monitors for mercury contamination of aquatic environments. *Environ. Monit. Assess.*, 71: 211-220.
  - **Grant, M. S. 2003.** The effect of blood drawing techniques and equipment on the hemolysis of ED Laboratory blood samples. *J. Emerg. Nurs.*, 29(2): 116-121
  - **GraphPad Software, Inc. 2007.** GraphPad Prism for Windows, version 5. Disponible en: [www.graphpad.com](http://www.graphpad.com). Marzo, 2008.
  - **Greenblatt, R. J., T. M. Work, G. H. Balazs, C. A. Sutton y R. N. Casey. 2004.** The ozobranchus leech is a mechanical vector for the fibropapilloma-associated turtle herpesvirus found latently infecting skin tumors on Hawaiian green turtles (*Chelonia mydas*). *Virology*, 321: 101–110.
  - **Gross, T. S., D. A. Crain, K. A. Bjorndal, A. B. Bolten y R. R. Carthy. 1995.** Identification of sex in hatchling loggerhead turtles (*Caretta caretta*) by analysis of steroid concentrations in chorioallantoic/Amniotic fluid. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 99: 204-210.
  - **Grumbles, J., D. Rostal, J. Alvarado y D. Wm. Owens. 1990.** Hematology study on the black turtle, *Chelonia agassizii*, at Playa Colola, Michoacán, México. En: Richardson, T. H., J. I. Richardson y M. Donnelley (Eds.). Proceedings of the tenth Annual Workshop on Sea Turtle Biology and Conservation. NOAA, Technical Memorandum NMFS-SEFC-278, Miami, pp. 235-237.
  - **Grundy, M. S. 2007.** Gamma-Glutamyl Transferase: Another Biomarker for Metabolic Syndrome and Cardiovascular Risk. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 27: 4-7.
  - **Guraya, S. S. 1989.** Ovarian follicles in reptiles and birds, Springer-Verlag, Germany.
  - **Guillette, L. J., T. S. Gross, G. R. Masson, J. M. Matter, H. F. Percival y A. R. Woodward. 1994.** Developmental abnormalities of the gonad and abnormal sex hormone concentrations in juveniles' alligators from contaminated and control lakes in Florida. *Environ. Health Perspect.*, 102(8): 680-688.

- 
- **Guillette, L. J. y M. P. Gundersen. 2001.** Alterations in development of reproductive and endocrine systems in wildlife populations exposed to endocrine-disrupting contaminants. *Reproduction*, 122: 857-864.
  - **Gutierrez-Galindo, E. A., L. M. Rios-Mendoza, G. Flores-Muñoz y J. A. Villaescusa. 1998.** Chlorinated hydrocarbons in marine sediments of the Baja California (Mexico)–California (USA) border zone. *Mar. Pollut. Bull.*, 36: 27–31.
  - **Guzmán, J. 1998.** Humedales. En: Mahieux, S. (Ed.). *Diagnóstico Ambiental de Baja California Sur, México*. Fundación Mexicana para la Educación Ambiental, Sociedad de Historia Natural Niparajá, UABCS, La Paz, pp. 303-336.
  - **Habig, W. H. y H. B. Jakoby. 1981.** Glutathione S-transferase (rat and human). In: Jakoby, W. B. (Ed.). *Method in Enzymology*, vol. 77. Academic Press Inc., New York, pp. 398–405.
  - **Hall, A. J., O. I. Kalantzi y G. O. Thomas. 2003.** Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in grey seals during their first year of life – are they thyroid hormone endocrine disrupters? *Environ. Pollut.*, 126: 29-37.
  - **Hall, J. O. 2007.** Selenium. En: Gupta, R. C. (Ed.). *Veterinary toxicology, basic and clinical principles*. Elsevier, New York, pp. 453- 460.
  - **Halliwell, B. y J. M. C. Gutteridge. 1999.** *Free radicals in biology and medicine*. Oxford University Press, New York, 936 p.
  - **Hamann, M., Jessop, T. S., Limpus, C. J., and Whittier, J. M. 2002.** Interactions among endocrinology, seasonal reproductive cycles and the nesting biology of the female green sea turtle. *Mar. Biol.*, (140): 823-830.
  - **Hamann, M., C. J. Limpus y J. M. Whittier. 2002.** Patterns of lipid storage and mobilization in the female green sea turtle (*Chelonia mydas*). *J. Comp. Physiol., B*, 72: 485-493.
  - **Hamman, M., C. J. Limpus y D. Wm. Owens. 2003.** Reproductive cycles of males and females. En: Lutz, P. L., J. A. Musick y J. Wyneken. (Eds.). *The biology of sea turtles. Volume II*. CRC Press, Boca Ratón, pp. 135-161.
  - **Hamann, M., T. S. Jessop, C. J. Limpus y J. M. Whittier. 2005.** Regional and annual variation in plasma steroids and metabolic indicators in female green turtle, *Chelonia mydas*. *Mar. Biol.*, (148): 427-433.
  - **Hamann, M., C. S. Schäuble, T. Simon y S. Evans. 2006.** Demographic and health parameters of green sea turtles *Chelonia mydas* foraging in the Gulf of Carpentaria, Australia. *Endangered Species Res.*, 2: 81-88.

- 
- **Hansen, B. H., S. Romma, O. A. Garmo, P. A. Olsvik y R. A. Andersen. 2006.** Antioxidative stress proteins and their gene expression in brown trout (*Salmo trutta*) from three rivers with different heavy metal levels. *Comp. Biochem. Physiol., C*, 143: 263-274.
  - **Harder, J. D. y R. L. Kirpatrick. 1996.** Physiological methods in wildlife research. In: Bookhout, T. A. (Ed.). *Research and Management Techniques for Wildlife and Habitats*. The Wildlife Society, pp. 275–306.
  - **Harms, C., G. Lewbart, J. Beasley, A. Stamper, B. Chittick y M. Trogdon. 2002.** Clinical implications of hematology and plasma biochemistry values for loggerhead sea turtles undergoing rehabilitation. En: Mosier, A., A., Foley y B. Brost. (Eds.). *Proceedings of the 20th Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*, NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-477, Miami, pp. 190-191.
  - **Harries, J. E., D. A. Sheahan, S. Jobling, P. Matthiessen, P. Neal, J. P. Sumpter, T. Tylor y N. Zaman. 1997.** Estrogenic activity in five United Kingdom rivers detected by measurement of vitellogenesis in caged male trout. *Environ. Toxicol. Chem.*, 16(3): 534-542.
  - **Hasbún, C. R., A. J. Lawrence, J. Naldo, J. H. Samour y S. M. Al-Ghais. 1998.** Normal blood chemistry of free-living green sea turtles, *Chelonia mydas*, from the United Arab Emirates. *Comp. Haematol. Int.*, 8: 174-177.
  - **Heck, J., D. S. MacKenzie, D. C. Rostal, K. Medler y D. Wm. Owens. 1997.** Estrogen induction of plasma vitellogenin in the Kemp's Ridley sea turtle (*Lepidochelys kempi*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 107: 280-288.
  - **Heinz, G. H., D. J. Hoffman y L. G. Gold. 1989.** Impaired reproduction of mallards fed an organic form of selenium. *J. Wildl. Manage.*, 53(2): 418-428.
  - **Helsel, D. R. 1990.** Less than obvious. Statistical treatment of data below the detection limit. *Environ. Sci. Technol.*, 24(12): 1767–1774.
  - **Herbst, L. H. y E. R. Jacobson. 1995.** Diseases of marine turtles. En: Bjorndal, K.A. (Ed.). *Biology and conservation of sea turtles*. Smithsonian Institution Press, D.C., pp. 593-596.
  - **Herbst, L. H. y E. R. Jacobson. 2003.** Practical approaches for studying sea turtle health and disease. En: Lutz, P. L., J. A. Musick y J. Wyneken (Eds.). *The biology of sea turtles*, Vol II. CRC Press, Boca Raton, pp. 385-410.
  - **Herbst, L. H., L. L. Siconolfi-Baez, J. H. Torelli, P. A., Klein, M. J., Kerben y I. M. Schumacher, 2003.** Induction of vitellogenesis by estradiol-17 and development of



- enzyme-linked immunosorbant assays to quantify plasma vitellogenin levels in green turtles (*Chelonia mydas*). *Comp. Biochem. Physiol.*, B, 135: 551-563.
- **Hermes-Lima, M. y T. Zenteno-Savín. 2002.** Animal response to drastic changes in oxygen availability and physiological oxidative stress. *Comp. Biochem. Physiol.*, C, 133: 537-556.
  - **Hernández-Carmona, G., E. Serviere-Zaragoza, R. Riosmena y I. Sánchez-Rodríguez. 2007.** Flora marina del sistema lagunar de Bahía Magdalena-Bahía Almejas. En: Funes, R., J. Gómez y R. Palomares. (Eds.). *Estudios ecológicos en Bahía Magdalena*. Centro interdisciplinario de ciencias marinas, Instituto Politécnico Nacional, La Paz, pp. 113-126.
  - **Hernández-Trujillo, S. 2000.** Variabilidad interanual del zooplancton en dos centros de actividad biológica del noroeste mexicano: respuesta de la población de *Calanus pacificus* al cambio ambiental. En: Lluch-Belda, D., J. Elorduy-Garay, S. E. Lluch-Cota y G. Ponce-Díaz (Eds.). *BAC: Centros de actividad biológica del Pacífico mexicano*. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas-IPN, La Paz, pp. 165-183.
  - **Ho, S. 1987.** Endocrinology of vitellogenesis. En: Norris, D. O. y R. E. Jones. (Eds.). *Hormones and reproduction in fishes, amphibians and reptiles*. Plenum Press, New York, pp. 145-169.
  - **Hooser, S. B. 2007a.** Cadmium. En: Gupta, R. C. (Ed.). *Veterinary toxicology, basic and clinical principles*. Elsevier, New York, pp. 422- 426.
  - **Hooser, S. B. 2007b.** Iron. En: Gupta, R. C. (Ed.). *Veterinary toxicology, basic and clinical principles*. Elsevier, New York, pp. 433- 437.
  - **Horak, P. y A. A. Cohen. 2010.** How to measure oxidative stress in an ecological contest: methodological and statistical issues. *Funct. Ecol.* 24, 960–970.
  - **Ikonomopoulou, M. P., A. J. Bradley, J. M. Whittier y K. Ibrahim. 2006.** Identification and properties of steroid-binding proteins in nesting *Chelonia mydas* plasma. *J. Comp. Physiol.*, B, (176): 775-782.
  - **Ikonomopoulou, M. P., K. Ibrahim y A. J. Bradley. 2008.** Sex steroid binding proteins in the plasma of hatchling *Chelonia mydas*. *J. Comp. Physiol.*, B, 178(7): 837-843.
  - **Ikonomopoulou, M. P., H. Olzowy, M. Hodge y A. J. Bradley. 2009.** The effect of organochlorines and heavy metals on sex steroid-binding proteins in vitro in the plasma of nesting green turtles, *Chelonia mydas*. *J. Comp. Physiol.*, B, 179: 653-662.

- 
- **INEGI. 1995.** Síntesis geográfica del estado de Baja California Sur, Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, D. F.
  - **Inohuye-Rivera, R. B., A. Cordero-Tapia, J. Arellano-Blanco y S. C. Gardner. 2004.** *Learedius learedi* Price, 1934 (Trematoda: Spirorchiidae), in black turtle (*Chelonia mydas agassizii*) hearts from Magdalena Bay, Baja California Sur, Mexico. *Comp. Parasitol.*, 71(1): 37-41.
  - **IUCN 2006.** IUCN Red List of Threatened Species. Disponible en: <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>. Agosto, 2007.
  - **Jain, N. C. 1993.** Essentials of veterinary hematology. Ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 417 p.
  - **Jaramillo, N. 2005.** Estudio hematológico básico del puye (*Galaxias maculatus*) (Jenyns, 1842) en estado postlarval y adulto. Tesis de Licenciatura, Universidad Católica de Temuco, Temuco, 86 p.
  - **Jenicek, M. 1996.** Epidemiología, la lógica de la medicina moderna. Masson S. A., Barcelona, 355 p.
  - **Jessop, T. S., J. M. Summer, C. J. Limpus y J. M. Whittier. 2004.** Interplay between plasma hormone profiles, sex and body condition in immature hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) subjected to a capture stress protocol. *Comp. Biochem. Physiol., A*, (137): 197-204.
  - **Jones, R. E., R. J. Petrell y D. Pauly. 1999.** Using modified length–weight relationships to assess the condition of fish. *Aquacult. Eng.*, 20: 261–276.
  - **Jones, P. D., L. A. Tremblay, W. M. De Coen y J. P. Glesy. 2000.** Vitelogenin as a biomarker for environmental estrogens. *Aust. J. Ecotoxicol.*, 6: 45-58.
  - **Kamezaki, N. y M. Matsui. 1995.** Geographic variation in the skull morphology of the green turtle, *Chelonia mydas*, with a taxonomic discussion. *J. Herpetol.*, 29: 51-60.
  - **Kampalath, R., S. C. Gardner, L. Méndez y J. A. Jay. 2006.** Total and methylmercury in three species of sea turtles of Baja California Sur. *Mar. Pollut. Bull.*, 52: 1784-1832.
  - **Karl, S. A., B. W. Bowen y J. C. Avise. 1992.** Global population structure and male-mediated gene flow in the green turtle (*Chelonia mydas*): RFLP analyses of anonymous nuclear DNA regions. *Genetics*, 131: 163.

- 
- **Karl, S. A. y B. W. Bowen. 1999.** Evolutionary significant units versus geopolitical taxonomy: molecular systematics of an endangered sea turtle (genus *Chelonia*). *Conserv. Biol.*, 13(5): 990-999.
  - **Keller, J. M., J. R. Kucklick, A. Stamper, C. Harms y P. D. McClellan-Green. 2004a.** Associations between organochlorine contaminant concentrations and clinical health parameteres in Loggerhead sea turtles from North Carolina, USA. *Environ. Health Perspect.*, 112(10): 1074-1079.
  - **Keller, J. M., J. R. Kucklick y P. D. McClellan-Green. 2004b.** Organochlorine contaminants in Loggerhead sea turtle blood: extraction techniques and distribution among plasma and red blood cells. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 46: 254-264.
  - **Keller, J. M., M. A. Stamper, J. R. Kucklick y P. D. McClellan-Green. 2005.** Assessment of immune function and presence of contaminants in the Loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*). En: Coyne, M. S. y R. D. Clark (Eds.). *Proceedings of the 21st International Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*, NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-528, Miami, pp. 211-212.
  - **Keller, J. M., P. D. McClellan-Green, J. R. Kucklick, D. E. Keil y M. M. Peden-Adams. 2006.** Effects of organochlorine contaminants on loggerhead sea turtle immunity: Comparison of a correlative field study and in vitro exposure experiments. *Environ. Health Perspect.*, 114(1): 70-76.
  - **Kennedy, C., S. Angermuller, R. King, S. Noviello, J. Walker, J. Warden y S. Vang. 1996.** A comparison of hemolysis rates using intravenous catheters versus venipuncture tubes for obtaining blood samples. *J. Emerg. Nurs.*, 22(6): 566-569.
  - **Kennish, M. J. 1997.** *Practical handbook of estuarine and marine pollution*. CRC Press, Boca Raton, 524 p.
  - **Kleinbaum, D. G. y L. L. Kupper. 1978.** *Applied regression analysis and other multivariable methods*. Duxbury Press, Massachusetts, 551 p.
  - **Koch, V., W. J. Nichols, H. Peckham y V. De la Toba. 2006.** Estimates of sea turtle mortality from poaching and bycatch in Bahía Magdalena, Baja California Sur, Mexico. *Biol. Conserv.*, 128: 327-334.
  - **Koch, V., L. Brooks y W. J. Nichols. 2007.** Population ecology of the green/black turtle (*Chelonia mydas*) in Bahía Magdalena, Mexico. *Mar. Biol.*, 153(1): 35-46.
  - **Laguna, J. 1967.** *Bioquímica*. 2da ed. La Prensa Médica Mexicana, D. F.

- 
- **Lam, J. C. W., S. Tanabe, S. K. F. Chan, M. H. W. Lam, M. Martin y P. K. S. Lam. 2006.** Levels of trace elements in green turtle eggs collected from Hong Kong: Evidence of risks due to selenium and nickel. *Environ Pollut.*, 144(3): 790-801.
  - **Lance, V. A., D. Wm. Owens y I. P. Callard. 1979.** Radioimmunoassay of plasma progesterone, testosterone, total estrogens and immunoreactive gonadotropin in the nesting and non-nesting green sea turtle, *Chelonia mydas* (L.). *Experientia*, 35: 1119-1119.
  - **Le Cren, E. D. 1951.** The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). *J. Anim. Ecol.*, 20: 201-219.
  - **Lee, D. S., J. C. Evans, S. J. Robins, P. W. Wilson, I. Albano, C. S. Fox, T. J. Wang, E. J. Benjamin, R. B. D'Agostino, R. S. Vasan. 2007.** Gamma Glutamyl Transferase and Metabolic Syndrome, Cardiovascular Disease, and Mortality Risk. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 27: 127-133.
  - **Lesser, M. P. 2006.** Oxidative stress in marine environments: Biochemistry and physiological Ecology. *Annu. Rev. Physiol.*, (68): 253-278.
  - **Levengood, J. M. y V. R. Beasley. 2007.** Principles of ecotoxicology. In: Gupta, R.C. (Ed.). *Veterinary Toxicology. Veterinary Toxicology, Basic and Clinical Principles.* Academic Press, New York, pp. 689–708.
  - **Licht, P. 1979.** Reproductive endocrinology of reptiles and amphibians: Gonadotropins. *Annu. Rev. Physiol.*, 41: 337-351.
  - **Licht, P., J. Wood, D. Wm Owens y F. E. Wood. 1979.** Serum gonadotropins and steroids associated with breeding activities in the green sea turtles *Chelonia mydas*. I Captive animals. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 39: 274-289.
  - **Licht, P., W. Rainey y K. Clifton. 1980.** Serum gonadotropin and steroids associated with breeding activities in the green sea turtle, *Chelonia mydas*. II Mating and nesting in natural populations. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 40: 116-122.
  - **Licht, P. 1982.** Endocrine patterns in the reproductive cycle of turtles. *Herpetologica*, 38(1): 51-61.
  - **Licht, P., J. Wood y F. E. Wood. 1985a.** Annual and diurnal cycles in plasma testosterone and thyroxine in the male green sea turtle *Chelonia mydas*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 57: 335-344.
  - **Licht, P., G. L. Breitenbach y J. D. Congdon. 1985b.** Seasonal cycles in testicular activity, gonadotropin, and thyroxine in the painted turtle, *Chrysemys picta* under natural conditions. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 59: 130-139.

- 
- **Lluch-Belda, D. 2000a.** Centros de actividad biológica en la costa occidental de Baja California. En: Lluch-Belda, D., J. Elorduy-Garay, S. E. Lluch-Cota y G. Ponce-Díaz (Eds.). BAC: Centros de actividad biológica del Pacífico mexicano. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas-IPN, La Paz, pp. 49-64.
  - **Lluch-Belda, D., M. E. Hernández-Rivas, R. Saldierna-Martínez y R. Guerrero-Caballero. 2000b.** Variabilidad de la temperatura superficial del mar en Bahía Magdalena, B. C. S. Oceánides, 15(1): 1-23.
  - **Lopez-Mendilaharsu, M., S. C. Gardner y J. A. Seminoff. 2003a.** *Chelonia mydas agassizii* (East Pacific Green Sea turtle) Diet. Herpetol. Rev., 34(2): 139-140.
  - **Lopez-Mendilaharsu, M., S. C. Gardner y J. A. Seminoff. 2003b.** Feeding ecology of the East Pacific green turtle (*Chelonia mydas agassizii*) in Bahía Magdalena, B.C.S., Mexico. En: Seminoff, J. A. (Ed.). Proceedings of the 22nd Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation, NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-503, Department of Commerce, Miami, pp. 218-219
  - **Lopez-Mendilaharsu, M., S. C. Gardner, J. A. Seminoff y R. Riosmena. 2005.** Identifying critical foraging habitats of the green turtle (*Chelonia mydas*) along the Pacific coast of the Baja California peninsula, Mexico. Aquat. Conserv.: Mar. Freshw. Ecosyst. 15: 259-269.
  - **Lutz, P.L. y T. B. Bentley. 1985.** Respiratory physiology of diving in the sea turtle. Copeia, (3): 671-679.
  - **Lynn, R. J. y J. J. Simpson. 1987.** The California current system: the seasonal variability of its physical characteristics. J. Geophys. Res., 92(C12): 12,947-12,966.
  - **Mancini, A. 2009.** Pesca incidental o captura dirigida. Tasas y causas de mortalidad de las Tortugas marinas en Baja California Sur, México. Tesis de Doctorado en Ciencias, Universidad Autónoma de Baja California Sur, La Paz, 97 p.
  - **Mancini, A. y V. Koch. 2009.** Sea turtle consumption and black market trade in Baja California Sur, Mexico. Endangered Species Res, 71-10.
  - **Manire, C. A., H. L. Rhinehart, D. E. Colbert y D. R. Smith. 1999.** Experimentally induced serum and urinary creatinine elevations in captive West Indian manatees. Proceedings of the 13th Biennial Conference on the Biology of Marine Mammals, p. 114.
  - **Martin, J. H. y W. W. Broenkow. 1975.** Cadmium in Planckton: Elevated concentrations off Baja California. Science, 190(4217): 884-885.

- 
- **Martínez, J. A. 1998.** La explotación de los recursos naturales renovables, 1940-1993. En: Mahieux, S. (Ed.), Diagnóstico Ambiental de Baja California Sur, México. Fundación Mexicana para la Educación Ambiental, Sociedad de Historia Natural Niparajá, La Paz, pp. 55-98.
  - **Martínez-Álvarez, R. M., A. E. Morales y A. Sanz. 2005.** Antioxidant defenses in fish: Biotic and abiotic factors. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 15: 75-88.
  - **Martínez-López, A. y G. Verdugo-Díaz. 2000.** Composición y dinámica del fitoplancton en el BAC de Bahía Magdalena, B. C. S. En: Lluch-Belda, D., J. Elorduy-Garay, S. E. Lluch-Cota y G. Ponce-Díaz (Eds.). BAC: Centros de actividad biológica del Pacífico mexicano. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas-IPN, La Paz, pp. 125-142.
  - **Márquez M., R. 1990.** Sea turtles of the world. Species catalogue. Fisheries Synopsis, no.125, Volume 11. Food and Agriculture Organization, Rome, 81 p.
  - **Márquez M., R. y M. A. Carrasco. 2003.** The investigation and conservation of the black turtle in Mexico: the first years. En: Seminoff, J. A. (Ed.). Proceedings of the 22nd Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-503, Department of Commerce, Miami, pp. 80-81.
  - **Maya, Y. y J. Guzmán. 1998.** Recursos terrestres y suelo. En: Mahieux, S. (Ed.). Diagnóstico Ambiental de Baja California Sur, México. Fundación Mexicana para la Educación Ambiental, Sociedad de Historia Natural Niparajá, La Paz, pp. 165-223.
  - **Mayer, F. L., D. J. Versteeg, M. J. McKee, L. C. Folmar, R. L. Graney, D. C. McCume y B. A. Rattner. 1992.** Physiological and nonspecific biomarkers. In: Huggett, R. J., R. A. Kimerle, P. M. Mehrle Jr. y H. L. Bergman. (Eds.). Biomarkers. Biochemical, Physiological and Histological Markers of Anthropogenic Stress. Lewis Publishers, Chelsea, pp. 5-85.
  - **McDermid, K. J., B. Stuercke y G. H. Balazs 2007.** Nutritional composition of marine plants in the diet of green sea turtle (*Chelonia mydas*) in the Hawaiian Islands. *Bull. Mar. Sci.*, 81(1): 55-71.
  - **McGraw, K.J., A. A. Cohen, D. Costantini y P. Horak. 2010.** The ecological significance of antioxidants and oxidative stress: a marriage between mechanistic and functional perspectives. *Funct. Ecol.*, 24: 947-949.
  - **Mckenzie, C., B. J. Godley, R. W. Furness y D. E. Wells. 1999.** Concentrations and patterns of organochlorine contaminants in marine turtles from Mediterranean and Atlantic waters. *Mar. Environ. Res.* 47, 117-135.

- 
- **Melancon, M. J., R. Alscher, W. Benson, G. Kruzynski, R. F. Lee, H. C. Sikka y R. B. Spies. 1992.** Metabolic products as biomarkers. En: Huggett, R. J., R. A. Kimerle, Jr. P. M. Mehrle y H. L. Bergman. (Eds.). Biomarkers. Biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress. Lewis publishers. Chelsea, pp. 87-123.
  - **Méndez, L., B. Acosta, S. T. Álvarez-Castañeda y C. H. Lechuga-Devéze. 1998.** Trace metal distribution along the southern coast of Bahía de la Paz (Gulf of California), Mexico. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 61: 616-622.
  - **Méndez, L., E. Palacios, B. Acosta-Vargas, P. Monsalvo-Spencer y S. T. Alvarez-Castañeda. 2006.** Heavy metals in the clam *Megapitaria squalida* collected from wild and phosphorite mine-impacted sites in Baja California, Mexico. Biol. Trace Elem. Res., 110: 275-287.
  - **Mewes, K. R., M. Lutz, H. Golla y A. Fischer. 2002.** Vitellogenin from female and estradiol-stimulated male river lampreys (*Lampetra fluviatilis* L.). J. Exp. Zool., 292: 52-72.
  - **Milton, S. L. y P. L. Lutz. 2003.** Physiological and genetic responses to environmental stress. En: Lutz, P. L., J. A. Musick y J. Wyneken (Eds.). The biology of sea turtles, Vol II. CRC Press, Boca Raton, pp. 163-197.
  - **Montilla, A. J., J. L. Hernández y M. C. Alvarado. 2006.** Valores hematológicos de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) presente en la alta Guajira. Revista Científica FCV-LUZ, XVI(3): 219-226.
  - **Moon, D., D. S. MacKenzie y D. Wm. Owens. 1998.** Serum thyroid hormone levels in wild and captive sea turtles. Korean J. Biol. Sci., 2: 177-181.
  - **Moon, D., D. Wm. Owens y D. S. MacKenzie. 1999.** The effects of fasting and increased feeding on plasma thyroid hormones, glucose and total protein in sea turtles. Zool. Sci., 16: 579-586.
  - **Morales, A. E., A. Pérez-Jiménez, M. C. Hidalgo, E. Abellán y G. Cardenete. 2004.** Oxidative stress and antioxidante defensas after prolonged starvation in *Dentex dentex* liver. Comp. Biochem. Physiol., C, 139: 153-161.
  - **Muñoz-Tenería, F. A. 2003.** Evaluacion inmunologica de tortugas blancas cautivas con dermatitis ulcerativa. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de México, D. F. 67 p.
  - **Musick, J. A. y C. J. Limpus. 1997.** Habitat utilization and migration in juveniles sea turtles. En: Lutz, P. L. y J. A. Musick (Eds.). The biology of sea turtles. CRC Press, Boca Raton, pp. 137- 163.

- 
- **Nash, R. D. M., A. H. Valencia y A. J. Geffen. 2006.** The origin of Fulton's condition factor, setting the record straight. *Fisheries*, 31(5): 236-238.
  - **Nichols, W. J. 2003.** Biology and conservation of sea turtles in Baja California, Mexico. PhD Dissertation, University of Arizona, Tucson, 474 p.
  - **Novillo, A., S. J. Wong, C. Li y I. P. Callard. 2005.** Changes in nuclear receptor and vitellogenin gene expression in response to steroids and heavy metal in *Caenorhabditis elegans*. *Integr. Comp. Biol.*, 45: 61-71.
  - **Nuñez-López, R. A., M. Casas-Valdez, A. C. Mendoza-González y L. E. Mateo-Cid. 1998.** Flora ficológica de la laguna San Ignacio, B. C. S., México. *Hidrobiológica*, 8(1): 33-42.
  - **Nussey, D. H., J. M. Pemberton, J. G. Pilkington y J. D. Blount. 2009.** Life history correlates of oxidative damage in a free-living mammal population. *Funct. Ecol.*, 23: 809-817.
  - **O'Hara, T. M. y T. J. O'Shea. 2001.** Toxicology. En: Dierauf, L. A. y F. M. D. Gulland (Eds.). *Handbook of marine mammal medicine*. CRC Press, Boca Ratón, pp. 471-520.
  - **Ohkawa, H., N. Ohishi y K. Yagi. 1979.** Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, 95: 331-358.
  - **Osborne, A. G., E. R. Jacobson, M. J. Bresette, D. A. Singewald, R. A. Scarpino y A. B. Bolten. 2010.** Reference intervals and relationships between status, carapace length, body mass, and water temperature and concentrations of plasma total protein and protein electrophoretogram fractions in Atlantic loggerhead sea turtles and green turtles. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 237(5): 1-7.
  - **Ostfeld, R. S., G. K. Meffe y M. C. Pearl. 2002.** Conservation medicine. The birth of another crisis discipline. En: Aguirre, A. A., R. S. Ostfeld, G. M. Tabor, C. House y M. C. Pearl. (Eds.). *Conservation medicine, ecological health in practice*. Oxford University Press, New York, pp. 17-26.
  - **Owens, D. Wm., J. R. Hendrickson, V. A. Lance y I. P. Callard. 1978.** A technique for determining sex of immature *Chelonia mydas* using a radioimmunoassay. *Herpetologica*, 34(3): 270-273.
  - **Owens, D. Wm. 1980.** The comparative reproductive physiology of sea turtles. *Am. Zool.*, 20: 549-563.
  - **Owens, D. W. y G. J. Ruiz. 1980.** New methods of obtaining blood and cerebrospinal fluid from marine turtles. *Herpetologica*, 36(1): 17-20.



- 
- **Owens, D. Wm. y Y. A. Morris. 1985.** The comparative endocrinology of sea turtles. *Copeia*, (3): 723-735.
  - **Owens, D. Wm. 1997.** Hormones in the life history of sea turtles. En: Lutz, P.L. y Musick, J.A. (Eds.). *The biology of sea turtles*. CRC Press, Boca Raton, pp. 315-341.
  - **Owens, D. Wm. 2000.** Ciclos reproductivos y endocrinología. En: Eckert, K. L., K. A. Bjorndal, F. A. Abreu-Grobois y M. Donnelly. (Eds.). *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas*. (Traducción al español). Grupo Especialista en Tortugas Marinas, UICN/CSE Publicación No. 4, Pensilvania, pp. 137-142.
  - **Páez-Osuna, F., J. I. Osuna-López, G. Izaguerre-Fierro y H. M. Zazueta-Padilla. 1993.** Heavy metals in clams from subtropical coastal lagoon associated with an agricultural drainage basin. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 50: 915–921.
  - **Páez-Osuna F., M. G. Frías-Espéricueta y J. I. Osuna-López. 1995.** Trace metal concentration in relation to seasonal and gonadal maturation in the oyster *Cassostrea iridescens*. *Marine Env. Res.*, 40(1): 19–31.
  - **Parra, L. L. 2009.** Determinación de elementos mayores y traza en tejidos de tortuga verde *Chelonia mydas* en Baja California Sur, México. Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma de Baja California Sur, La Paz, 40 p.
  - **Pavlovic, S. Z., S. S. Borkovic-Mitic, T. B. Radovanovic, B. R. Perendija, S. G. Despotovic, J. P. Gavric y Z. S. Saicic. 2009.** Activity of oxidative stress biomarkers in the white muscle of red mullet (*Mullus barbatus* L.) from the Adriatic Sea. *Arch. Biol. Sci. Belgrade*, 61(4): 693–701.
  - **Peraza, M. A., F. Ayala-Fierro, D. S. Barber, E. Casarez y L. T. Rael. 1998.** Effects of micronutrients on metal toxicity. *Environ. Health Perspect.*, 106(1): 203-216.
  - **Pereira, J. J., R. Mercado-Allen, C. Kuropat, D. Luedke y G. Sennefelder. 1993.** Effect of cadmium accumulation on serum vitellogenin levels and hepatosomatic and gonadosomatic indices of winter flounder (*Pleuronectes americanus*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 24: 427-431.
  - **Pereira, P. H. de Pablo, F. Rosa-Santos, M. Pacheco y C. Vale. 2009.** Metal accumulation and oxidative stress in *Ulva* sp. substantiated by response integration into a general stress index. *Aquat. Toxicol.*, 91: 336-345.
  - **Perry, H. M., G. S. Thind y A. B. E. F. Perry. 1976.** Biología del cadmio. En: Burch, R. E. y Sullivan, J. F. (Eds.). *Clínicas médicas de Norteamérica*. Interamericana, D. F., pp. 759-769.

- 
- **Persky, A., P. Green, L. Stublely, C. Howell, L. Zaulyanov, G. Brzaeau y J. Simpkins. 2000.** Protective effect of estrogens against oxidative damage to heart and skeletal muscle in vivo and in vitro. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 223: 59–66.
  - **Peterson, W. T., R. Emmett, R. Goericke, E. Venrick, A. Mantyla, S. J. Bograd, F. B. Schwing, S. Ralston, K. A. Forney, R. Hewitt, N. Lo, W. Watson, J. Brlow, M. Lowry, B. E. Lavaniegos, F. Chavez, W. J. Sydeman, K. D. Hyrenbach, R. W. Bradley, P. Warzybok, K. Hunter, S. Benson, M. Weise, J. Harvey. 2006.** The state of the California Current, 2005-2006: warm in the North, cool in the South. *CalCOFI Rep.*, 47: 30-74.
  - **Pinto, E., T. C. S. Sigaud-Kutner, M. A. S. Leitão, O. K. Okamoto, D. Morse y P. Colepicolo. 2003.** Heavy metal induced oxidative stress in algae. *J. Phycol.*, 39: 1008-1018.
  - **Pippenger, C.E., Brown, R.W., Armstrong, D., 1998.** Regulatory antioxidant enzymes. In: Armstrong (Ed.), *Methods in Molecular Biology, Free Radicals and Antioxidants Protocols*. The Humana Press, New Jersey, pp. 299–313.
  - **Plotkin, P. 2003.** Adult migrations and habitat use. En: Lutz, P. L., J. A. Musick y J. Wyneken (Eds.). *The biology of sea turtles, Vol II*. CRC Press, Boca Raton, pp. 225-241.
  - **Porte, C., G. Janer, L. C. Lorusso, M. Ortiz-Zarragoitia y M. P. Cajaraville. 2006.** Endocrine disruptors in marine organisms: Approaches and perspectives. *Comp. Biochem. Physiol., C*, 143: 303-315.
  - **Presti, S. M., A. Resendiz, A. E. Sollod y J. A. Seminoff. 1999.** Mercury concentration in the scutes of black sea turtles, *Chelonia mydas agassizii*, in the Gulf of California. *Chelonian Conserv. Biol.*, 3(3): 531-533.
  - **Pritchard, P. C. H. 1997.** Evolution, phylogeny and current status. En: Lutz, P. L. y J. A. Musick. (Eds.). *The biology of sea turtles*. CRC Press, Boca Raton, pp. 1-28.
  - **Pritchard, P. C. H. 1999.** Status of the Black turtle. *Conserv. B.*, 13(5): 1000-1003.
  - **Pritchard, P. C. H. y J. A. Mortimer. 2000.** Taxonomía, morfología externa e identificación de las especies. En: Eckert, K. L., K. A. Bjorndal, F. A. Abreu-Grobois y M. Donnelly (Eds.). *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas*. (Traducción al español). Grupo Especialista en Tortugas Marinas, UICN/CSE Publicación No. 4., D. C., pp. 23-41.
  - **Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. 2009.** Indicadores de desarrollo humano y género en México 2000-2005. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo, D. F., 455 p.

