



El Colegio de la Frontera Sur

**Determinación de plaguicidas organoclorados y su relación  
con parámetros sanguíneos en tortugas Caguama (*Caretta  
caretta* (Linnaeus, 1758)) de Quintana Roo, México**

TESIS

Presentada como requisito parcial para optar al grado de  
Maestro en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural

Por

Dulce Thelma González Castillo

2015

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a CONACyT por la beca otorgada para realizar mis estudios de posgrado, y a ECOSUR por brindarme esta oportunidad.

A mi comité tutorial: mi tutora, la Dra. Teresa Álvarez Legorreta (ECOSUR-Chetumal) por permitirme realizar este proyecto de tesis y sus asesorías en ella. A mis asesores, el Dr. Arturo Torres Dosal (ECOSUR-SCLC) y Dr. Omar Zapata Pérez (CINVESTAV-Mérida) por sus asesorías y el apoyo que me brindaron para terminar este trabajo.

A mis sinodales, la Dra. Ma. Concepción Ortiz Hernández, Dr. David González Solís, y Dr. J. Rogelio Cedeño Vázquez por sus aportaciones y comentarios para mejorar el trabajo de tesis.

A las fundación Flora, Fauna y Cultura de México, A.C., y fundación ecológica Bahía Príncipe Tulum, A. C. por permitirme realizar mi trabajo de campo, prestarme sus instalaciones y proporcionarme los datos necesarios para la realización de la presente tesis.

Al Biól. Roberto Herrera por contactarme con las fundaciones mencionadas y brindarme información cuando necesitaba de su ayuda.

Al Maestro Javier Valle Mora por su asesoría en la parte estadística.

Al Dr. Rogelio Flores Ramírez (UASLP) por responder a mis dudas sobre la técnica para la determinación de los plaguicidas organoclorados y compartirla.

Al MVZ. Jonatan S. Pérez Flores y personal del zoológico African Safari por ayudarme con la parte del hemograma.

A mis amigos de la maestría y fuera de esta, que me brindaron su apoyo o/y ayuda de diferentes maneras: Maya Moure, Natalia Carrillo, Juan Carlos Joo, Chus López, Silvia ,

Alfredo, Fabiola, Fernando Ávila, Vanessa Coelo, Raquel Sánchez, Laura Mejía, David Sánchez, Bety Chiu, Gely Álvarez, Jorge Carballo, Tlaloc Valdéz, Isael Victoria, Ricardo Castro, Elizabeth Ruíz, Dr. Miguel Ruíz, Dr. Cristian Tovilla, Dr. Edi Malo, Dr. Alfredo Castillo, Karla Ramírez, Vero Gutiérrez, Alicia Carrillo, Nancy Mercado, Elizabet Arista, Marisol Buenfil, Jonathan Cobos, Crisol Méndez, Franklin y Blanca Rocha, Cloe Pérez, Dulce Noriega, Raymundo, Paul Nava, David Sánchez, Nubia Núñez, Guadalupe Padilla, Pily, Diego y a todos los demás que falte por nombrar muchas gracias por todo. A mis maestros que me han enseñado de sus conocimientos y han contribuido a mi formación profesional.

A mis tortugas y la gente que conocí trabajando para ellas, que me ayudo en distintas formas para realizar este trabajo: Alejandro Arenas, Leonel Gómez, Biól. Miriam Tzeek, Biól. Katia Cordourier, MVZ. Ana Negrete, MC. Eduardo Resendiz, Biól. Itandehui Ramos, José Luis.

A la Sra. Thelma Araceli Castillo Viejo por darme mi educación profesional, gracias mamá.

A mis creencias religiosas y espirituales.

**Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor, la electricidad y la energía atómica: la voluntad.**

- **Albert Einstein**

## ÍNDICE

Resumen	
Introducción	1
Antecedentes	9
Justificación	15
Objetivo	16
Hipotesis	16
Materiales y métodos	17
Área de estudio	17
Muestreo y registro de datos	17
Plaguicidas organoclorados (POC)	20
Bioquímica sanguínea	22
Hemograma	22
Análisis estadístico	23
Resultados	24
Área de estudio, muestreo y mediciones	24
Determinación de POC	25
Bioquímica sanguínea y hemograma (parámetros sanguíneos)	28
Relación entre las concentraciones de POC y los parámetros sanguíneos	30
Discusión	32
Determinación de plaguicidas organoclorados (POC)	32
Bioquímica sanguínea y hemograma (parámetros sanguíneos)	44
Relación entre los plaguicidas organoclorados (POC) con los parámetros	52

sanguíneos	
Conclusiones	68
Literatura citada	69
Anexos	91
Artículo	103

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar la concentración de 16 plaguicidas organoclorados (POC) en plasma sanguíneo de tortugas marinas anidadoras de caguama (*Caretta caretta*), que se relacionaron con los valores obtenidos de la bioquímica sanguínea y hemograma (parámetros sanguíneos). Para la determinación de los POC, se colectaron muestras de sangre en 37 tortugas que anidaron en la playa Aventuras-DIF, una de las principales zonas de anidación de esta especie en Quintana Roo, México. Adicionalmente, se obtuvieron 26 muestras sanguíneas para determinar siete valores de bioquímica sanguínea (aspartato amino transferasa o AST, lactato deshidrogenasa o LDH, glucosa, albumina, ácido úrico, urea nitrógeno o BUN y urea) y 11 para hemograma (glóbulos rojos o RBC, glóbulos blancos o WBC, hematocrito o HTO, linfocitos, heterófilos, monocitos, eosinófilos y basófilos). Las concentraciones promedio de POC más altas, de manera individual, estuvieron dadas por el  $\beta$ -HCH (4.97ng/ml) y p,p'-DDT (4.87 ng/ml), y por sumatoria de familia, fueron la  $\Sigma$ HCH (6,85 ng/ml) y  $\Sigma$ heptacloros (2.85 ng/ml); las concentraciones más bajas estuvieron dadas por endrín aldehído (0.93 ng/ml), p,p'-DDD (0.94 ng/ml) y p,p'-DDE (1.06 ng/ml), y por sumatoria de familia la  $\Sigma$ DDT's (2.13 ng/ml). Estas concentraciones de POC fueron consideradas como relativamente bajas comparadas con otros estudios que consideran esto mismo para otras poblaciones de tortugas marinas. Se encontró que la mayoría de los parámetros de la bioquímica sanguínea (AST y LDH, urea, BUN) y del hemograma estuvieron cercanos a los promedios o dentro de los rangos reportados para otras tortugas de diferentes regiones geográficas del mundo y aparentemente saludables o en estado de anidación normal; únicamente los valores de glucosa, albumina, ácido úrico y los basófilos se mostraron diferentes. Se encontraron

correlaciones entre algunos POC con los parámetros sanguíneos de manera positiva o negativa (glucosa ↓, albumina ↓, LDH ↓, RBC ↑, heterófilos ↓, linfocitos ↑, eosinófilos ↑, monocitos ↑ y basófilos ↑). Estas correlaciones no demuestran causa-efecto, pero sugieren que las variaciones de las sustancias corporales posiblemente están siendo moduladas por los POC y que, al parecer, las tortugas marinas son sensibles fisiológicamente a bajas concentraciones de los POC.