- 
- **R Development Core Team. 2010.** R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. Disponible en: <http://www.R-project.org>.
  - **Ragueneau, O., L. Chauvaud, B. Moriceau, A. Leynaert, G. Thouzeau, A. Donval, F. Le Loch y F. Jean. 2005.** Biodeposition by an invasive suspension feeder impacts the biogeochemical cycle of Si in a coastal ecosystem (Bay of Brest, France). *Biogeochemistry*, 75: 19-41.
  - **Raidal, S. R., P. L. Shearer y R. Prince. 2006.** Chronic shoulder osteoarthritis in a loggerhead turtle (*Caretta caretta*). *Aust. Vet. J.*, 84(7): 231-234.
  - **Randall, D., W. Burggren y K. French. 1997.** Eckert animal physiology: mechanisms and adaptations, 4th edition. Freeman and Company, New York, 728 p.
  - **Reagan, W. J., T. G. Sanders y D. B. DeNicofa. 1999.** Hematología veterinaria. Atlas de especies domésticas comunes. Harcourt, Barcelona, 75 p.
  - **Reséndiz, E., V. Koch y A. Cordero-Tapia. 2011.** A reporto of fibropapillomatosis in Easte Pacific green turtle (*Chelonia mydas*) from Laguna San Ignacio, Baja California Sur, Mexico. 31st Annual Symposium on Sea Turtle, Biology and Conservation, San Diego, California. Disponible en: [http://iconferences.seaturtle.org/online\\_program.shtml?what=Poster&event\\_id=18&print=](http://iconferences.seaturtle.org/online_program.shtml?what=Poster&event_id=18&print=). Junio, 2011.
  - **Rice, C. D. y M. R. Arkoosh. 2002.** Immunological indicators of environmental stress and disease susceptibility in fishes. En: S. M. Adams. (Ed.). *Biological indicators of aquatic ecosystem stress*. American Fisheries Society, Maryland, pp. 187-220.
  - **Richardson, K. L., M. C. Lopez-Castro, S. C. Gardner y D. Shlenk. 2010.** Polychlorinated biphenyls and biotransformation enzymes in three species of sea turtles from Baja California Peninsula of Mexico. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 58(1): 183-193.
  - **Ricker, W. E. 1975.** Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *Bull. Fish. Res. Board Can.*, 191: 1-382.
  - **Rodríguez-Barón, J. M. 2010.** Afinidad trófica a zonas de alimentación de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) en la costa occidental de Baja California Sur, México. Tesis de Maestría, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas-IPN, La Paz, 92 p.
  - **Rodríguez-Meza, D., E. Choumiline, L. Méndez-Rodríguez, B. Acosta-Vargas y D. Sapozhnikov. 2007.** En: Funes, R., J. Gómez y R. Palomares (Eds.). *Estudios ecológicos en Bahía Magdalena*. Instituto Politécnico Nacional, D. F., pp. 61-81.

- 
- **Rodríguez-Ortega, M. J., A. Rodríguez-Ariza, J. L. Gómez-Ariza, A. Muñoz-Serrano y J. López-Barea. 2009.** Multivariate discriminant analysis distinguishes metal-from non metal-related biomarker responses in the clam *Chamaelea gallina*. Mar. Pollut. Bull., 58: 64-71.
  - **Rojas-Espinosa, O. 2006.** Inmunología (de memoria). Editorial Médica Panamericana, D. F., 535 p.
  - **Rosanova, P., M. Romano, R. Marciano, C. Anteo, E. Limatola. 2002.** Vitellogenin precursors in the liver of the oviparous lizard, *Podarcis sicula*. Mol. Reprod. Dev., 63: 349-354.
  - **Rostal, D. C., J. S. Grumbles, R. Byles, R. Marquez y D. Wm. Owens. 1997.** Nesting physiology of Kemp's Ridley sea turtles, *Lepidochelys kempi*, at Rancho Nuevo, Tamaulipas, Mexico, with observations on population estimates. Chelonian Conserv. Biol., 2(4): 538-547.
  - **Rostal, D. C., J. S. Grumbles, K. S. Palmer, V. A. Lance, J. R. Spotila y F. V. Paladino. 2001.** Changes in gonadal and adrenal steroid levels in the Leatherback sea turtle (*Dermochelys coriacea*) during the nesting cycle. Gen. Comp. Endocrinol., (122): 139-147 .
  - **Rubio, C. 2002.** Ingesta dietética de contaminantes metálicos (Hg, Pb, Cd, Fe, Cu, Zn y Mn) en la Comunidad Autónoma Canaria. Evaluación toxicológica. Tesis Facultad de Medicina, Universidad de La Laguna, España, 179 p.
  - **Rouf, M. A. 1969.** Hematology of the Leopard Frog, *Rana pipiens*. Copeia, (4): 682-687.
  - **Ruiz C., J. A. Díaz, R. Meza, V. Serrano y G. Medina. 2006.** Estadísticas climatológicas básicas del estado de Baja California Sur (Periodo 1961-2003). Libro Técnico Num. 2. INIFAP-CIRNO. Cd. Obregón, Sonora, 268 p.
  - **Ruiz, G. J. y G. Ruiz. 1994.** Interpretación de la citometría hemática. Índices y parámetros eritrocíticos. Definición de anemia. En: Ruiz, G. J. (Ed.). Fundamentos de Hematología. Editorial Médica Panamericana, D. F., pp. 25-35.
  - **Saeki, K., H. Sakakibara, H. Sakai, T. Kunito y S. Tanabe. 2000.** Arsenic accumulation in three species of sea turtles. BioMetals, 13: 241-250.
  - **Safe, S. H., S. Khan, F. Wu y X. Li. 2007.** Chemical-induced estrogenicity. En: Gupta, R. C. (Ed.). Veterinary toxicology, basic and clinical principles. Elsevier, New York, pp. 811- 822.

- 
- **SAGARPA, 2004.** Evaluación del programa adquisición de derechos de uso de agua (PADUA). Distrito Federal. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/programas/evaluacionesExternas/Lists/Evaluaciones%20Externas%2020012006/Attachments/187/2003%20PADUA.pdf>. Septiembre, 2010.
  - **Sakai, H., K. Saeki, H. Ichihashi, H. Sukanuma, S. Tanabe y R. Tatsukawa. 2000a.** Species-specific distribution of heavy metals in tissues and organs of loggerhead turtle (*Caretta caretta*) and green turtle (*Chelonia mydas*) from Japanese coastal waters. Mar. Pollut. Bull., 40: 701–709.
  - **Sakai, H., K. Saeki, H. Ichihashi, N. Kamezaki, S. Tanabe y R. Tatsukawa. 2000b.** Growth-related changes in heavy metals accumulation in green turtle (*Chelonia mydas*) from Yaeyama Islands, Okinawa, Japan. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 39: 378–385.
  - **Sánchez-Rodríguez, I., M. A. Huerta-Díaz, E. Choumiline, O. Holguín-Quiñones y J. A. Zertuche-González. 2001.** Elemental concentrations in different species of seaweeds from Loreto Bay, Baja California Sur, Mexico: implications for the geochemical control of metals in algal tissue. Environ. Pollut., 114: 145–160.
  - **Santos-Baca, L. 2008.** Evaluación de los hábitos de alimentación de la tortuga verde *Chelonia mydas* en Bahía Magdalena, BCS, México, utilizando la técnica de isótopos estables. Tesis de Maestría en Ciencias, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz.
  - **Sapolsky, R. M., L. M. Romero y A. U. Munck. 2000.** How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory and preparative actions. Endocr. Rev., 21(1): 55-89.
  - **Schlenk, D. y R. T. Di Giulio. 2002.** Biochemical responses as indicators of aquatic ecosystem health. En: Adams, S. M. (Ed.). Biological indicators of aquatic ecosystem stress. American Fisheries Society, Maryland, pp. 13-42.
  - **Schwarz, K. 1976.** Carácter esencial y funciones metabólicas del selenio. En: Burch, R. E. y Sullivan, J. F. (Eds.). Clínicas médicas de Norteamérica. Interamericana, D. F., 745-757.
  - **Segovia-Zavala, J. A, F. Delgadillo-Hinojosa, A. Muñoz-Barbosa, E. A. Gutiérrez-Galindo y R. Vidal-Talamantes. 2004.** Cadmium and silver in *Mytilus californianus* transplanted to an anthropogenic influenced and coastal upwelling areas in the Mexican Northeastern Pacific. Mar. Pollut. Bull., 48(5-6): 458-464.
  - **Seminoff, J. A., W. J. Nichols, A. Resendiz y A. Galvan. 2000.** Diet composition of the black sea turtle, *Chelonia mydas agassizii*, near Baja California, Mexico. En: Abreu-Grobois, F. A., R. Briseño-Dueñas, R. Márquez y L. Sarti. (Eds.). Proceedings

---

of the 18th Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation. NOAA Tech. Memo NMFS-SEFSC-436, U.S. Miami, pp. 166-168.

- **Seminoff, J. A., A. Resendiz y W. J. Nichols. 2002a.** Home range of green turtles *Chelonia mydas* at a coastal foraging area in the Gulf of California, Mexico. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 242: 253–265.
- **Seminoff, J. A., J. Alvarado, C. Delgado, J. L. López y G. Hoeffler. 2002b.** First direct evidence of migration by an East Pacific green sea turtle from Michoacán, Mexico to a feeding ground on the Sonoran coast of the Gulf of California. *Southeast. Nat.*, 47(2): 314-316.
- **Seminoff, J. A., A. Resendiz, W. J. Nichols y T. T. Jones. 2002c.** Growth rates of wild green turtles (*Chelonia mydas*) at a temperate foraging area in the Gulf of California, Mexico. *Copeia*, 3: 610-617.
- **Seminoff, J. A., A. Resendiz y W. J. Nichols, 2002d.** Diet of east Pacific green turtles (*Chelonia mydas*) in the Central Gulf of California, Mexico. *J. Herpetol.*, 36(3): 447-453.
- **Seminoff, J. A., T. T. Jones, A. Resendiz, W. J. Nichols y M. Chaloupka. 2003.** Monitoring green turtles *Chelonia mydas* at a coastal foraging area in Baja California, Mexico: multiple indices describe population status. *J. Mar. Biol. Ass.*, 83: 1355-1362.
- **Senko, J., W. J. Nichols, J. Perrans-Ross y A. S. Willcox. 2010.** To eat or not to eat an endangered species: Views of local residents and physicians on the safety of sea turtles consumption in Northwestern Mexico. *EcoHealth*, 6(4): 584-595.
- **Serviere-Zaragoza, E., D. Gómez-López, y G. Ponce-Díaz. 2002.** Gross chemical composition of three common macroalgae and sea grass on the Pacific coast of Baja California, Mexico. *Hidrobiológica*, 12(2): 113-118.
- **Sharma, R. P. 2007.** Immunotoxicity. En: Gupta, R. C. (Ed.). *Veterinary Toxicology. Veterinary Toxicology, Basic and Clinical Principles.* Academic Press, New York, pp. 289–301.
- **Shumilin, E., St. Kalmykov, D. Sapozhnikov, E. Nava-Sánchez, D. Gorsline, L. Godínez-Orta, Y. Sapozhnikov, O. Holguín-Quiñones y A. Rodríguez. 2000a.** Major and trace element accumulation in coastal sediments along southeastern Baja California studied by instrumental neutron activation analysis and <sup>210</sup>Pb age-dating. *J. Radioanal. Nucl. Chem. Artic.*, 246(3): 533-541.
- **Shumilin, E. N., G. Rodríguez-Figueroa, O. M. Bermea, E. L. Baturina, E. Hernández y G. D. Rodríguez Meza. 2000b.** Anomalous Trace Element Composition

of Coastal Sediments near the Copper Mining District of Santa Rosalía, Peninsula of Baja California, Mexico Bull. Environ. Contam. Toxicol, 65: 261–268.

- **Shumilin, E., F. Páez-Osuna, C. Green-Ruiz, D. Sapozhnikov, G. Rodríguez-Meza y L. Godínez-Orta. 2001.** Arsenic, antimony, selenium and other trace elements in sediments of the La Paz lagoon, Península of Baja California, Mexico. Mar. Pollut. Bull., 42(3): 174-178.
- **Sifuentes, I. 2004.** Caracterización parcial de vitelogenina de *Chelonia mydas agassizii* y validación de un ensayo inmunoenzimático (ELISA) para su detección en plasma como potencial biomarcador de xenoestrógenos. Tesis de Maestría, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, 81 p.
- **Sifuentes-Romero, I., C. Vazquez-Boucard, A.P. Sierra-Beltrán y S.C. Gardner. 2006.** Vitellogenin in black turtle (*Chelonia mydas agassizii*): purification, partial characterization, and validation of an enzyme-linked immunosorbent assay for its detection. Environ. Toxicol. Chem., 25(2): 477–485.
- **Smith, E. P. 2002.** Statistical considerations in the development, evaluation, and use of biomarkers in environmental studies. En: Adams, S. M. (Ed.). Biological indicators of aquatic ecosystem stress. American Fisheries Society, Maryland, pp. 565-590.
- **Sposato, P. y L. Lutz. 2003.** Immune status of Florida sea turtles in relationship to sea turtle health. En: Seminoff, J. A. (Ed.). Proceedings of the 22nd Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-503, Department of Commerce, Miami, pp. 67.
- **Spotila, J. R. y E. A. Standora. 1985.** Environmental constraints on the thermal energetics of sea turtles. Copeia, (3): 694-702.
- **Stacy, B. A. y N. Whitaker. 2000.** Hematology and blood biochemistry of captive mugger crocodiles (*Crocodylus palustris*). J. Zoo Wildl. Med., 31(3): 339-347.
- **Stahl, S. J. 2006.** Reptile hematology and serum chemistry. En: NAVC (Ed.). Small animal and exotics. Proceedings of the North American Veterinary Conference, Vol. 20. NAVC, Orlando, pp. 1673-1676.
- **StatSoft, Inc., 2004.** STATISTICA (data analysis software system), version 7. Disponible en <http://www.statsoft.com>.
- **Stegeman, J. J., M. Brouwer, R. T. Di Giulio, L. Förlin, B. A. Fowler, B. M. Sanders y P. A. Van Veld. 1992.** Molecular responses to environmental contamination: Enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effect. En: Huggett, R. J., R. A. Kimerle, Jr. P. M. Mehrle y H. L. Bergman. (Eds.).

- Biomarkers. Biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress. Lewis publishers. Chelsea, pp. 235-335.
- **Stevenson, R. D. y W. A. Woods. 2006.** Condition indices for conservation: new uses for evolving tools. *Integr. Comp. Biol.*, 46(6): 1169–1190.
  - **Stohs, S. J. y D. Bagchi. 1995.** Oxidative mechanisms in the toxicity of metals ions. *Free Radical Biol. Med.*, 18(2): 321-336.
  - **Storelli, M. M. y G. O. Marcotrigiano, 2003.** Heavy metals residues in tissues of marine turtles. *Mar. Pollut. Bull.*, 46: 397-400.
  - **Sumpter, J. P. y S. Jobling. 1995.** Vitellogenesis as a biomarker for estrogenic contamination of the aquatic environment. *Environ. Health Perspect.*, 103(7): 173-178.
  - **Suzuki, K. 2000.** Measurement of Mn-SOD and Cu, Zn-SOD. In: Taniguchi, N., y J. Gutteridge. (Eds.). *Experimental Protocols for Reactive Oxygen and Nitrogen Species.* Oxford University Press, R.U., pp. 91–95.
  - **Swimmer, J. Y. 2000.** Biochemical responses to fibropapilloma and captivity in the green turtle. *J. Wildl. Dis.*, 36(1): 102-110.
  - **Tabor, G. M. 2002.** Defining conservation medicine. En: Aguirre, A. A., R. S. Ostfeld, G. M. Tabor, C. House y M. C. Pearl. (Eds.). *Conservation medicine, ecological health in practice.* Oxford University Press, New York, pp. 8-16.
  - **Talavera-Saenz, A., S. C. Gardner, R. Riosmena y B. Acosta-Vargas. 2007.** Metal profiles used as environmental markers of green turtle (*Chelonia mydas*) foraging resources. *Sci. Total Environ.*, 373: 94-102.
  - **Tenorio, P. A. 2007.** Variación espacio temporal en la actividad de las principales enzimas antioxidantes en sangre de tortuga verde (*Chelonia mydas*) en las localidades de Punta Abreojos y Bahía Magdalena, B.C.S., México. Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma de Baja California Sur, La Paz, 74 p.
  - **UNEP-WCMC. UNEP-WCMC. 2007.** CITES-Listed Species, Species Database. Consultado en: <http://www.unep-cmc.org/isdb/CITES/Taxonomy/tax-pecies-result.cfm/isdb/CITES/Taxonomy/tax-species-result.cfm?Genus=Chelonia&Species=mydas&source=animals&displaylanguage=eng&tabname=legal>. Agosto, 2007.
  - **Valdivia, P. A., T. Zenteno-Savín, S. C. Gardner y A. A. Aguirre. 2007.** Basic oxidative stress metabolites in eastern Pacific green turtles (*Chelonia mydas agassizii*). *Comp. Biochem. Physiol., C*, 146(1-2): 111-117.



- 
- **Valverde, R. A., K. W. Selcer, L. R. Lara y J. A. Sibaja-Cordero. 2008.** Lack of xenoestrogen-induced vitellogenin in male olive ridley sea turtles (*Lepidochelys olivacea*) from the Pacific coast of Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.*, 56(5): 49-57.
  - **Van der Oost, R., J. Beyer y N. P. E. Vermeulen. 2003.** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 13: 57-149.
  - **Van Houtan, K. S., S. K. Hargrove y G. H. Balazs. 2010.** Land use, macroalgae and tumor-forming disease in marine turtles. *Plos ONE*, 5(9): e1290.
  - **Vargas, P. 2000.** Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for the Kemp's ridley sea turtle (*Lepidochelys kempii*: Garman 1880), vitellogenin. M. Sc. thesis, Texas A&M University, College Station, Texas, 70 p.
  - **Vázquez-Medina, J. P., T. Zenteno-Savín, H. Jay, D. E. Crocker y R. M. Ortiz. 2011.** Prolonged fasting increases glutathione biosynthesis in postweaned Northern elephant seals. *J. Exp. Biol.*, 214: 1294-1299.
  - **Villegas, F. 2006.** Análisis nutricional de macroalgas y pastos asociados a la alimentación de tortuga verde *Chelonia mydas agassizii* en Bahía Magdalena, BCS, México. Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma de Baja California Sur, La Paz, 67 p.
  - **Vonier, P. M., D. A. Crain, J. A. McLachlan, L. J. Guillette y S. F. Arnold. 1996.** Interaction of environmental chemicals with the estrogen and progesterone receptors from the oviduct of the American alligator. *Environ. Health Perspect.*, 104(12): 1318-1322.
  - **Waliszewski, S. M., A. A. Aguirre, R. M. Infanzon y J. Siliceo. 2000.** Partitioning coefficients of organochlorine pesticides between mother blood serum and umbilical blood serum. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 65: 293-299.
  - **Wallace, B. P., A. J. Seminoff, S. S. Kilham, J. R. Spotila y P. H. Dutton. 2006.** Leatherback turtles as oceanographic indicators: stable isotope analyses reveal a trophic dichotomy between ocean basins. *Mar. Biol.*, 149: 953-960.
  - **Wasser, S. K., K. E. Hunt y C. M. Clarke. 2002.** Assessing stress and population genetics through noninvasive means. En: Aguirre, A. A., R. S. Ostfeld, G. M. Tabor, C. House y M. C. Pearl. (Eds.). *Conservation medicine, ecological health in practice.* Oxford University Press, New York, pp. 130-144.
  - **White, R. B. y P. Thomas. 1992.** Adrenal-kidney and gonadal steroidogenesis during sexual differentiation of a reptile with temperature dependent sex determination. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 88(1): 10-19.

- 
- **Whiting, S. D., M. L. Guinea, C. J. Limpus y K. Fomiatti. 2007.** Blood chemistry reference values for two ecologically distinct populations of foraging green turtles, eastern Indian Ocean. *Comp. Clin. Pathol.*, 16: 109-118.
  - **Whittier, J. M., F. Corrie y C. J. Limpus. 1997.** Plasma steroid profiles in nesting loggerhead turtles (*Caretta careatta*) in Queensland, Australia: Relationship to nesting episode and season. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 106: 39-47.
  - **Wibbels, T., D. Wm. Owens y M. S. Amoss Jr. 1987a.** Seasonal Changes in the Serum Testosterone Titers of Loggerhead Sea Turtles Captured Along the Atlantic Coast of the United States. *Ecology of East Florida Sea Turtles. Proceedings of the Cape Canaveral, Florida Sea Turtle Workshop*: 59-64.
  - **Wibbels, T., D. Wm. Owens, Y. A. Morris y M. S. Amoss Jr. 1987b.** Sexing techniques and sex ratio for immature Loggerhead sea turtles captured along the Atlantic coast of the United States. *Ecology of East Florida Sea Turtles. Proceedings of the Cape Canaveral, Florida Sea Turtle Workshop*, pp. 65-74.
  - **Wibbels, T., D. Wm. Owens, C. J. Limpus, P. C. Reed y M. S. Amoss Jr. 1990.** Seasonal changes in serum gonadal steroids associated with migration, mating and nesting in the Loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, (79): 154-164.
  - **Wibbels, T., D. Wm. Owens, P. Licht, C. J. Limpus, P. C. Reed y M. S. Amoss Jr. 1992.** Serum gonadotropins and gonadal steroids associated with ovulation and egg production in sea turtles. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 87: 71-78.
  - **Wibbels, T., D. Wm. Owens y C. J. Limpus. 2000.** Sexing juveniles sea turtles: Is there an accurate and practical method? *Chelonian Conserv. Biol.*, 3(4): 756-761.
  - **Wilber, C. G. 1980.** Toxicology of selenium. A review. *Clin. Toxicol.*, 17: 71-230.
  - **Wilhelm-Filho, D., M. A. Torres, T. B. Tribess, R. C. Pedrosa y C. H. I. Soares. 2001.** Influence of season and pollution on the antioxidant defenses of the cichlid fish acará (*Geophagus brasiliensis*). *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 34: 719-726.
  - **Wobeser, G. A., 1981.** Diseases of wild waterfowl. Plenum Press, New York.
  - **Wood, J. R. y F. E. Wood. 1981.** Growth and digestibility for the green turtle (*Chelonia mydas*) fed diets containing varying protein levels. *Aquaculture*, 25: 269-274.
  - **Wood, F. E. y G. K. Ebanks, 1984.** Blood cytology and hematology of the green sea turtle, *Chelonia mydas*. *Herpetologica*, 40(3): 331-336.

- 
- **Work, T. M., R. E. Raskin, G. H. Balazs y S. D. Whittaker. 1998.** Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells from Hawaiian green turtles. *Am. J. Vet. Res.*, 59(10): 1252-1257.
  - **Work, T. M. y G. H. Balazs. 1999.** Relating tumor score to hematology in green turtle with fibropapillomatosis in Hawaii. *J. Wildl. Dis.*, 35(4): 804-807.
  - **Work, T. M., R. A. Rameyer, G. H. Balazs, C. Cray y S. P. Chang. 2001.** Immune status of free-ranging green turtles with fibropapillomatosis from Hawaii. *J. Wildl. Dis.*, 37(3): 574-581.
  - **Work, T. M. 2005.** Cancer in sea turtles. *Hawaii Med. J.*, 64: 23-24.
  - **Zaccaroni, A., M. Zucchini, L. Segatta, M. Gamberoni, D. Freggi, P. A. Accorsi, D. Scaravelli y S. C. Gardner. 2010.** Vitellogenin (VTG) Conservation in sea turtles: Anti-VTG antibody in *Chelonia mydas* versus *Caretta caretta*. *Physiol. Biochem. Zool.*, 83(1): 191-195.
  - **Zaitsev, O., O. Sánchez-Montante y C. J. Robinson. 2007.** Características del ambiente hidrofísico de la plataforma continental y zona oceánica adyacente al sistema lagunar Bahía Magdalena-Almejas. En: Funes, R., J. Gómez y r. Palomares. (Eds.). *Estudios ecológicos en Bahía Magdalena*. Instituto Politécnico Nacional, D. F., pp. 30-43.
  - **Zambrano, F. y V. Díaz. 1996.** El Radioinmunoanálisis y su control de Calidad. Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, D. F., 85 p.
  - **Zhang, H., H. J. Forman y J. Choi. 2005.**  $\gamma$ -Glutamyl transpeptidase in glutathione biosynthesis. *Methods Enzymol.* 401: 468-483.
  - **Zar, J. H. 1996.** Biostatistical analysis. Prentice Hall, New Jersey, 662 p.

# ANEXOS

---

**Anexo 1.** Curvas estándar, sensibilidad y precisión (CV, coeficiente de variación) de los ensayos ELISA realizados para la cuantificación de vitelogenina, esteroides sexuales y tiroxina en la tortuga prieta, *Ch. mydas*.

**Anexo 2.** Parámetros de la química sanguínea de la tortuga prieta (*Chelonia mydas*) de Punta Abreojos y Bahía Magdalena agrupados por estación.

**Anexo 3.** Parámetros de la química sanguínea de tortuga prieta (*Chelonia mydas*) de Punta Abreojos y Bahía Magdalena agrupados por año.

**Anexo 4.** Cargas factoriales del análisis de componentes principales realizado sobre 20 contaminantes químicos medidos en 10 tortugas prietas capturadas en Bahía Magdalena. Valores obtenidos sin rotación. Los valores >0.70, resaltados en negritas, fueron considerados como significativos.

**Anexo 5.** Cargas factoriales del análisis de componentes principales realizado sobre 20 contaminantes químicos medidos en 35 tortugas prietas capturadas en Punta Abreojos. Valores obtenidos sin rotación. Los valores >0.53, resaltados en negritas, fueron considerados como significativos.

**Anexo 6.** Labrada-Martagón, V., Méndez-Rodríguez, L. C., Gardner, S. C., López-Castro, M. and Zenteno-Savín, T. 2010. Health indices of the Green turtle (*Chelonia mydas*) along the Pacific coast of Baja California Sur, Mexico. I. Blood biochemistry values. Chelonian Conservation and Biology, 9(2): 162-172.

**Anexo 7.** Labrada-Martagón, V., Méndez-Rodríguez, L. C., Gardner, S. C., Cruz-Escalona, V. H. and Zenteno-Savín, T. 2010. Health indices of the Green turtle (*Chelonia mydas*) along the Pacific coast of Baja California Sur, Mexico. II. Body condition Index. Chelonian Conservation and Biology, 9(2): 173-183.

**Anexo 8.** Labrada-Martagón, V. Tenorio-Rodríguez, P. A., Gardner, S. C., Méndez-Rodríguez, L. C. and Zenteno-Savín, T. 2011. Oxidative stress indicators and chemical contaminants in East Pacific green turtles (*Chelonia mydas*) inhabiting two foraging coastal lagoons in the Baja California peninsula. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C, Toxicology & Pharmacology, 154: 65-75.

**Anexo 1.** Curvas estándar, sensibilidad y precisión (CV, coeficiente de variación) de los ensayos ELISA realizados para la cuantificación de vitelogenina, esteroides sexuales y tiroxina en la tortuga prieta, *Ch. mydas*.

<b>Parámetro</b>	<b>Curva estándar</b>	<b>Sensibilidad</b>	<b>CV intra-ensayo (%)</b>	<b>CV inter-ensayo (%)</b>
<b>Vitelogenina</b>	0.001 a 0.5 µg mL <sup>-1</sup>	0.001 µg mL <sup>-1</sup>	4.87	
			3.52	
			9.2	7.99
<b>Estradiol</b>	0-1000 pg mL <sup>-1</sup>	10 pg mL <sup>-1</sup>	6.72	
			4.14	5.90
<b>Testosterona</b>	0-16.7 ng mL <sup>-1</sup>	0.022 ng mL <sup>-1</sup>	5.55	
			4.82	5.28
<b>Tiroxina</b>	0-32 µg 100 mL <sup>-1</sup>	0.6 µg 100 mL <sup>-1</sup>	4.25	
			3.55	4.08

**Anexo 2.** Parámetros de la química sanguínea de la tortuga prieta (*Chelonia mydas*) de Punta Abreojos y Bahía Magdalena agrupados por estación.

	Estación							
	Invierno				Verano			
	Media	DE	Rango	n	Media	DE	Rango	n
<b>Punta Abreojos</b>								
<b>LRC (cm)</b>	62.60	12.30	50.30-91.50	10	64.30	11.50	43.90-92.40	33
<b>Proteínas totales (g/dL)</b>	5.53	0.89	4.10-6.85	10	5.56	1.17	1.16-7.94	32
<b>Albúmina (g/dL)</b>	1.27	0.15	0.95-1.41	8	1.28	0.43	0.70-2.10	33
<b>Globulina (g/dL)</b>	4.51	0.76	3.05-5.53	8	4.28	1.28	0.32-7.03	32
<b>Razón A/G</b>	0.29	0.08	0.21-0.46	8	0.40	0.44	0.13-2.61	32
<b>Alcalina Fosfatasa (U/L)</b>	53.41	15.55	34.95-85	10	39.64	27.45	0.00-112	33
<b>Colinesterasa (U/L)</b>	4463	542	3545-5290	10	4263	537	3365-5181	23
<b>ALT (U/L)</b>	26.35	33.56	3.50-98	10	15.98	14.69	1.50-70.5	33
<b>AST (U/L)</b>	205	29.00	176-272	10	176	115	10.05-346	33
<b>GGT (U/L)</b>	0.05 <sup>a</sup>	0.04	0.01-0.12	8	2.19 <sup>b</sup>	1.51	0-5.28	21
<b>Potasio (mmol/L)</b>	3.60 <sup>a</sup>	0.79	2.75-5.45	10	4.91 <sup>b</sup>	1.56	2.60-8.95	32
<b>Sodio (mmol/L)</b>	175 <sup>a</sup>	20.13	142-211	10	153 <sup>b</sup>	5.99	143-164	15
<b>Creatinina (mg/dL)</b>	2.08	0.11	1.97-2.27	10	5.17	4.95	1.70-14.80	33
<b>Ácido Úrico (mg/dL)</b>	1.06 <sup>a</sup>	0.84	0.30-3.30	10	3.45 <sup>b</sup>	3.57	0.30-12.90	33
<b>Colesterol (mg/dL)</b>	148	28.94	98-176	10	176	56	81-326	32
<b>Triglicéridos (mg/dL)</b>	186	122	54.5-407	10	160	108	24-484	32
<b>Glucosa (mg/ dL)</b>	93.45 <sup>a</sup>	10.46	79-111	10	135 <sup>b</sup>	42.04	71.50-298	32
<b>Calcio (mg/dL)</b>	7.15	1.71	3.80-10	10	7.94	2.33	1.80-12.45	33
<b>Fósforo (mg/dL)</b>	11.98	3.23	7.55-17.10	8	10.93	5.83	0.64-27.60	32

Anexo 2 (Continua)

	Estación							
	Invierno				Verano			
	Media	DE	Rango	n	Media	DE	Rango	n
<b>Bahía Magdalena</b>								
<b>LRC (cm)</b>	56.01	6.60	48-68.20	10	58.50	9.90	40.40-80.30	14
<b>Proteínas totales (g/dL)</b>	4.60	0.80	3.30-5.85	10	4.67	0.78	3.20-5.70	14
<b>Albúmina (g/dL)</b>	0.77	0.12	0.65-0.96	9	0.82	0.38	0.10-1.70	14
<b>Globulina (g/dL)</b>	3.94	0.71	2.65-4.89	9	3.85	0.87	2-5	14
<b>Razón A/G</b>	0.20	0.03	0.15-0.25	9	0.24	0.15	0.02-0.60	14
<b>Alcalina Fosfatasa (U/L)</b>	41.43	23.94	8.85-93.7	9	72.42	68.93	8.63-284	14
<b>Colinesterasa (U/L)</b>	2744	3227	306-7452	10	3201	2011	126-5683	12
<b>ALT (U/L)</b>	20.78	10.77	5-43	9	26.38	21.13	3.50-78	14
<b>AST (U/L)</b>	190	55.05	119-300	9	186	85.51	17.52-341	14
<b>GGT (U/L)</b>	3.38	3.04	0.55-9.75	9	6.02	9.15	1.20-36.05	14
<b>Potasio (mmol/L)</b>	2.90	1.21	1.40-4.55	10	3.19	1.89	0.80-7.30	14
<b>Sodio (mmol/L)</b>	149	10.32	134-161	7	144	13.83	120-159	6
<b>Creatinina (mg/dL)</b>	1.81	0.31	1.20-2.10	10	2.64	3.63	0.51-11.40	14
<b>Ácido Úrico (mg/dL)</b>	1.58	0.91	0.55-3.5	10	2.69	2.35	0.35-8.50	14
<b>Colesterol (mg/dL)</b>	98.15 <sup>a</sup>	38.93	56-185	10	150 <sup>b</sup>	68.72	50.50-277	14
<b>Triglicéridos (mg/dL)</b>	106 <sup>a</sup>	36.91	49-162	10	176 <sup>b</sup>	94.78	38-311	13
<b>Glucosa (mg/ dL)</b>	120	38.36	73.50-160	10	132	34.03	87-206	14
<b>Calcio (mg/dL)</b>	7.59	0.83	6.05-9.25	10	7.77	1.47	5.50-10.55	14
<b>Fósforo (mg/dL)</b>	9.93	1.80	7.70-12.85	9	10.54	4.88	2.51-17.50	14

Abreviaturas: LRC, largo recto del caparazón; DE, desviación estándar; Razón A/G, razón albúmina/globulina; ALT, alanina aminotransferasa; AST, aspartato aminotransferasa; GGT, gamma glutamiltransferasa; NA, no aplica; superíndices, diferencias estadísticamente significativas entre grupos  $p < 0.05$ .

**Anexo 3.** Parámetros de la química sanguínea de tortuga prieta (*Chelonia mydas*) de Punta Abreojos y Bahía Magdalena agrupados por año.

	Año							
	2005				2006			
	Media	DE	Rango	n	Media	DE	Rango	n
<b>Punta Abreojos</b>								
LRC (cm)	64.10	10.90	48.60-91.50	33	63.40	14.30	43.90-92.40	10
Proteínas totales (g/dL)	5.68	1.17	1.16-7.94	32	5.15	0.76	3.90-6.30	10
Albúmina (g/dL)	1.11 <sup>a</sup>	0.25	0.70-1.58	31	1.82 <sup>b</sup>	0.17	1.60-2.10	10
Globulina (g/dL)	4.66 <sup>a</sup>	1.15	0.32-7.03	30	3.33 <sup>b</sup>	0.67	2.30-4.50	10
Razón A/G	0.32 <sup>a</sup>	0.44	0.13-2.61	30	0.56 <sup>b</sup>	0.10	0.40-0.74	10
Alcalina Fosfatasa (U/L)	52.76 <sup>a</sup>	20.27	9.20-112.35	33	10.11	8.41	0-24.93	10
Colinesterasa (U/L)	4324	538	3365-5290	33	NA	NA	NA	0
ALT (U/L)	18.95 <sup>a</sup>	23.50	1.50-98	33	16.55 <sup>b</sup>	4.17	11.28-25.59	10
AST (U/L)	231 <sup>a</sup>	56.75	154-346	33	23.39 <sup>b</sup>	15.45	10.05-51.88	10
GGT (U/L)	1.19	1.85	0.00-5.28	19	2.38	0.31	2.10-3.0	10
Potasio (mmol/L)	4.71	1.63	2.75-8.95	32	4.24	1.07	2.60-6.60	10
Sodio (mmol/L)	168 <sup>a</sup>	19.66	142-211	15	153 <sup>b</sup>	5.14	143-160	10
Creatinina (mg/dL)	2.01 <sup>a</sup>	0.14	1.70-2.37	33	12.50 <sup>b</sup>	1.12	11.40-14.80	10
Ácido Úrico (mg/dL)	1.30 <sup>a</sup>	0.77	0.30-3.30	33	8.15 <sup>b</sup>	2.97	3.50-12.90	10
Colesterol (mg/dL)	168	45.31	96.50-279	32	173	71.94	81-326	10
Triglicéridos (mg/dL)	159	109	24-484	32	189	117	67-415	10
Glucosa (mg/ dL)	110 <sup>a</sup>	22.87	71.50-158	32	173 <sup>b</sup>	49.58	131-298	10
Calcio (mg/dL)	8.33 <sup>a</sup>	1.81	3.80-12.45	33	5.84 <sup>b</sup>	2.42	1.80-10.50	10
Fósforo (mg/dL)	13.12 <sup>a</sup>	4.47	7.55-27.60	30	5.19 <sup>b</sup>	3.04	0.64-10.07	10



Anexo 3. (Continúa)

	Año											
	2005				2006				2007			
	Media	DE	Rango	n	Media	DE	Rango	n	Media	DE	Rango	n
<b>Bahía Magdalena</b>												
<b>LRC (cm)</b>	62.40	4.07	57-68.20	5	57.40	7.09	46.30-70.40	8	57.04	10.3	48-80.30	9
<b>Proteínas totales (g/dL)</b>	4.82 <sup>a</sup>	0.83	3.60-5.85	5	5.18 <sup>a</sup>	0.53	4.10-5.70	8	4.36 <sup>b</sup>	0.56	3.30-5.35	9
<b>Albúmina (g/dL)</b>	0.75	0.18	0.60-0.96	4	0.83	0.47	0.10-1.70	8	0.74	0.13	0.50-0.95	9
<b>Globulina (g/dL)</b>	4.38 <sup>a</sup>	0.51	3.66-4.89	4	4.34 <sup>a</sup>	0.54	3.50-5	8	3.62 <sup>b</sup>	0.55	2.65-4.65	9
<b>Razón A/G</b>	0.17	0.05	0.13-0.23	4	0.20	0.13	0.02-0.48	8	0.21	0.05	0.13-0.27	9
<b>Alcalina Fosfatasa (U/L)</b>	46.96	34.33	8.63-80.96	4	90.27	86.32	14.43-284	8	45.68	23.41	8.85-93.70	9
<b>Colinesterasa (U/L)</b>	5172 <sup>a</sup>	1592	3365-7452	5	4856 <sup>a</sup>	1620	2463-7211	7	299 <sup>b</sup>	89.31	126-398	9
<b>ALT (U/L)</b>	8.38 <sup>a</sup>	4.82	5-15.50	4	20.54 <sup>a</sup>	12.89	3.50-41.50	8	35.39 <sup>b</sup>	20.12	14-78	9
<b>AST (U/L)</b>	178	47.20	119-225	4	173	81	17.52-300	8	218	57.47	156-341	9
<b>GGT (U/L)</b>	3.65	1.53	2.08-5.28	4	8.46	11.73	1.30-36.05	8	3.08	3.18	0.55-9.75	9
<b>Potasio (mmol/L)</b>	3.86	0.72	2.65-4.55	5	2.93	2.24	0.80-7.30	8	2.89	1.32	1.40-4.75	9
<b>Sodio (mmol/L)</b>	161	NA	NA	1	139	27.16	120-159	2	146	8.74	134-158	9
<b>Creatinina (mg/dL)</b>	1.82	0.20	1.60-2.03	5	2.37	3.71	0.51-11.40	8	1.74	0.32	1.20-2.10	9
<b>Ácido Úrico (mg/dL)</b>	1.24	0.95	0.35-2.50	5	3.18	2.91	0.75-8.50	8	1.84	1.13	0.70-3.70	9
<b>Colesterol (mg/dL)</b>	146	57.02	65-209	5	154	82.66	50.50-277	8	104	42.23	53-185	9
<b>Triglicéridos (mg/dL)</b>	87.75	39.40	40-127	4	182	88.46	57.50-307	8	149	80.21	49-311	9
<b>Glucosa (mg/ dL)</b>	127	57.75	74-206	5	116	25.03	73.50-150	8	130	32.16	87-160	9
<b>Calcio (mg/dL)</b>	8.31	1.44	6.05-9.80	5	7.87	1.47	5.50-10.55	8	7.27	0.64	6.05-8	9
<b>Fósforo (mg/dL)</b>	9.35 <sup>a</sup>	1.86	7.35-11.85	4	13.36 <sup>b</sup>	3.30	9.07-17.50	8	8.24 <sup>a</sup>	2.28	4.60-12.85	9

Abreviaturas: LRC, largo recto del caparazón; DE, desviación estándar; Razón A/G, razón albúmina/globulina; ALT, alanina aminotransferasa; AST, aspartato aminotransferasa; GGT, gamma glutamiltransferasa; NA, no aplica; superíndices, diferencias estadísticamente significativas entre grupos  $p < 0.05$ .

**Anexo 4.** Cargas factoriales del análisis de componentes principales realizado sobre 20 contaminantes químicos medidos en 10 tortugas prietas capturadas en Bahía Magdalena. Valores obtenidos sin rotación. Los valores >0.70, resaltados en negritas, fueron considerados como significativos.

	CP 1 (33.6%)	CP 2 (19.1%)	CP 3 (14.6%)
<b>Varianza acumulada (%)</b>	33.6	52.7	67.3
<b>Cd</b>	0.3423	-0.5186	0.1762
<b>Fe</b>	-0.2959	0.5100	-0.5013
<b>Zn</b>	-0.3042	0.1204	-0.4075
<b>Ni</b>	-0.5191	0.1983	-0.6968
<b>Si</b>	0.6790	-0.5032	-0.3562
<b>Se</b>	0.0645	-0.6152	-0.5217
<b>Mg</b>	-0.1195	0.0389	-0.8318
<b><math>\alpha</math>-HCH</b>	-0.6224	0.0143	-0.3147
<b><math>\beta</math>-HCH</b>	<b>-0.8979</b>	-0.4128	0.1023
<b><math>\gamma</math>-HCH</b>	<b>-0.8911</b>	-0.3278	0.2001
<b><math>\delta</math>-HCH</b>	<b>-0.9453</b>	-0.1369	0.1163
<b><math>\Sigma</math>HCH<sup>a</sup></b>	<b>-0.9327</b>	-0.3235	0.1081
<b>Aldrin</b>	-0.1998	0.4770	0.0190
<b><math>\Sigma</math>Ciclodienos<sup>b</sup></b>	0.1288	0.5121	-0.0536
<b><math>\Sigma</math>Clordanos<sup>c</sup></b>	0.4905	-0.3682	0.3451
<b>Heptacloro</b>	0.3107	<b>-0.8344</b>	-0.2523
<b>Heptacloro epóxido</b>	<b>-0.8307</b>	-0.1095	0.1999
<b><math>\Sigma</math>Heptacloros<sup>d</sup></b>	0.2125	<b>-0.8574</b>	-0.2307
<b>Hexaclorobenceno</b>	<b>-0.8804</b>	-0.3581	0.2117
<b><math>\Sigma</math>DDT<sup>e</sup></b>	0.1393	0.1020	0.6330

Abreviaturas: CP, componente principal; Cd, cadmio; Fe, hierro; Zn, zinc; Ni, níquel; Si, silicio; Se, selenio; Mg, magnesio; HCH, hexaclorociclohexano;

<sup>a</sup>  $\Sigma$ HCH = suma de los isómeros  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ .

<sup>b</sup>  $\Sigma$ Ciclodienos = suma de aldrin, endrin, endrin sulfato, endrin aldehído, endrin cetona, endosulfan I, endosulfan II, endosulfan sulfato, dieldrin

<sup>c</sup>  $\Sigma$ Clordanos = suma de isómeros  $\alpha$ ,  $\delta$

<sup>d</sup>  $\Sigma$ Heptacloros = suma de heptacloro, heptacloro epóxido

<sup>e</sup>  $\Sigma$ DDT = suma de o,p'-DDT, o,p'-DDD, o,p'-DDE, p,p'-DDT, p,p'-DDD, p,p'-DDE.

**Anexo 5.** Cargas factoriales del análisis de componentes principales realizado sobre 20 contaminantes químicos medidos en 35 tortugas prietas capturadas en Punta Abreojos. Valores obtenidos sin rotación. Los valores >0.53, resaltados en negritas, fueron considerados como significativos.

	CP 1 (27.1%)	CP 2 (11.4%)	CP 3 (10.6%)
<b>Varianza acumulada (%)</b>	27.1	38.6	49.1
<b>Cd</b>	0.1490	0.4068	-0.3344
<b>Fe</b>	0.2862	0.2707	0.5167
<b>Zn</b>	0.1922	<b>0.5356</b>	0.4956
<b>Ni</b>	-0.1009	<b>0.5498</b>	-0.5018
<b>Si</b>	0.2441	0.4633	-0.2905
<b>Se</b>	0.0440	<b>-0.5640</b>	-0.2906
<b>Mg</b>	0.0357	0.2663	0.5145
<b><math>\alpha</math>-HCH</b>	<b>-0.8286</b>	0.2077	-0.1482
<b><math>\beta</math>-HCH</b>	<b>-0.8301</b>	0.0323	-0.0508
<b><math>\gamma</math>-HCH</b>	<b>-0.7687</b>	-0.1982	-0.1349
<b><math>\delta</math>-HCH</b>	<b>-0.5701</b>	0.2866	0.2006
<b><math>\Sigma</math>HCH<sup>a</sup></b>	<b>-0.9662</b>	0.0513	-0.0212
<b>Aldrin</b>	0.2330	0.2922	0.1606
<b>Endrin</b>	<b>-0.5742</b>	0.5271	-0.3879
<b><math>\Sigma</math>Ciclodienos<sup>b</sup></b>	0.1422	0.3644	-0.0254
<b><math>\Sigma</math>Clordanos<sup>c</sup></b>	-0.0093	-0.2624	-0.0969
<b>Heptacloro</b>	<b>-0.8209</b>	-0.1845	0.3591
<b>Heptacloro epóxido</b>	-0.4274	0.2729	0.1632
<b><math>\Sigma</math>Heptacloros<sup>d</sup></b>	<b>-0.8446</b>	-0.1426	0.3665
<b><math>\Sigma</math>DDT<sup>e</sup></b>	0.1274	0.0098	0.4959

Abreviaturas: CP, componente principal; Cd, cadmio; Fe, hierro; Zn, zinc; Ni, níquel; Si, silicio; Se, selenio; Mg, magnesio; HCH, hexaclorociclohexano;

<sup>a</sup>  $\Sigma$ HCH = suma de los isómeros  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ .

<sup>b</sup>  $\Sigma$ Ciclodienos = suma de aldrin, endrin, endrin sulfato, endrin aldehído, endrin cetona, endosulfan I, endosulfan II, endosulfan sulfato, dieldrin

<sup>c</sup>  $\Sigma$ Clordanos = suma de isómeros  $\alpha$ ,  $\delta$

<sup>d</sup>  $\Sigma$ Heptacloros = suma de heptacloro, heptacloro epóxido

<sup>e</sup>  $\Sigma$ DDT = suma de o,p'-DDT, o,p'-DDD, o,p'-DDE, p,p'-DDT, p,p'-DDD, p,p'-DDE.

## Health Indices of the Green Turtle (*Chelonia mydas*) Along the Pacific Coast of Baja California Sur, Mexico. I. Blood Biochemistry Values

VANESSA LABRADA-MARTAGÓN<sup>1</sup>, LIA C. MÉNDEZ-RODRÍGUEZ<sup>1</sup>, SUSAN C. GARDNER<sup>1</sup>,  
MELANIA LÓPEZ-CASTRO<sup>2</sup>, AND TANIA ZENTENO-SAVÍN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa de Planeación Ambiental y Conservación, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, Baja California Sur, México [vlabrada@cibnor.mx; lmendez04@cibnor.mx; gardnerscm@yahoo.com; tzenteno04@cibnor.mx];

<sup>2</sup>Department of Biology, University of Florida, Gainesville, Florida USA [melania\_lopez@yahoo.com.mx]

**ABSTRACT.** – The green sea turtle (also known locally as black turtle; *Chelonia mydas*) is 1 of 5 species of sea turtles found along the coast of the state of Baja California Sur, Mexico, where several bays and lagoon systems provide an important growth and feeding habitat. We characterized blood biochemistry values of 67 green turtles captured at 2 mangrove estuaries along the Pacific coast of the Baja California Peninsula, Mexico, from 2005 to 2007. Blood samples were collected from live turtles for biochemical analysis of 18 parameters and analyzed by physical state (healthy, injured), size classes, season, and geographic location. Green turtles showed differences in the variability of the biochemical parameters between the 2 sites. In Punta Abreojos, injured sea turtles had lower calcium (28%), potassium (28%), and inorganic phosphorus (34.5%) levels and higher cholinesterase activity (16%) compared to healthy turtles. Juvenile turtles collected in Bahía Magdalena had higher glucose levels (34%) than subadults. Levels of triglycerides, total proteins, and albumin correlated positively with size. During the summer and during the years 2005 (Bahía Magdalena, BMA) and 2006 (Punta Abreojos, PAO), individuals had significantly higher concentrations of lipid (cholesterol and triglycerides), glucose, uric acid, and protein. Differences in the habitat, food availability, and environmental conditions between BMA and PAO were reflected in the variability of the biochemical parameters when compared by different factors, such as physical state, size, and seasonality. This is the first report of blood biochemical values of green sea turtles in the Pacific coast of Baja California, Mexico. All serum chemistry values of green sea turtles were within published reference ranges of healthy sea turtle population.

**KEY WORDS.** – Reptilia; Testudines; Cheloniidae; black sea turtle; blood chemistry; *Chelonia mydas*; conservation; East Pacific; health

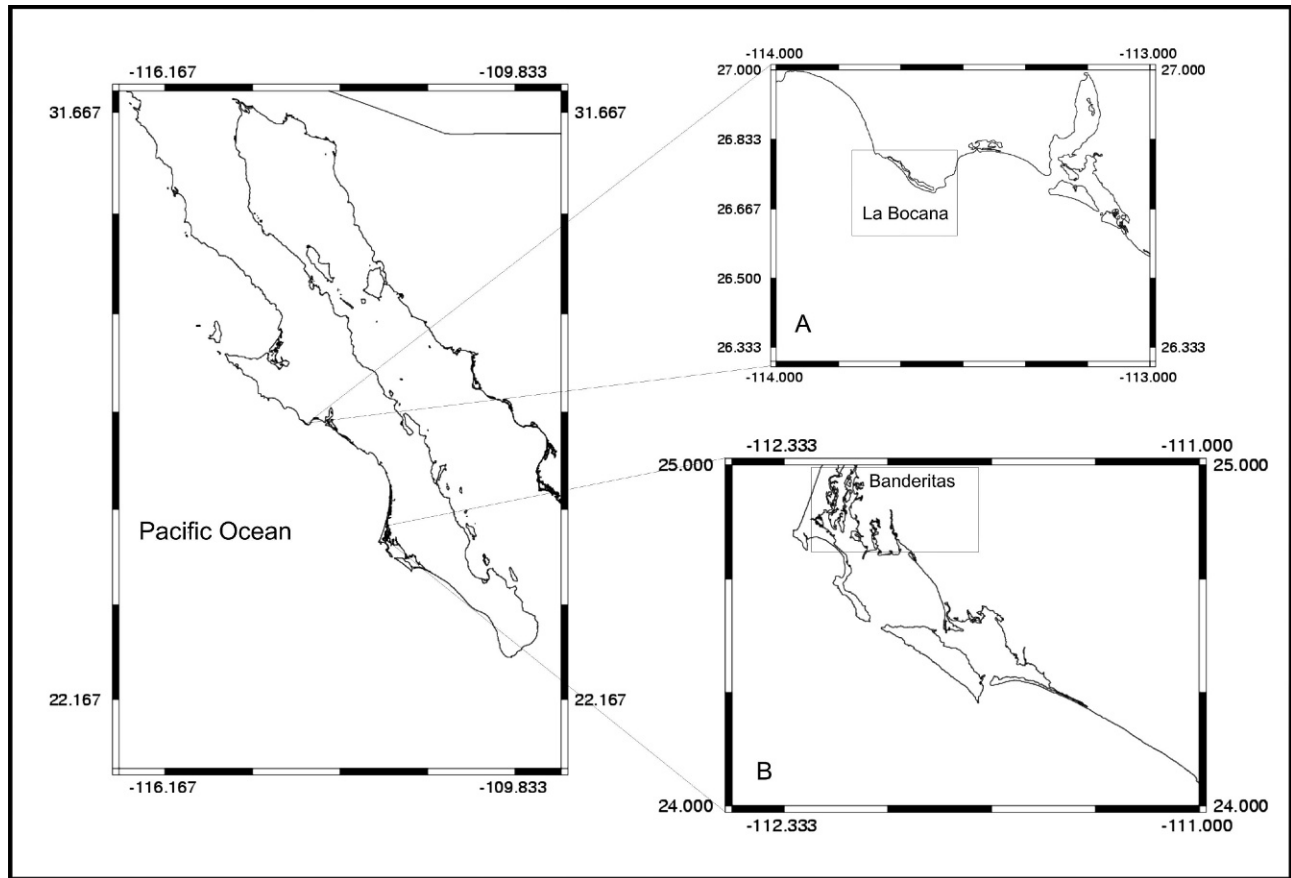
Understanding the blood biochemistry is a useful diagnostic tool for evaluating and monitoring health and physical status of wildlife (Aguirre and Balazs 2000). Biochemical markers are the first to be detected and the most sensitive, thus aiding in pointing out possible additional effects that an organ or individual could suffer. Alterations at the biochemical level reflect not only exposure but also the effect that changes in the chemical environment have on the organism (Stegeman et al. 1992).

The levels to which the chemical contaminants must increase in order to be harmful or critical to the health of sea turtles are unknown. Keller et al. (2004) found several correlations between contaminant concentration and indicators of health and nutritional status, suggesting that sea turtles are highly sensitive to low concentrations of organochlorine (OC) contaminants. In green turtles from Bahía Magdalena (BMA) Cordero-Tapia (2005) found histopathological damage associated with intoxication by unidentified chemical contaminants. These authors also found all the causative agents commonly associated with fibropapillomatosis in sea turtles without findings of

symptomatology in the green turtles (Cordero-Tapia 2005).

At present, there is limited information on the health status of the population of east Pacific green turtle (*Chelonia mydas*), known regionally as black sea turtle, in Baja California Sur. Recent studies have reported the presence of a variety of heavy metals and OCs in the tissues of this species in Baja California Peninsula and Gulf of California (Presti et al. 1999; Gardner et al. 2003; Fitzgerald 2004; Gardner et al. 2006; Kampalath et al. 2006), at concentrations higher than those reported for other sea turtles species globally of cadmium, iron, nickel, and zinc (Gardner et al. 2006). The presence of heavy metals and trace elements in these waters has been attributed mostly to natural causes, such as currents and upwelling (Méndez et al. 1998; Shumilin et al. 2000, 2001); the coast of Baja California Sur has long been considered a pristine zone without major environmental alteration (Kampalath et al. 2006).

The green turtle is 1 of 5 species of sea turtles inhabiting coastal waters of the Baja California peninsula in Mexico. The coasts, bays, and lagoons of the peninsula



**Figure 1.** Study sites. (A) Punta Abreojos, Estero La Bocana; (B) Bahía Magdalena, Estero Banderitas.

provide the sea turtles of this species with a favorable habitat for growth and feeding (Cliffton et al. 1995; Gardner and Nichols 2001). The coastal zones of Punta Abreojos (PAO) and BMA provide habitat for 5 sea turtle species in Mexico (Cliffton et al. 1995; Gardner and Nichols 2001). Both zones contain economically important centers of the fishing industry (Martínez de la Torre 1998; Maya and Guzmán 1998). Although declaration of total ban on sea turtle fisheries and trade of derived products was established in 1990 in Mexico (Diario Oficial de la Federación 2002), the traditional use of sea turtle meat for human consumption (Koch et al. 2006) and their capture as incidental species by fishing nets have contributed to the high mortality rate of sea turtles in the Baja California peninsula, particularly the green sea turtle (Gardner and Nichols 2001; Koch et al. 2006). Other major threats to sea turtle populations include degradation and/or loss of habitat through industrial contaminants, and urban development. Increasing growth of the fishing industry and of urbanization in BMA has generated environmental health concerns, mainly due to the lack of necessary infrastructure for the waste elimination (Castellanos and Mendoza 1991 in Maya and Guzmán 1998; Méndez et al. 1998; Shumilin et al. 2001).

With the ultimate goal of providing baseline data for future studies, the objectives of this work were to determine biochemical analytes in the blood of green

sea turtles from 2 zones on the western coast of Baja California Sur, Mexico, and to compare these values by size class, physical state, season, year of capture, and zone of capture. Identifying biological markers of the health status of the east Pacific green turtle will be valuable in long term studies, particularly in studies where this population is used as a regional indicator of ambient degradation.

## METHODS

*Study Area.* — PAO is located in the northwestern coast of Baja California Sur (lat  $26^{\circ}43'57''N$ ; long  $113^{\circ}35'44''W$ ; Fig. 1). It lies west of Laguna San Ignacio and is bordered on the south by the Pacific Ocean, on the east by Bahía Ballenas, and on the northwest by Estero La Bocana (INEGI 1995). PAO has a very dry, semi-hot climate, with rains in the winter. The percentage of winter precipitation is less than 36% (INEGI 1995). The sea turtles were captured in Estero La Bocana, which lies between lat  $26^{\circ}44'N$  and  $26^{\circ}49'N$  and between long  $113^{\circ}37'W$  and  $113^{\circ}42'W$  (Guzmán 1998; Fig. 1). It is a mangrove channel, parallel to the coast, which is bordered by a sandbar that extends from Punta Abreojos in the south to the extreme north where its mouth opens into the Pacific Ocean (INEGI 1995; Guzmán 1998).

The coastal lagoon of BMA is located on the western coast of Baja California Sur (lat 24°20'N to 25°43'N; long 111°20'W to 112°15'W; Fig. 1). Protected from the Pacific Ocean by 2 islands (Margarita and Magdalena) that form a barrier, BMA (175 km in length; 1000 km<sup>2</sup> in area) is linked to the ocean by means of 5 channels (Guzmán 1998; López-Mendilaharsu et al. 2005; Kampalath et al. 2006). It has a very dry, semi-hot climate, with rains in the summer and with a winter precipitation percentage of less than 10% (INEGI 1995). The temperature at the ocean surface is highest at the end of summer and the beginning of autumn (September; 25°C–28°C), with minimum temperatures in the spring (March, 19°C–21°C; Lluch-Belda et al. 2000). In this coastal lagoon, the capture of sea turtles was carried out within Estero Banderitas, located in the northeastern zone of BMA (lat 24°47'N to 25°01'N, long 112°04'W to 112°10'W; Fig. 1); it is the channel with the greatest growth of mangroves in the lagoon (42 km<sup>2</sup>; Koch et al. 2007). Estero Banderitas is formed by channels divided by dunes and coastal plains of submergible land and is protected from the Pacific Ocean by a sandbar and dune fields and, to the south, by Isla Magdalena (INEGI 1995).

**Turtle Capture.** — Field trips were made to the sampling sites during the years 2005–2007. Sea turtles were captured with monofilament fishing nets (100 m long; 20-cm mesh), suspended in the water and monitored every 2 hours during each sampling period to search for entangled turtles. This 2-hour interval was established to avoid drowning of the sea turtles. The handling time, considered as the period from the time a turtle was recovered from the net to the time when the blood sample was obtained, was recorded; turtles were released immediately after blood collection.

The effective sampling time, considered as the period in which the net was in the water, varied from 2 to 24.5 hours, in accordance with the logistics of the trips and with the climatic conditions and tides in each zone. The annual catch per unit of effort (CPUE) was calculated for each zone as the number of turtles captured per year divided by the number of effort units, where one unit of effort was defined as 100 m of net per hour (Koch et al. 2007). The seasons of capture were those as defined by Koch et al. (2007): summer (May–October) and winter (November–April).

For each turtle captured, we measured straight carapace length (SCL; from nuchal notch to tip of distal marginal scute) with calipers ( $\pm$  0.1 cm) and weight with a 150-kg spring scale ( $\pm$  0.1 kg). The physical state of the turtles, determined by visual inspection, was defined as 1) healthy, absence of apparent disease; 2) injured, if an epibiotic species was present and when at least one of the following conditions were present: barnacles or ectoparasites, any external skin or carapace lesion, recent traumatic injuries (scars were discounted), flipper amputations, or obvious signs of illness (e.g., emaciation); and

3) no physical data, the turtle had not been visually inspected.

Turtles were assigned to 1 of 4 size classes as defined by Aguirre and Balazs (2000) in order to make possible the comparisons of the results with the literature: 1) immature, < 35 cm SCL; 2) juvenile 35–65 cm SCL; 3) subadult, 66–85 cm SCL; and 4) adult, turtles > 85 cm SCL.

**Biological Samples and Laboratory Analysis.** — Blood was drawn from the venous cervical sinus (Owens and Ruiz 1980) as described elsewhere (Keller et al. 2006) using double-ended Vacutainer<sup>®</sup> needles (1.5 inch, 32 mm caliber) directly into Vacutainer blood collection tubes (7 mL, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) and without anticoagulant. Blood samples were maintained on ice until arrival at the camp, within 3 hours, where they were centrifuged (890  $\times$  g) for 10 minutes to obtain the serum. Each serum sample was transferred into labeled microtubes (1.5 mL cryovials, Eppendorf<sup>®</sup>) and stored in a cryogenic shipper (5.4 L) (Taylor Wharton CP 100) until arrival at the laboratory where they were stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until being processed.

In the laboratory, the sera samples were analyzed, in duplicate, using spectrophotometric techniques by using a semi-automated clinical chemistry analyzer Microlab 300 (Dieren, Netherlands) and commercial kits (Randox Laboratories Ltd., Ardmore, United Kingdom). These kits have been used to obtain blood chemistry reference values of the same species, *C. mydas*, in Australia and the Indian Ocean (Hamann et al. 2006; Whiting et al. 2007). We measured 18 biochemical parameters, including protein concentration, levels of electrolytes, lipids, excretion products, glucose, calcium (Ca), and inorganic phosphorus (P), and the activities of enzymes (alkaline phosphatase, cholinesterase, alanine aminotransferase [ALT], aspartate aminotransferase [AST], and gamma-glutamyl transferase [GGT]).

**Statistical Analysis.** — The Kolmogorov-Smirnov test was used to test for normality and Bartlett's test to determine the homoscedasticity of variance of the variables. The correlation between the handling time of the sea turtles and their biochemical data was evaluated. To assess differences between the biochemical variables between groups, parametric (Student *t*-test and ANOVA) or nonparametric (Mann-Whitney U-test and Kruskal-Wallis) analyses were performed, as appropriate. After the analysis of variance, multiple comparison tests of Tukey were performed. The biochemical variables were analyzed, taking each capture site separately; the significant differences were then analyzed between the factors of physical state, age, season, and year, in that order. The variables that showed significant differences in a factor were considered by group in the subsequent analysis, with the aim of reducing variability in the results. Data for animals in which information of physical state was not available were excluded from the analyses when physical state was the categorical variable. Factorial

**Table 1.** Number of green sea turtles (*Chelonia mydas*) captured and catch per unit effort (CPUE) during 2005–2007.<sup>a</sup>

	No. of turtles		%	No. of departures	Effort units	Annual CPUE	CPUE per site
	Captured	Recaptured					
Punta Abreojos							
2005	41	0	NA	4	37	1.11	
2006	12	0	NA	2	15.65	0.77	
2007	0	0	NA	1	ND	ND	
Total	53	0			52.65		1.01
Bahía Magdalena							
2005	16	0	NA	5	98	0.16	
2006	15	2	13.3	5	85	0.21	
2007	19	0	NA	7	133	0.14	
Total	50	2			316		0.17

<sup>a</sup> NA = not applicable; ND = no data.

ANOVA was used to evaluate the effect of the interaction between the “year” and “season” factors on the concentration of lipids in the turtles captured in BMA. All results with a  $p \leq 0.05$  were considered significant.

## RESULTS

**Turtle Capture.** — During 2005–2007, 53 and 50 green turtles were captured in PAO (La Bocana) and BMA, respectively. In PAO, the CPUE was greater than that in BMA (Table 1). In the latter area, the similar number of captured turtles was due to the greater capture effort (316 net hours), both seasonally and annually compared with PAO (52.65 net hours).

For both sites and all years of study, the predominant age group was juveniles (PAO, 70%; BMA, 88%), followed by subadults. In neither zone were oceanic turtles caught; throughout the course of the study, only 3 adults were captured (PAO). In BMA, the average SCL of the captured turtles was  $57.4 \pm 8.1$  cm (41.4–80.3 cm) and the average weight,  $29 \pm 15.2$  kg (4.8–68.1 kg); in PAO, the average values were  $63.9 \pm 11.6$  cm (43.9–92.4 cm) and  $38.2 \pm 23.4$  kg (11.3–107.9 kg), respectively.

Blood biochemistry was not performed on all individuals, either because of insufficient sample quantity or hemolysis. Data were obtained from 43 sea turtles captured in PAO and 24 from BMA. The average handling time was  $104 \pm 74$  minutes (20–285 minutes). The handling time was correlated with the concentration of glucose ( $r = 0.58$ ,  $p < 0.01$ ) and triglycerides ( $r = -0.60$ ,  $p < 0.01$ ) in BMA and with the concentration of creatinine ( $r = 0.60$ ,  $p < 0.01$ ), alkaline phosphatase ( $r = -0.39$ ,  $p = 0.03$ ) and AST ( $r = -0.40$ ,  $p = 0.03$ ) in PAO.

**Comparison by Physical Condition.** — Of the 67 individuals from which blood was collected, 46% ( $n = 31$ ) were classified as healthy turtles and 43% ( $n = 29$ ) as turtles with external lesions or ectoparasites; there were no data on the physical state of 7 turtles. The presence of barnacles was the most common character-

istic found in the physical examination; barnacles and algae were usually found on the carapace, plastron, mouth, hind flippers, and even the eyelids. In some turtles, barnacles were encrusted along lesions on the edges of the flippers, generating bleeding and probably delaying the process of scar formation. Eight sea turtles evidenced any recent or open wounds, such as welts, scratches, or cuts on the body, flippers, or carapace. None of the lesions of the captured sea turtles was severe, and none of the observed lesions suggested predation or anthropogenically caused damage. None of the sea turtles presented symptoms of fibropapillomatosis, and only 3 emaciated sea turtles were found. Unidentified worm-like ectoparasites were observed in the ventral aspect of flippers of only one individual from BMA. No evidence of injuries caused by the net used to capture sea turtles was found.

In PAO, the turtles with lesions, wounds, and/or the presence of barnacles or parasites showed lower levels of Ca ( $p < 0.001$ ), potassium (K) ( $p < 0.001$ ), and P ( $p = 0.009$ ) and a higher activity of cholinesterase ( $p < 0.001$ ), when compared with healthy turtles. In BMA, healthy and injured green turtles showed no significant differences in any of the biochemical variables. At both sites, the injured turtles had uric acid concentrations that were 47% higher and ALT activities 30% greater than those of the healthy individuals, although neither was significant.

**Comparison by Size.** — Table 2 presents the average values and the ranges of the biochemical parameters of the green turtles by size class and study sites. For the 70 turtles analyzed, the biochemical variables that showed a positive correlation with size (SCL) of the individual were triglycerides ( $r = 0.41$ ;  $p < 0.001$ ;  $y = -77.98 + 3.86x$ ), albumin ( $r = 0.25$ ;  $p = 0.04$ ;  $y = 0.46 + 0.01x$ ), and total protein ( $r = 0.33$ ;  $p = 0.007$ ;  $y = 3.28 + 0.032x$ ).