**Palabras clave:** Tortuga marina, *Caretta caretta*, bioquímica sanguínea, hemograma, plaguicidas organoclorados.

## INTRODUCCION

México es uno de los países más diversos en flora y fauna, siendo los reptiles uno de los grupos con mayor importancia (Zurita et al., 1993) y al cual pertenecen las tortugas marinas (Márquez, 1996). En México, se encuentran siete de las ocho especies de tortugas marinas, de las cuales cuatro (*Chelonia mydas*, *Caretta caretta*, *Eretmochelys imbricata* y esporádicamente *Dermochelys coriacea*) llegan a las costas de Quintana Roo (Viveros, 1992; Herrera, 2011). Desafortunadamente, todas las especies están en alguna categoría de riesgo (Wallace et al., 2011).

Los reptiles son organismos vertebrados de respiración pulmonar. Son poiquiloterms o ectoterms; es decir, regulan su temperatura a partir de la temperatura ambiental mediante mecanismos metabólicos y conductuales (Márquez, 1996). Las tortugas marinas se caracterizan por ser migratorias, tienen una distribución que abarca los mares tropicales y subtropicales de todo el mundo (Camiñas, 2002; Secretaría CIT, 2004), donde pasan la mayor parte de su vida y solo en la época de desove salen a tierra firme (Frazier, 2001). Presentan ciclos de vida especializados y complejos, con lentas tasas de crecimiento y una madurez sexual tardía que difiere según la especie (Camiñas, 2002; Secretaría CIT, 2004). El apareamiento se realiza en el mar y ocurre con intensidad a pocas semanas antes de iniciar la temporada de desove; cada hembra puede desovar desde dos hasta siete ocasiones por temporada, según la especie, edad y condición de salud (Márquez, 1996).

A nivel ecológico, las tortugas marinas juegan un papel importante en los ambientes marinos, por ejemplo, mantienen la diversidad en los arrecifes (Frazier, 2001; Choi y Eckert, 2009); actúan como controladoras de hábitats y poblaciones de otras especies (CONANP, 2011); forman parte de complejas cadenas alimenticias (Herrera, 2011), que



varían según la especie, etapa de crecimiento, localidad, temporada y comportamiento (Frazier, 2001). Debido a que su hábitat comprende bastas extensiones marinas, estos animales son considerados indicadores del estado de salud de ambientes marinos y costeros a escala local y global (Frazier, 2000; Labrada, 2011). A nivel internacional, son consideradas especies bandera, lo que significa que son carismáticas y atraen la atención para protegerles a ellas, a sus hábitats y otras especies asociadas, que son menos llamativas (Frazier, 2000; Herrera, 2011).

La tortuga caguama (*Caretta caretta*) se caracteriza por presentar una alimentación de tipo omnívora, en las primeras etapas de su vida, y en adultos, se vuelve completamente carnívora, con una dieta a base de peces, crustáceos, moluscos, medusas, gasterópodos y caracoles (Viveros, 1992; Márquez, 1996). Su distribución abarca aguas templadas, tropicales y subtropicales de los océanos Atlántico, Pacífico e Índico (Márquez, 1996; CONANP, 2011). En la temporada de anidación, llegan a tener entre una a seis anidaciones por año con intervalos de 14 días; el tamaño de la nidada va de 95 a 120 huevos con valores extremos de 40 a 160 (CONANP, 2011). La población de *C. caretta* que llegan a anidar a las costas de Quintana Roo, representa la segunda más importante del Atlántico occidental (Medellín 2009; CONANP, 2011) y son una de las colonias con mayor diversidad genética, respecto a las del Atlántico norte (Encalada et al., 1998; CONANP, 2011). Actualmente, se encuentra en peligro de extinción y protegida a nivel mundial; en México, está protegida bajo la NOM-059-SEMARNAT-2010 (Diario Oficial de la Federación, 2010; Wallace et al., 2011).

Muchos son los factores que llevan a las tortugas marinas a catalogarlas como “vulnerables”, “en peligro” o “peligro crítico” (Camiñas, 2002). Estos factores pueden ser la pesca clandestina e incidental, comercialización de sus huevos y carne, depredación

natural, destrucción o modificación de sus hábitats de anidación, contaminación de los sitios de alimentación, cambio climático, etc. (Camiñas, 2002; Medellín, 2009; Wallace et al., 2011). Debido al riesgo en el que se encuentran la mayoría de las especies de tortugas, en nuestro país, se han creado desde hace tiempo iniciativas para su conservación, como son los planes de manejo, establecimiento de campamentos tortugeros, veda permanente, prohibición de artes de pesca, entre otras (Medellín, 2009).

Para conservar la vida silvestre, se requiere del entendimiento de varios factores, como el conocimiento del estado de salud de los organismos, el cual se está deteriorando por todos los cambios que el ser humano ha hecho en sus hábitats (Deem et al., 2001). Sin embargo, evaluar la salud requiere de una gran variedad de análisis, como la bioquímica sanguínea y hemograma (parámetros sanguíneos), examen físico externo, índice de condición corporal, exposición a agentes infecciosos y contaminantes, entre otros (Deem et al., 2001; Padilla, 2008). La evaluación de estos parámetros puede justificar la búsqueda de mayor apoyo local e internacional para los esfuerzos de conservación (Deem et al., 2001).

Los parámetros sanguíneos, como la bioquímica sanguínea y hemograma, son útiles para describir el estado fisiológico y nutricional de los animales, así como indicar condiciones crónicas y patologías, anemias, inflamaciones y parasitemias (Lutz y Dunbar-Cooper, 1987; Montilla et al., 2008; Padilla, 2008; Zhang, Gu y Li, 2011). En la bioquímica sanguínea, se determinan las concentraciones de los constituyentes corporales que se encuentran en el plasma o suero de la sangre (Montilla et al., 2008; Padilla, 2008); mientras que con el hemograma se realiza el conteo de células rojas (eritrocitos), blancas (leucocitos) y su diferenciación (Wilkinson, 2004; Padilla, 2008).

Los valores de estos parámetros pueden servir para comparar con futuros datos de la misma población u otras poblaciones, determinar el efecto de perturbaciones (e.g. climas extremos, ecoturismo, pérdida de hábitats, etc.), realizar monitoreo a través del tiempo, detectar enfermedades; o relacionarlas con otras variables de interés que pudieran influir en sus valores, el largo del caparazón, etapas de vida, sexo, entre otros (Deem et al., 2001; 2009).

Una de las perturbaciones que afectan a la fauna silvestre es la contaminación por sustancias tóxicas, como los plaguicidas organoclorados (POC), los cuales se han expandido hasta los océanos y alcanzan a una infinidad de organismos marinos. En las zonas costeras y marinas, el origen de los contaminantes es debido principalmente a fuentes terrestres que se depositan por escurrimientos, infiltraciones, erosión, transporte atmosférico, descargas directas, entre otros (Córdova et al., 2000; Aguilar, 2010). Una de las repercusiones de los contaminantes es su larga persistencia o bioacumulación en el ambiente (como es el caso de los plaguicidas organoclorados) y su capacidad para ingresar y concentrarse paulatinamente en las redes tróficas (proceso de biomagnificación), lo que genera cambios ecológicos negativos (Rendón, 2006).