For PAO, the levels of triglycerides for adult turtles were statistically higher than for subadults or juveniles ( $p = 0.02$ ). The adults also presented 18% higher levels of total proteins and 60% higher ALT activity than did juveniles, while presenting cholesterol concentrations that

Table 2. Blood biochemistry values of the green turtle (*Chelonia mydas*) from Punta Abreojos and Bahía Magdalena grouped by size class (SCL).<sup>a</sup>

	Size class											
	>35–65 cm SCL (juveniles)				>65–85 cm SCL (subadults)				>85 cm (adults)			
	Mean	SD	Range	n	Mean	SD	Range	n	Mean	SD	Range	n
<b>Punta Abreojos</b>												
Total protein (g/dL)	5.46	0.86	3.90–6.85	27	5.49	1.47	1.16–7.39	12	6.63	1.15	5.80–7.94	3
Albumin (g/dL)	1.26	0.38	0.70–2.00	26	1.27	0.37	0.79–2.00	12	1.47	0.60	0.92–2.10	3
Globulin (g/dL)	4.28	1.03	2.30–5.80	25	4.21	1.41	0.32–6.08	12	5.16	1.70	3.70–7.03	3
A/G ratio	0.33	0.18	0.13–0.74	25	0.49	0.68	0.16–2.61	12	0.33	0.22	0.13–0.57	3
Alkaline phosphatase (U/L)	42.63	28.05	0.00–112.35	28	40.95	18.43	5.25–68.75	12	52.30	34.98	12.25–76.81	3
Cholinesterase (U/L)	4324.04	550.06	3365.04–5290.23	21	4245.38	558.89	3602.58–5181.73	10	4721.33	201.14	4579.10–4863.55	2
ALT (GPT) (U/L)	18.84	20.72	3.50–98	28	10.10	6.98	1.50–21	12	47.43	34.50	11.28–80	3
AST (GOT) (U/L)	191.39	111.82	10.05–346.50	28	169.10	74.90	10.14–264	12	167.07	131.89	18.7–271	3
GGT (U/L)	1.75	1.68	0.00–5.28	20	0.94	1.33	0.03–2.80	6	1.96	1.70	0.12–3.47	3
Potassium (mmol/L)	4.70	1.62	2.6–8.95	28	4.52	1.45	2.75–7.30	11	3.93	0.71	3.45–4.75	3
Sodium (mg/dL)	297.74	130.57	143–487.55	17	284.84	101.25	153–373.60	6	284.43	175.96	160–408.85	2
Creatinine (mg/dL)	1.97	0.13	1.70–2.25	21	2.01	0.11	1.88–2.23	10	2.32	0.07	2.27–2.37	2
Uric acid (mg/dL)	2.64	2.67	0.30–9.90	28	3.06	4.40	0.30–12.90	12	4.58	4.58	1.2–9.80	3
Cholesterol (mg/dL)	164.8	38.43	98–234	26	176.71	59.82	83–279	12	132.17	46.25	81–171	3
Triglycerides (mg/dL)	144.80a	83.62	24–363.5	28	181.64a	134.15	36–484.5	11	318.67	160.40	133.5–415	3
Glucose (mg/dl)	123.65	31.19	80.50–199	27	119.54	32.17	71.5–198	12	164.83b	116.92	79–298	3
Calcium (mg/dL)	7.52	2.17	1.8–10.5	28	8.17	2.41	4.00–12.45	12	8.32	2.15	5.9–10	3
Phosphorus (mg/dL)	11.26	5.47	3.66–27.60	25	11.41	5.06	0.64–19.55	12	9.04	7.70	1.77–17.10	3
<b>Bahía Magdalena</b>												
Total protein (g/dL)	4.65	0.76	3.2–5.85	21	4.58	1.06	3.6–5.7	3				
Albumin (g/dL)	0.81	0.31	0.1–1.7	21	0.71	0.29	0.5–0.915	2				
Globulin (g/dL)	3.84	0.81	2.00–5.00	21	4.37	0.59	3.95–4.79	2				
A/G ratio	0.23	0.12	0.02–0.60	21	0.16	0.05	0.13–0.19	2				
Alkaline phosphatase (U/L)	47.70	27.33	8.62–93.85	20	74.33	61.20	31.05–117.6	2				
Cholinesterase (U/L)	3032.65	2689.51	126.7–7452.95	19	2746.03	2119.28	299.1–3997	3				
ALT (GPT) (U/L)	22.28	17.22	3.5–78	21	44.25	9.55	37.5–51	2				
AST (GOT) (U/L)	179.22	68.28	17.52–300	21	280.00	86.97	218.5–341.5	2				
GGT (U/L)	3.68	3.06	0.55–10.8	21	1.45	n.a.	n.a.	1				
Potassium (mmol/L)	3.05	1.60	0.8–7.3	21	3.20	2.11	0.8–4.75	3				
Sodium (mg/dL)	146.92	11.62	120.6–159	11	253.83	166.41	136.17–371.5	2				
Creatinine (mg/dL)	1.5	0.57	0.51–2.10	19	1.41	0.80	0.51–2.02	3				
Uric acid (mg/dL)	2.15	1.99	0.35–8.5	21	2.70	1.86	0.55–3.85	3				
Cholesterol (mg/dL)	128.83	65.13	50.5–277	21	127.50	55.50	65–171	3				
Triglycerides (mg/dL)	141.88	78.00	38–311	20	174.33	120.40	72–307	3				
Glucose (mg/dl)	133.00a	34.26	73.5–206	21	88.33b	15.04	74–104	3				
Calcium (mg/dL)	7.80	1.25	5.5–10.55	21	6.97	0.81	6.05–7.6	3				
Phosphorus (mg/dL)	10.15	3.90	2.51–17.5	21	11.93	5.20	8.25–15.6	2				

<sup>a</sup> SD = standard deviation; A/G ratio = albumin/globulin ratio; ALT = alanine aminotransferase; AST = aspartate aminotransferase; GGT = gamma glutamyl transferase; n.a. = not applicable; differing letters indicate significant difference ( $p < 0.05$ ) between groups.



were 22% less than those of juveniles and 25% less than those of subadults, although neither were significant (Table 2).

In BMA, with no adults having been captured, differences could be evaluated only between juveniles and subadults. The glucose concentration was significantly higher in juveniles ( $p = 0.003$ ), whereas, the subadults had 35% higher AST activity and 50% higher ALT activity than did the juveniles, although neither was significant (Table 2).

*Comparison by Season.* — The sea turtles captured in PAO in summer had higher levels of uric acid ( $p = 0.01$ ), glucose ( $p < 0.01$ ), GGT enzymatic activity ( $p < 0.001$ ), and K (healthy individuals only;  $p = 0.03$ ), and a lower concentration of sodium (Na) ( $p < 0.001$ ). In BMA, the sea turtles captured during the summer had a higher concentration of lipids (cholesterol and triglycerides) compared with those captured in the winter ( $p = 0.04$ ). No annual effect in the seasonal lipid concentration was found ( $F_{2,18} = 0.97$ ,  $p = 0.39$ ). The increase in the lipid concentration observed from winter to summer occurred in all 3 years of the study.

*Comparison by Year.* — In PAO, during 2006, the turtles were found to have higher concentrations of glucose ( $p < 0.001$ ), uric acid ( $p < 0.001$ ), creatinine ( $p < 0.001$ ), and albumin ( $p < 0.001$ ); a higher albumin/globulin ratio ( $p = 0.02$ ); lower concentrations of globulins ( $p = 0.001$ ), P ( $p < 0.01$ ), and Na ( $p < 0.001$ ); and lower activities of alkaline phosphatase ( $p < 0.001$ ), ALT ( $p < 0.02$ ), and AST ( $p < 0.001$ ). In PAO, the injured sea turtles had lower concentrations of Ca during 2006 ( $p = 0.01$ ), with no difference observed for the healthy individuals. Because no captures were made in PAO in 2007, there are no biochemical data for that year.

During 2005 and 2006, the sea turtles from BMA had higher concentrations of total protein ( $p = 0.04$ ) and globulins ( $p = 0.02$ ), higher cholinesterase activity ( $p < 0.001$ ), and lower ALT activity ( $p = 0.02$ ); during 2006, turtles from BMA had higher P ( $p = 0.003$ ).

## DISCUSSION

In veterinary medicine the physiological reference values are determined in healthy individuals by species, age, sex, and reproductive state of the animal (Bossart et al. 2001). Establishing reference values of biochemical parameters of healthy sea turtles is considered a priority in health assessments and conservation (Aguirre and Balazs 2000). Data of reference values in correlation with physiological parameters for healthy sea turtles is limited (Aguirre and Balazs 2000; Milton and Lutz 2003); for the green sea turtles of the Pacific coast of Mexico, such basic information is practically null (Gardner 2003). For this reason, this study was limited when making comparisons or in generating conclusions about the health status of the green turtle. The present study provides baseline data of the green sea turtle characterized by biological and

nonbiological factors, which may provide the basis for future studies, particularly where green sea turtles are considered sentinel species.

The sex of the individuals could not be taken into consideration due to the fact that, in juveniles, it is not possible to distinguish the sex by morphological characteristics (Owens et al. 1978). When comparing results, the values for healthy green turtles in PAO were slightly higher than the published reference ranges. This difference in PAO could be related to the size of the individuals being larger than the size ranges given in the literature (Bolten and Bjorndal 1992; Aguirre and Balazs 2000; Hamann et al. 2006; Whiting et al. 2007). The levels of uric acid and cholesterol measured in this study were within the ranges identified for green turtles from Australia and the Indian Ocean using the same kits (Hamann et al. 2006; Whiting et al. 2007). The mean values of biochemical parameters of the healthy juveniles that inhabit the western coast of Baja California Sur were found to fall, in general, within the reference range of those reported for juvenile green turtles of the Bahamas (Bolten and Bjorndal 1992), Hawaii (Aguirre and Balazs 2000), Australia (Hamann et al. 2006), and the Indian Ocean (Whiting et al. 2007). These comparisons suggest that the health parameters of these free-ranging green sea turtles from Mexico are generally within ranges typically observed.

In both capture sites, juveniles were the predominant age group; however, in PAO, the turtles were larger and heavier than those from BMA, and adult individuals were captured in PAO despite the significantly lower effort used. This difference may be attributed to the fact that the Estero La Bocana in PAO is in direct contact with the Pacific Ocean. In BMA, the largest green turtles have been found outside of the coastal lagoon, in the Pacific Ocean (López-Mendilaharsu et al. 2005). Little information concerning the sea turtles in PAO is available, in this study, the size range registered suggests that this coastal lagoon is the habitat of juvenile, subadult, and even adult sea turtles.

In the current study, the concentrations of triglycerides and total proteins correlated positively with the size of the individual. The differences between the size classes and the positive correlation between the size of the sea turtles and some of the biochemical parameters such as creatinine, total proteins, albumin, globulins, and triglycerides have been reported for green turtles (Bolten and Bjorndal 1992; Hamann et al. 2006; Whiting et al. 2007).

Not having found a significant difference in the blood biochemistry between healthy and injured turtles from BMA reaffirms the idea that the health status of the green turtle in this study site is good. The body condition of these turtles has been increasing in recent years (Koch et al. 2007; V. Labrada-Martagón et al., unpubl. data). On the other hand, in PAO, the injured sea turtles had lower concentrations of Ca (28%), K (28%), and P (34.5%),

these findings may indicate that the injured individuals suffered a certain degree of dehydration.

In humans, an increase in transaminase activity in the blood is an indicator of hepatic damage (Laguna 1967) even when no symptoms are present. Correlations between several OC contaminants and the activity of AST in the blood and adipose tissue have been found in loggerhead turtles (*Caretta caretta*), and it is hypothesized that AST activity could be considered an indicator of hepatocellular damage (Keller et al. 2004). In the present study, although neither enzyme was found to be significant, the subadults and the adults tended to have higher concentrations of ALT (50%) in PAO and BMA, and AST (35%) in BMA than did the juveniles, although these parameters did not correlate with the size of the turtles. The higher concentrations of the transaminases observed in the adult green turtles could be a physiological response to the higher concentration of some OC contaminants compared to juveniles (V. Labrada-Martagón, unpubl. data). The liver protects the individual by removing compounds, such as xenobiotics, from the blood (Bischoff and Ramaiah 2007); it is the second most important tissue for the accumulation of methylmercury and OCs in sea turtles (Gardner et al. 2003; Aguirre et al. 2006; Kampalath et al. 2006). It has been suggested that the great variety of OCs present in green turtle tissues is due to exposure to such compounds from early stages of life, when their diet is carnivorous (Gardner et al. 2003). Physiological differences by age and by sex determine the effects that the accumulation of chemical contaminants can generate in sea turtles (Milton and Lutz 2003). It is possible that, compared to younger turtles, adults may be more susceptible to liver damage due to bioaccumulation of OC contaminants in green turtles (V. Labrada-Martagón, unpubl. data).

Biochemical indicators are the first to be detected and the most sensitive, thus aiding in pointing out possible additional effects that an organ or individual could suffer (Stegeman et al. 1992). The observed variations in the activity of transaminases (e.g., highest activity of ALT and AST in injured adult and subadult turtles) should be taken as a precautionary result, considering the previous evidence provided in a histopathological study in which hyperplasia in the biliary ducts of the liver, which could be the result of toxic insults such as contaminant exposure, was reported in BMA (Cordero-Tapia 2005). Because the results were not conclusive, it is necessary to carry out studies to examine the activity and distribution of the transaminases in the organs of the sea turtles (Keller et al. 2004) and to evaluate the relationship between such data and the concentrations of OCs and heavy metals found in the tissues of green turtles.

Creatinine was the only parameter found to be in concentrations 10-fold higher than the reference ranges reported for the green turtle (Bolten and Bjorndal 1992; Hasbún et al. 1998; Aguirre and Balazs 2000; Hamann et al. 2006; Whiting et al. 2007) and for loggerhead turtles

that were injured or in rehabilitation (Harms et al. 2002; Raidal et al. 2006). In sea turtle studies, the use of distinct types of analyzers or of anticoagulants can generate different results when evaluating blood parameters (Bolten et al. 1992). The marked difference in the levels of creatinine found in this study could be due to differences in the type of sample (sera) employed in this study and that used for the reference values cited (plasma); however, in one study of the loggerhead turtle (Bolten et al. 1992), the variability in creatinine values, evaluated between different anticoagulants and analyzers, was not significant. In general, the handling of the blood samples can affect the biochemical results; for example, the use of hemolyzed blood samples can result in an apparently lower concentration of creatinine in dolphins (*Tursiops truncatus*) and in the common seal (*Phoca vitulina*; Bossart et al. 2001). In a study on rehabilitated manatees, the abnormal increase in creatinine was related to an excessive catabolism in the skeletal muscles, to nutritional factors, and to a reduction in body weight (Manire et al. 1999 in Bossart et al. 2001). In the present study, the high values of creatinine could not be attributed to similar causes, given the generally good physical condition of the captured green turtles. Koch et al. (2007) suggested that, in recent years, there has been a trend toward better body condition of the green turtles that inhabit BMA.

During the summer, sea turtles of BMA presented a higher concentration of lipids (triglycerides, cholesterol). The composition of the marine flora and the composition of the diet of the turtles that inhabit the coastal lagoon of BMA vary seasonally (López-Mendilaharsu 2003; Hernández-Carmona et al. 2007). In winter, the reduction in concentrations of lipid and albumin in green turtle blood supports the idea that in BMA turtles suffer a loss of energy during the winter, possibly due to the reduction in the food supply and in the foraging activity of the turtles in the area (Koch et al. 2007). Also, it is possible that green turtles hibernate (Nichols 2003), and even if turtles do not hibernate there could be a reduction in the metabolic rate of the individuals due to cooler body temperatures (Spotila and Standora 1985).

For the turtles captured in the year 2006 in PAO, increases in blood levels of glucose, proteins, uric acid, GGT, K, and Na were observed. The increases in the levels of glucose and uric acid may be indicative of greater consumption of carbohydrates and proteins, respectively, in the diets during this period. The increased glucose can be also attributed to glucocorticosteroid increase (stress) (Franklin et al. 2003). In PAO glucose levels were not related to turtle handling time and seasonal changes in glucose levels were found in PAO. For sea turtles, increased levels of uric acid may indicate increased ingestion of proteins, which may suggest an omnivorous diet (Whiting et al. 2007). The green turtle has the capacity to assimilate a large percentage of the nitrogen from protein in the diet when it is available

(Wood and Wood 1981 *in* Bjorndal 1985). However, uric acid, the major nitrogen-containing excretion product, can be an indicator of increased catabolism of proteins (Laguna 1967; Randall et al. 1997), of the breakdown of tissues resulting from an inadequate diet (Whiting et al. 2007), or of metabolic changes during the reproductive period of the green turtle (Hamann et al. 2002). Our results (the increase of levels of total proteins, globulins, and albumin), the better body condition in the same years (V. Labrada-Martagón et al., unpubl. data), and the omnivorous diet of the green turtle (Santos-Baca 2008) support the first scenario, that of a richer environment for the turtles during these periods.

There is little information to aid in the interpretation of the observed seasonal changes in relation to the increase in the levels of the electrolytes and in the activity of GGT in blood. From the medical point of view, information concerning electrolytes is useful in evaluating the hydration state of an organism, which can be altered by pathological disturbances that cause loss of water and salts (Laguna 1967). Seasonal fluctuations in GGT enzyme have been observed in polar bears (Bossart et al. 2001). The activity of this enzyme may be elevated in immature animals and an increase in its activity is an indication of liver damage in mammals (Bossart et al. 2001).

The differences observed between BMA and PAO in the variability of the values of the biochemical parameters associated to different factors, such as the health status, age, season, etc., are a reflection of the variability generated by differences in habitat, in environmental conditions, and individual responses. On the coast of Baja California Sur, regional and seasonal differences exist in the abundance and distribution of the algae and sea grasses (Dawson 1951; Serviere-Zaragoza et al. 2002), which cause great variability in the composition of the diet of the green turtle between sites (e.g., Seminoff et al. 2002a; López-Mendilaharsu et al. 2005). The diet of the green turtle depends on the availability of food sources and on the selection made by each individual (López-Mendilaharsu et al. 2005). The nutritional content of the diet is determined by the chemical composition of the food ingested (Villegas 2006) and by the capacity of the individual to assimilate the nutrients (Bjorndal 1985). Studies done with stable isotopes measured in blood have shown that the green turtle of the eastern Pacific Ocean uses different feeding strategies, not only at the regional level (Gulf of California and the western coast of the peninsula) but also at the local level such as among the coastal lagoons (e.g., Laguna de San Ignacio, PAO, and BMA) (Santos-Baca 2008; Seminoff, unpubl. data). These data showed that, during the summer and during 2005 in BMA and 2006 in PAO, the individuals were in a better nutritional state, implying that during those periods the habitat of the sea turtles presented a greater food availability, better food quality, or both. Because of the current lack of information about the health status of sea

turtles (Bolten and Bjorndal 1992), due caution has to be taken when interpreting the data for the seasonal, annual, and geographic variations of many of the biochemical parameters.

The interpretations expounded in this study on the annual and seasonal variations of the biochemical parameters were made while taking into consideration that 1) the individuals were observed to be in generally good state of health and physical condition, despite of the presence of barnacles and minor lesions in 43% of the turtles, and 2) all values for the biochemical parameters studied were within the reference ranges reported for healthy sea turtles. The barnacles found in the green sea turtles cannot be considered innocuous, as they can injure the carapace, cause visceral wounds, or obstruct the oropharynx (Herbst and Jacobson 1995), particularly when sea turtles possess moderate to heavy barnacle loads (Seminoff, *pers. comm.*). Weak or injured individuals can have both larger and more abundant epibiotic species that can hinder locomotion and increase the energy expenditure of the turtles (Herbst and Jacobson 1995).

When comparing results and, above all, when evaluating or monitoring groups of individual sea turtles by means of the baseline data reported here, it must be taken into account that these values were generated starting with the particular conditions of habitat, geographic region, climatic conditions, season, year, diet, body condition, weight, size, sex, and health status of the individuals, among other factors (Whiting et al. 2007).

## CONCLUSIONS

Here, for the first time, we present the values of various blood biochemistry parameters for the green turtles inhabiting the western coast of the Baja California Peninsula, Mexico. The physical state and the health of the green sea turtles in BMA and PAO was found to be good, in that they did not present any obvious signs of disease or any external lesions or injuries. All serum chemistry values of green sea turtles were within published reference ranges of healthy sea turtle populations. Differences in the habitat, food availability, and environmental conditions between study sites were reflected in the variability of the biochemical parameters when compared by different factors, such as physical state, age, and seasonality. Further studies are needed to increase the knowledge about, and understanding of, the way in which seasonal, annual, and geographic variations affect the biochemical parameters of the sea turtle in order to generate appropriate interpretations about health and nutritional states of these populations. The present study provides baseline data of the green sea turtle characterized by biological and nonbiological factors, which may provide the basis for future studies.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Grupo Tortuguero de las Californias for assistance in sample collection; O. Lugo Lugo and N.O. Olguin-Monroy (CIBNOR) for their assistance in sample processing and analysis; and Dr. T. Castellanos and the Programa de Estudios de Posgrado (CIBNOR) for supporting VLM. The authors thank V. Yakoleff for translation and editing of the manuscript. Comments and suggestions from 2 anonymous reviewers and the editor helped to improve the manuscript. All samples were collected under permits from INE-SEMARNAT (10070/06, 03681/07, 050123/08). This research was funded by grants from SEMARNAT-CONACYT (FOSEMARNAT-2004-01-44) and CIBNOR (PC2.0, PC2.5). VLM is a recipient of a CONACYT scholarship (200974).

## LITERATURE CITED

- AGUIRRE, A. AND BALAZS, G.H. 2000. Blood biochemistry values of green turtles, *Chelonia mydas*, with and without fibropapillomatosis. *Comparative Hematology International* 10:132–137.
- AGUIRRE, A., GARDNER, E., MARSH, J.C., DELGADO, S.G., LIMPUS, C.J., AND NICHOLS, W.J. 2006. Hazards associated with the consumption of sea turtle meat and eggs: a review for health care workers and the general public. *EcoHealth* 3:141–153.
- AGUIRRE, A. AND LUTZ, P.L. 2004. Marine turtles as sentinels of ecosystem health: is fibropapillomatosis an indicator? *EcoHealth* 1:275–283.
- BALAZS, G.H. 2000. Factores a considerar en el marcado de tortugas. In: Eckert, K.L., Bjorndal, K.A., Abreu-Grobois, F.A., and Donnelly, M. (Eds.). (Traducción al español). *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas*. Grupo Especialista en Tortugas Marinas, UICN/CSE Publicación No. 4. D.C., pp. 116–125.
- BENJAMIN, M.M. 1991. *Manual de patología clínica en veterinaria*, 3era ed. Editorial Limusa, D.F., 421 p.
- BISCHOFF, K. AND RAMAIAH, S.K. 2007. Liver toxicity. In: Gupta, R.C. (Ed.). *Veterinary Toxicology, Basic and Clinical Principles*. New York: Academic Press, pp. 145–160.
- BJORNDAL, K.A. 1985. Nutritional ecology of sea turtles. *Copeia* 1985:736–751.
- BJORNDAL, K.A. 1997. Foraging ecology and nutrition of sea turtles. In: Lutz, P.L. and Musick, J.A. (Eds.). *The Biology of Sea Turtles*. Boca Raton, FL: CRC Press, pp. 199–231.
- BOLTEN, A.B. 2000. Técnicas para la medición de tortugas. In: Eckert, K.L., Bjorndal, K.A., Abreu-Grobois, F.A., Donnelly, M. (Eds.). (Traducción al español). *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas*. Grupo Especialista en Tortugas Marinas, UICN/CSE Publicación No. 4. D.C., pp. 126–131.
- BOLTEN, A.B. AND BJORNDAL, K.A. 1992. Blood profiles for a wild population of green turtles (*Chelonia mydas*) in the southern Bahamas: size-specific and sex-specific relationships. *Journal of Wildlife Disease* 28(3):407–413.
- BOLTEN, A.B., JACOBSON, E.R., AND BJORNDAL, K.A. 1992. Effects of anticoagulant and autoanalyzer on blood biochemical values of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). *American Journal of Veterinary Research* 53(12):2224–2227.
- BOSSART, G.D., REIDARSON, T.H., DIERAUF, L.A., AND DUFFIELD, D.A. 2001. Clinical pathology. In: Dierauf, L.A. and Gulland, F.M.D. (Eds.). *Handbook of Marine Mammal Medicine*. Boca Raton, FL: CRC Press, pp. 383–436.
- CASTELLANOS, A. AND MENDOZA, R. 1991. Aspectos socio-económicos. In: Ortega A., and Arriaga, L. (Eds.). *La reserva de la biosfera El Vizcaíno en la península de Baja California Sur*. La Paz: Centro de Investigaciones de Baja California Sur, pp. 33–52.
- CLIFFTON, K., CORNEJO, D.O., AND FELGER, R.S. 1995. Sea turtles of the Pacific coast of Mexico. In: Bjorndal, K.A. (Ed.). *Biology and Conservation of Sea Turtles*. Washington, DC: Smithsonian Institution Press, pp. 199–209.
- CORDERO-TAPIA, A. 2005. Evaluación histopatológica de las etiologías comunes y asociadas a fibropapiloma en la tortuga prieta (*Chelonia mydas agassizii*) de Bahía Magdalena, Baja California Sur, México. Tesis doctoral, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, México.
- DAWSON, E.Y. 1951. A further study of upwelling and associated vegetation along Pacific Baja California, Mexico. *Journal of Marine Research* X(1):39–58.
- DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN. 2002. Acuerdo por el que se establece la veda para las especies y subespecies de tortugas marinas en aguas de jurisdicción federal del Golfo de México y Mar Caribe, así como en las costas del Océano Pacífico incluyendo el Golfo de California, 31 de Mayo de 1990. D.F.
- FITZGERALD, S.L. 2004. Los metales pesados en cuatro especies de tortugas marinas de Baja California, México. Tesis doctoral, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, México.
- FRANKLIN, C.E., DAVIS, B.M., PEUCKER, S.K.J., STEPHENSON, H., MAYER, R., WHITTIER, J., LEVER, J., AND GRIGG, G.C. 2003. Comparison of stress induced by manual restraint and immobilization in the estuarine crocodile, *Crocodylus porosus*. *Journal of Experimental Zoology* 298A:86–92.
- GARDNER, S.C. 2003. Assessment of health of sea turtle populations in the Baja California Peninsula. In: Seminoff, J.A. (Ed.). *Proceedings of the Twenty Second International Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-503, U.S. Department of Commerce, Miami, pp. 94–95.
- GARDNER, S.C., FITZGERALD, S.L., ACOSTA-VARGAS, B., AND MÉNDEZ, L. 2006. Heavy metal accumulation in four species of sea turtles from the Baja California peninsula, Mexico. *BioMetals* 19:91–99.
- GARDNER, S.C. AND NICHOLS, W.J. 2001. Assessment of sea turtle mortality rates in the Bahía Magdalena Region, Baja California Sur, Mexico. *Chelonian Conservation and Biology* 4(1):197–199.
- GARDNER, S.C., PIER, M.D., WESSELMAN, R., AND JUÁREZ, J.A. 2003. Organochlorine contaminants in sea turtles from the Eastern Pacific. *Marine Pollution Bulletin* 46:1082–1089.
- GUZMÁN, J. 1998. Humedales. In: Mahieux, S. (Ed.). *Diagnóstico Ambiental de Baja California Sur, México*. La Paz: Fundación Mexicana para la Educación Ambiental, Sociedad de Historia Natural Niparajá, UABCS, pp. 303–336.
- HAMANN, M., LIMPUS, C.J., AND WHITTIER, J.M. 2002. Patterns of lipid storage and mobilisation in the female green sea turtle (*Chelonia mydas*). *Journal of Comparative Physiology* 72: 485–493.
- HAMANN, M., SCHÄUBLE, C.S., SIMON, T., AND EVANS, S. 2006. Demographic and health parameters of green sea turtles *Chelonia mydas* foraging in the Gulf of Carpentaria, Australia. *Endangered Species Research* 2:81–88.
- HARMS, C., LEWBART, G., BEASLEY, J., STAMPER, A., CHITTICK, B., AND TROGDON, M. 2002. Clinical implications of hematology and plasma biochemistry values for loggerhead sea turtles

- undergoing rehabilitation. In: Mosier, A., Foley, A., and Brost, B. (Eds.). Proceedings of the Twentieth Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation. NOAA Technical Memo NMFS-SEFSC-477, U.S. Department of Commerce, Orlando, pp. 190–191.
- HASBÚN, C.R., LAWRENCE, A.J., NALDO, J., SAMOUR, J.H., AND AL-GHAIS, S.M. 1998. Normal blood chemistry of free-living green sea turtles, *Chelonia mydas*, from the United Arab Emirates. *Comparative Hematology International* 8:174–177.
- HERBST, L.H. AND JACOBSON, E.R. 1995. Diseases of marine turtles. In: Bjorndal, K.A. (Ed.). *Biology and Conservation of Sea Turtles*. Washington, DC: Smithsonian Institution Press, pp. 593–596.
- HERNÁNDEZ-CARMONA, G., SERVIERE-ZARAGOZA, E., RIOSMENA, R., AND SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, I. 2007. Flora marina del sistema lagunar de Bahía Magdalena-Bahía Almejas. In: Funes, R., Gómez, J., and Palomares, R. (Eds.). *Estudios ecológicos en Bahía Magdalena*. La Paz: Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituto Politécnico Nacional, pp. 113–126.
- INEGI. 1995. *Síntesis geográfica del estado de Baja California Sur*, Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, D.F.
- INOHUYE-RIVERA, R.B., CORDERO-TAPIA, A., ARELLANO-BLANCO, J., AND GARDNER, S.C. 2004. *Learedius learedi* Price, 1934 (Trematoda: Spirorchidae), in black turtle (*Chelonia mydas agassizii*) hearts from Magdalena Bay, Baja California Sur, Mexico. *Comparative Parasitology* 71(1):37–41.
- KAMPALATH, R., GARDNER, S.C., MÉNDEZ, L., AND JAY, J.A. 2006. Total and methylmercury in three species of sea turtles of Baja California Sur. *Marine Pollution Bulletin* 52:1784–1832.
- KELLER, J.M., KUCKLICK, J.R., STAMPER, A., HARMS, C., AND MCCLELLAN-GREEN, P.D. 2004. Associations between organochlorine contaminant concentrations and clinical health parameters in loggerhead sea turtles from North Carolina, USA. *Environmental Health Perspectives* 112(10):1074–1079.
- KOCH, V., BROOKS, L., AND NICHOLS, W.J. 2007. Population ecology of the green/black turtle (*Chelonia mydas*) in Bahía Magdalena, Mexico. *Marine Biology* 153(1):33–46.
- KOCH, V., NICHOLS, W.J., PECKHAM, H., AND DE LA TOBA, V. 2006. Estimates of sea turtle mortality from poaching and bycatch in Bahía Magdalena, Baja California Sur, Mexico. *Biological Conservation* 128:327–334.
- LAGUNA, J. 1967. *Bioquímica*. 2da ed. La Prensa Médica Mexicana, D.F.
- LLUCH, B.D., HERNÁNDEZ-RIVAS, M.E., SALDIERNA-MARTÍNEZ, R., AND GUERRERO-CABALLERO, R. 2000. Variabilidad de la temperatura superficial del mar en Bahía Magdalena, B.C.S. *Oceánides* 15(1):1–23.
- LÓPEZ-MENDILAHARSU, M., GARDNER, S.C., AND SEMINOFF, J.A. 2003. *Chelonia mydas agassizii* (east Pacific green sea turtle) diet. *Herpetological Review* 34(2):139–140.
- LÓPEZ-MENDILAHARSU, M., GARDNER, S.C., AND SEMINOFF, J.A. 2003. Feeding ecology of the east Pacific green turtle (*Chelonia mydas agassizii*) in Bahía Magdalena, B.C.S., Mexico. In: Seminoff, J.A. (Ed.). *Proceedings of the Twenty Second International Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-503, U.S. Department of Commerce, Miami, pp. 218–219.
- LÓPEZ-MENDILAHARSU, M., GARDNER, S.C., SEMINOFF, J.A., AND RIOSMENA, R. 2005. Identifying critical foraging habitats of the green turtle (*Chelonia mydas*) along the Pacific coast of the Baja California peninsula, Mexico. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 15:259–269.
- LUTZ, P.L. AND BENTLEY, T.B. 1985. Respiratory physiology of diving in the sea turtle. *Copeia* 3:671–679.
- MANIRE, C.A., RHINEHART, H.L., COLBERT, D.E., AND SMITH, D.R. 1999. Experimental induced serum and urinary creatinine elevations in captive West Indian manatees. In: *Proceedings of the 13th Biennial Conference on the Biology of Marine Mammals*, Maui, p. 114.
- MARTÍNEZ DE LA TORRE, J.A. 1998. La explotación de los recursos naturales renovables. In: Mahieux, S. (Ed.). *Diagnóstico Ambiental de Baja California Sur, México*. Fundación Mexicana para la Educación Ambiental, Sociedad de Historia Natural Niparajá, UABCS, La Paz, pp. 55–98.
- MAYA, Y. AND GUZMÁN, J. 1998. Recursos terrestres y suelo. In: Mahieux, S. (Ed.). *Diagnóstico Ambiental de Baja California Sur, México*. La Paz: Fundación Mexicana para la Educación Ambiental, Sociedad de Historia Natural Niparajá, UABCS, pp. 165–223.
- MÉNDEZ, L., ACOSTA, B., ÁLVAREZ-CASTAÑEDA, S.T., AND LECHUGA-DEVÉZE, C.H. 1998. Trace metal distribution along the southern coast of Bahía de la Paz (Gulf of California), Mexico. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 61:616–622.
- MILTON, S.L. AND LUTZ, P.L. 2003. Physiological and genetic responses to environmental stress. In: Lutz, P.L., Musick, J.A., and Wyneken, J. (Eds.). *The Biology of Sea Turtles*. Volume II. Boca Raton, FL: CRC Press, pp. 163–197.
- NICHOLS, W.J. 2003. *Biology and conservation of sea turtles in Baja California, Mexico*. Ph.D. Dissertation, University of Arizona, Tucson.
- OWENS, D.W., HENDRICKSON, J.R., LANCE, V.A., AND CALLARD, I.P. 1978. A technique for determining sex of immature *Chelonia mydas* using a radioimmunoassay. *Herpetologica* 34(3):270–273.
- OWENS, D.W. AND RUIZ, G.J. 1980. New methods of obtaining blood and cerebrospinal fluid from marine turtles. *Herpetologica* 36(1):17–20.
- PRESTI, S.M., RESENDIZ, A., SOLLOD, A.E., AND SEMINOFF, J.A. 1999. Mercury concentration in the scutes of black sea turtles, *Chelonia mydas agassizii*, in the Gulf of California. *Chelonia Conservation and Biology* 3(3):531–533.
- RAIDAL, S.R., SHEARER, P.L., AND PRINCE, R. 2006. Chronic shoulder osteoarthritis in a loggerhead turtle (*Caretta caretta*). *Australian Veterinary Journal* 84(7):231–234.
- RANDALL, D., BURGGREN, W., AND FRENCH, K. 1997. *Eckert animal physiology: mechanisms and adaptations*, 4th ed. New York: W.H. Freeman and Company.
- SANTOS-BACA, L. 2008. Evaluación de los hábitos de alimentación de la tortuga verde *Chelonia mydas* en Bahía Magdalena, BCS, México, utilizando la técnica de isótopos estables. Tesis Maestría, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, México.
- SEMINOFF, J.A., JONES, T.T., RESENDIZ, A., NICHOLS, W.J., AND CHALOUKKA, M. 2003. Monitoring green turtles *Chelonia mydas* at a coastal foraging area in Baja California, Mexico: multiple indices describe population status. *Journal Marine Biology Assessment* (83):1355–1362.
- SEMINOFF, J.A., NICHOLS, W.J., RESENDIZ, A., AND GALVAN, A. 2000. Diet composition of the black sea turtle, *Chelonia mydas agassizii*, near Baja California, Mexico. In: Abreu-Grobois, F.A., Briseño-Dueñas, R., Márquez, R., and Sarti, L. (Eds.). *Proceedings of the Eighteenth International Sea Turtle Symposium*. NOAA Tech. Memo NMFS-SEFSC-436. Washington, DC: U.S. Department of Commerce, pp. 166–168.

- SEMINOFF, J.A., RESENDIZ, A., AND NICHOLS, W.J. 2002a. Diet of east Pacific green turtles (*Chelonia mydas*) in the Central Gulf of California, Mexico. *Journal of Herpetology* 36(3):447–453.
- SEMINOFF, J.A., RESENDIZ, A., NICHOLS, W.J., AND JONES, T.T. 2002b. Growth rates of wild green turtles (*Chelonia mydas*) at a temperate foraging area in the Gulf of California, Mexico. *Copeia* (3):610–617.
- SERVIERE-ZARAGOZA, E., GÓMEZ-LÓPEZ, D., AND PONCE-DÍAZ, G. 2002. Gross chemical composition of three common macroalgae and sea grass on the Pacific coast of Baja California, Mexico. *Hidrobiológica* 12(2):113–118.
- SHUMILIN, E., KALMYKOV, S., SAPOZHNIKOV, D., NAVA-SÁNCHEZ, E., GORSLINE, D., GODINEZ-ORTA, L., SAPOZHNIKOV, Y., HOLGUÍN-QUINONES, O., AND RODRÍGUEZ, A. 2000. Major and trace element accumulation in coastal sediments along southeastern Baja California studied by instrumental neutron activation analysis and  $^{210}\text{Pb}$  age-dating. *Journal of Radio-analytical and Nuclear Chemistry* 246(3):533–541.
- SHUMILIN, E., PÁEZ-OSUNA, F., GREEN-RUIZ, C., SAPOZHNIKOV, D., RODRÍGUEZ-MEZA, G., AND GODÍNEZ-ORTA, L. 2001. Arsenic, antimony, selenium and other trace elements in sediments of the La Paz lagoon, península of Baja California, Mexico. *Marine Pollution Bulletin* 42(3):174–178.
- SPOTILA, J.R. AND STANDORA, E.A. 1985. Environmental constraints on the thermal energetics of sea turtles. *Copeia* (3): 694–702.
- STEGEMAN, J.J., BROUWER, M., DI GIULIO, R.T., FÖRLIN, L., FOWLER, B.A., SANDERS, B.M., AND VAN VELD, P.A. 1992. Molecular responses to environmental contamination: Enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effect. In: Huggett, R.J., Kimerle, R.A., Mehrle Jr., P.M., and Bergman, H.L. (Eds.). *Biomarkers. Biochemical, Physiological and Histological Markers of Anthropogenic Stress*. Chelsea, MI: Lewis Publishers, pp. 235–335.
- SWIMMER, J.Y. 2000. Biochemical responses to fibropapilloma and captivity in the green turtle. *Journal Wildlife Disease* 36(1):102–110.
- TALAVERA-SAENZ, A., GARDNER, S.C., RIOSMENA, R., AND ACOSTA-VARGAS, B. 2007. Metal profiles used as environmental markers of green turtle (*Chelonia mydas*) foraging resources. *Science of the Total Environment* 373:94–102.
- VILLEGAS, F. 2006. Análisis nutricional de macroalgas y pastos asociados a la alimentación de tortuga prieta *Chelonia mydas agassizii* en Bahía Magdalena, BCS, México. Tesis Licenciatura Biólogo Marino, Universidad Autónoma de Baja California Sur, México.
- WHITING, S.D., GUINEA, M.L., LIMPUS, C.J., AND FOMIATTI, K. 2007. Blood chemistry reference values for two ecologically distinct populations of foraging green turtles, eastern Indian Ocean. *Comparative Clinical Pathology* 16:109–118.
- WOOD, J.R. AND WOOD, F.E. 1981. Growth and digestibility for the green turtle (*Chelonia mydas*) fed diets containing varying protein levels. *Aquaculture* 25:269–274.

Received: 30 September 2009

Revised and Accepted: 3 December 2009

## Health Indices of the Green Turtle (*Chelonia mydas*) Along the Pacific Coast of Baja California Sur, Mexico. II. Body Condition Index

VANESSA LABRADA-MARTAGÓN<sup>1</sup>, LIA C. MÉNDEZ-RODRÍGUEZ<sup>1</sup>, SUSAN C. GARDNER<sup>1</sup>,  
VICTOR H. CRUZ-ESCALONA<sup>2</sup>, AND TANIA ZENTENO-SAVÍN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa de Planeación Ambiental y Conservación, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C., La Paz, Baja California Sur, México [vlabrada@cibnor.mx; lmendez04@cibnor.mx; gardnerscm@yahoo.com; tzenteno04@cibnor.mx];

<sup>2</sup>Dinámica y Manejo de Ecosistemas Acuáticos, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, IPN, La Paz, Baja California Sur, México [vicsreshu@gmail.com]

**ABSTRACT.** – Body condition index is used as a measure for an individual's condition, usually with reference to its nutritional status and the energy reserves. Reproductive success, survival, and thus, population dynamics, depend on body condition of the organisms. In this study, the seasonal and annual body condition factor ( $a$ ) and the relative body condition index ( $K_{rel}$ ) were estimated from the length–weight relationship of green turtles (*Chelonia mydas*) collected in 3 coastal lagoons of Baja California Sur during 2005–2007. Seasonal and annual differences in  $a$ , and differences between study sites and physical appearance (healthy or injured) of  $K_{rel}$  were analyzed. Juveniles were the predominant age class (< 77 cm straight carapace length). Green turtles from Punta Abreojos (PAO) had a lower  $K_{rel}$  than individuals of Laguna San Ignacio at a given size. In Bahía Magdalena (BMA) and PAO injured green turtles had a smaller  $K_{rel}$  than turtles classified as healthy at a given size. Additionally, the increase in  $K_{rel}$  per cm of straight carapace length of injured green turtles from PAO was lower than that of healthy ones. Body condition factor,  $a$ , varied between years in turtles from PAO, being highest during 2006. An increasing tendency in  $a$ , from winter to summer, was observed in PAO and BMA. The periods when green turtles had the highest body condition factor  $a$  (summer, 2005 BMA, 2006 PAO) coincided with periods of highest serum concentrations of glucose, proteins, lipids, calcium, and uric acid; nevertheless, the relative body condition index was not correlated with those parameters. The relative body condition index resulted in a simple and sensible method that provided an overall trend of the data under a number of stress conditions, detecting differences also between injured and healthy individuals. The body condition factor, in conjunction with blood biochemistry parameters, proved to be a useful tool as biomarkers of the apparent physical and nutritional status of the green sea turtles.

**KEY WORDS.** – Reptilia; Testudines; Cheloniidae; black sea turtle, body condition; *Chelonia mydas*; condition indices; conservation; East Pacific; health

Body condition indices have been used to describe the health and well-being of several species of wildlife (Stevenson and Woods 2006). A body condition index is a metric derived most often from the relationship between an animal's length and its mass. It is used as a measure for individual condition, usually with reference to nutritional status and the energy reserves (Harder and Kirkpatrick 1996 in Copeland 2004). Changes in the body condition, resulting from changes in tissue biochemical composition and mobilization of energy reserves, may be related to season, life-history stages, health status, or exposure to stressors (Barton et al. 2002). The reproductive success, survival, and thus, population dynamics depend on the body condition of the organisms (Jones et al. 1999; Stevenson and Woods 2006).

Studies focused on determining and evaluating the physiological state and the health of wild sea turtles, have generated reference values for the clinical parameters of individuals, considering diverse factors such as seasonality, location, sex, size, age group, levels of contaminants,

disease, physical state, and body condition (Bolten and Bjorndal 1992; Aguirre et al. 1995; Hasbún et al. 1998; Aguirre and Balazs 2000; Keller et al. 2004; Hamann et al. 2006; Whiting et al. 2007). Different approaches have been employed to estimate and evaluate individual or group body condition. The methods most commonly used for sea turtles include evaluation of slopes and residuals of the length–weight relationship, comparison of the weight/length ratio, and estimation of diverse indices of body condition (Bjorndal et al. 2000; Work et al. 2001; Jessop et al. 2004; Hamann et al. 2005). Some of these estimates are affected by the (small) sampling size (Work et al. 2001). However, these estimations have been considered unsatisfactory for the evaluation of the body condition of reptiles (Jacobson et al. 1993) and, specifically for sea turtles, the need to develop quantitative criteria to assess body condition has been suggested (Work et al. 2001). The body condition index that is most cited and most widely used in sea turtle health-assessment studies is Fulton's condition factor, the use of which was

proposed by Bjørndal et al. (2000) to determine the body condition of the green turtle (*Chelonia mydas*, Linnaeus 1758). Fulton's index has been estimated for diverse sea turtle species and is calculated from the length–weight relationship (Beverton and Holt 1957).

The distribution of the East Pacific green turtle (known regionally as the 'black turtle'), ranges through the occidental coast of Baja California, Gulf of California, Islas Revillagigedo, Islas Galápagos to south Peru (Márquez 1990). Currently no subspecies are recognized, and no evidence of genetic differences has been found between populations of green turtles (Karl and Bowen 1999); however, this group is considered as a population confined to the East Pacific, semi-isolated from populations of green turtles in Asia, Indo-Pacific, and Hawaii (Carr 1978; Pritchard 1997, 1999). The bays and lagoons of the occidental coast of Baja California and Gulf of California are the most important feeding areas for developing green turtles in their northern distribution (Seminoff et al. 2002a, 2003; Nichols 2003; Brooks et al. 2004). Subadults and adults predominate along the Gulf of California (Seminoff et al. 2002a), whereas smaller juveniles are most common along the Pacific coast (Koch et al. 2007). Juveniles are found throughout the year (Koch et al. 2007) and they are estimated to remain in these zones for decades (Seminoff et al. 2002b) prior to reaching sexual maturity.

In Mexico, sea turtles have been protected since 1990 when a complete ban on sea turtle catch was established and their protection became mandatory throughout the country (Diario Oficial de la Federación 2002). Nevertheless, the threats that mainly affect populations of green sea turtles in the Baja California peninsula are the incidental catch by commercial and artisanal fisheries (Gardner and Nichols 2001; Nichols 2003; Koch et al. 2006), being particularly elevated in Bahía Magdalena (BMA) and Laguna San Ignacio (LSI; Koch et al. 2006; Mancini 2009), and the illegal hunting for human consumption or for commerce of the meat, where the green turtles represent 77% of the consumption of sea turtles species (Mancini and Koch 2009). Punta Abreojos (PAO) is a fishing ground where the consumption of turtle meat is a common or traditional practice, and BMA is one of the 3 most important centers for regional sea turtle traffic (Mancini and Koch 2009).

Additionally, the degradation or destruction of their habitat by human activities, whether through contaminants, garbage, or urban development, is another threat for green sea turtles in the Peninsula (Gardner et al. 2003, 2006). The growing fishery industry, urban development, and increase of tourism activities are potential sources of pollution that have been generating health concerns (Castellanos and Mendoza 1991 *in* Maya and Guzmán 1998; Méndez et al. 1998; Shumilin et al. 2001). There is little information available on the health status of the East Pacific green turtle. Biochemical evidence indicated that injured green sea turtles from PAO (e.g., emaciated, open

wounds, barnacles) had minor concentration of calcium, potassium, phosphorous, and a higher activity of cholinesterase than healthy ones (Labrada-Martagón et al. 2010). Those differences have not been found in BMA (Labrada-Martagón et al. 2010), where the body condition of green turtles has been increasing in recent years (Koch et al. 2007). Additionally, seasonal, annual, and regional differences in the clinical parameters (e.g., glucose, lipids, proteins) of the green turtles have been also found, suggesting variations in the quality of the habitat, in food availability, and/or of major nutritional quality for the sea turtles (Labrada-Martagón et al. 2010).

The goal of this study was to evaluate the body condition of the black turtle by using weight and length data. An annual and seasonal body condition factor ( $a$ ) by site, and the index of relative body condition ( $K_{rel}$ ) grouping individuals by study site and by physical appearance (healthy, injured), were calculated. Differences in body condition between study groups were evaluated. The correlation between the relative body condition index and the concentration of calcium, uric acid, lipids, albumins, and total proteins were evaluated.

## METHODS

*Study Area.* — During the years 2005 to 2007, live green turtles were captured in 3 zones located on the western coast of Baja California Sur: Punta Abreojos (PAO; 26°43'57"N and 113°35'44"W), Laguna San Ignacio (LSI; 26°43' to 26°58'N and 113°08' to 113°16'W), and Bahía Magdalena (BMA; 24°20' to 25°43'N and 111°20' to 112°15'W; Fig. 1).

In PAO the sea turtles were captured in Estero La Bocana, which lies between 26°44' and 26°49'N and between 113°37' and 113°42'W (Guzmán 1998; Fig. 1). It is a mangrove channel, parallel to the coast, which is bordered by a sandbar that extends from the community of Punta Abreojos in the south to the extreme north where its mouth opens into the Pacific Ocean (INEGI 1995; Guzmán 1998). The direct contact with the Pacific Ocean exposes PAO to the continual oceanographic variations (e.g., upwellings, eddies, the California current system), which affect the primary production and the food web (Peterson et al. 2006). PAO is one of the most important fishery centers of the peninsula; this industry has been generating environmental health concerns in the zone, mainly due to the lack of necessary infrastructure for the waste elimination (Castellanos and Mendoza 1991 *in* Maya and Guzmán 1998).

Laguna San Ignacio is a coastal lagoon (17,500 ha) protected from the Pacific Ocean by a sandbar, is a shallow lagoon (2–4 m deep) with mangrove channels < 20 m deep. LSI is known as a tourism attraction for whale- and bird-watching. Additionally to the artisanal fishing fleet, the tourism industry generates boat traffic in the lagoon, which affects the sites with the highest density of whales and birds (Maya and Guzmán 1998).



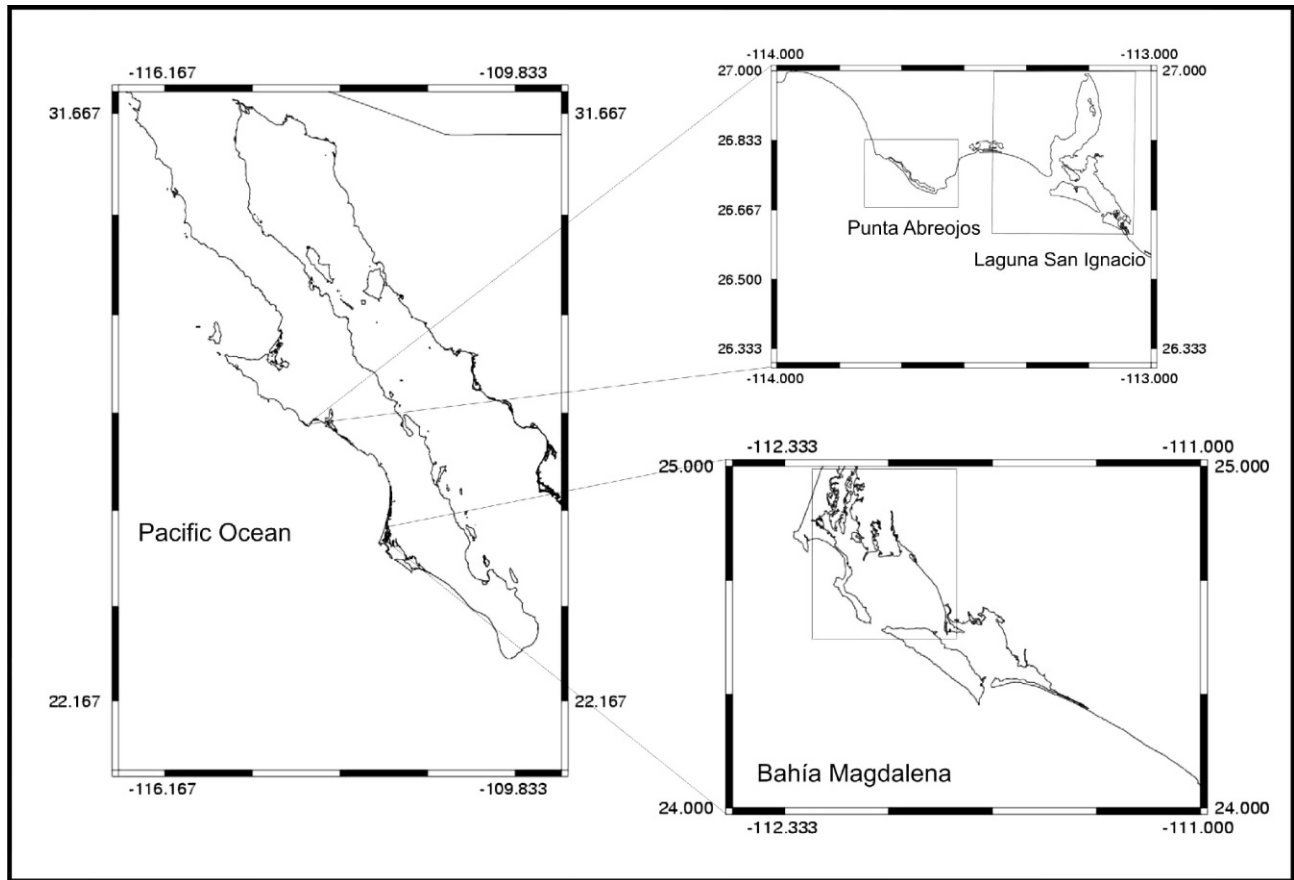


Figure 1. Map of the study area.

In BMA the sea turtles were captured within Estero Banderitas, located in the northeastern zone of BMA ( $24^{\circ}47'$  to  $25^{\circ}01'N$ ,  $112^{\circ}04'$  to  $112^{\circ}10'W$ ; Fig. 1); it is the channel with the greatest growth of mangroves in the lagoon ( $42 \text{ km}^2$ ; Koch et al. 2007). BMA is protected from the Pacific Ocean by 2 islands (Margarita and Magdalena) that form a barrier ( $175 \text{ km}$  in length;  $1000 \text{ km}^2$  in area) and is linked to the ocean by 5 channels (Guzmán 1998; López-Mendilaharsu et al. 2005; Kampalath et al. 2006). BMA has great importance for the artisanal and industrial fishery; both fisheries generate the highest volume of fish species captured in the peninsula (Martínez 1998). Industries like a thermoelectric power plant, a sardine cannery, and whale-watching are also established in BMA (Guzmán 1998).

**Turtle Capture.** — Field work was conducted in the following seasons defined by Koch et al. (2006); summer: May through October, winter: November through April. Sea turtles were captured with fishing nets (100 m long; 20-cm mesh), suspended in the water and monitored every 2 hours throughout the sampling period (up to 24 hours) to search for entangled turtles. For each sea turtle captured, straight carapace length (SCL, from the nuchal notch to the tip of the distal marginal scute) was measured with calipers ( $\pm 0.1 \text{ cm}$ ) and weight with a 150-kg spring scale ( $\pm 0.1 \text{ kg}$ ). Metallic tags were attached to both

posterior flippers of each turtle before its release (Balazs 2000).

The physical state of the turtles, determined by visual inspection, was defined according to Labrada-Martagón et al. (2010) as (a) healthy, absence of apparent disease; (b) injured, if an epibiotic species was present and/or when at least one of the following conditions were present: barnacles or ectoparasites, any external skin or carapace lesion, recent traumatic injuries (scars were discounted), flipper amputations, obvious signs of illness (e.g., emaciation); and (c) no physical data, the turtle had not been visually inspected.

**Estimation of Cody Condition.** — The body condition of the green turtle was estimated from the length and weight data of the captured individuals. Within each study zone data were grouped to obtain the relationships between weight (kg) and SCL (cm) of the sea turtles for each season and year. The weight-length relationship

$$\text{Weight} = a\text{SCL}^b \quad [1]$$

was expressed in its logarithmic form, and the parameters  $a$  and  $b$  were estimated for each study group

$$\log(\text{Weight}) = \log(a) + b\log(\text{SCL}). \quad [2]$$

The parameter,  $a$ , corresponds to the body condition factor expressed in grams ( $a \times 1000$ ; Froese 2006) of the

**Table 1.** Seasonal and annual body condition factor in grams ( $a \times 1000$ ) of the green turtle (*Chelonia mydas*) obtained from the weight (kg) and length (cm) relationship by zone of capture. PAO = Punta Abreojos; LSI = Laguna San Ignacio; BMA = Bahía Magdalena; CI = confidence interval; W = weight; L = length; n.a. = not applicable.

Zone	Group	Weight-length relationship	Log $a$	95% CI	Body condition factor (g)	$p$
PAO						
Year	2005	$W = -9.68 + 3.19L$	-9.68	-10.18 to -9.19	0.06	0.02
	2006	$W = -7.72 + 2.73L$	-7.72	-11.03 to -4.42	0.44	
Season	Winter	$W = -9.60 + 3.16L$	-9.60	-10.78 to -8.43	0.07	0.51
	Summer	$W = -8.93 + 3.01L$	-8.93	-9.96 to -7.91	0.13	
LSI						
Year	2006	$W = -7.36 + 2.62L$	-7.36	-8.39 to -6.32	0.64	n.a.
Season	Summer	$W = -7.36 + 2.62L$	-7.36	-8.39 to -6.32	0.64	n.a.
BMA						
Year	2005	$W = -6.36 + 2.4L$	-6.36	-13.14 to -0.42	1.73	0.13
	2006	$W = -10.47 + 3.38L$	-10.47	-11.96 to -8.99	0.03	
	2007	$W = -7.01 + 2.53L$	-7.01	-13.48 to -0.54	0.90	
Season	Winter	$W = -9.11 + 3.05L$	-9.11	-10.50 to -7.72	0.11	0.63
	Summer	$W = -7.78 + 2.74L$	-7.78	-12.95 to -2.61	0.42	

sea turtles. The seasonal and the annual body condition factors ( $a$ ) for each zone of study are presented as  $\log a \pm$  the 95% confidence interval (CI), with their respective equations, in Table 1. Differences in the body condition factors between seasons and years were evaluated by using the comparison of two intercepts (Kleinbaum and Kupper 1978).

From equation 1, the weight-length relationships were estimated grouping the individuals by zone, and by physical appearance (healthy and injured) for each zone. The relative body condition index ( $K_{rel}$ ) was calculated according to Le Cren (1951) as described in Froese (2006):

$$K_{rel} = \frac{Weight}{aSCL^b} \quad [3]$$

where  $a$  and  $b$  are the parameters obtained from the corresponding length-weight relationship of the study groups. Differences in the estimated index between study groups were evaluated by comparisons of slopes and elevations using analysis of variance (zones) and Student's  $t$ -tests (physical appearance) according to Zar (1996). The average  $\pm$  standard deviation (SD) of the relative body condition index are presented by zone and physical appearance of the individuals (Table 2).

**Table 2.** Relative body condition index ( $K_{rel}$ ) and Fulton's body condition index for the green turtle (*Chelonia mydas*) by zone and physical appearance. PAO = Punta Abreojos; LSI = Laguna San Ignacio; BMA = Bahía Magdalena; SD = standard deviation.

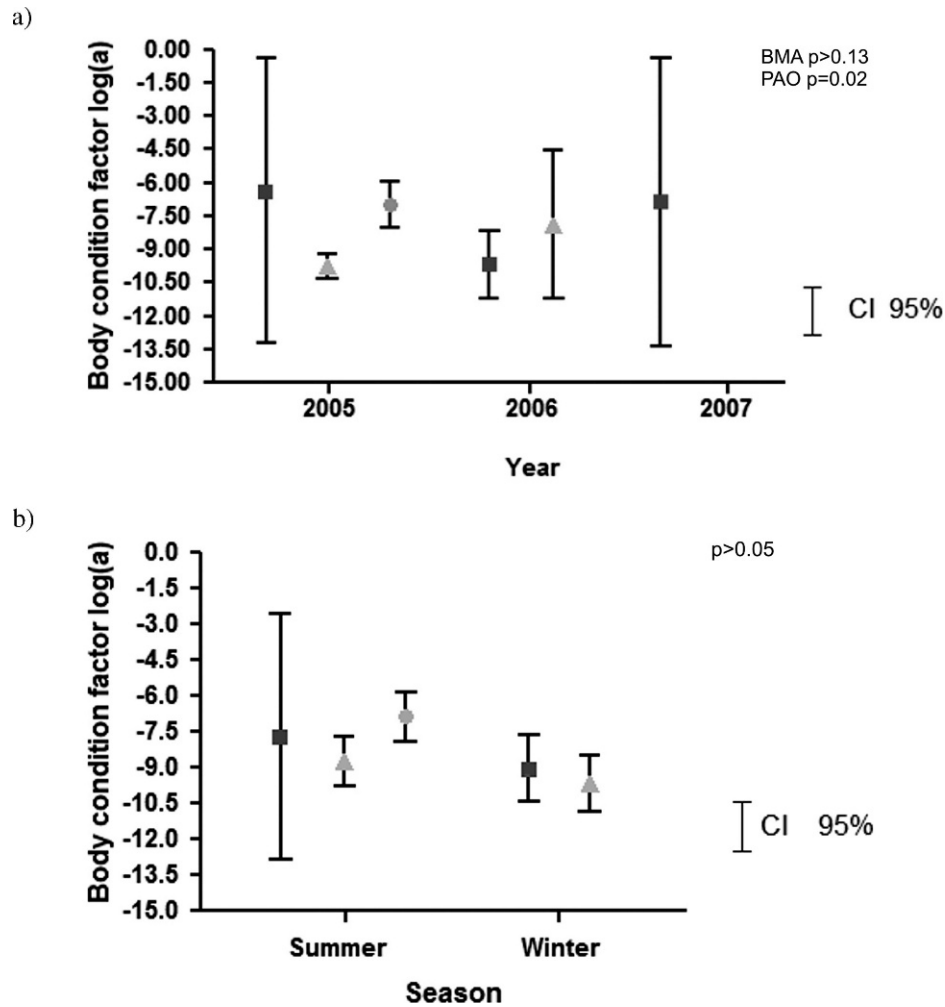
Zone	Physical appearance	$K_{rel}$ mean $\pm$ SD	Fulton mean $\pm$ SD	$n$
PAO	Healthy	21.56 $\pm$ 10.55	1.37 $\pm$ 0.08	24
	Injured	15.58 $\pm$ 10.00	1.42 $\pm$ 0.34	23
LSI	Healthy	14.03 $\pm$ 5.30	1.47 $\pm$ 0.07	5
	Injured	7.96 $\pm$ 1.31	1.52 $\pm$ 0.10	3
BMA	Healthy	22.59 $\pm$ 11.89	1.67 $\pm$ 0.60	25
	Injured	20.91 $\pm$ 12.66	1.34 $\pm$ 0.68	17

Fulton's body condition index was calculated only as a reference and in order to compare with previous studies published by other groups. The index was calculated by dividing the mass (kg) by the cube of the length, SCL (cm), and multiplying by 10,000 (Ricker 1975 in Nash et al. 2006). Fulton's body condition index (mean  $\pm$  SD) by zone and by physical appearance of the green turtles is presented in Table 2.

The correlation between the relative body condition index and the concentration of calcium, uric acid, cholesterol, triglycerides, albumin and total proteins of the sea turtles reported by Labrada-Martagón et al. (2010) was evaluated, polling data of individuals from BMA and PAO between 40 and 55 cm SCL, in order to eliminate the SCL effect. Prior to the analysis, the correlation between the body condition index and the SCL was evaluated until the size interval with no significant correlation was found (PAO,  $r = 0.38$ ,  $p = 0.30$ ; BMA,  $r = 0.60$ ,  $p = 0.06$ ). All results with  $p < 0.05$  were considered statistically significant.

## RESULTS

**Turtle Capture.** — From 2005 to 2007, 52 green turtles were captured in PAO, 12 green turtles in LSI, and 49 green turtles in BMA. Injured sea turtles accounted for 35% of those captured in BMA, 44% of the individuals captured in PAO, and 25% of the sea turtles captured in LSI. For all zones and all years of study, the predominant age group was juveniles (PAO, 70%; LSI, 100%; BMA, 88%), followed by subadults (PAO, 25%; BMA, 12%). Throughout the course of the study, only 3 adults ( $> 85$  cm SCL) were captured (PAO). For turtles captured in PAO, the SCL ranged between 43.9 and 92.4 cm (mean:  $62.8 \pm 11.4$  cm) and weight between 11.3 and 107.9 kg (mean:  $38.2 \pm 23.4$  kg); in turtles from LSI the SCL ranged from 39.7 to 62.2 cm (mean:  $49.3 \pm 6.9$  cm) and weight from 10 to 32 kg (mean:



**Figure 2.** Condition factor  $\log a \pm \text{CI } 95\%$  of green turtles (*Chelonia mydas*) obtained from the weight (kg) and straight carapace length (SCL; cm) relationship by (a) year, and (b) season. (■) Bahía Magdalena; (▲) Punta Abrejos; (●) Laguna San Ignacio.

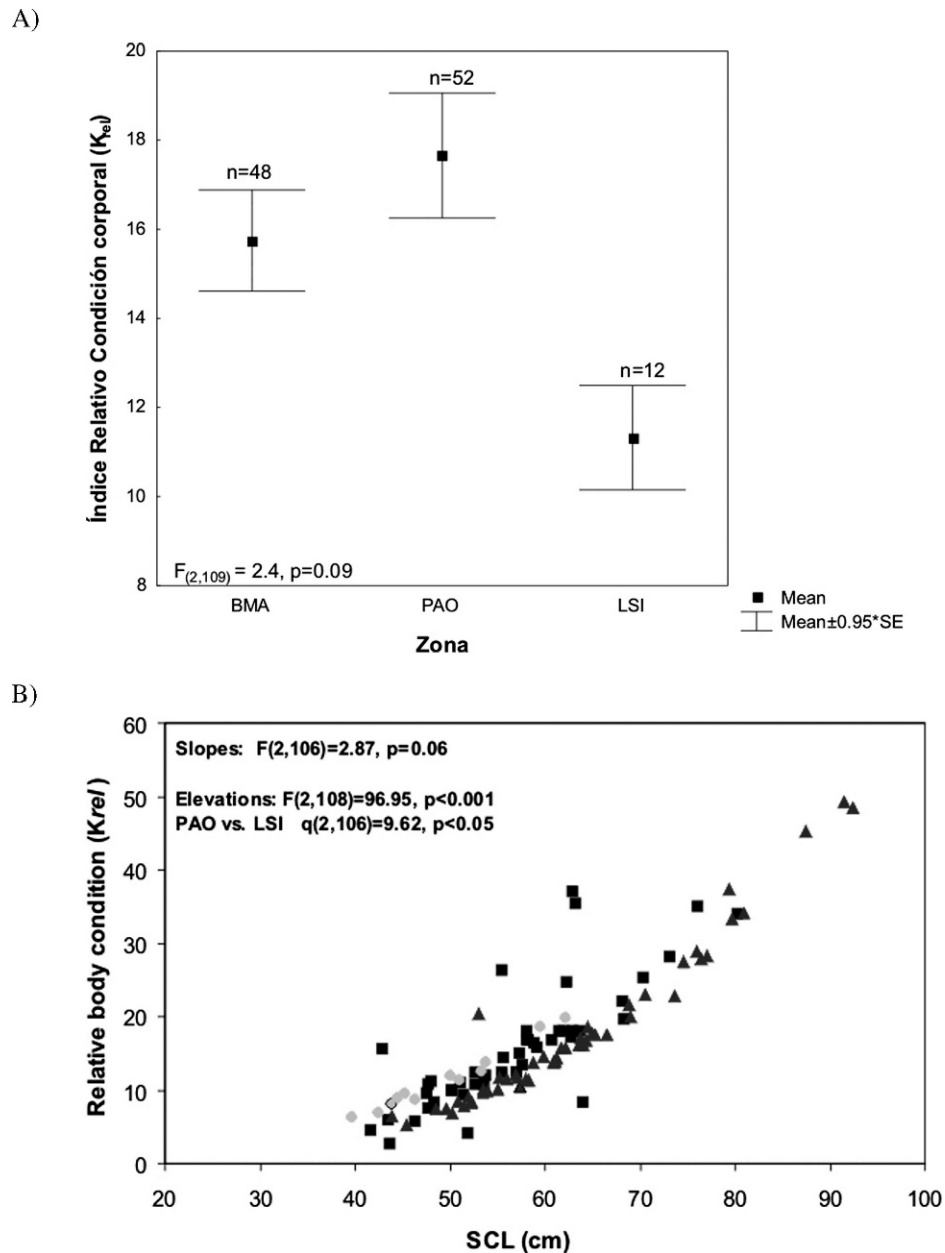
18.2  $\pm$  7 kg); in green turtles from BMA the SCL range was 40.4–80.3 cm (mean: 56.2  $\pm$  8.96 cm) and weight ranged between 4.7 and 68.1 kg (mean: 28.2  $\pm$  15.5 kg).

**Seasonal and Annual Body Condition Factor.** — The estimated values of the condition factor of the green turtles, as well as the corresponding models of the length–weight relationship, grouped by season, year, and capture zone are presented in Table 1. In PAO the green turtles showed a greater  $a$  in 2006 than did those in 2005 ( $p = 0.02$ ; Fig. 2). The sea turtles from LSI were captured in summer of 2006; therefore, annual and seasonal differences could not be evaluated. The great variability in the weight of turtles from BMA is reflected in the CI of the estimated condition factors  $a$  (Fig. 2). In BMA, the  $a$  estimated from data of green turtles captured during 2005 was 86-fold higher than that observed in 2006, and 2-fold greater than that of 2007 (Table 1). In PAO and BMA an increase from winter to summer in  $a$  of the green turtles was observed: 4-fold higher in BMA and 2-fold higher in PAO (Table 1).

**Relative Body Condition Index.** — Average ( $\pm$  SE) Fulton's body condition index estimated for the green

turtles captured in PAO was 1.25  $\pm$  0.41, in LSI 1.46  $\pm$  0.11, and in BMA was 1.5  $\pm$  0.6. The  $K_{rel}$  for green turtles grouped by capture zone and physical status are shown in Table 2. The green turtles from LSI presented a lower  $K_{rel}$  than the turtles from the other zones due to their smaller size (Table 2), although these differences were not statistically significant ( $F_{(2, 109)} = 2.4, p = 0.09$ ; Fig. 3A). When  $K_{rel}$  was expressed relative to the SCL of the individuals, no differences in the increase of  $K_{rel}$  per cm of SCL were found between zones (slopes:  $F_{(2, 16)} = 2.87, p = 0.06$ ); nevertheless, the green turtles from PAO had a lower  $K_{rel}$  than those from LSI (elevations:  $F_{(2, 108)} = 96.95, p < 0.001$ ; Fig. 3B).

Injured green turtles showed a lower body condition than healthy turtles in all 3 studied zones (Table 2). Those differences were statistically significant for turtles captured in PAO and BMA (elevations:  $p < 0.01$ ; Fig. 4); data of LSI were not evaluated due to the small sample size. Additionally, in PAO the value of the parameter  $b$  for the group of injured green turtles was significantly lower than in healthy turtles ( $t = 4.12, p < 0.001$ ); that is, the rate of increase of  $K_{rel}$  per cm of



**Figure 3.** (A) Mean relative body condition ( $K_{rel}$ ) by zone, and (B) scatter plot of relative body condition index ( $K_{rel}$ ) against straight carapace length (cm) by zone of the green turtle (*Chelonia mydas*). (■) Bahía Magdalena; (▲) Punta Abreojos; (●) Laguna San Ignacio.