Los plaguicidas son sustancias químicas, que independientemente de sus beneficios, resultan ser tóxicos porque interfieren en algún sistema biológico y carecen de selectividad real, creando no solo daño a las especies “blanco”, sino también a aquellas que no lo son (Ramírez y Lacasaña, 2001). Uno de los grupos más sobresalientes son los POC, que han sido ampliamente utilizados desde los años 40’s, pero que al descubrirse sus efectos adversos, fueron prohibidos en muchos países, aunque en otros se siguen utilizando de manera clandestina (Monagas, 2007) o legal (Córdova et

al., 2000). En los países en desarrollo, como algunos de África y América Central, el uso de plaguicidas aún continúa y es muy variable, y existen problemas para su gestión (Ongley, 1997). En México, aun se usan algunos de estos plaguicidas o se encuentran almacenados, como consecuencia de su uso en el pasado, pero se ha avanzado significativamente en el control de varios de los compuestos establecidos en el convenio de Estocolmo, aunque quedan acciones por realizar (Espinoza-Reyes et al., 2007).

Los POC son compuestos sintéticos de hidrocarburos clorados, en cuya estructura posee al ion cloro, también pueden asociarse átomos de oxígeno o azufre (Arias et al., 1990; Ramírez y Lacasaña, 2001; Monagas, 2007). Debido a sus características (alta afinidad lipídica, alta estabilidad química y baja volatilidad) tienden a acumularse y biomagnificarse en las cadenas alimenticias (Keithmaleesatti et al., 2009), lo que favorece su persistencia en el ambiente y lenta biodegradabilidad (Ramírez y Lacasaña, 2001). La penetración de estos plaguicidas a los organismos acuáticos puede ser a través de la piel, branquias y el tubo digestivo, por medio de la ingesta de alimentos y, su toxicidad depende de la especie, estado de desarrollo en el que se encuentren, así como de los factores ambientales (e.g. salinidad, temperatura, concentración del contaminante, grado de exposición de los organismos) (Espina y Vanegas, 2005).

A nivel mundial, se han reportado estudios sobre la exposición a POC en una gran variedad de especies acuáticas ribereñas, estuarinas y marinas, dejando en claro hasta donde llegan sus alcances a través de la cadena trófica (e.g. Klavinš, Rodinov y Vereskuns, 1998; Rendón, 2006; Storelli et al., 2008 [peces]; Fossi et al., 2000 [cetáceos]; Glennemeier y Begnoche, 2002 [anfibios]; Le Boeuf et al., 2002 [leones marinos]).

A pesar de que las tortugas marinas son especies de vida libre, con grandes desplazamientos y diferentes zonas de alimentación, no están exentas a la exposición de contaminantes; además, su larga tasa de vida puede favorecer la acumulación de compuestos persistentes, como los POC (Keller et al., 2004c). En estos animales, se ha reportado la exposición a POC (e.g. McKenzie et al., 1999; Gardner et al., 2003; Keller et al., 2004a; Monagas, 2007; Innis et al., 2008; 2010; Garcia, 2011; Lazar et al., 2011; Malarvannan et al., 2011), lo que revela que sus concentraciones se encuentran en distintas etapas de su ciclo vida y, en órganos y tejidos, como hígado, riñón, tejido adiposo, huevos y sangre (D'Illo et al., 2011). También se han manifestado posibles efectos que interfieren en el sistema inmune (Keller et al., 2006), producen disrupción endocrina (Colborn, Von Saal y Soto, 1993), daños al desarrollo embrionario (Clark y Krynitsky, 1985), entre otros. Así mismo, se han encontrado asociaciones de estos contaminantes con los parámetros sanguíneos (Peden-Adams et al., 2002; Keller et al., 2004c; Innis et al., 2008; Labrada, 2011; Camacho et al., 2013) o a enfermedades (Monagas, 2007).

En relación a los contaminantes y su asociación con los parámetros sanguíneos, se ha encontrado que las tortugas marinas tienen una alta sensibilidad fisiológica a los compuestos organoclorados, aun a bajas concentraciones (Keller et al., 2004c; Labrada, 2011). Sin embargo, se ha sugerido que los resultados deben tomarse de manera precautoria, ya que es necesario determinar la causa precisa de estas relaciones, realizar estudios a nivel de laboratorio-campo, observar la sensibilidad en distintas etapas de vida, entre otros (Keller et al., 2004c).

El estrés a factores ambientales, como el sonido extremo, temperaturas extremas, inanición, deshidratación y contaminantes (e.g. POC, PCBs, metales pesados, etc.),

pueden llevar al organismo a responder como una forma de adaptación (Sonee et al., 2010; Labrada, 2011), resultando en un desequilibrio del funcionamiento normal del cuerpo (homeostasis), que conlleva a una perturbación de la bioquímica sanguínea (Sonne et al., 2010) y hemograma (Grasman, Scanlon y Fox, 2000). Sin embargo, entre más estresado esté un organismo, la probabilidad de supervivencia se reduce (Labrada, 2011). De esta manera, los contaminantes químicos, como los POC, pueden modificar el funcionamiento de los organismos. Por ejemplo, en tortugas marinas, la enzima aspartato aminotransferasa (AST), se ha asociado a tejidos del músculo e hígado (Labrada, 2011), donde éste último es el segundo tejido más importante en acumulación de POC (Labrada, 2011; Gardner et al., 2003). Así, una alteración en la AST puede estar correlacionada significativamente con algún POC, e indicaría un posible daño a los hepatocitos (células del hígado), en respuesta a la exposición del contaminante que actúa como un estresor (Keller et al., 2004c; Labrada, 2011). Como posible mecanismo de respuesta, se ha mencionado que las sustancias tóxicas al producir estrés inducen a la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés), las cuales una vez liberadas dañan los tejidos (e.g. riñones, corazón, pulmón, y en especial, al hígado), como ha sido citado por Valdivia et al. (2007) en tortugas marinas de *Chelonia mydas agassizii*. El daño producido a los tejidos o células del hígado se ha visto asociado al incremento de la enzima AST en animales expuestos a sustancias tóxicas (Keller, 2003).

Otras formas de intervención de los contaminantes organoclorados es la modulación del sistema inmune, causando la proliferación de células blancas (e.g. linfocitos) encargadas de la respuesta inmune o alterando la actividad de enzimas, como la lisozima (secretada por los neutrofilos), que tiene actividad antibacterial y de respuesta

a inflamaciones (Keller et al., 2006). También, estos contaminantes actúan como inhibidores/activadores de sustancias del metabolismo (e.g. enzimas, hormonas) o participan como falsas hormonas, donde mimetizan a éstas alterando los procesos endocrinos y de reproducción en los organismos (Labrada, 2011).

Las relaciones entre los contaminantes (e.g. POC) con los parámetros sanguíneos y sus cambios, pueden dividirse en efectos a órganos como hígado (e.g. ALP, ALT, AST, albumina, proteínas totales, colesterol), riñón (e.g. ácido úrico, creatinina, Mg, Na, BUN) y otros relacionados con la energía del metabolismo, la digestión y la homeostasis electrolítica (e.g. creatinina, glucosa, proteínas, ácido úrico, BUN, Mg, K, Na) (Keller et al., 2004c; Sonne et al., 2010; 2012; Labrada, 2011). Algunos trabajos lo han reportado en distintas especies animales (e.g. Kutlu et al., 2007; Sonne et al., 2008; 2010; 2012; Camacho et al., 2013). Por ejemplo, en ratas hembras de laboratorio expuestas a dos PCBs, observaron elevación en la AST, ALT, ALP, urea y ácido úrico, con cambios en los tejidos de riñones e hígado mediante estudios histopatológicos, indicando nefrotoxicidad y hepatotoxicidad (Kutlu et al., 2007). Sin embargo, la alteración de algunos parámetros no siempre indica el mismo daño en los organismos. Por ejemplo, el incremento de nitrógeno ureico (BUN) en sangre de mamíferos, correlacionado con ciertos POC puede indicar daño renal; mientras que en tortugas marinas, está más relacionado al estado nutricional y del metabolismo de las proteínas. En este sentido, un nivel alto de BUN en sangre puede indicar una ingesta reciente y alta cantidad de lípidos en la sangre, a los cuales están unidos contaminantes lipofílicos para ser transportados, revelan un incremento de los contaminantes que se encontraban en el alimento consumido (Keller et al., 2004c).

Por otra parte, el aumento o la disminución de los valores de los parámetros bioquímicos parece depender de la especie animal, ruta y tiempo de exposición, y/o tipo de compuesto (Sonne et al., 2010). Por ejemplo, en plasma de tortugas *C. caretta* la disminución de la albumina se ha visto asociada con compuestos organoclorados como  $\Sigma$ clordanos y mirex (Keller et al., 2004c), pero una tendencia contraria se ha observado con hidrocarburos aromáticos policíclicos, como el fluorantreno y fenantreno (Camacho et al., 2013). De igual forma, el aumento de la enzima AST se ha asociado a mirex,  $\Sigma$ DDTs,  $\Sigma$ clordanos,  $\Sigma$ PCBs,  $\Sigma$ OC en plasma de tortuga *C. caretta* (Keller et al., 2004c); sin embargo, en la tortuga *C. mydas*, se han observado correlaciones positivas con  $\gamma$ -HCH y  $\Sigma$ ciclodienos, y negativas con  $\alpha$ -HCH (Labrada, 2011).

Las correlaciones entre los parámetros sanguíneos y los contaminantes, pueden servir como biomarcadores de efecto, los cuales se caracterizan por ser mediciones bioquímicas, fisiológicas o de otras alteraciones dentro de tejidos o fluidos del cuerpo de un organismo dado, ante la exposición de una sustancia química. Sin embargo, para que esto sea posible, deben realizarse una serie de análisis y comprobaciones en campo y laboratorio para validar su uso (van der Oost, Beyerb y Vermeulenc, 2003).

## **ANTECEDENTES**

En diferentes regiones geográficas del mundo, se han realizado estudios para obtener los valores de los parámetros sanguíneos de las poblaciones de tortugas *C. caretta*, donde también se han establecido relaciones o diferencias entre estos parámetros con el LCC (e.g. Deem et al., 2009), edad (e.g. Kakizoe et al., 2007), estadios o comportamientos (e.g. Stamper et al., 2005; Casal et al., 2009; Deem et al., 2009;



Basile et al., 2012), saludables y enfermas (e.g. Flint et al., 2010), epibiontes (Stamper et al., 2005), contaminantes (e.g. Keller et. al., 2004c; Labrada, 2011), entre otros. La mayoría de los trabajos han sido realizados en tortugas juveniles, subadultos o adultos, pero Honarvar et al. (2011) mencionan que son escasos los estudios en tortugas anidadoras y que debe reconocerse el potencial de sus valores durante la época de reproducción. Por ejemplo, estos autores establecieron los valores de referencia de la bioquímica sanguínea de tortugas laud anidadoras (*Dermochelys coriácea*) en África, y observaron como variaban con cada evento de anidación durante una temporada. Las variaciones obtenidas fueron atribuidas al estrés por la anidación, al posible estado de ayuno y pérdida de energía en cada anidación. Goldberg et al. (2011) en hembras anidadoras de *C. caretta* de Río de Janeiro, observaron que las variaciones de algunos parámetros (e.g. calcio, fosforo, colesterol, triglicéridos, albumina) estaban más influenciadas por el estado reproductivo, mientras que en otros no (e.g. urea).

Asimismo, estudios más integrales (Cuadro 1A), incluyen parámetros sanguíneos y la determinación de contaminantes, como los POC y metales pesados, con la finalidad de que todos los análisis provean un mejor entendimiento de la salud en las especies silvestres en conservación y de los efectos antropogénicos (Deem et al., 2006). En estos pocos trabajos, Deem et al. (2006; 2009) encontraron que las concentraciones de POC en las tortugas estuvieron por debajo del límite de cuantificación (20 ppb) y solo el plomo, arsénico y mercurio se detectaron en un rango promedio de 0.05 a 200 ppb. Si embargo, en estos trabajos no hay una búsqueda de posibles asociaciones entre los parámetros sanguíneos y los contaminantes medidos.

El reciente interés por conocer más sobre las posibles afectaciones de los contaminantes en los procesos metabólicos de diferentes especies animales

(incluyendo a las tortugas marinas), ha hecho posible generar información al respecto. Se ha encontrado que los contaminantes pueden afectar los valores de varios parámetros fisiológicos con posibles impactos (Cuadro 1B) sobre órganos, como hígado y riñones, huesos, glándulas de sal y al sistema endocrino en tortugas marinas y otras especies animales (Sonne et al., 2010; Camacho et al., 2013). Además, Keller et al. (2004c) han mencionado que los POC podrían estar afectando la salud de las tortugas expuestas a concentraciones menores, en comparación a otras especies, aunque su estudio sea meramente correlativo. Sin embargo, trabajos que se efectúan bajo condiciones de laboratorio aseguran más los posibles efectos, como lo demostraron Lutcavage et al. (1995) y Keller et al., (2006), ambos en tortugas marinas juveniles de *C. caretta* (cuadro 1B).

Todos estos autores concuerdan en que estos contaminantes no son los únicos que pueden estar modulando los parámetros sanguíneos, sino que también pueden estar influenciados por otras causas, como la edad, dieta, enfermedades, hidratación y factores ambientales (Sonne et al., 2010). Por tanto, recomiendan más estudios para revelar cuál es el papel potencial de los contaminantes sobre los parámetros sanguíneos en las tortugas (Peden-Adams et al., 2002; Camacho et al., 2013).