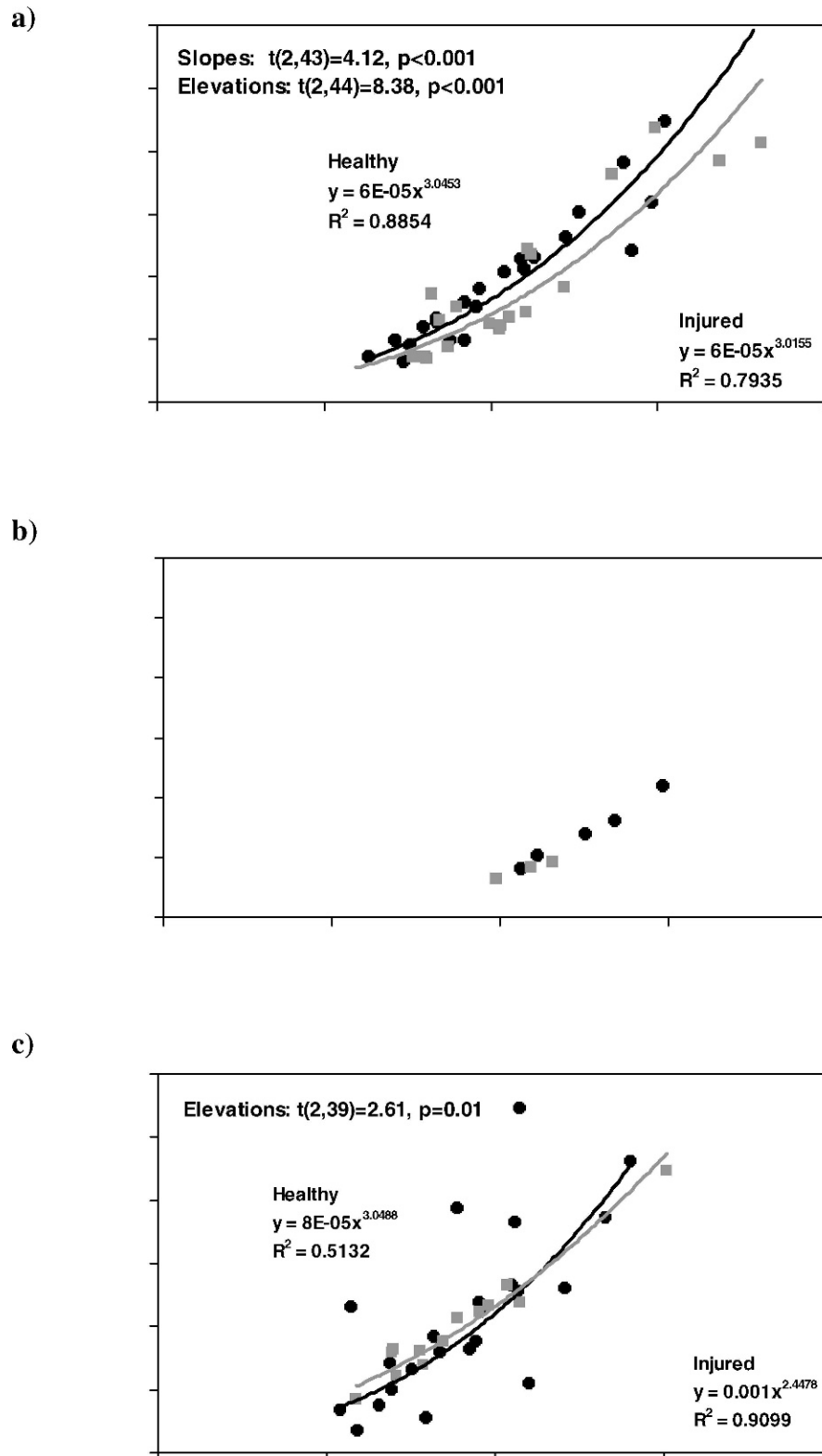
SCL is lower for injured than for healthy turtles (Fig. 4a). The  $K_{rel}$  for the sea turtles was not correlated to any of the biochemical parameters evaluated when SCL effect was removed.

## DISCUSSION

The body condition of an animal refers to its energetic state; an animal in good condition is assumed to have more energy reserves than an animal in poor condition (Harder and Kirkpatrick 1996 in Copeland 2004). Traditionally, conservation biologists have approached species health at the population level. A

population flourishes or wanes based on the health of its individuals (Stevenson and Woods 2006). In studies involving evaluation of the physiological and clinical health of sea turtles, the creation of adequate and specific criteria for the determination of the body condition is a priority. This would allow a better interpretation of the basal values and the health parameters evaluated in East Pacific green turtles and the adequate comparison among species of sea turtles around the world.

To our knowledge, this is the first estimation of the body condition of green turtles in PAO and LSI, Baja California Sur. Currently, there is little information on the general health of the sea turtles that inhabit these feeding



**Figure 4.** Scatter plot of relative body condition index against straight carapace length (cm) by physical appearance of the green turtle (*Chelonia mydas*). (a) Punta Abreojos, (b) Laguna San Ignacio, and (c) Bahía Magdalena. (●) Healthy; (■) Injured.

areas, probably due to their inaccessibility because they are far from urban areas. Despite their small size (< 62 cm SCL), the body condition of the green turtles in LSI was higher than that estimated for juveniles from

the Gulf of California of up to 77.3 cm SCL (Seminoff et al. 2003). Juveniles from BMA also had higher body condition ( $1.56 \pm 0.67$ ) than green turtles from the Gulf of California ( $1.42 \pm 0.015$ ; Seminoff et al. 2003). Koch

et al. (2007) suggested that, in recent years, there has been a trend toward better body condition of the green turtles that inhabit BMA. Our results support this idea because estimated average body condition for BMA was slightly higher ( $1.50 \pm 0.6$ ; 2005–2007) than the value ( $1.35 \pm 0.12$ ) reported for the years 2000–2003 by Koch et al. (2007). Given that juveniles were the most abundant age group (70%–100%), it can be said that the body condition estimated in this work is represented by juveniles in the three most important foraging areas of the western coast of Baja California Sur.

The average body condition estimated for green turtles from PAO was lower than those from BMA and from LSI when size is considered. PAO was also the site where the larger proportion of injured sea turtles was captured, and the only zone that showed annual differences in the body condition factor. Annual differences in the body condition of green turtles have not been reported before in BMA or the Gulf of California (Seminoff et al. 2003; Koch et al. 2007). Probably the higher population density in PAO, relative to BMA and LSI (Labrada-Martagón et al. 2010), influenced the body condition of the individuals. Juvenile green turtles, captured in a feeding zone in the Bahamas, had a lower body condition during the years in which a higher relative density and a smaller growth rate were found, implying that these two variables are correlated with body condition (Bjorndal et al. 2000). An environment with a population density lower than its carrying capacity and, therefore, with greater abundance of food per sea turtle, may lead to a better body condition of the individuals (Seminoff et al. 2003).

The body condition of the injured green turtles from PAO and BMA was lower than in healthy turtles. Additionally, injured sea turtles from PAO showed a slower rate of increase in body condition per cm of SCL. In the Gulf of California differences in body condition between healthy and injured individuals have not been found (Seminoff et al. 2003). Differences in blood biochemical parameters (e.g., potassium, calcium, cholinesterase) between injured and healthy green turtles have also been reported in PAO but have not been found in green turtles from BMA nor LSI (Labrada-Martagón et al. 2010). The regional differences in the body condition and biochemical parameters reflected differences in habitat, availability, and composition of food. The Pacific coast of the Peninsula of Baja California has many oceanographic variations (e.g., upwellings, sea surface temperature, water masses) that modify the primary production and, thus, affect the food chain (Peterson et al. 2006). It is possible that green turtles from PAO are more susceptible to environmental changes and food availability due to the close proximity of this coastal lagoon to the Pacific Ocean, as reflected in differences of their body condition. Future studies are needed to monitor the health status of green turtles of PAO, a feeding area with the highest density of green turtles in the Pacific coast (Labrada-

Martagón et al. 2010) where sea turtles develop prior to reaching sexual maturity, and their migratory and breeding periods.

The estimated seasonal and annual body condition factor for BMA showed wide CIs, due to the great variability in the weight of the individuals. This could be due, on one hand, to individual variations in measuring techniques and, on the other, to a relationship between foraging behavior and the greater area available in the mangrove channels of BMA in comparison to that of PAO. Although green turtles show a strong fidelity to their feeding areas on the western coast of Baja California Sur, individuals do move between diverse patches of vegetation within the lagoon complex of BMA, which are defined by the marked changes in tides and currents (Nichols 2003; Talavera-Saenz et al. 2007). It is possible that individual differences in diet, whether in quantity or quality, are reflected in selectivity (López-Mendilaharsu et al. 2005), nutritional status (Bjorndal 1985), and, therefore, in the weight and body condition of the individual sea turtles.

The sea turtles captured in PAO and BMA presented a body condition index that was 2- and 4-fold higher in summer than in winter, respectively. The seasonal difference in the body condition of the green turtles that inhabit BMA has been reported and it has been suggested that, specifically for the coastal lagoons, it may be due to changes in the temperature of the water and the availability of food, which leads to a higher body condition (Koch et al. 2007). Additionally, the composition of the marine flora and the composition of the diet of the turtles that inhabit the BMA lagoon complex vary by season (López-Mendilaharsu et al. 2003; Hernández-Carmona et al. 2007).

During summer and in the years (2005 in BMA, 2006 in PAO) in which the green turtles demonstrated a higher body condition, it coincided with higher concentrations of lipids (triglycerides and cholesterol), glucose, total proteins, uric acid, potassium, and the activity of the enzyme GGT, as well as with a lower activity of the transferases alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) (Labrada-Martagón et al. 2010). Nevertheless, those parameters were not correlated to the relative body condition index when the size effect was removed. An increased level of glucose in the blood is indicative of a greater consumption of carbohydrates in the diet. For sea turtles, uric acid has been considered as a signal of increased ingestion of proteins resulting from an omnivorous diet (Whiting et al. 2007). The concomitant elevation in the levels of total proteins, globulins, and albumin reported by Labrada-Martagón et al. (2010) supports this scenario. Triglyceride levels are a useful tool in determining the general body condition and nutritional status of the green sea turtle (Aguirre and Balazs 2000; Swimmer 2000; Hamann et al. 2005); it has been suggested that, together with other metabolites, analyses of triglycerides should be incorporated and used in studies

of diet of sea turtles (Bolten and Bjorndal 1992; Hamann et al. 2005; Whiting et al. 2007).

The body condition indices, evaluated together with blood biochemistry parameters, can be a useful tool as biomarkers of the physical and nutritional status of the sea turtles. With these tools we showed that green turtles had a better body condition during summer and during the years 2005 (BMA) and 2006 (PAO), which complements the annual and seasonal information found in clinical parameters, suggesting a greater availability and/or nutritional quality of food during said periods.

The indices proposed in this work are useful and practical estimations for the evaluation of the body condition of green turtles, based on individual weight and size data. The relative body condition index, compared by slopes, allows evaluating differences not just between years, seasons (evaluated with body condition factor  $a$  in this study), or zones, but to identify healthy and injured individuals, and alterations in the body condition relative to the increase in size of the green turtles. When the objective is to estimate the relationship between some measure (e.g., body condition) and one or more independent variables (e.g., environmental, health status), typically the measurements are obtained at a number of stressful conditions, and then the resulting data are used to estimate the relationship between the measurements of performance and the stress variables (Cattet et al. 2002). In this sense, the use of the slope provides an overall trend of the data, evidencing the performance between the measure and the independent variables in different situations, instead of using the measures of central tendency (e.g., arithmetic mean) that just provide a description of the preponderance of the values somewhere around the middle of the range of observed values (Zar 1996).

We recommend the use of the relative body condition index instead of the body condition factor  $a$ , because it generates a larger CI in response to individual variations in weight of green turtles. The use of a single statistic (i.e., “condition factor  $a$ ”) has been questioned when assessing fish condition because it results in a loss of information and in an inaccurate representation of the length–weight relationship (Cone 1989 in Jones et al. 1999). Within a given species, interpretation of the body condition is difficult and prone to errors due to differences in the particular dimensions measured, such as body shape, average length, seasons, gender, age, and/or gonadal development (Le Cren 1951 in Froese 2006). We recommend estimating the body condition index considering, as was done in the present study, abiotic (year, season, geographical region) and biotic (age, size, weight, sex) factors. Care must be taken when these tools are used, and conclusions made regarding the health of sea turtle populations, because an overestimation of the body condition could lead to inadequate decision-making when the goal is conservation of populations and species.

#### ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Grupo Tortuguero de las Californias for assistance in sample collection; O. Lugo Lugo and N.O. Olguin-Monroy (CIBNOR) for their assistance in sample processing and analysis; F. Arreguín-Sánchez for his invaluable suggestions and ideas concerning the statistical treatment of the data; Drs. T. Castellanos and E. Serviere, and the Programa de Estudios de Posgrado (CIBNOR) for supporting VLM. The authors thank V. Yakoleff for translation and editing of the manuscript, as well as two anonymous reviewers whose comments improved the manuscript. All samples were collected under permits from INE-SEMARNAT (10070/06, 03681/07, 050123/08); funding for this project was provided by SEMARNAT-CONACYT (FOSEMARNAT-2004-01-44) and CIBNOR (PC2.0, PC2.5). VLM is a recipient of a CONACYT scholarship (200974).

#### LITERATURE CITED

- AGUIRRE, A. AND BALAZS, G.H. 2000. Blood biochemistry values of green turtles (*Chelonia mydas*) with and without fibropapillomatosis. *Comparative Haematology International* 10:132–137.
- AGUIRRE, A., BALAZS, G.H., SPRAKER, T.R., AND GROSS, T.S. 1995. Adrenal and hematological responses to stress in juvenile green turtles (*Chelonia mydas*) with and without fibropapilloma. *Physiological Zoology* 68(5):831–854.
- BALAZS, G.H. 2000. Factores a considerar en el mercado de tortugas. In: Eckert, K.L., Bjorndal, K.A., Abreu-Grobois, F.A., and Donnelly, M. (Eds.). *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas*. Washington, D.C.: Grupo Especialista en Tortugas Marinas, UICN/CSE Publicación No. 4., pp. 116–125.
- BARTON, B.A., MORGAN, J.D., AND VIJAYAN, M.M. 2002. Physiological and condition-related indicators of environmental stress in fish. In: Adams, S.M. (Ed.). *Biological Indicators of Aquatic Ecosystem Stress*. Bethesda, MD: American Fisheries Society, pp. 111–148.
- BEVERTON, R.J.H. AND HOLT, S.J. 1957. *On the Dynamics of Exploited Fish Population*. London: Chapman and Hall, 230 p.
- BJORNDAL, K.A. 1985. Nutritional ecology of sea turtles. *Copeia* 1985:736–751.
- BJORNDAL, K.A., BOLTEN, A.B., AND CHALLOUPKA, M.Y. 2000. Green turtle somatic growth model: evidence for density dependence. *Ecological Applications* 10(1):269–282.
- BOLTEN, A.B. AND BJORNDAL, K.A. 1992. Blood profiles for a wild population of green turtles (*Chelonia mydas*) in the southern Bahamas: size-specific and sex-specific relationships. *Journal of Wildlife Diseases* 28(3):407–413.
- BROOKS, L., NICHOLS, W.J., KOCH, V., AND HERNÁNDEZ, A. 2004. Preliminary results on the distribution and movement of green turtle (*Chelonia mydas*) in Estero Banderitas, Baja California Sur, Mexico. In: Coyne, M.S. and Clark R.D. (Eds.). *Philadelphia, PA: Proceedings of the 21st International Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*, NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-528, Department of Commerce, pp. 127–129.
- CARR, A. 1978. *Handbook of Turtles: The Turtles of the United States, Canada and Baja California*. New York: Comstock Publishing Associates, 535 p.

- CASTELLANOS, A. AND MENDOZA, R. 1991. Aspectos socio-económicos. In: Ortega, A. and Arriaga, L. (Eds.). La Reserva de la Biosfera El Vizcaíno en la Península de Baja California Sur. La Paz, Baja California Sur, Mexico: Centro de Investigaciones de Baja California Sur, pp. 33–52.
- CATTET, M.R.L., CAULKETT, N.A., OBBARD, M.E., AND STENHOUSE, G.B. 2002. A body-condition index for ursids. *Canadian Journal of Zoology* 80(7):1156–1161.
- CONE, R.S. 1989. The need to reconsider the use of condition indices in fishery science. *Transactions of the American Fisheries Society* 118(5):510–514.
- COPELAND, T. 2004. An evaluation of relative weight as an indicator of body composition and nutritional status in wild fish. PhD Dissertation, Blacksburg, Virginia. 214 p.
- DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN. 2002. Acuerdo por el que se establece la veda para las especies y subespecies de tortugas marinas en aguas de jurisdicción federal del Golfo de México y Mar Caribe, así como en las costas del Océano Pacífico incluyendo el Golfo de California, 31 de Mayo de 1990. D. F.
- FROESE, R. 2006. Cube law, condition factor and weight-length relationships: history, meta-analysis and recommendation. *Journal of Applied Ichthyology* 22:241–253.
- GARDNER, S. C., FITZGERALD, S. L., ACOSTA-VARGAS, B., AND MÉNDEZ, L. 2006. Heavy metal accumulation in four species of sea turtles from the Baja California peninsula, Mexico. *BioMetals* 19:91–99.
- GARDNER, S.C. AND NICHOLS, W.J. 2001. Assessment of sea turtle mortality rates in the Bahía Magdalena Region, Baja California Sur, Mexico. *Chelonian Conservation and Biology* 4(1):197–199.
- GARDNER, S.C., PIER, M.D., WESSELMAN, R., AND JUÁREZ, J.A. 2003. Organochlorine contaminants in sea turtles from the Eastern Pacific. *Marine Pollution Bulletin* 46:1082–1089.
- GUZMÁN, J. 1998. Humedales. In: Mahieux, S. (Ed.). Diagnóstico Ambiental de Baja California Sur, México. La Paz, Baja California Sur, Mexico: Fundación Mexicana para la Educación Ambiental, Sociedad de Historia Natural Niparáj, UABCS, pp. 303–336.
- HAMANN, M., JESSOP, T.S., LIMPUS, C.J., AND WHITTIER, J.M. 2005. Regional and annual variation in plasma steroids and metabolic indicators in female green turtle (*Chelonia mydas*). *Marine Biology* 148:427–433.
- HAMANN, M., SCHÄUBLE, C.S., SIMON, T., AND EVANS, S. 2006. Demographic and health parameters of green sea turtles (*Chelonia mydas*) foraging in the Gulf of Carpentaria, Australia. *Endangered Species Research* 2:81–88.
- HARDER, J.D. AND KIRKPATRICK, R.L. 1996. Physiological methods in wildlife research. In: Bookhout, T.A. (Ed.). Research and Management Techniques for Wildlife and Habitats. Bethesda, MD: The Wildlife Society, pp. 275–306.
- HASBÚN, C.R., LAWRENCE, A.J., NALDO, J., SAMOUR, J.H., AND AL-GHAIS, S.M. 1998. Normal blood chemistry of free-living green sea turtles (*Chelonia mydas*) from the United Arab Emirates. *Comparative Haematology International* 8:174–177.
- HERNÁNDEZ-CARMONA, G., SERVIERE-ZARAGOZA, E., RIOSMENA, R., AND SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, I. 2007. Flora marina del sistema lagunar de Bahía Magdalena-Bahía Almejas. In: Funes, R., Gómez, J., and Palomares, R. (Eds.). Estudios Ecológicos en Bahía Magdalena. La Paz, Baja California Sur, Mexico: Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituto Politécnico Nacional, pp. 113–126.
- INEGI. 1995. Síntesis geográfica del estado de Baja California Sur. D.F.: Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática.
- JACOBSON, E.R., WEINSTEIN, M., BERRY, K., HARDENBROOK, B., TOMLINSON, C., AND FREITAS, D. 1993. Problems with using weight versus carapace length relationships to assess tortoise health. *Veterinary Record* 132(9):222–223.
- JESSOP, T.S., SUMMER, J.M., LIMPUS, C.J., AND WHITTIER, J.M. 2004. Interplay between plasma hormone profiles, sex and body condition in immature hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) subjected to a capture stress protocol. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 137:197–204.
- JONES, R.E., PETRELL, R.J., AND PAULY, D. 1999. Using modified length-weight relationships to assess the condition of fish. *Aquacultural Engineering* 20:261–276.
- KAMPALATH, R., GARDNER, S.C., MÉNDEZ, L., AND JAY, J.A. 2006. Total and methylmercury in three species of sea turtles of Baja California Sur. *Marine Pollution Bulletin* 52:1784–1832.
- KARL, S.A. AND BOWEN, B.W. 1999. Evolutionary significant units versus geopolitical taxonomy: molecular systematics of an endangered sea turtle (genus *Chelonia*). *Conservation Biology* 13(5):990–999.
- KELLER, J.M., KUCKLICK, J.R., STAMPER, A., HARMS, C., AND MCCLELLAN-GREEN, P.D. 2004. Associations between organochlorine contaminant concentrations and clinical health parameters in Loggerhead sea turtles from North Carolina, USA. *Environmental Health Perspectives* 112(10):1074–1079.
- KLEINBAUM, D.G. AND KUPPER, L.L. 1978. Applied regression analysis and other multivariable methods. Duxbury, MA: Duxbury Press, 551 p.
- KOCH, V., BROOKS, L., AND NICHOLS, W.J. 2007. Population ecology of the green/black turtle (*Chelonia mydas*) in Bahía Magdalena, Mexico. *Marine Biology* 153(1):33–46.
- KOCH, V., NICHOLS, W.J., PECKHAM, H., AND DE LA TOBA, V. 2006. Estimates of sea turtle mortality from poaching and bycatch in Bahía Magdalena, Baja California Sur, Mexico. *Biological Conservation* 128:327–334.
- LABRADA-MARTAGÓN, V., MÉNDEZ-RODRÍGUEZ, L.C., GARDNER, S.C., LÓPEZ, M., AND ZENTENO-SAVIN, T. 2010. Health indices of the green turtle (*Chelonia mydas*) along the Pacific coast of Baja California Sur, Mexico. I. Blood biochemistry values. *Chelonian Conservation and Biology* 9:162–172.
- LE CREN, E.D. 1951. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). *Journal of Animal Ecology* 20:201–219.
- LÓPEZ-MENDILAHARSU, M., GARDNER, S.C., AND SEMINOFF, J.A. 2003. *Chelonia mydas* agassizii (East Pacific green sea turtle) diet. *Herpetological Review* 34(2):139–140.
- LÓPEZ-MENDILAHARSU, M., GARDNER, S.C., SEMINOFF, J.A., AND RIOSMENA, R. 2005. Identifying critical foraging habitats of the green turtle (*Chelonia mydas*) along the Pacific coast of the Baja California peninsula, Mexico. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 15:259–269.
- MANCINI, A. 2009. Pesca incidental o captura dirigida—tasas y causas de mortalidad de las tortugas marinas en Baja California Sur, México. Tesis doctoral, Universidad Autónoma de Baja California Sur, México.
- MANCINI, A. AND KOCH, V. 2009. Sea turtle consumption and black market trade in Baja California Sur, Mexico. *Endangered Species Research* 7:1–10.
- MÁRQUEZ, M.R. 1990. Sea Turtles of the World. Species Catalogue. Fisheries Synopsis, No. 125, Volume 11. Rome: Food and Agriculture Organization, 81 p.
- MARTÍNEZ, J.A. 1998. La explotación de los recursos naturales renovables, 1940–1993. In: Mahieux, S. (Ed.). Diagnóstico Ambiental de Baja California Sur, México. La Paz, Baja California Sur, Mexico: Fundación Mexicana para la Educa-



- ción Ambiental, Sociedad de Historia Natural Niparáj, pp. 55–98.
- MAYA, Y. AND GUZMÁN, J. 1998. Recursos terrestres y suelo. In: Mahieux, S. (Ed.). Diagnóstico Ambiental de Baja California Sur, México. La Paz, Baja California Sur, Mexico: Fundación Mexicana para la Educación Ambiental, Sociedad de Historia Natural Niparáj, pp. 165–223.
- MÉNDEZ, L., ACOSTA, B., ÁLVAREZ-CASTAÑEDA, S.T., AND LECHUGA-DEVÉZE, C.H. 1998. Trace metal distribution along the southern coast of Bahía de la Paz (Gulf of California), Mexico. *Bulletin of Environmental Contaminant and Toxicology* 61:616–622.
- NASH, R.D.M., VALENCIA, A.H., AND GEFFEN, A.J. 2006. The origin of Fulton's condition factor, setting the record straight. *Fisheries* 31(5):236–238.
- NICHOLS, W.J. 2003. Biology and conservation of sea turtles in Baja California, Mexico. PhD Dissertation, University of Arizona, Tucson. 474 p.
- PETERSON, W.T., EMMETT, R., GOERCKE, R., VENRICK, E., MANTYLA, A., BOGRAD, S.J., SCHWING, F.B., RALSTON, S., FORNEY, K.A., HEWITT, R., LO, N., WATSON, W., BARLOW, J., LOWRY, M., LAVANIEGOS, B.E., CHAVEZ, F., SYDEMAN, W.J., HYRENBACH, K.D., BRADLEY, R.W., WARZYBOK, P., HUNTER, K., BENSON, S., WEISE, M., AND HARVEY, J. 2006. The state of the California Current, 2005–2006: warm in the North, cool in the South. *CalCOFI Report* 47:30–74.
- PRITCHARD, P.C.H. 1997. Evolution, phylogeny and current status. In: Lutz, P.L. and Musick, J.A. (Eds.). *The Biology of Sea Turtles*. Boca Raton, FL: CRC Press, pp. 1–28.
- PRITCHARD, P.C.H. 1999. Status of the black turtle. *Conservation Biology* 13(5):1000–1003.
- RICKER, W.E. 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada* 191:1–382.
- SEMINOFF, J.A., JONES, T.T., RESENDIZ, A., NICHOLS, W.J., AND CHALOUKKA, M. 2003. Monitoring green turtles (*Chelonia mydas*) at a coastal foraging area in Baja California, Mexico: multiple indices describe population status. *Journal of the Marine Biological Association of the U.K.* 83:1355–1362.
- SEMINOFF, J.A., RESENDIZ, A., AND NICHOLS, W.J. 2002a. Home range of green turtles (*Chelonia mydas*) at a coastal foraging area in the Gulf of California, Mexico. *Marine Ecology Progress Series* 242:253–265.
- SEMINOFF, J. A., RESENDIZ, A., NICHOLS, W. J., AND JONES, T.T. 2002b. Growth rates of wild green turtles (*Chelonia mydas*) at a temperate foraging area in the Gulf of California, Mexico. *Copeia* 3:610–617.
- SHUMILIN, E., PÁEZ-OSUNA, F., GREEN-RUIZ, C., SAPOZHNIKOV, D., RODRÍGUEZ-MEZA, G., AND GODÍNEZ-ORTA, L. 2001. Arsenic, antimony, selenium and other trace elements in sediments of the La Paz lagoon, Peninsula of Baja California, Mexico. *Marine Pollution Bulletin* 42(3):174–178.
- STEVENSON, R.D. AND WOODS, W.A. 2006. Condition indices for conservation: new uses for evolving tools. *Integrative and Comparative Biology* 46(6):1169–1190.
- SWIMMER, J.Y. 2000. Biochemical responses to fibropapilloma and captivity in the green turtle. *Journal of Wildlife Disease* 36(1):102–110.
- TALAVERA-SAENZ, A., GARDNER, S.C., RIOSMENA, R., AND ACOSTA-VARGAS, V. 2007. Metal profiles used as environmental markers of green turtle (*Chelonia mydas*) foraging resources. *Science of the Total Environment* 373:94–102.
- WHITING, S.D., GUINEA, M.L., LIMPUS, C.J., AND FOMIATTI, K. 2007. Blood chemistry reference values for two ecologically distinct populations of foraging green turtles, eastern Indian Ocean. *Comparative Clinical Pathology* 16:109–118.
- WORK, T.M., RAMEYER, R.A., BALAZS, G.H., CRAY, C., AND CHANG, S.P. 2001. Immune status of free-ranging green turtles with fibropapillomatosis from Hawaii. *Journal of Wildlife Diseases* 37(3):574–581.
- ZAR, J.H. 1996. *Biostatistical analysis*. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 662 pp.

Received: 30 September 2009

Revised and Accepted: 22 February 2010

Provided for non-commercial research and education use.  
Not for reproduction, distribution or commercial use.



This article appeared in a journal published by Elsevier. The attached copy is furnished to the author for internal non-commercial research and education use, including for instruction at the authors institution and sharing with colleagues.

Other uses, including reproduction and distribution, or selling or licensing copies, or posting to personal, institutional or third party websites are prohibited.

In most cases authors are permitted to post their version of the article (e.g. in Word or Tex form) to their personal website or institutional repository. Authors requiring further information regarding Elsevier's archiving and manuscript policies are encouraged to visit:

<http://www.elsevier.com/copyright>



Contents lists available at ScienceDirect

## Comparative Biochemistry and Physiology, Part C

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/cbpc](http://www.elsevier.com/locate/cbpc)

## Oxidative stress indicators and chemical contaminants in East Pacific green turtles (*Chelonia mydas*) inhabiting two foraging coastal lagoons in the Baja California peninsula

Vanessa Labrada-Martagón, Paola A. Tenorio Rodríguez, Lia C. Méndez-Rodríguez, Tania Zenteno-Savín \*

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, CIBNOR, Programa de Planeación Ambiental y Conservación, Mar Bermejo 195, Playa Palo Santa Rita, La Paz, Baja California Sur, C.P. 23090, Mexico

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 22 December 2010  
Received in revised form 19 February 2011  
Accepted 22 February 2011  
Available online 4 March 2011

## Keywords:

Antioxidant enzymes  
Biomarkers  
*Chelonia mydas*  
Conservation  
Green turtle  
Health  
Organochlorine pesticides  
Trace elements

## ABSTRACT

In order to determine the potential effects of contaminants in juveniles of East Pacific green turtle, *Chelonia mydas*, captured alive, circulating trace metal and organochlorine pesticide concentrations were correlated with body condition, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels. Turtles were sampled in Punta Abreojos (PAO) and Bahía Magdalena (BMA). Turtles from PAO showed higher silicon and cadmium concentrations, but lower  $\alpha$ -hexachlorocyclohexane,  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane, hexachlorobenzene and aldrin concentrations than individuals from BMA. In BMA cadmium concentration decreased as the standard carapace length of the turtles increased. In PAO concentrations of  $\alpha$ -hexachlorocyclohexane, heptachlor and hexachlorobenzene were positively correlated with the weight of the individuals. Lipid peroxidation levels were positively correlated with cadmium concentrations. In turtles captured in PAO, enzymatic antioxidant activities correlated mostly with pesticide concentrations, while in individuals from BMA enzyme activities were correlated with trace element concentrations. Correlations between antioxidant enzyme activities and concentration of xenobiotics suggest physiological sensitivity of East Pacific green turtles to chemicals. Regional differences found could be influenced by habitat conditions such as currents, upwellings (PAO) and agricultural activities (BMA). We suggest that, combined, circulating contaminant concentrations, lipid peroxidation levels and antioxidant enzyme activities in sea turtles could be used as biomarkers of the habitat conditions.

© 2011 Elsevier Inc. All rights reserved.

### 1. Introduction

The effects of chemical contaminants occur at different levels of biological organization (Stegeman et al., 1992). Biochemical responses are the first line of defense in the cell following exposure to a toxicant. The interaction of the toxicant with molecular targets generates a cascade of biochemical reactions in an attempt to rid the cell of the toxin or to defend it against adverse effects. Those responses can eventually initiate systemic physiological responses in the organisms and extend ultimately to the population and ecosystem levels (Stegeman et al., 1992; Schlenk and Di Giulio, 2002).

The production of reactive oxygen species (ROS) in cells is an important component of the response of marine organisms exposed to a variety of environmental stressors, including pollution (Lesser, 2006). The increased production of ROS in response to environmental contaminants induces a number of antioxidant enzymes, alters concentrations of other antioxidant molecules, and can produce biochemical lesions (to lipids, proteins and DNA), leading to oxidative

stress (Stegeman et al., 1992; Schlenk and Di Giulio, 2002). Due to the relationship between the molecular indicators of oxidative stress and environmental xenobiotics, there has been increasing interest in the potential usefulness of the former as biomarkers of exposure to and effects of chemical pollution (Stegeman et al., 1992; Schlenk and Di Giulio, 2002; Martínez-Álvarez et al., 2005; Richardson et al., 2010).

Physiological biomarkers have the advantages of being the first detectable and the most sensitive reaction to environmental change, reflecting responses to only the biologically available fraction of the pollutants and pointing out possible additional effects that an organ or individual could suffer (Mayer et al., 1992; Stegeman et al., 1992).

The presence of heavy metals and trace elements in the Baja California peninsula has been attributed mostly to natural causes, such as geological formations, currents and upwellings (Méndez et al., 1998; Shumilin et al., 2000, 2001). Polychlorinated biphenyls (PCBs) and organochlorine pesticides (OCs) have been widespread on land and in the aquatic environment as a result of pest control, agriculture industry, ship-yards, fish-processing plants and discharges of wastewater from urban areas (Gutiérrez-Galindo et al., 1998; Gardner et al., 2003).

Residuals of a variety of heavy metals and OCs have been found in tissues of different sea turtle species in the Baja California peninsula and the Gulf of California (Presti et al., 1999; Gardner et al., 2003;

\* Corresponding author. Tel.: +52 612 123 8502; fax: +52 612 125 3625.

E-mail addresses: [vlabrada@gmail.com](mailto:vlabrada@gmail.com) (V. Labrada-Martagón), [tzenteno04@cibnor.mx](mailto:tzenteno04@cibnor.mx) (T. Zenteno-Savín).

Fitzgerald, 2004; Gardner et al., 2006; Kampalath et al., 2006; Richardson et al., 2010). It is necessary to improve our understanding of the variability of the oxidative stress indicators in sea turtles and their relationships with the chemical pollutants present in sea turtle tissues, in order to enhance their potential utility as biomarkers of the health status of these endangered species. Additionally, this information would increase the utility of the sea turtles as sentinel species, as indicators of the environmental health of their marine-coastal habitats, temporal changes and ambient degradation (Milton and Lutz, 2003; Aguirre and Lutz, 2004; Wallace et al., 2006).

Due to the lack of information the objectives of this study were to measure the activity of antioxidant enzymes and lipid peroxidation levels of the Eastern Pacific green sea turtles (*Chelonia mydas*), considering the physical appearance, size classes and study sites; and to evaluate the correlations of the indicators of oxidative stress with body condition, trace metals and pesticides measured in blood and plasma, respectively, of the sea turtles. These results could provide a baseline data for future studies on the Eastern Pacific green sea turtles.

## 2. Material and methods

### 2.1. Study area

Green turtles were captured alive during 2005 and 2007 in two coastal lagoons located in the occidental coast of Baja California Sur, Mexico, namely, Punta Abreojos (PAO) and Bahía Magdalena (BMA) (Fig. 1). These lagoons are economically important regions where commercial and artisanal fisheries take place. In addition, a fish-processing plant and tourism industry are present in BMA. This region has been considered a pristine zone; nevertheless, there are concerns about the ambient and public health due to the growing fishing activities, urban development and urban waste discharge (Castellanos and Mendoza, 1991 in Maya and Guzmán, 1998).

### 2.2. Field protocol and sample collection

The sea turtles were captured as described previously (Labrada-Martagón et al., 2010a,b). Briefly, monofilament fishing nets (100 m long; 20 cm mesh) were set parallel to the sea current and monitored every 1–2 h to avoid drowning of any entangled animal. For each turtle captured, the straight carapace length (SCL; from nuchal notch to tip of distal marginal scute) was measured with calipers ( $\pm 0.1$  cm) and the weight with a 150-kg spring scale ( $\pm 0.1$  kg). Blood was drawn from the venous cervical sinus (Owens and Ruiz, 1980) using double-ended Vacutainer® needles (1.5 in. length, 32 mm caliber) and Vacutainer® blood collection tubes (7 mL, Becton Dickinson, Franklin Lakes, New Jersey) as described by Keller et al. (2006). Samples collected in heparinized Vacutainer® tubes were used to measure antioxidant defenses and organochlorine pesticides; samples collected in tubes without anticoagulant were used to measure trace elements. To measure the concentration of OCs in plasma, collected blood was centrifuged ( $890 \times g$ ) for 15 min in a field centrifuge (Mobilespin, Vulcon Technologies, Grandview, MO, USA) to obtain the plasma. Each plasma sample was transferred into labeled microtubes (1.5 mL cryovials, Eppendorf®). In order to measure the antioxidant enzyme activities the intracellular material was obtained by lysing the red blood cells osmotically and mechanically according to Pippenger et al. (1998). At each step the samples were centrifuged ( $890 \times g$ ) for 10 min with saline solution at 0.9%. All samples were frozen by immersion in liquid nitrogen and transported in a cryogenic shipper (5.4 L) (Taylor Wharton CP 100) to the laboratory where they were stored at  $-80$  °C.