Con respecto a todo lo anterior, en México, la información publicada en tortugas marinas es escasa y en la especie *C. caretta* prácticamente es desconocida (Cuadro 1C).

<b>Cuadro 1. Estudios realizados en tortugas marinas</b>		
<b>Autor</b>	<b>Estudio y resultados</b>	<b>Especie y lugar</b>
<b>A. Estudios integrales</b>		
Deem et al. (2006)	Determinaron la bioquímica sanguínea y hemograma, examinación física, proteínas plasmáticas, plaguicidas organoclorados y metales pesados.	Tortuga laud ( <i>Dermochelys coriacea</i> ) República de Gabón, Africa
Deem et al. (2009)	Compararon valores de la bioquímica sanguínea y hemograma en tortugas anidadoras, alimentándose y varadas. Realizaron examinación física, proteínas plasmáticas, POC y metales pesados.	Tortuga caguama ( <i>Caretta caretta</i> ) Georgia, USA
Innis et al. (2010)	Evaluaron parámetros sanguíneos, índice corporal, estado de nutrición, análisis parasitológicos, microbiológicos y toxicológicos (metales pesados y POC). Solo selenio y cadmio tuvieron concentración relativamente alta, los POC no fueron detectados.	Tortuga laud ( <i>Dermochelys coriacea</i> ) Atlántico noroccidental, USA
<b>B. Estudios de relación entre los parámetros sanguíneo y los contaminantes</b>		
Sonne et al. (2010)	Relacionaron compuestos organohalogenados con la bioquímica sanguínea. Glucosa, creatinina y fosfatasa alcalina se correlacionaron negativamente (e.g. ΣPCB, mirex), y la alanina amino transferasa (ALT), colesterol, ácido úrico, proteínas totales, bilirrubina total, ácido úrico: creatinina positivamente (e.g. p,p'-DDE, clordanos, heptacloro hepóxido).	polluelos de aves rapaces (Noreste de Noruega)
Lutcavage et al. (1995)	Estudiaron a nivel laboratorio, los cambios fisiológicos y patológicos ocurridos por exposición a petróleo crudo durante varios días. Encontraron alta correlación positiva con el WBC, reducción del RBC, y cambios histológicos en células de la piel de diferentes partes del cuerpo y en mucosas nasales. Las asociaciones se atribuyeron al estrés producido por el contaminante y su toxicidad, y la respuesta fue dependiente del tiempo de exposición.	Tortugas juveniles de <i>C. caretta</i> (Florida, USA)
Peden-Adams et al. (2002)	Relacionaron la bioquímica sanguínea y linfoproliferación de células blancas con POC, PCBs y mercurio (Hg). Se correlacionó de manera positiva la BUN, proteínas totales, AST y globulina con la ΣPCBs; y negativamente la AST, calcio, proteínas totales y la BUN con heptacloro epóxido. Sugieren que concentraciones bajas de contaminantes son capaces de alterar los parámetros sanguíneos.	Tortugas juveniles <i>C. caretta</i> (Carolina del Sur y Georgia, USA)
Keller et al. (2004c)	Determinaron y correlacionaron los niveles de POC y PCBs con parámetros sanguíneos. Se correlacionó negativamente el RBC, hemoglobina, HTO, linfocitos con la Σclordanos; glucosa con dieldrín y ΣDDTs; ALP con mirex y ΣPCBs, y albumina con mirex; y positivamente la AST con mirex, ΣDDTs, Σclordanos, ΣPCBs y ΣOCs; BUN con ΣDDTs, Σclordanos, ΣPCBs y ΣOC; WBC con mirex, ΣDDTs, Σclordanos, ΣPCBs y ΣOCs; eosinófilos con	Tortugas juveniles de <i>C. caretta</i> (Carolina del Norte, USA)

	ΣPCBs, ΣDDTs, ΣPOCs.	
Keller et al. (2006)	Realizaron a nivel <i>in vitro</i> un estudio sobre el efecto de los organoclorados sobre la inmunidad. Observaron correlaciones negativas de la Σclordanos y DDE con la actividad de la lisozima, y positivas (e.g. DDE, ΣPCBs) con la proliferación de los linfocitos. Se sugiere que los contaminantes modulan la respuesta inmune.	Tortugas juveniles <i>C. caretta</i> (Carolina del Norte, USA)
Camacho et al. (2013)	Evaluaron contaminantes orgánicos persistentes y su posible efecto sobre los parámetros sanguíneos. Encontraron correlaciones positivas entre la enzima GGT con p,p'-DDE y ΣPOC y los eosinófilos con p,p'-DDE; y negativas entre los heterófilos con p,p'-DDE, albumina con fenantreno y fluoranteno, ácido úrico con ΣPCBs.	Tortugas anidadoras de <i>C. caretta</i> (Cabo Verde, África Occidental)
<b>C. Lo que se ha hecho en México</b>		
Lara (2011)	Estableció en tortugas con y sin fibropapilomas, los valores de referencia hematológicos y bioquímicos de la región. Los valores difirieron con lo reportado por otros autores e incluso varios de ellos se encontraban fuera de los intervalos de referencia documentados.	Tortugas anidadoras de <i>C. mydas</i> y <i>E. imbricata</i> (El Cuyo, Yucatán)
García (2011)	Comparó la concentración en sangre de los POC y PCBs entre tortugas anidadoras del Golfo de México. Las diferencias significativas fueron atribuidas al diferente nivel trófico y dietas contrastantes de cada especie.	Tortugas anidadoras <i>E. imbricata</i> y <i>C. mydas</i> (Campeche)
Labrada (2011)	Evaluó la talla del cuerpo, índice corporal, enzimas antioxidantes, hormonas, parámetros sanguíneos y contaminantes (organoclorados y metales pesados). Observó variaciones de los contaminantes con diversas variables (bioquímica sanguínea y el hemograma). Correlaciones positivas se hallaron de varios POC y metales pesados con los linfocitos, monocitos y la AST; y negativamente con el conteo de linfocitos, heterófilos, ALT, colesterol, proteínas, glucosa y ácido úrico.	Tortugas juveniles-adultos <i>Chelonia mydas</i> (Tres lagunas costeras de la Península de Baja California)

Es importante recordar que, las tortugas marinas son animales vertebrados longevos, que pueden bioacumular contaminantes obtenidos de los alimentos, sedimentos y agua (D'Llio et al., 2011). De estas tortugas, *C. caretta* está más propensa a almacenar contaminantes (como los POC), debido a sus hábitos alimenticios y a que se encuentra en un nivel más alto de la cadena trófica marina (Mckenzie et al., 1999; D'Llio et al., 2011). En las poblaciones anidadoras de Quintana Roo, algunas zonas de alimentación de estas tortugas son conocidas por estudios que han revelado indicios sobre sus

desplazamientos después de la anidación en el Gran Caribe, como Cuba, Nicaragua y Honduras (e.g. Zurita et al., 1994; Cuevas et al., 2012; Conant et al., 2009; Moncada et al., 2010); y en zonas más alejadas como Uruguay (Caraccio, et al., 2008), Brasil (Lima et al., 2014), Virginia, Massachusetts (Rankin-Baransky et al., 2001), las islas de las Azores, Madeira y el mar Mediterráneo (Encalada, Zurita y Bowen, 1999), cuando están en etapa de juveniles y subadultos.