### 2.3. Trace elements

Blood samples (5 mL) were digested in a flask (100 mL) with 7 mL of nitric acid ( $\text{HNO}_3$ ) using an electric heater at  $90$  °C. The final content was taken to 10 mL of deionized water in polypropylene

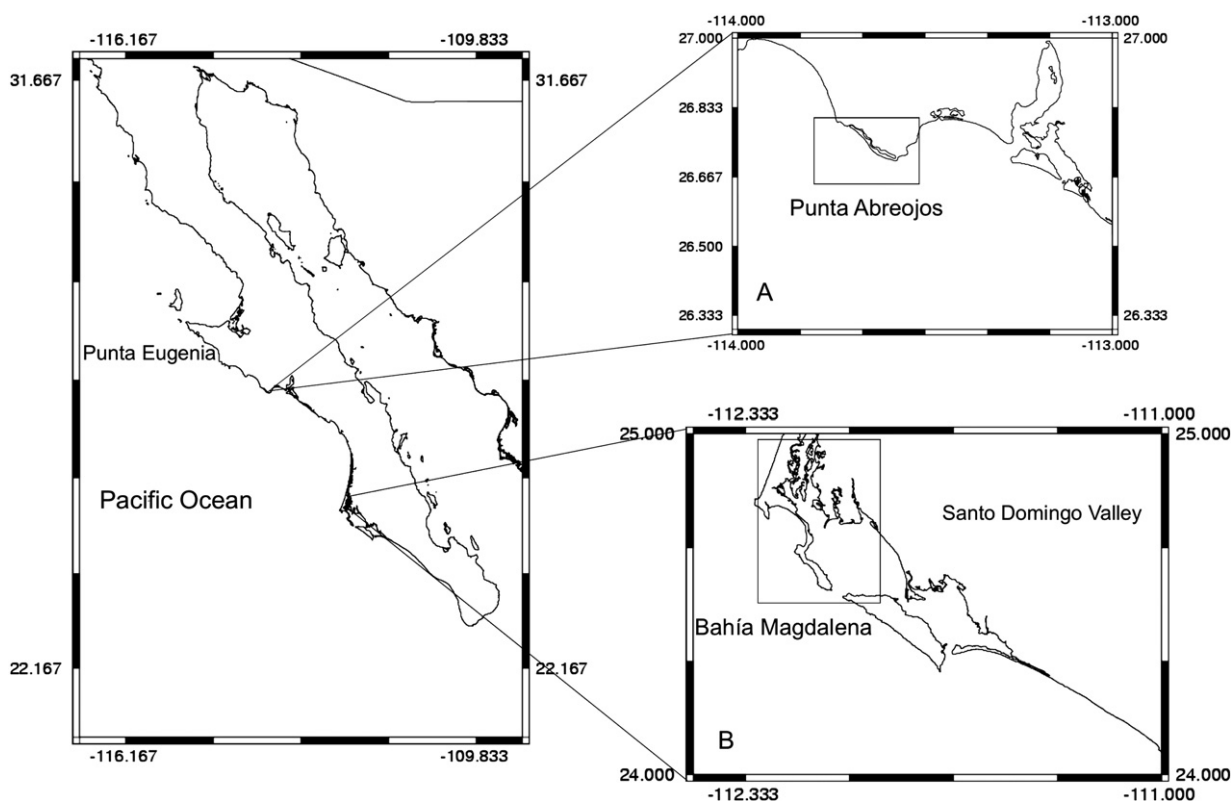


Fig. 1. Map of the study sites.

tubes. Samples were analyzed by atomic absorption (GBC Scientific equipment, model AVANTA, Dandenong, Australia) using an air-acetylene flame (Mg, Cd, Fe, Zn and Ni), nitrous oxide-acetylene flame (Sr and Si) and by hydride generation (Se). All the samples were analyzed in triplicate. A blank of reactive was injected every 10 samples to determine background interference. The certified standard reference material (TORT-2, National Research Council of Canada) was used for validation of the technique. The range of recovery was between 83 and 106%. The results are expressed in  $\mu\text{g g}^{-1}$  wet mass.

#### 2.4. Organochlorine pesticides (OCs)

Twenty five different pesticides were extracted and quantified by an adaptation to the methods described by Díaz (2004) and Gardner et al. (2003) for plasma and tissues, respectively, using HPLC grade solvents (pentane, hexane, isooctane, Across organic, Piscataway, NJ, USA) and reagents (sodium sulfate, florisil, Fisher Scientific International, Hampton NH, USA). Briefly, approximately 2 mL plasma from each sample was extracted with solvents, purified and fractioned with florisil; concentrated to a final volume of 100  $\mu\text{L}$  in isooctane. Samples and standards were diluted in isooctane. During sample analyses 1,7,8-trichlorodibenzo-*p*-dioxin (TriCDD, Accustandar, New Haven, CT, USA) was used as internal standard and 1,2,3,4-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TetraCDD, Accustandar) was used as surrogate, both were used to calculate recovery percentage during the process. Once all sample extracts were obtained, they were analyzed by injecting 1  $\mu\text{L}$  into a gas chromatograph (Network GC System, Mod. 6890 N) coupled to an electron capture detector (ECD Niquel<sup>63</sup>, Mod. G2397-6505, Agilent Technologies, Inc., Palo Alto, CA, USA) with an automatic injection system and a separation column (30 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu\text{m}$ ) (HP-5MS Agilent Wilmington, DE, USA). Calibration curves with 5 points (0.005 to 1.0 ng  $\mu\text{L}^{-1}$ ,  $r^2 \geq 0.99$ ) were generated to quantify each pesticide of interest (Ultra Scientific, North Kingstown, RI, USA and CLP Pesticides Organochlorine mix, Supelco, Bellefonte, PA, USA). A blank of reactive was injected every 10 samples to determine background interference in the method. The results are expressed in ng  $\text{mL}^{-1}$  plasma. Specific detection limits were from 0.05 to 0.001 ng  $\text{mL}^{-1}$  depending on the pesticide. The extraction recovery was 86.4%.

#### 2.5. Antioxidant defenses and lipid peroxidation

Spectrophotometric analyses were used to measure the antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in the intracellular material as previously described (Zenteno-Savín et al., 2002; Vázquez-Medina et al., 2006; Valdivia et al., 2007; Cantú-Medellín et al., 2009; López-Cruz et al., 2010; Zenteno-Savín et al., 2010). All samples were analyzed in triplicate. In order to standardize results, the hemoglobin (Hb) concentration was quantified for each sample by using a semi-automated clinical chemistry analyzer Microlab 300 (Dieren, Netherlands) at 540 nanometer (nm) and commercial kits (RANDOX, Dublin, United Kingdom). All results are expressed in units of enzyme activity per g of hemoglobin (U  $\text{g}^{-1}$  of Hb).

##### 2.5.1. Total superoxide dismutase (t-SOD; EC 1.15.1.1)

The activity of SOD was assayed following the inhibition of the reduction of nitrotetrazolium blue chloride (NBT) by superoxide radical ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ), yielding formazan (Suzuki, 2000). The change in absorbance per minute at 560 nm ( $\Delta A_{560}$ ) was calculated. One unit of SOD activity is defined as the amount of enzyme needed to inhibit the reaction by 50%.

##### 2.5.2. Manganese-dependent superoxide dismutase (Mn-SOD)

Sodium-carbonate working solution (50 mM), sodium cyanide (0.25 M), and the homogenized sample were mixed and incubated in a water bath at 25 °C. Xanthine oxidase was added and the change in absorbance per minute at 560 nm ( $\Delta A_{560}$ ) was calculated.

##### 2.5.3. Copper, zinc-dependent superoxide dismutase (Cu,Zn-SOD)

Cu,Zn-SOD activity was calculated as the difference between t-SOD and Mn-SOD activities.

##### 2.5.4. Catalase (CAT; EC 1.11.16)

The enzymatic activity of CAT was estimated by following the decay of  $\text{H}_2\text{O}_2$  at 240 nm (Aebi, 1984). A unit of CAT activity is defined as the amount of enzyme needed to reduce 1  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1}$ .

##### 2.5.5. Glutathione-S-transferase (GST; EC 2.5.1.18)

GST activity was measured at 340 nm following the formation of thioether glutathione dinitrobenzene as product of the reaction between reduced glutathione (GSH) and 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (Habig and Jakoby, 1981). One unit of GST activity is defined as the amount of enzyme that synthesizes 1  $\mu\text{mol}$  of product  $\text{min}^{-1}$ .

##### 2.5.6. Glutathione peroxidase (GPx; EC 1.11.19)

GPx activity was measured by monitoring the continuous decrease in NADPH concentration using  $\text{H}_2\text{O}_2$  as a substrate at 340 nm (Flohé and Günzler, 1984). One unit of GPx activity is defined as the amount of enzyme that oxidizes 1  $\mu\text{mol}$  of NADPH  $\text{min}^{-1}$ .

##### 2.5.7. Lipid peroxidation (TBARS) levels

To estimate the lipid peroxidation levels, the concentration of malondialdehyde (MDA), the reaction product between the cellular membranes with the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), is quantified at 532 nm (Ohkawa et al., 1979; Persky et al., 2000). Results were expressed in nmol of TBARS  $\text{mg Hb}^{-1}$ .

#### 2.6. Data classification and statistical analyses

Data were grouped by sea turtle size classes, defined by Aguirre and Balazs (2000) as follows: (a) juvenile 35–65 cm SCL; (b) subadult, 66–85 cm SCL; and (c) adult, turtles >85 cm SCL. This classification allows for comparisons with previous studies. Data were also grouped by physical appearance of the sea turtles. Sea turtles were classified by visual inspection according to Labrada-Martagón et al. (2010a) as (a) injured, presence of barnacles or ectoparasites, any external skin or carapace lesion, recent traumatic injuries (scars were discounted), amputations, obvious signs of illness (e.g. emaciation); or (b) healthy, none of the above conditions. The OCs were grouped by molecular structure as: (a) dichlorodiphenyltrichloroethanes (DDT's); (b) hexachlorocyclohexanes (HCH's), this group included the  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - (lindane) and  $\delta$ -isomers; (c) cyclodienes (aldrin, dieldrin, endrin and endosulfan); (d) chlordanes; (e) heptachlors; (f) hexachlorobenzene; and (g) methoxychlor. A relative body condition index (*Krel*) was estimated using the parameters obtained from the corresponding relationship between SCL (cm) and weight (kg) data of the sea turtles grouped by zone and physical appearance as described in Labrada-Martagón et al. (2010b).

A distributional method (probability plot) was employed for estimating the measure of central value (median) and variability (interquartile range 25–75%, IQR) of OC data (Helsel, 1990). Prior to the statistical analyses, normality (Kolmogorov-Smirnov test) and homoscedasticity of variance (Barlett's test) were evaluated. With exception of OCs, data were natural log (ln) transformed prior to conducting parametric statistics. Nonparametric tests (Mann-Whitney *U*-test) were used to evaluate differences in the concentration of OCs between factors (Helsel, 1990). Statistics were performed only for those OCs detected in at least 46% of the samples analyzed in order to maintain the test's power (Helsel, 1990). Student *t*-tests were performed to assess differences in trace elements and antioxidant defenses between physical appearances, size classes and study sites, in that order. When the variable showed significant differences in a factor, it was considered by group in the subsequent analysis. The use of univariate tests was considered to reduce variability in the results

**Table 1**  
Concentration of trace elements ( $\mu\text{g g wet weight}^{-1}$ ) in blood of green sea turtles, *Chelonia mydas*, from Punta Abreojos and Bahía Magdalena.

Trace element	Zone				Zone			
	Punta Abreojos				Bahía Magdalena			
	Range	Mean	SE	n	Range	Mean	SE	n
Cd	0.008–0.12	0.06 <sup>a</sup>	0.00	42	0.01–0.05	0.03 <sup>b</sup>	0.00	14
Sr	0.05–0.48	0.28	0.03	14	0.03–0.38	0.18	0.04	11
Fe	109.24–520.67	343.57	13.02	42	232.42–410.24	302.82	10.38	14
Zn	0.46–19.91	13.92	0.49	42	10.97–18.55	13.58	0.59	14
Ni	19.61–157.14	76.47	11.02	41	41.51–157.14	73.30	9.30	14
Si	0.003–0.04	0.02 <sup>a</sup>	0.00	42	0.001–0.08	0.01 <sup>b</sup>	0.01	14
Se	0.03–5.66	1.59	0.19	40	0.15–4.65	1.81	0.43	14
Mg	0.08–0.31	0.19	0.01	42	0.14–0.21	0.17	0.01	14

Abbreviations: SE, standard error; SCL, straight carapace length. Superscript letters denote statistically significant differences between groups,  $p < 0.05$ .

and limited the probability of committing a Type I error. Pearson and Spearman correlation coefficients were used, according to the normality assumption, to evaluate the correlation between variables by study site.

A principal component analysis (PCA) was performed to evaluate and describe distribution patterns in the concentration of the chemical contaminants and in the activity of antioxidant defenses between individuals and/or study sites. A data base was created with the variables *Krel*, chemical contaminant concentrations, antioxidant enzyme activities and TBARS levels (columns) ordered by sea turtles (rows). Due to the fact that PCA requires a correlation matrix among the variables and does not work with zeros (Kleinbaum and Kupper, 1978), the half value of the specific detection limit for each OC considered (0.0005–0.0025) was used in the multivariate data base when the concentration was below the detection limit. All results with  $p \leq 0.05$  were considered significant. Statistical analyses were run using Statistica v.7 (StatSoft, Inc., 2004) and R v.2.11.1 (R Development Core Team, 2010).

### 3. Results

From 2005 to 2007, 42 green sea turtles were captured in PAO and 14 in BMA. The predominant age group was juveniles (PAO, 64%; BMA, 93%). The SCL of the sea turtles was not different between zones ( $t_{0.05,(2),54} = -1.71$ ,  $p < 0.09$ ); in PAO the SCL ranged between 44 and 92.4 cm (mean:  $64 \pm 11.7$  cm) and in BMA between 46.3 and 70.4 cm (mean:  $58.3 \pm 5.7$  cm). Injured sea turtles accounted for 48% of the turtles sampled in PAO, and 36% in BMA.

#### 3.1. Trace elements

The ranges and geometric mean of the trace elements measured in blood of the green turtles by study sites are shown in Table 1. An extreme data point was excluded from the analysis: one juvenile turtle, sex unknown, from PAO which had  $488.93 \mu\text{g g}^{-1}$  Ni. The sea turtles captured in PAO showed higher concentrations of Si ( $t_{0.05,(2),54} = -2.40$ ,  $p < 0.01$ ) and Cd ( $t_{0.05,(2),54} = -5.37$ ,  $p < 0.001$ ) than BMA.

**Table 2**  
Concentration of organochlorine pesticides ( $\text{ng mL}^{-1}$ ) in plasma of green sea turtles, *Chelonia mydas*, captured in Punta Abreojos and Bahía Magdalena.

Organochlorine pesticide	Zone									
	Punta Abreojos					Bahía Magdalena				
	Range	Median	IQR	%	N	Range	Median	IQR	%	N
$\alpha$ -HCH	0.001–1.34	0.161160 <sup>a</sup>	0.4436	53.8	39	0.001–2.37	1.32301 <sup>b</sup>	0.3467	92.3	13
$\beta$ -HCH	0.001–10.71	1.169761	3.6641	46.2	39	0.001–23.35	4.58425	4.3078	76.9	13
$\gamma$ -HCH	0.001–9.8	0.773151	2.2419	46.2	39	0.001–9.64	2.96004	1.2960	61.5	13
$\delta$ -HCH	0.001–9.83	0.790514 <sup>a</sup>	0.7925	92.3	39	0.001–10.57	2.61459 <sup>b</sup>	1.0408	84.6	13
Aldrin	0.005–25.94	0.957726 <sup>a</sup>	0.3833	59	39	0.005–27.86	10.43339 <sup>b</sup>	17.8873	75	12
Endrin	0.005–5.17	1.064513	0.0000	26.3	38	nd	–	–	0	13
Endrin sulfate	0.005–36.79	1.398561	1.8566	40	20	0.001–1.36	–	–	100	1
Endrin aldehyde	nd	–	–	0	19	nd	–	–	0	12
Endrin ketone	nd	–	–	0	39	nd	–	–	0	13
Endosulfan I	nd	–	–	0	39	0.005–1.22	–	–	15.4	13
Endosulfan II	nd	–	–	0	39	0.005–7.54	–	–	7.7	13
Endosulfan sulfate	nd	–	–	0	19	0.005–12.99	–	–	16.7	12
Dieldrin	nd	–	–	0	39	nd	–	–	0	13
$\alpha$ -Chlordane	nd	–	–	0	19	nd	–	–	0	12
$\gamma$ -Chlordane	0.001–1.31	0.230227 <sup>a</sup>	0.0000	10.3	39	0.001–0.84	0.313725 <sup>b</sup>	0.2611	61.5	13
Heptachlor	0.001–36.49	8.607096 <sup>a</sup>	11.4357	82.1	39	0.001–13.77	2.731588 <sup>b</sup>	3.5235	38.5	13
Heptachlor epoxide	0.005–7.88	–	–	2.6	39	0.005–1.69	1.844882	0.0000	23.1	13
o,p'-DDT	nd	–	–	0	20	na	–	–	na	na
o,p'-DDD	0.005–29.43	0.745459	0.0116	33.3	21	nd	–	–	0	1
o,p'-DDE	0.005–0.32	–	–	5	20	nd	–	–	0	1
p,p'-DDT	0.001–0.26	–	–	2.6	39	0.001–3.98	–	–	7.7	13
p,p'-DDD	nd	–	–	0	39	0.005–11.82	–	–	7.7	13
p,p'-DDE	nd	–	–	0	39	nd	–	–	0	13
Hexachlorobenzene	0.001–1.90	0.386999	0.3276	68.4	19	0.001–7.61	0.960364	0.9958	75	12
Methoxychlor	nd	–	–	0	39	nd	–	–	0	13

Abbreviations: IQR, interquartile range; %, proportion of sea turtles with residuals of pesticides detected; N, number of samples analyzed; SCL, straight carapace length; nd., not detected; na, not analyzed. Superscript letters denote statistically significant differences between groups,  $p < 0.05$ .

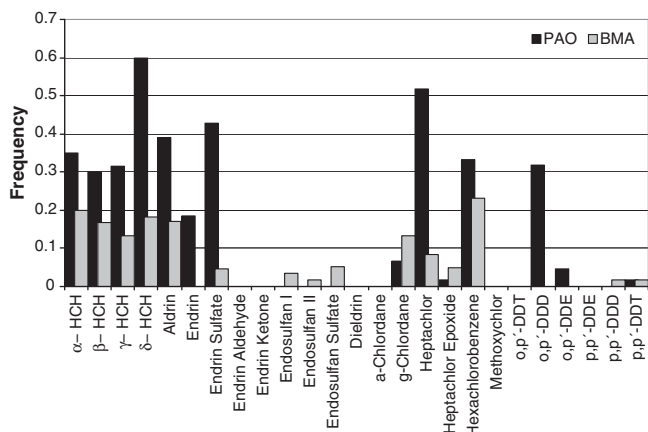


Fig. 2. Frequency of green sea turtles, *Chelonia mydas*, with residuals of pesticides in plasma by study site.

(Table 1). Additionally, in PAO healthy sea turtles had higher Si concentration ( $t_{0.05,(2),36} = -2.95, p < 0.01$ ) than injured ones. In BMA, no significant differences in the concentration of trace elements by physical appearance were found. In BMA, Cd concentration in blood was negatively correlated with the SCL of the sea turtles (Table 4). In PAO, no correlation between any of the trace elements and the morphometric variables was found; no differences between juveniles and subadults were found, either.

### 3.2. Organochlorine pesticides

The median and the interquartile range (IQR, 25th percentile–75th percentile) of the concentration of OCs detected in sea turtle plasma by study site are presented in Table 2. Of the 25 OCs analyzed, 72% ( $n = 18$ ) were detected in at least one sample. The most prevalent pesticide found is the  $\delta$ -HCH which was found in 85% of the individuals. Extreme data were not considered in the analysis: 1 subadult female from BMA with  $389 \text{ ng mL}^{-1}$  aldrin; 1 subadult, sex unknown, from PAO with  $177.8 \text{ ng mL}^{-1}$  endrin; and 1 subadult female from PAO, with  $439.7 \text{ ng mL}^{-1}$  endrin sulfate.

The group of pesticides most frequently detected was HCHs and the coastal lagoon in which the highest frequency of sea turtles with residuals of pesticides was detected was PAO (Fig. 2). Nevertheless, in BMA the sea turtles showed the highest concentrations of  $\alpha$ -HCH ( $U_{0.05,(1),13,39} = 62, p < 0.001$ ),  $\delta$ -HCH ( $U_{0.05,(1),13,39} = 140, p = 0.01$ ), aldrin ( $U_{0.05,(1),13,39} = 108, p < 0.01$ ) and  $\gamma$ -chlordane ( $U_{0.05,(1),13,39} = 131.5, p < 0.01$ ) in comparison with PAO. Sea turtles from PAO showed higher concentration of heptachlor than those from BMA ( $U_{0.05,(1),13,39} = 135, p = 0.01$ ) (Table 2).

There were no significant differences between physical appearances, nor between size classes of the sea turtles in the concentration of OCs. In BMA the concentration of  $\gamma$ -HCH was negatively correlated with the body condition index  $Krel$  ( $r_s = -0.69, p = 0.01$ ). In PAO the concentration of  $\beta$ -HCH was negatively correlated with  $Krel$  ( $r_s = -0.38, p = 0.02$ ) and the SCL ( $r_s = -0.38, p = 0.01$ ), and the total concentration of HCH's was negatively correlated with the SCL of the sea turtles ( $r_s = -0.34, p = 0.02$ ) (Table 4).

### 3.3. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation

The geometric mean and ranges of the activity of the antioxidant enzymes and TBARS levels measured in green sea turtles are presented in Table 3. The sea turtles from BMA showed higher activity of t-SOD ( $t_{0.05,(2),48} = 12.6, p < 0.001$ ), Cu,Zn-SOD ( $t_{0.05,(2),42} = 5.18, p < 0.001$ ) and Mn-SOD ( $t_{0.05,(2),47} = 6.40, p < 0.001$ ) than those individuals captured in PAO (Table 3). The sea turtles in PAO had higher CAT activity ( $t_{0.05,(2),48} = 3.43, p < 0.001$ ) than in BMA (Table 3).

When comparing the activity of the antioxidant defenses between study groups, only differences between physical appearances were found in the sea turtles from BMA. Healthy sea turtles showed higher activity of Mn-SOD than injured ones ( $t_{0.05,(2),7} = 3.45, p = 0.01$ ). Neither the antioxidant enzyme activities, nor the lipid peroxidation levels, were correlated with the morphometric variables of the sea turtles.

### 3.4. Chemical contaminant patterns and antioxidant defense response

Correlation coefficients between the chemical contaminants and the activity of the antioxidant enzymes are shown in Table 4. In sea turtles captured in PAO, the enzymatic antioxidants correlated mostly to the concentration of pesticides, while in individuals from BMA the antioxidant enzyme activities were correlated with the trace element concentrations (Fig. 3). The TBARS levels measured in sea turtles from BMA were correlated positively with the concentration of chlordane, heptachlor and the sum of heptachlors; meanwhile in PAO the TBARS levels correlated (positively) with the concentration of Cd (Fig. 3), aldrin, the sum of cyclodienes, and the sum of DDT's.

The PCA generated three principal components (PC) with eigenvalues  $> 1.0$  explaining 43.4% of the total variance in the data (19.0%, 13.8% and 10.5%, respectively). The factor loadings, describing the correlations between the PC obtained with the original variables, are shown in Table 5. The first (PC1) and second (PC2) components explained together 33% of the variability in the data. The plot of PC1 and PC2 shows two groups of individuals, one corresponding to the sea turtles captured in BMA and the other one to those captured in PAO (lines drawn without statistical significance) (Fig. 4). The PC1 axis was correlated with

Table 3

Antioxidant enzyme activity (GST, glutathione S-transferase; CAT, catalase; GPx, glutathione peroxidase; t-SOD, Mn-SOD, Cu,Zn-SOD, total, mitochondrial and cytosolic superoxide dismutase; U g Hb<sup>-1</sup>) and lipid peroxidation (TBARS, nmol mg Hb<sup>-1</sup>) in blood of green sea turtles, *Chelonia mydas*, from Punta Abreojos and Bahía Magdalena.

Oxidative stress markers	Zone							
	Punta Abreojos				Bahía Magdalena			
	Mean	SE	Range	n	Mean	SE	Range	n
TBARS	0.04	0.01	0.001–0.19	39	0.05	0.01	0.02–0.07	11
GST	0.99	0.17	0.09–4.62	39	0.62	0.11	0.17–1.37	11
CAT	223.29	19.77	64.82–559.30	39	92.22	14.07	36.37–172.00	11
GPx	12.39	0.97	0.89–32.80	39	12.50	2.68	1.43–27.90	11
t-SOD	0.426 <sup>a</sup>	0.06	0.137–2.215	39	2.951 <sup>b</sup>	0.32	1.367–4.622	11
Mn-SOD	0.266 <sup>a</sup>	0.04	0.013–1.092	38	1.990 <sup>b</sup>	0.37	0.358–4.246	11
Cu,Zn-SOD	0.204 <sup>a</sup>	0.03	0.021–1.122	33	0.961 <sup>b</sup>	0.24	0.124–2.908	11

Abbreviations: SE, standard error; SCL, straight carapace length. Superscript letters, statistically significant difference between groups,  $p < 0.05$ .

the concentration of hexachlorocyclohexanes in the green turtles (Table 5); in the plot, sea turtles with the highest concentrations of hexachlorocyclohexanes scored lower on PC1 (Fig. 4). The PC2 axis separated the green turtles captured in BMA from those captured in PAO. In BMA sea turtles had the higher concentrations of aldrin and the higher activity of Mn-SOD, these scored lower on PC2 (Fig. 4). Individuals captured in PAO that scored

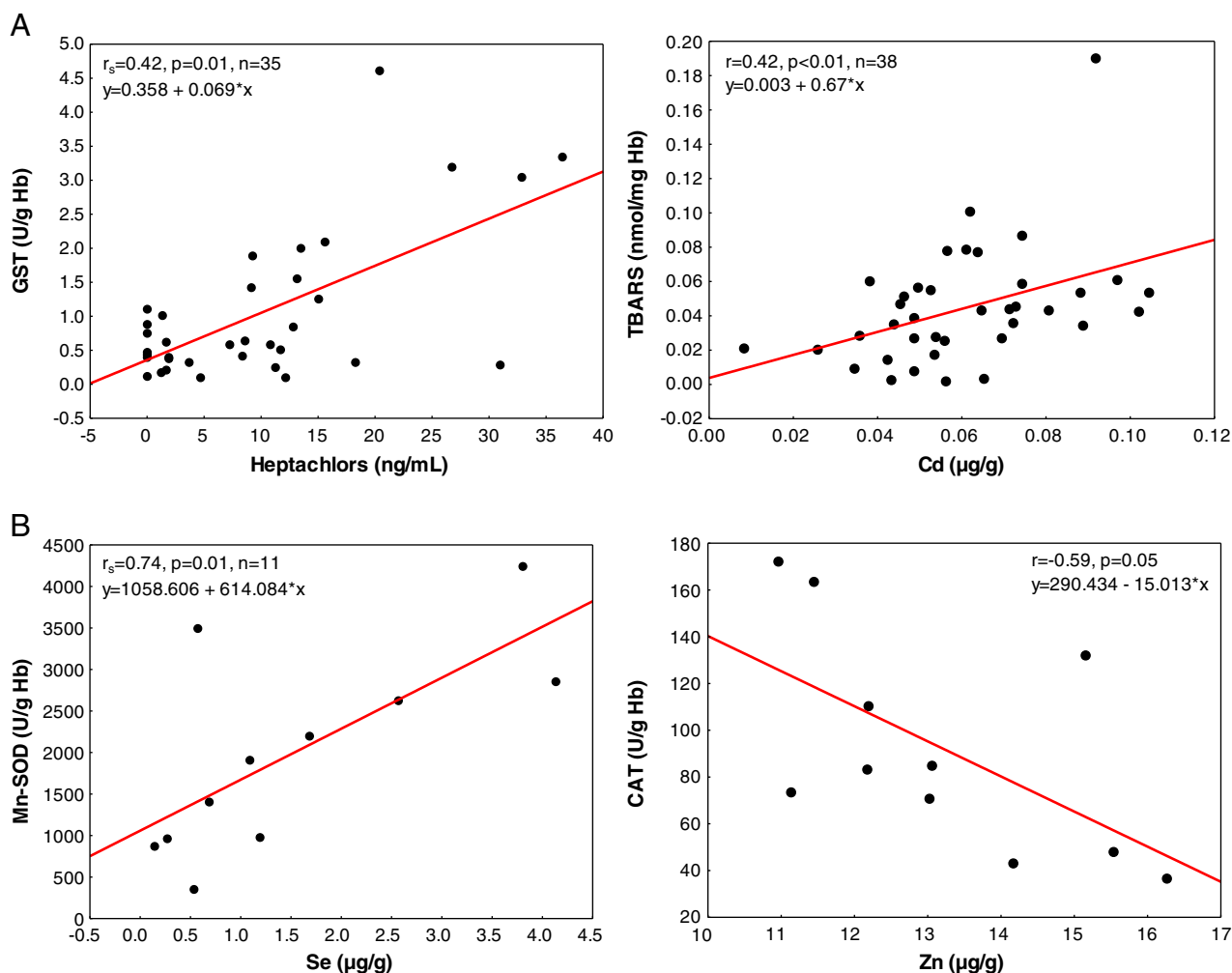
higher on PC2 had the highest concentrations of heptachlors, endrin and Cd from the rest (Fig. 4). The PC3 (10.5% of the variance) explained the separation of only two individuals from PAO (not shown). These sea turtles scored higher on PC3 for having the highest TBARS levels, the highest GPx activity and the highest concentration of chlordanes in comparison to the rest of the sea turtles.

**Table 4**  
Spearman correlation coefficients [ $r_s$  ( $p$ -value) [n]] between chemical contaminants and morphometrics, lipid peroxidation (TBARS) and antioxidant enzyme activity (GST, glutathione S-transferase; CAT, catalase; GPx, glutathione peroxidase; t-SOD, Mn-SOD, Cu,Zn-SOD, total, mitochondrial and cytosolic superoxide dismutase) of green sea turtles, *Chelonia mydas*, by study site.

	Punta Abreojos											
	Cd	$\alpha$ -HCH	$\beta$ -HCH	$\gamma$ -HCH	$\Sigma$ HCHs	Aldrin	Endrin Sulfate	$\Sigma$ Cyclodienes	Heptachlor	$\Sigma$ Heptachlors	$\Sigma$ DDT's	Hexachlorobenzene
SCL (cm)			-0.38 (0.01) [39]		-0.34 (0.02) [39]							
Mass (kg) Krel			-0.38 (0.02) [39]									
TBARS	0.42 <sup>a</sup> ( $<0.01$ ) [38]		-0.46 ( $<0.01$ ) [35]			0.43 ( $<0.01$ ) [35]		0.41 (0.01) [35]			0.33 (0.05) [35]	
GST		0.42 (0.01) [35]	0.40 (0.01) [35]	0.45 ( $<0.01$ ) [35]	0.39 (0.01) [35]				0.42 (0.01) [35]	0.42 (0.01) [35]		0.47 (0.04) [19]
CAT							0.49 (0.04) [17]					
GPx t-SOD Mn-SOD	0.36 (0.03) [37]											
Cu,Zn-SOD												
	Bahía Magdalena											
	Cd	Fe	Zn	Ni	Se	Si	$\gamma$ -HCH	Chlordane	Heptachlor	$\Sigma$ Heptachlors	$\Sigma$ DDT's	
SCL (cm)	-0.62 <sup>a</sup> (0.05) [10]											
Mass (kg) Krel							-0.69 (0.01) [13]					
TBARS								0.78 ( $<0.01$ ) [10]	0.69 (0.02) [10]	0.61 (0.05) [10]		
GST CAT		-0.60 <sup>a</sup> (0.04) [11]	-0.59 <sup>a</sup> (0.05) [11]	-0.72 (0.01) [11]		0.61 (0.04) [11]		0.83 ( $<0.01$ ) [10]				0.62 (0.05) [10]
GPx								0.80 ( $<0.01$ ) [10]				
t-SOD			-0.62 (0.04) [11]		0.6 (0.05) [11]							
Mn-SOD					0.74 (0.01) [11]							
Cu,Zn-SOD												

White spaces correlations with no statistical significance.  
Krel relative body condition index.  
<sup>a</sup> Pearson correlation coefficient.





**Fig. 3.** Relationship between the chemical contaminant concentrations and the antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation (TBARS) levels of East Pacific green sea turtles *Chelonia mydas*, captured in A) Punta Abreojos and B) Bahía Magdalena, Baja California Sur, Mexico.

#### 4. Discussion

The present study is the first report on the concentrations of trace elements in blood and OCs in plasma of East Pacific green sea turtles captured alive; therefore, there are no data available to compare with, particularly for the concentrations of Mg, Si and Sr. The levels of trace elements were, with the exception of Ni, below the ranges reported in liver, kidney, muscle and adipose tissue of *Ch. mydas* from north-western Mexico, Japan, Hawaii, the Mediterranean Sea, and of other sea turtle species around the world (Aguirre et al., 1994; Sakai et al., 2000a; Storelli and Marcotrigiano, 2003; Frías-Espéricueta et al., 2006; Gardner et al., 2006; Talavera-Saenz et al., 2007). Because the results of the present study were obtained from blood sample analyses, they reflect a recent environmental exposure to toxins and, thus, the recent oxidative stress response of the East Pacific green sea turtles.

The elevated concentrations of Ni found in this study had been reported before in liver and kidney of green sea turtles from Baja California Peninsula (Gardner et al., 2006; Talavera-Saenz et al., 2007). In BMA, elevated concentrations of Ni have been reported in sediments and in certain species of algae, some of which are known prey items of green sea turtles (Rodríguez-Meza et al., 2007). Natural enrichment of trace elements in the Baja California peninsula, mostly due to natural causes, such as currents, upwelling, volcanism and tectonic activity, has been suggested (Méndez et al., 1998; Shumilin

et al., 2000; 2001; Rodríguez-Meza et al., 2007). Elevated concentrations of Pb, Zn, Cu and As have been found along the urbanized coast of the peninsula as a result of the anthropogenic activities like shipyards and mining (Méndez et al., 1998; Shumilin et al., 2000, 2001). Given that Ni is a toxic metal that can be immunosuppressive in animals (Sharma, 2007), precautionary studies should be developed in Baja California Sur.