En Quintana Roo, se realiza el monitoreo de tortugas anidadoras de *C. caretta* de manera continua desde 1987, siendo los sitios de mayor anidación las playas de Xcacel, Chemuyil, Xel-ha y Aventuras-DIF (Zurita, Herrera y Prezas, 1993). Diferentes instituciones han estado a cargo de esta labor para la conservación de las tortugas, pero desde el 2002 la fundación Flora, Fauna y Cultura de México, A.C. (FFCM), es la principal institución encargada del monitoreo en 13 zonas (Flora, Fauna y Cultura de México, A. C., 2013). La fundación ecológica Bahía Príncipe Tulum, A.C. únicamente tiene a su cargo la zona Aventuras-DIF desde 1997, pero se mantiene unido al programa operado por FFCM (Fundación Ecológica eco-Bahía, s/d).

## JUSITIFICACION

Desafortunadamente, para las tortugas marinas de Quintana Roo, la información existente aun es escasa, a pesar de ser uno de los sitios de anidación más relevantes a nivel nacional e internacional, por la importancia de las poblaciones silvestres (segunda más importante del Atlántico occidental) y su diversidad genética única, cuya eliminación puede significar la pérdida del 30% de diversidad del ADN mitocondrial (ADNmt) en las poblaciones del Atlántico (Encalada et al., 1998; Encalada, Zurita y Bowen, 1999; Medellín, 2009). En general, en *C. caretta* son pocos los estudios acerca de los parámetros sanguíneos y contaminantes, y más en hembras anidadoras. La mayoría de los trabajos se enfocan a individuos juveniles o adultos de ambos sexos. Por esto, resulta necesario generar más conocimiento en las hembras anidadoras, siendo las poblaciones de Quintana Roo ideales para ello. En este trabajo, la intención fue evaluar algunos parámetros de bioquímica sanguínea y hemograma. Con esto, se obtendría los primeros valores de referencia para estas poblaciones. Aunado a esto, los contaminantes que se han ido depositando en zonas costeras y marinas, pueden bioacumularse en los tejidos de la fauna silvestre, poniendo en peligro su salud y supervivencia cuando alcanzan niveles que alteran las funciones normales del organismo. Es por esto que, se determinaron las concentraciones de POC (por su alta persistencia en el ambiente y su alta toxicidad), y se establecieron relaciones entre éstos con los parámetros sanguíneos. Los resultados serán de utilidad como referencia para futuras investigaciones y si es necesario plantear un monitoreo a largo plazo, ya que no se tiene reportado para las tortugas que anidan en Quintana Roo.

## **OBJETIVOS**

### OBJETIVO GENERAL

Determinar los niveles de plaguicidas organoclorados (POC), los valores de la bioquímica sanguínea y de hemograma en sangre de tortugas marinas anidadoras de *C. caretta* de Quintana Roo, México, y correlacionar los POC con los valores sanguíneos.

### OBJETIVOS PARTICULARES

- 1.- Determinar la concentración de POC en el plasma sanguíneo de las tortugas anidadoras de *C. caretta*.
- 2.- Determinar los valores de la bioquímica sanguínea y hemograma de las tortugas anidadoras de *C. caretta*.
- 3.- Determinar la relación entre las concentraciones de los POC con la bioquímica sanguínea y hemograma de las tortugas anidadoras de *C. Caretta*.

## **HIPOTESIS**

Dado que, se han encontrado tendencias en los niveles de los parámetros sanguíneos con la mayor concentración de contaminantes organoclorados en tortugas marinas (e.g. Keller et al., 2004c; Labrada, 2011; Camacho et al., 2013), como una respuesta de los procesos metabólicos e inmunes ante sustancias extrañas en el organismo; la hipótesis de este trabajo supone que las concentraciones más altas de POC en el plasma de las tortugas *C. caretta* (sea individual, sumatoria total o por familia), aumentará el conteo de glóbulos blancos (WBC), eosinófilos, monocitos, BUN y AST; y disminuirá el conteo de glóbulos rojos (RBC), hematocrito, heterófilos, albumina, glucosa y ácido úrico.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Área de estudio**

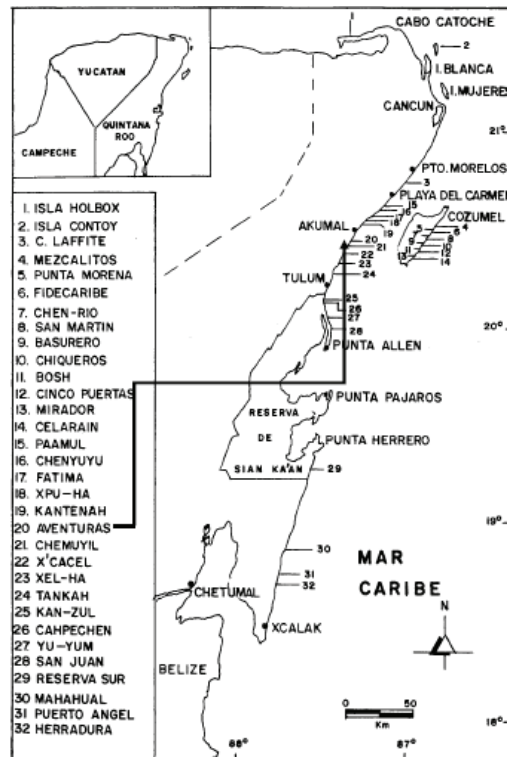
Quintana Roo se ubica en el oriente de la República Mexicana y de la Península de Yucatán, limita al norte con el Golfo de México, al sur con Belice y Guatemala, al oeste con los estados de Campeche y Yucatán, y al este con el Mar Caribe (Instituto Nacional de Estadística y Geografía, 2011). La tortuga *C. caretta* se distribuye prácticamente a todo lo largo de su costa (CONANP, 2011), siendo su principal zona de anidación la parte central, desde las playas de Chenyuyu (cerca de Playa del Carmen), hasta San Juan en la Reserva de Sian Ka'an (Zurita, Herrera y Prezas, 1993). El presente estudio se llevó a cabo en la playa Aventuras-DIF (Fig. 1), ubicada entre el corredor turístico Cancún-Tulum (22 km al norte del municipio de Tulum), frente al Hotel Bahía Príncipe (Fundación Ecológica eco-Bahía, s/d; Zurita, Herrera y Prezas, 1993). Esta playa tiene una extensión lineal de 1.5 km (20° 21' 50.4" N y 87° 19' 58.3" W – 20° 22' 23" N y 87° 19' 35.7" W) (Fundación Ecológica eco-Bahía, s/d), y representa una de las zonas de mayor actividad de anidación de esta especie en Quintana Roo, junto con las playas de Xcacel, Chemuyil y Hel-ha, (Zurita, 2009; CONANP, 2011). Se tomó muestras de un solo un sitio, bajo el precepto de que las tortugas anidadoras de *C. caretta* de Quintana Roo, pertenecen a la misma población (Encalada et al., 1998; Encalada, Zurita y Bowen, 1999).

### **Muestreo y registro de datos**

El muestreo se llevó a cabo durante la temporada de anidación 2012 (abril-septiembre), específicamente en los meses de junio y julio. Inicialmente, se había contemplado obtener entre 30-40 muestras de sangre de tortugas para realizar todos los análisis



(POC, bioquímica sanguínea y hemograma). Finalmente, se obtuvieron 37 muestras para los análisis de POC, de las cuales 26 contaron con la bioquímica sanguínea y solo 11 para el hemograma.



**Figura 1.** Ubicación de playas de anidación de tortugas marinas en Quintana Roo; Aventuras DIF (flecha negra) (Zurita et al., 1993).

En campo, la colecta de muestras consistió en hacer recorridos durante la noche (21:00 a 04:30 am) y a lo largo de la playa, para el avistamiento de alguna tortuga en proceso de anidación, o bien, se esperaba en un punto de la playa hasta recibir una señal de aviso (por radio o señales con linterna). Una vez localizada la tortuga, se procedió a la toma de muestra de sangre, mediante la técnica de punción en los senos venosos cervicales (Montilla et al., 2008; Labrada, 2011). Para ello, se colocó la cabeza de la

tortuga más abajo del cuerpo, haciendo un hueco en la arena, de manera que los senos se llenaran de sangre y facilitaran su colecta (Lara, 2011; Montilla et al., 2008). La zona del cuello fue previamente limpiada con yodo y, posteriormente, se extrajeron tres muestras de sangre utilizando un capuchón y aguja vacutainer<sup>®</sup> de 21x38 mm (Fig. 2) conectados a un tubo vacutainer<sup>®</sup> estéril con heparina como anticoagulante (Labrada, 2011). Después, las muestras se dejaron a temperatura ambiente alrededor de 10 a 15 min para evitar choque térmico con el hielo de la hielera y disminuir los problemas de hemólisis. Los tubos fueron etiquetados con el número de marca de la tortuga y fecha de colecta, se colocaron en la hielera (aproximadamente a 4° C) hasta llegar al campamento de Xcacel. Cabe mencionar que se procuró obtener las muestras durante el desove, ya que permite tomarlas con menor dificultad (Owens, 2000).



**Figura 2.** Toma de muestra sanguínea sobre el seno venoso cervical de una tortuga anidando.

Inmediatamente después, se tomaron las medidas morfométricas del largo curvo del caparazón (LCC) y ancho curvo del caparazón (ACC) con una cinta métrica flexible (graduada en cm) (Bolten, 2000; Montilla et al., 2008) con la finalidad de tener referencia de la talla promedio de madurez sexual. Asimismo, se registró la presencia,

anomalías, lesiones, si estaban muy delgadas, número de huevos puestos para tener información acerca de su condición y potencial reproductivo. La información fue facilitada por la organización Flora, Fauna y Cultura de México A. C. y, por el campamento tortuguero donde se realizó el muestreo (Fundación Ecológica Bahía Príncipe Tulum, A.C.).

Finalmente, llegando al campamento de Xcacel, se extrajo el plasma sanguíneo centrifugando a 3157 rpm alrededor de 15 min para separar el plasma del paquete celular; esto se hizo a dos de los tres tubos muestreados para cada tortuga. Después, el plasma se traspasó con una pipeta Pasteur desechable a tubos de criogénesis (Corning<sup>MR</sup>) y se etiquetaron en el momento. Se mantuvieron aislados en bolsas ziploc® y guardados en el congelador del campamento. Al regresar al Laboratorio de Química de ECOSUR-Chetumal, las muestras fueron congeladas alrededor de -69° C (en un ultracongelador) hasta realizar los análisis de plaguicidas y bioquímica sanguínea. En cuanto al tercer tubo de sangre, éste se uso para el hemograma, que se describe más adelante.

### **Plaguicidas organoclorados (POC)**

Los análisis de extracción, determinación y cuantificación de POC se llevaron a cabo en el Laboratorio de Química de El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), Unidad Chetumal. Se analizaron en total 16 POC (Anexo 1), los cuales fueron elegidos por representar una toxicidad considerable con impactos ambientales negativos en varios casos de estudio y que además han sido evaluados con mayor frecuencia en los programas de vigilancia de contaminantes (Córdoba et al., 2000).

Para el análisis de extracción de POC, se utilizó e implementó la metodología presentada por Díaz (2004), haciendo algunas modificaciones requeridas (Anexo 3). La técnica básicamente consiste en tomar 2 ml de plasma para realizar la extracción de POC con solventes (alcohol desnaturalizado, sulfato de amonio saturado y hexano), seguida de una extracción y limpieza con cloruro de metileno, hexano, y una columna de florisil (supelclean™ LC-Florisil, Sigma-Aldrich®). Finalmente, los extractos obtenidos fueron evaporados con una corriente de gas nitrógeno hasta un volumen aproximado de 0.1 ml. Para el análisis de los analitos, se inyectó 1 µL de extracto de muestra, se analizó en un cromatografo de gases Agilent modelo 7890, con detector de captura de electrones y una columna capilar de fenilmetil silicona al 5 %, de 25 m x 0.25 mm x 25 µm. Se usó gas helio y nitrógeno de alta pureza como acarreador y auxiliar, respectivamente.

El programa de temperaturas usado fue: 260° C para el inyector y 320° C para el detector; la rampa de temperatura inicio con 90° C/2min, después aumento a 180° C en intervalos de 30° C/min, y por último, subió 3° C/min hasta alcanzar una temperatura final de 270° C (Medina, 2002). Para la identificación y cuantificación de los plaguicidas, se utilizó un estándar con una mezcla de 16 plaguicidas de concentración conocida (Chem Service). Se corrieron blancos con cada serie de muestras procesadas. También se determinaron los límites de detección y cuantificación para cada POC (Anexo 4). Todos los solventes fueron grado HPLC y de alta pureza. Los resultados se presentaron en ng/ml de plasma masa húmeda. De las muestras analizadas, no se hicieron réplicas, debido a que no se contó con suficiente cantidad de volumen de muestra que la técnica requiere.

## **Bioquímica sanguínea**

Se midieron la Aspartato aminotransferasa (AST) (U/l), lactado deshidrogenasa (LDH) (U/l), glucosa, urea, urea nitrógeno (BUN), ácido úrico (mg/dl) y albumina (g/dl). Los métodos de medición que se utilizaron para este tipo de pruebas fueron enzimáticos colorimétricos. Las lecturas se hicieron en un espectrofotómetro marca VELAB modelo 5000b (para glucosa, urea y ácido úrico) y por un autoanalizador de química clínica marca MINDRAY modelo BS-300 (para la albumina, la AST y LDH). Los análisis se realizaron sin duplicados y en un laboratorio particular en la ciudad de Chetumal, Quintana Roo (Laboratorio de análisis clínicos-alimentos-suelos-aguas HIDROLAB).