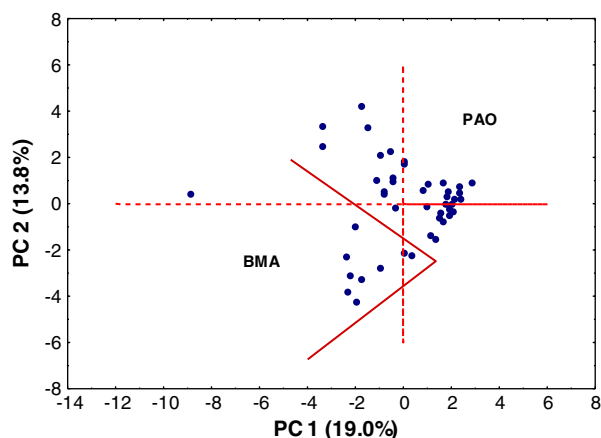
East Pacific sea turtles from PAO had higher concentrations of Si and Cd. Si is a structural requirement for diatoms to maintain their dominance throughout the productive periods, which leads to Si being bioavailable to secondary consumers, even if grazers typically do not have specific requirements for Si (Ragueneau et al., 2005). Elevated concentrations of Cd have been reported in plankton collected in Punta Eugenia (Martin and Broenkow, 1975). Red algae, prey items of green sea turtles, tend to have higher bioaccumulation of Cd than other macroalgal groups in the coast of the Baja California peninsula (Sánchez-Rodríguez et al., 2001). The negative correlation found between Cd concentration and the size of the sea turtles has been reported previously for *Ch. mydas* (Sakai et al., 2000a,b). The reduction of contaminant levels with age has been suggested to be the result of lower contaminant intake associated to the ontogenetic shift in the feeding habits of green sea turtles, from carnivorous during the hatchling stage to primarily herbivorous in juveniles and adults (Mckenzie et al., 1999; Sakai et al., 2000a,b).

**Table 5**

Factor loadings for the chemical contaminant concentrations and antioxidant enzyme activities (GST, glutathione S-transferase; CAT, catalase; GPx, glutathione peroxidase; t-SOD, Mn-SOD, Cu,Zn-SOD, total, mitochondrial and cytosolic superoxide dismutase). Principal component analyses were performed for 45 sea turtles without rotation. All loadings >0.57 are in bold.

	PC 1	PC 2	PC 3
Variance explained (%)	19.0	13.8	10.5
$K_{rel}$	-0.0634	-0.2853	0.0135
TBARS	0.1460	0.0065	<b>-0.6604</b>
GST	-0.1558	0.4172	-0.3547
CAT	0.2184	0.5072	-0.3679
GPx	0.1436	0.0043	<b>-0.7625</b>
Mn-SOD	-0.4147	<b>-0.5701</b>	-0.3233
Cu,Zn-SOD	-0.3783	-0.4261	0.0847
Cd	0.5356	<b>0.5911</b>	-0.1502
Fe	0.4160	0.2092	0.2416
Zn	0.1532	0.0935	0.3158
Ni	-0.0686	0.2734	0.2117
Si	0.5254	0.3271	0.0495
Se	0.0520	0.0420	-0.4712
Mg	0.2618	0.3267	0.3256
$\alpha$ -HCH	<b>-0.8336</b>	-0.1257	-0.1023
$\beta$ -HCH	<b>-0.8166</b>	0.3490	0.2027
$\gamma$ -HCH	<b>-0.7053</b>	0.4384	-0.1917
$\delta$ -HCH	<b>-0.6668</b>	0.2229	0.1232
$\Sigma$ HCH's	<b>-0.8881</b>	0.3644	0.0720
Aldrin	-0.3678	<b>-0.5971</b>	-0.0808
Endrin	-0.2359	<b>0.5833</b>	-0.0249
$\Sigma$ Chlordanes	-0.0352	-0.2069	<b>-0.6624</b>
Heptachlor	-0.2393	<b>0.6346</b>	-0.3264
Heptachlor Hepoxide	-0.3868	0.2245	0.1515
$\Sigma$ DDT's	0.0624	-0.1708	0.0304

The pattern of accumulation of the OC residuals in green sea turtles from Baja California peninsula coincided, in general, with a previous report (Gardner et al., 2003). The groups of pesticides detected less frequently or in lower concentrations in this study were the cyclodienes and DDTs. The sum of the concentrations of all DDTs was below the range reported in liver and adipose tissue for sea turtles from the Mediterranean and the Atlantic (Mckenzie et al., 1999). Residuals of p,p-DDD and p,p-DDT were detected in only two sea turtles from BMA and the pesticides p,p-DDE and dieldrin were not detected, in contrast with a previous study in the same site (Gardner et al., 2003) and in sea turtles from North Carolina, Greece, Cyprus and Scotland (Mckenzie et al., 1999; Keller et al., 2004a, 2004b). The decrease of HCH's with increasing size and body condition of the green sea turtles from PAO could be due, as mentioned above, to the ontogenetic shift in their feeding habits. A similar decrease in liver concentration of chlorobiphenyls and p'p'-DDE



**Fig. 4.** Plot of sample scores from a principal components analysis of the concentration of chemical contaminants and oxidative stress indicators in East Pacific green sea turtles, *Chelonia mydas*.

with an increasing size of green sea turtles has been reported before (Mckenzie et al., 1999).

The range of aldrin found in plasma in this study was 5-fold higher than the range reported in 2003 in muscle and kidney of green sea turtles sampled in the same region (Gardner et al., 2003). The  $\delta$ -HCH was the most prevalent pesticide, found in 85% of the sea turtles. The concentration of lindane in plasma was within the range reported previously in the muscle, liver, kidney and adipose tissue of green sea turtles from BMA (Gardner et al., 2003). Lindane is a persistent OC insecticide, toxic and widely mobile in the ambient that has been detected in air, soil, surface water, groundwater, sediment and snowpack (EPA, 2011). In Mexico lindane, as DDT, has been used in public health programs to control disease-transmitting organisms for decades and has been detected in human populations from tropical areas of the country (Waliszewski et al., 2000). The Environmental Protection Agency (EPA) of United States, considers those communities that depend on traditional sea foods, like seals and whales, to be in potential risk from dietary exposure to HCH's (EPA, 2011). The results of this work confirm the bioavailability of the OCs in the food web in the region. Considering the preferences of coastal communities from Baja California Peninsula for sea food and due to the well known toxicological effects of pesticides in humans and animals (Aguirre et al., 2006; O'Hara and O'Shea, 2001; Levensgood and Beasley, 2007), these results could be cause of concern for public health and conservation medicine.

Studies on the antioxidant defenses and oxidative damage in wildlife under an ecological perspective have been carried out for the last two decades (McGraw et al., 2010). Some of the questions addressed are the natural source of variation of the antioxidant defenses between species, within species across individuals according to habitat, condition, tissue, and across individuals over time (McGraw et al., 2010; Cohen and McGraw, 2009). In the present study, the activity of antioxidant enzymes and TBARS levels were not influenced by body condition, size or weight of the sea turtles. Seasonal variations in GPx activity and TBARS levels found in this study have been reported previously for aquatic organisms; the species-specific cycles are due in part to variations in food availability and increased water temperature in summer (Wilhelm-Filho et al., 2001; Bocchetti and Regoli, 2006; Pavlovic et al., 2009). Mn-SOD activity was the only variable that differed between healthy and injured turtles from BMA. Because in this study classification of injured individuals was done based only on visual physical appearance, the term does not refer strictly to sick turtles. Further studies should be carried out in order to understand temporal variations in the antioxidant defenses and between healthy and sick sea turtles, like those severely affected by fibropapilloma in Hawaii and Florida (Aguirre and Lutz, 2004). The ranges reported in this study for the activity of GST in blood coincided with the mean values reported for liver of stranded olive ridley (*Lepidochelys olivacea*), loggerhead (*Caretta caretta*) and green turtles from the Baja California peninsula (Richardson et al., 2010). The antioxidant enzyme activity in intracellular material reported in this study can be considered a description of healthy individuals in a pristine region. We suggest these results could provide baseline data for future studies on the East Pacific green turtles inhabiting the occidental coast of Baja California peninsula and elsewhere.

In sea turtles from PAO the activity of the antioxidant enzymes GST and CAT were positively correlated with the concentrations of many OCs, while in BMA the activities of CAT, t-SOD and Mn-SOD were positively or negatively correlated to the concentrations of trace elements. Higher SOD, CAT, GPx and GST activity has been reported before in fish exposed to pollutants such as heavy metals and OCs (reviewed by Van der Oost et al., 2003; Martínez-Álvarez et al., 2005; Elia et al., 2006; Hansen et al., 2006). The increase or reduction in the activity of the antioxidant enzymes has been found in some species of fishes exposed to biodegradable compounds like aromatic hydrocarbons (Van der Oost et al., 2003). Further studies are needed in order to

understand the selective response of the antioxidant enzymes to pollutants in sea turtles.

All SOD isoforms have antioxidant properties, Cu,Zn-SOD is principally a cytosolic enzyme and Mn-SOD is mainly found in mitochondria. Their function is to dismutate  $O_2^{\bullet-}$  to hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) and oxygen (Halliwell and Gutteridge, 1999; Lesser, 2006). The results of this work suggest SOD as another sensitive biomarker in green sea turtles of persistent chemical compounds.

In vertebrates the liver is the major source of GST (Stegeman et al., 1992), in green sea turtles, higher activity of GST was found in the liver followed by the kidney (Valdivia et al., 2007). This soluble enzyme conjugates to lipophilic xenobiotics, increasing their hydrophilicity and promoting their elimination or reducing the possibility of their binding to other cellular macromolecules, such as DNA (Stegeman et al., 1992). Because of this detoxifying function, the results of this study suggest that GST could be a useful biomarker to monitor persistent chemical compounds in green sea turtle, as has been suggested for other groups like fish (Elia et al., 2006).

The positive correlation of TBARS levels with the concentrations of Cd, chlordane and heptachlors suggests that the former could be used as an early and sensitive biomarker of xenobiotic exposure in green sea turtles. The concentrations of TBARS and the activity of t-SOD and GPx found in this study are lower than those reported in plasma of green sea turtles from the Arabian Sea which had elevated Cd concentrations in liver (Bicho et al., 2006). It has been reported that Cd increases lipid peroxidation levels in tissues soon after exposure (Stohs and Bagchi, 1995).

PCA is a statistical method that characterized the variation within a data set and describes the relationship among a suite of variables (Kleinbaum and Kupper, 1978; Horak and Cohen, 2010). It has been used to distinguish environmental and biological factors useful to characterize, in space and time, the habitat of the organisms, according to the responses of a battery of molecular and biochemical biomarkers (Talavera-Saenz et al., 2007; Cohen and McGraw, 2009; Pereira et al., 2009; Rodríguez-Ortega et al., 2009; Horak and Cohen, 2010). In this study, PCA allowed identification of those variables that contributed most to the total variance of the data, like the concentration of the HCH's, and revealed two groups of sea turtles with particular characteristics which correspond to individuals captured in BMA and PAO, respectively. The regional separation of the sea turtles by their blood concentration of chemicals suggests, as previously reported (Labrada-Martagón et al., 2010a,b), differences in the habitat and in environmental conditions.

The location of PAO and its direct connection to the Pacific Ocean could explain the concentration of trace elements and higher frequency of OC residuals found in sea turtles, in contrast to the inland channels of BMA. In the occidental coast of the Baja California peninsula natural processes, such as coastal upwelling events have been suggested to explain the elevated concentrations of trace elements (Cheng et al., 1976; Martin and Broenkow, 1975; Shumilin et al., 2000, 2001; Rodríguez-Meza et al., 2007) and the distribution and concentrations of PCBs and OCs (Gutiérrez-Galindo et al., 1998). A persistent cyclonic eddy generation region with a subsequent southwestward propagation is present north to Punta Eugenia (Espinosa-Carreón et al., 2004; Batteen et al., 2003). This type of highly dynamic environment is the source of enrichment and primary productivity (Lluch-Belda, 2000).

The highest concentration of OCs found in the sea turtles from BMA, compared to PAO, could be the result of the agriculture activity developed since 50 years ago in the region (SAGARPA, 2004). In Baja California the major concentrations of OCs and PCBs have been found in deltas of streams crossing agricultural lands and in coastal areas with discharges of wastewater from urban areas (Gutiérrez-Galindo et al., 1998; Gardner et al., 2003). Las Bramonas River is the biggest stream that crosses the Santo Domingo valley, an agricultural field, transporting natural water and sediments seasonally to BMA (Cardona et al., 2004).

## 5. Conclusions

The knowledge about the antioxidant responses and oxidative stress in wildlife is scarce (Nussey et al., 2009; McGraw et al., 2010) and in sea turtles is almost null. Additionally, the toxic levels of chemical contaminants and their adverse effects in the short term (physiology) and in the long term (population dynamics) are unknown for sea turtles.

The present study contributes with baseline data of antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in green sea turtles characterized by size classes, physical appearance and sampling site. The correlations found between the antioxidant enzyme activities and TBARS levels with multiple chemical compounds suggest the possibility of their use as biomarkers of a specific environmental condition using the green sea turtle as sentinel species. Future studies are needed in sea turtles to clarify the variability of the oxidative stress indicators between tissues, across individuals over time, condition, diets, habitat and ambient degradation.

## Acknowledgments

The authors thank Grupo Tortuguero de las Californias for assistance in sample collection; S. C. Gardner and M. López for their assistance in the sample collection and processing; O. Lugo-Lugo, N.O. Olguín-Monroy, Laboratorio de Salud Ambiental y Biomedicina (CIBNOR) for their assistance in sample processing for pesticide concentrations and oxidative stress indicators; B. Acosta-Vargas, G. Peña-Armenta, V. Auriolés-López and L. Parra, Laboratorio de Espectrofotometría de Absorción Atómica (CIBNOR), for their assistance in sample processing for trace element concentrations; and Dr. E. Serviere, Programa de Estudios de Posgrado (CIBNOR) and CONACYT for supporting VLM and PATR. Comments and suggestions from two anonymous reviewers and the editor helped to improve the manuscript. Animal handling and sample collection were performed in accordance with institutional, national and international guidelines and regulations. All samples were collected under permits from INE-SEMARNAT (10070/06, 03681/07, 050123/08). This research was funded by grants from SEMARNAT-CONACYT (FOSEMARNAT-2004-01-44), SEP-CONACYT (SEP-2004-C01-45749) and CIBNOR (PC2.0, PC2.1, PC2.5, PC2.6). VLM is a recipient of a CONACYT scholarship (200974).

## References

- Aebi, H., 1984. Catalase in vitro. In: Packer, L. (Ed.), *Oxygen Radicals in Biological Systems. Methods in Enzymology*, vol. 105. Academic Press, Inc., E.U.A., pp. 121–126.
- Aguirre, A.A., Balazs, G.H., 2000. Blood biochemistry values of green turtles, *Chelonia mydas*, with and without fibropapillomatosis. *Comp. Haematol. Int.* 10, 132–137.
- Aguirre, A.A., Lutz, P.L., 2004. Marine turtles as sentinels of ecosystem health: is fibropapillomatosis an indicator? *EcoHealth* 1, 275–283.
- Aguirre, A.A., Balazs, G.H., Zimmerman, B., Galey, F.D., 1994. Organic contaminants and trace metals in tissues of green turtles (*Chelonia mydas*) afflicted with fibropapillomas in the Hawaiian islands. *Mar. Pollut. Bull.* 28, 109–114.
- Aguirre, A.A., Gardner, E., Marsh, J.C., Delgado, S.G., Limpus, C.J., Nichols, W.J., 2006. Hazards associated with the consumption of sea turtle meat and eggs: a review for health care workers and the general public. *EcoHealth* 3, 141–153.
- Batteen, M.L., Cipriano, N.J., Monroe, J.T., 2003. A large-scale seasonal modeling study of the California Current System. *J. Oceanogr.* 59, 545–562.
- Bicho, R., Joaquim, N., Mendonça, V., Kiyumi, A.A., Mahmoud, I.Y., Kindi, A.A., 2006. Levels of heavy metals and antioxidant enzymes in the green turtle (*Chelonia mydas*) in the Arabian Sea, Sultanate of Oman. In: Frick, M., Panagopoulou, A., Rees, A.F., Williams, K. (Eds.), *Proceedings of the Sixth Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*. International Sea Turtle Society, Greece, pp. 49–50.
- Bocchetti, R., Regoli, F., 2006. Seasonal variability of oxidative biomarkers, lysosomal parameters, metallothioneins and peroxisomal enzymes in the Mediterranean mussel, *Mytilus galloprovincialis*, from Adriatic Sea. *Chemosphere* 65, 913–921.
- Cantú-Medellín, N., Olguín-Monroy, N.O., Méndez-Rodríguez, L.C., Zenteno-Savín, T., 2009. Antioxidant enzyme activities and heavy metal levels in tissues of the Black Chocolate Clam, *Megapitaria squalida*, in Bahía de La Paz, Mexico. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 56 (1), 60–66.

- Cardona, A., Carrillo-Rivera, J.J., Huizar-Álvarez, R., Graniel-Castro, E., 2004. Salinization in coastal aquifers of arid zones: an example from Santo Domingo, Baja California Sur, Mexico. *Environ. Geol.* 45, 350–366.
- Castellanos, A., Mendoza, R., 1991. Aspectos socioeconómicos. In: Ortega, A., Arriaga, L. (Eds.), *La reserva de la biosfera El Vizcaíno en la península de Baja California Sur*. Centro de Investigaciones de Baja California Sur, La Paz, pp. 33–52.
- Cheng, L., Alexander, G.V., Franco, P.J., 1976. Cadmium and other heavy metals in sea-skaters (Gerridae: Halobates, Rheumatobates). *Water Air Soil Pollut.* 6, 33–38.
- Cohen, A.A., McGraw, K.J., 2009. No simple measures for antioxidant status in birds: complexity in inter- and intraspecific correlations among circulating antioxidant types. *Funct. Ecol.* 23, 310–320.
- Díaz, B.F., 2004. Informe sobre metales y contaminantes orgánicos persistentes en niños y muestras ambientales de 10 sitios contaminados de México. Instituto Nacional de Ecología, Facultad de Medicina de la Universidad de San Luis Potosí, México.
- Elia, A.C., Galarini, R., Dörr, A.J.M., Taticchi, M.I., 2006. Bioaccumulation of heavy metals, organochlorine pesticides, and detoxication biochemical indexes in tissues of *Ictalurus melas* of Lake Trasimeno. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 76, 132–139.
- Environmental Protection Agency (EPA), 2011. Lindane and other HCH isomers: EPA risk assessment fact sheet. The United States Environmental Protection Agency. Available from [http://www.epa.gov/oppsrdr1/REDS/factsheets/lindane\\_isomers\\_fs.htm](http://www.epa.gov/oppsrdr1/REDS/factsheets/lindane_isomers_fs.htm). January, 2011.
- Espinosa-Carreón, T.L., Strub, P.T., Beier, E., Ocampo-Torres, F., Gaxiola-Castro, G., 2004. Seasonal and interannual variability of satellite-derived chlorophyll pigment, surface height and temperature off Baja California. *J. Geophys. Res.* 109, C03039.1–C03039.20.
- Fitzgerald, S.L., 2004. Los metales pesados en cuatro especies de tortugas marinas de Baja California, México. Master's Thesis, CIBNOR, La Paz, B.C.S. pp 109.
- Flohé, L., Günzler, W.A., 1984. Assays for glutathione peroxidase. In: Packer, L. (Ed.), *Methods in Enzymology. Oxygen Radicals in Biological Systems*, 105. Academic Press, Inc., New York, pp. 114–120.
- Frías-Espéricueta, M.G., Osuna-López, J.L., Ruiz-Telles, A., Quintero-Alvarez, J.M., López-López, G., Izaguirre-Fierro, G., Voltolina, D., 2006. Heavy metals in the tissue of the sea turtle *Lepidochelys olivacea* from a nesting site of the Northwest coast of Mexico. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 77, 179–185.
- Gardner, S.C., Pier, M.D., Wesselman, R., Juárez, J.A., 2003. Organochlorine contaminants in sea turtles from the Eastern Pacific. *Mar. Pollut. Bull.* 46, 1082–1089.
- Gardner, S.C., Fitzgerald, S.L., Acosta-Vargas, B., Méndez, L., 2006. Heavy metal accumulation in four species of sea turtles from the Baja California peninsula, Mexico. *Biomaterials* 19, 91–99.
- Gutiérrez-Galindo, E.A., Ríos-Mendoza, L.M., Flores-Muñoz, G., Villaescusa, J.A., 1998. Chlorinated hydrocarbons in marine sediments of the Baja California (Mexico)–California (USA) border zone. *Mar. Pollut. Bull.* 36, 27–31.
- Habig, W.H., Jakoby, H.B., 1981. Glutathione S-transferase (rat and human). In: Jakoby, W.B. (Ed.), *Method in Enzymology*, vol. 77. Academic Press, Inc., New York, pp. 398–405.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1999. Free Radicals in Biology and Medicine, third edition. Oxford University Press, Oxford, p. 936.
- Hansen, B.H., Romma, S., Garmo, O.A., Olsvik, P.A., Andersen, R.A., 2006. Antioxidative stress proteins and their gene expression in brown trout (*Salmo trutta*) from three rivers with different heavy metal levels. *Comp. Biochem. Physiol. C* 143, 263–274.
- Helsel, D.R., 1990. Less than obvious. Statistical treatment of data below the detection limit. *Environ. Sci. Technol.* 24 (12), 1767–1774.
- Horak, P., Cohen, A.A., 2010. How to measure oxidative stress in an ecological context: methodological and statistical issues. *Funct. Ecol.* 24, 960–970.
- Kampalath, R., Gardner, S.C., Méndez, L., Jay, J.A., 2006. Total and methylmercury in three species of sea turtles of Baja California Sur. *Mar. Pollut. Bull.* 52, 1784–1832.
- Keller, J.M., Kucklick, J.R., McClellan-Green, P.D., 2004a. Organochlorine contaminants in Loggerhead sea turtle blood: extraction techniques and distribution among plasma and red blood cells. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 46, 254–264.
- Keller, J.M., Kucklick, J.R., Stamper, A., Harms, C., McClellan-Green, P.D., 2004b. Associations between organochlorine contaminant concentrations and clinical health parameters in Loggerhead Sea turtles from North Carolina, USA. *Environ. Health Perspect.* 112, 1074–1079.
- Keller, J.M., McClellan-Green, P.D., Kucklick, J.R., Keil, D.E., Peden-Adams, M.M., 2006. Effects of organochlorine contaminants on loggerhead sea turtle immunity: comparison of a correlative field study and in vitro exposure experiments. *Environ. Health Perspect.* 114, 70–76.
- Kleinbaum, D.G., Kupper, L.L., 1978. *Applied Regression Analysis and Other Multivariable Methods*. Duxbury Press, Boston, Massachusetts, USA, p. 556.
- Labrada-Martagón, V., Méndez-Rodríguez, L.C., Gardner, S.C., López, M., Zenteno-Savín, T., 2010a. Health indices of the Green turtle (*Chelonia mydas*) along the Pacific coast of Baja California Sur, Mexico. I. Blood biochemistry values. *Chelonian Conserv. Biol.* 9 (2), 162–172.
- Labrada-Martagón, V., Méndez-Rodríguez, L.C., Gardner, S.C., Cruz-Escalona, V.H., Zenteno-Savín, T., 2010b. Health indices of the Green turtle (*Chelonia mydas*) along the Pacific coast of Baja California Sur, Mexico. II. Body condition index. *Chelonian Conserv. Biol.* 9, 173–183.
- Lesser, M.P., 2006. Oxidative stress in marine environments: biochemistry and physiological ecology. *Annu. Rev. Physiol.* 253–278.
- Levengood, J.M., Beasley, V.R., 2007. Principles of ecotoxicology. In: Gupta, R.C. (Ed.), *Veterinary Toxicology. Veterinary Toxicology, Basic and Clinical Principles*. Academic Press, New York, pp. 689–708.
- Luch-Belda, B.D., 2000. Centros de actividad biológica en la costa occidental de Baja California. In: Luch-Belda, B.D., Elourduy-Garay, J., Luch-Cota, S.E., Ponce-Díaz, G. (Eds.), *BAC, Centros de actividad biológica del Pacífico mexicano*, Primer edición. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, La Paz, Baja California Sur, pp. 49–64.
- López-Cruz, R.I., Zenteno-Savín, T., Galván-Magaña, F., 2010. Superoxide production, oxidative damage and enzymatic antioxidant defenses in shark skeletal muscle. *Comp. Biochem. Physiol. A* 156, 50–56.
- Martin, J.H., Broenkow, W.W., 1975. Cadmium in plankton: elevated concentrations off Baja California. *Science* 190, 884–885.
- Martínez-Álvarez, R.M., Morales, A.E., Sanz, A., 2005. Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors. *Rev. Fish Biol. Fish.* 15, 75–88.
- Maya, Y., Guzmán, J., 1998. Recursos terrestres y suelo. In: Mahieux, S. (Ed.), *Diagnóstico Ambiental de Baja California Sur, México*. Fundación Mexicana para la Educación Ambiental, Sociedad de Historia Natural Niparájá, La Paz, pp. 165–223.
- Mayer, F.L., Versteeg, D.J., McKee, M.J., Folmar, L.C., Graney, R.L., McCume, D.C., Rattner, B.A., 1992. Physiological and nonspecific biomarkers. In: Huggett, R.J., Kimerle, R.A., Mehrle Jr., P.M., Bergman, H.L. (Eds.), *Biomarkers. Biochemical, Physiological and Histological Markers of Anthropogenic Stress*. Lewis Publishers, Chelsea, pp. 5–85.
- McGraw, K.J., Cohen, A.A., Costantini, D., Horak, P., 2010. The ecological significance of antioxidants and oxidative stress: a marriage between mechanistic and functional perspectives. *Funct. Ecol.* 24, 947–949.
- McKenzie, C., Godley, B.J., Furness, R.W., Wells, D.E., 1999. Concentrations and patterns of organochlorine contaminants in marine turtles from Mediterranean and Atlantic waters. *Mar. Environ. Res.* 47, 117–135.
- Méndez, L., Acosta, B., Álvarez-Castañeda, S.T., Lechuga-Devéze, C.H., 1998. Trace metal distribution along the southern coast of Bahía de la Paz (Gulf of California), Mexico. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 61, 616–622.
- Milton, S.L., Lutz, P.L., 2003. Physiological and genetic responses to environmental stress. In: Lutz, P.L., Musick, J.A., Wynneken, J. (Eds.), *The Biology of Sea Turtles*, vol. 2. CRC Press, Florida, pp. 163–197.
- Nussey, D.H., Pemberton, J.M., Pilkington, J.G., Blount, J.D., 2009. Life history correlates of oxidative damage in a free-living mammal population. *Funct. Ecol.* 23, 809–817.
- O'Hara, T.M., O'Shea, T.J., 2001. Toxicology. In: Dierauf, L.A., Gulland, F.M.D. (Eds.), *Handbook of Marine Mammal Medicine*. CRC Press, Boca Raton, pp. 471–520.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95, 331–358.
- Owens, D.W., Ruiz, G.J., 1980. New methods of obtaining blood and cerebrospinal fluid from marine turtles. *Herpetologica* 36, 17–20.
- Pavlovic, S.Z., Borkovic-Mitic, S.S., Radovanovic, T.B., Perendija, B.R., Despotovic, S.G., Gavric, J.P., Saicic, Z.S., 2009. Activity of oxidative stress biomarkers in the white muscle of red mullet (*Mullus barbatus* L.) from the Adriatic Sea. *Arch. Biol. Sci. Belgrade* 61 (4), 693–701.
- Pereira, P., de Pablo, H., Rosa-Santos, F., Pacheco, M., Vale, C., 2009. Metal accumulation and oxidative stress in *Ulva* sp. substantiated by response integration into a general stress index. *Aquat. Toxicol.* 91, 336–345.
- Persky, A., Green, P., Stuble, L., Howell, C., Zaulyanov, L., Brzaeau, G., Simpkins, J., 2000. Protective effect of estrogens against oxidative damage to heart and skeletal muscle in vivo and in vitro. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 223, 59–66.
- Pippenger, C.E., Brown, R.W., Armstrong, D., 1998. Regulatory antioxidant enzymes. In: Armstrong (Ed.), *Methods in Molecular Biology, Free Radicals and Antioxidants Protocols*. The Humana Press, New Jersey, pp. 299–313.
- Presti, S.M., Resendiz, A., Sollod, A.E., Seminoff, J.A., 1999. Mercury concentration in the scutes of black sea turtles, *Chelonia mydas* agassizii, in the Gulf of California. *Chelonian Conserv. Biol.* 3, 531–533.
- R Development Core Team, 2010. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. Available from <http://www.R-project.org>. August, 2010.
- Ragueneau, O., Chauvaud, L., Moriceau, B., Leynaert, A., Thouzeau, G., Donval, A., Le Loc'h, F., Jean, F., 2005. Biodeposition by an invasive suspension feeder impacts the biogeochemical cycle of Si in a coastal ecosystem (Bay of Brest, France). *Biogeochemistry* 75, 19–41.
- Richardson, K.L., Lopez-Castro, M.C., Gardner, S.C., Shlenk, D., 2010. Polychlorinated biphenyls and biotransformation enzymes in three species of sea turtles from Baja California Peninsula of Mexico. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 58, 183–193.
- Rodríguez-Meza, D., Choumiline, E., Méndez, L., Acosta-Vargas, B., Sapozhnikov, D., 2007. Composición química de los sedimentos y macroalgas del complejo lagunar Magdalena-Almejas. In: Funes, R., Gómez, J., Palomares, R. (Eds.), *Estudios ecológicos en Bahía Magdalena Instituto Politécnico Nacional*, D. F., pp. 61–88.
- Rodríguez-Ortega, M.J., Rodríguez-Ariza, A., Gómez-Ariza, J.L., Muñoz-Serrano, A., López-Barea, J., 2009. Multivariate discriminant analysis distinguishes metal- from non metal-related biomarker responses in the clam *Chamaelea gallina*. *Mar. Pollut. Bull.* 58, 64–71.
- SAGARPA, 2004. Evaluación del programa adquisición de derechos de uso de agua (PADUA). Distrito Federal. Available from <http://www.sagarpa.gob.mx/programas/evaluacionesExternas/Lists/Evaluaciones%20Externas%2020012006/Attachments/187/2003%20PADUA.pdf>. September, 2010.
- Sakai, H., Saeki, K., Ichihashi, H., Suganuma, H., Tanabe, S., Tatsukawa, R., 2000a. Species-specific distribution of heavy metals in tissues and organs of loggerhead turtle (*Caretta caretta*) and green turtle (*Chelonia mydas*) from Japanese coastal waters. *Mar. Pollut. Bull.* 40, 701–709.
- Sakai, H., Saeki, K., Ichihashi, H., Kamezaki, N., Tanabe, S., Tatsukawa, R., 2000b. Growth-related changes in heavy metals accumulation in green turtle (*Chelonia mydas*) from Yaeyama Islands, Okinawa, Japan. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 39, 378–385.
- Sánchez-Rodríguez, I., Huerta-Díaz, M.A., Choumiline, E., Holguín-Quiñones, O., Zertuche-González, J.A., 2001. Elemental concentrations in different species of seaweeds from Loreto Bay, Baja California Sur, Mexico: implications for the geochemical control of metals in algal tissue. *Environ. Pollut.* 114, 145–160.

- Schlenk, D., Di Giulio, R.T., 2002. Biochemical responses as indicators of aquatic ecosystem health. In: Adams, S.M. (Ed.), *Biological Indicators of Aquatic Ecosystem Stress*. American Fisheries Society, Maryland, pp. 13–42.
- Sharma, R.P., 2007. Immunotoxicity. In: Gupta, R.C. (Ed.), *Veterinary Toxicology. Veterinary Toxicology, Basic and Clinical Principles*. Academic Press, New York, pp. 289–301.
- Shumilin, E.N., Rodríguez-Figueroa, G., Bermea, O.M., Baturina, E.L., Hernández, E., Rodríguez Meza, G.D., 2000. Anomalous trace element composition of coastal sediments near the copper mining district of Santa Rosalía, Peninsula of Baja California, Mexico. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 65, 261–268.
- Shumilin, E., Páez-Osuna, F., Green-Ruiz, C., Sapozhnikov, D., Rodríguez-Meza, G., Godínez-Orta, L., 2001. Arsenic, antimony, selenium and other trace elements in sediments of the La Paz lagoon, Peninsula of Baja California, Mexico. *Mar. Pollut. Bull.* 42, 174–178.
- StatSoft, Inc., 2004. STATISTICA (data analysis software system), version 7. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com) 2004.
- Stegeman, J.J., Brouwer, M., Di Giulio, R.T., Förlin, L., Fowler, B.A., Sanders, B.M., Van Veld, P.A., 1992. Molecular responses to environmental contamination: enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effect. In: Huggett, R.J., Kimerle, R.A., Mehrle Jr., P.M., Bergman, H.L. (Eds.), *Biomarkers. Biochemical, Physiological and Histological Markers of Anthropogenic Stress*. Lewis Publishers, Chelsea, pp. 235–335.
- Stohs, S.J., Bagchi, D., 1995. Oxidative mechanisms in the toxicity of metals ions. *Free Radical Biol. Med.* 18, 321–336.
- Storelli, M.M., Marcotrigiano, G.O., 2003. Heavy metals residues in tissues of marine turtles. *Mar. Pollut. Bull.* 46, 397–400.
- Suzuki, K., 2000. Measurement of Mn-SOD and Cu, Zn-SOD. In: Taniguchi, N., Gutteridge, J. (Eds.), *Experimental Protocols for Reactive Oxygen and Nitrogen Species*. Oxford University Press, R.U., pp. 91–95.
- Talavera-Saenz, A., Gardner, S.C., Riosmena, R., Acosta-Vargas, B., 2007. Metal profiles used as environmental markers of green turtle (*Chelonia mydas*) foraging resources. *Sci. Total Environ.* 373, 94–102.
- Valdivia, P.A., Zenteno-Savín, T., Gardner, S.C., Aguirre, A.A., 2007. Basic oxidative stress metabolites in eastern Pacific green turtles (*Chelonia mydas agassizii*). *Comp. Biochem. Physiol. C* 146, 111–117.
- Van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P.E., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 13, 57–149.
- Vázquez-Medina, J.P., Elsner, R., Zenteno-Savín, T., 2006. Antioxidant enzymes in ringed seal tissues: potential protection against dive-associated ischemia/reperfusion. *Comp. Biochem. Physiol. C* 142 (3–4), 198–204.
- Waliszewski, S.M., Aguirre, A.A., Infanzon, R.M., Siliceo, J., 2000. Partitioning coefficients of organochlorine pesticides between mother blood serum and umbilical blood serum. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 65, 293–299.
- Wallace, B.P., Seminoff, J.A., Kilham, S.S., Spotila, J.R., Dutton, P.H., 2006. Leatherback turtles as oceanographic indicators: stable isotope analyses reveal a trophic dichotomy between ocean basins. *Mar. Biol.* 149, 953–960.
- Wilhelm-Filho, D., Torres, M.A., Tribess, T.B., Pedrosa, R.C., Soares, C.H.J., 2001. Influence of season and pollution on the antioxidant defenses of the cichlid fish acará (*Geophagus brasiliensis*). *Braz. J. Med. Biol. Res.* 34, 719–726.
- Zenteno-Savín, T., St. Leger, J., Ponganis, P.J., 2010. Hypoxemic and ischemic tolerance in emperor Penguins. *Comp. Biochem. Physiol. C* 152, 18–23.
- Zenteno-Savín, T., Clayton-Hernández, E., Elsner, R., 2002. Diving seals, are they a model for coping with oxidative stress? *Comp. Biochem. Physiol. C* 133, 527–536.