## **Hemograma**

Para el hemograma, se utilizó el tubo de sangre total (sin centrifugar). Estos análisis fueron realizados por personal capacitado del parque Africam Safari. Se realizó la prueba del hematocrito (HTO), mediante el método de centrifugación, usando un tubo capilar de hematocrito, el cual se llenó de sangre, centrifugó y leyó en % por medio de una tabla de lectura. El conteo total de células rojas (RBC) ( $\times 10^6/\mu\text{L}$ ) y células blancas (WBC) ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) se hizo de manera manual (Padilla, 2008). Esto consistió en colocar una pequeña cantidad de sangre en una cámara de Neubauer, se usó tinción de Natt and Henricks y se visualizó al microscopio a 40X para el conteo de los eritrocitos; el conteo y diferenciación de las células blancas se efectuó realizando frotis de sangre sobre un portaobjetos. Los frotis se dejaron secar y se fijaron en el menor tiempo posible en alcohol al 99% o 100%, se guardaron en un recipiente de plástico limpio hasta realizar el conteo. La visualización se llevó a cabo con tinción de Wright-Giemsa y en un microscopio óptico a 40 y 100X (Padilla, 2008). El conteo diferencial se hizo

sobre 100 leucocitos por frotis sanguíneo, diferenciando las células en linfocitos, heterófilos, eosinófilos, monocitos y basófilos (%) (Wilkinson, 2004; Labrada, 2011).

### **Análisis estadísticos**

Para los parámetros sanguíneos (bioquímica sanguínea y hemograma) se obtuvieron como medidas de tendencia central la media, desviación estándar ( $\pm$ DE) y el rango (mínimo-máximo), como ha sido expuesto por varios autores (e.g. Keller et al, 2004c; Montilla et al., 2008). Para facilitar su comparación, algunos de los parámetros de la bibliografía tuvieron que ser transformados para uniformar las unidades utilizadas, esto se hizo por medio de las conversiones correspondientes. Para los parámetros morfométricos, como son LCC y ACC, también se obtuvieron las mismas medidas de tendencia central.

En el caso de los plaguicidas organoclorados (POC), se obtuvo la concentración de cada compuesto por tortuga, así como las sumatorias ( $\Sigma$ ) por familia ( $\Sigma$ drines: aldrín, dieldrín, endrín y endrín aldehído;  $\Sigma$ hexaclorociclohexanos [HCH]:  $\alpha$ HCH,  $\beta$ HCH,  $\gamma$ HCH y  $\delta$ HCH;  $\Sigma$ heptacloro: heptaclor y heptacloro epóxido;  $\Sigma$ DDTs: p,p'-DDE, p,p'-DDD y p,p'-DDT y  $\Sigma$ endosulfán: endosulfán I, endosulfán II y endosulfán sulfato) y total de plaguicidas ( $\Sigma$ POCs). También se obtuvieron los datos resumidos de media,  $\pm$ DE y el rango. De igual forma, se presentaron los porcentajes (%) de frecuencia de los POC.

Para las demás pruebas, se hizo un análisis exploratorio de los datos para ver si cumplían con los supuestos paramétricos de normalidad, tanto en la bioquímica sanguínea, hemograma, como en los plaguicidas. Para ello, se utilizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, la cual puede ser utilizada para un tamaño de muestra pequeño. Como la mayoría de las pruebas resultaron ser de distribución no normal, se

eligió estadística no paramétrica. Otra de las razones por las cuales se eligió este tipo de estadística, fue porque no se ve afectada por la presencia de datos influyentes, los cuales no se eliminaron por poseer un tamaño de muestra pequeño. Asimismo, son utilizadas para tamaños de muestras pequeñas (Zar, 1999; Molinero, 2003).

La correlación de Spearman fue utilizada para determinar si existía relación entre los valores de bioquímica sanguínea y hemograma con los plaguicidas.

Previo a los análisis estadísticos, y para el caso de POC, se usó la mitad del valor del límite de detección en sustitución de los datos o concentraciones “no detectados” (ND) como uno de los varios procedimientos utilizados para la asignación de valores ND (Keller, 2003; Díaz, 2004). Todos los análisis fueron realizados con los paquetes estadísticos de Excel® y R (versión 2.12.2), considerándose un valor de significancia de  $\alpha = 0.05$ .

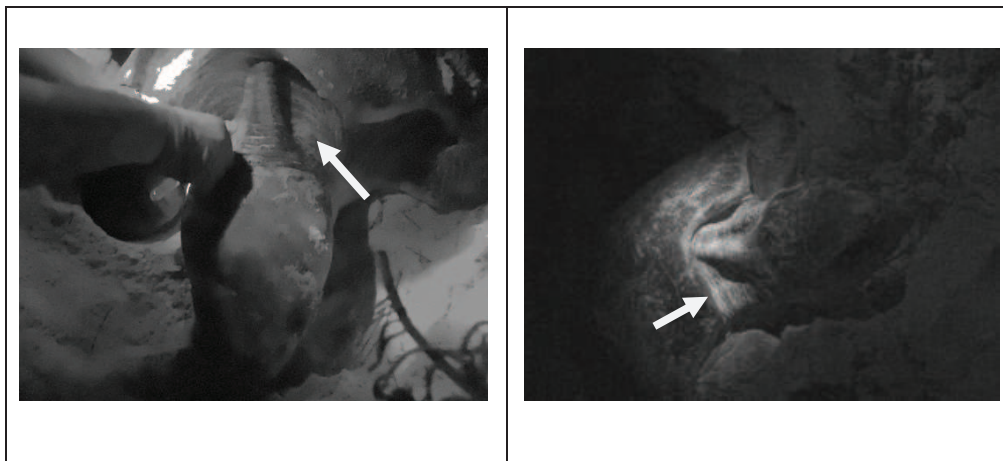
## **RESULTADOS**

### **Área de estudio, muestreo y mediciones**

Se obtuvieron un total de 37 tortugas con sus medidas morfométricas de LCC y ACC (Cuadro 2), pero la información del número de huevos puestos solo se obtuvo de 34 nidos porque los nidos restantes sufrieron algún tipo de daño por inundación, depredación, o no se registró (Cuadro 2). Las mutilaciones solo se presentaron en dos tortugas, donde a una tortuga (XF007) le hacía falta una tercera parte de la aleta delantera derecha y, otra (XW875) no tenía una parte de los escudos marginales del caparazón, en el lado izquierdo. Como dato subjetivo, al momento de tomar la muestra sanguínea, se observó a varias tortugas (n= 16) considerablemente delgadas (Fig. 3).

**Cuadro 2.** Morfometría de tortugas anidadoras de *C. caretta* y número de huevos puestos en la playa Aventuras-DIF, Quintana Roo, México.

	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>(±DE)</b>	<b>Mín – Máx</b>
LCC (cm)	37	97.07	5.10	87 - 107.5
ACC (cm)	37	88.28	5.50	79.90 - 100.6
No. de huevos puestos	34*	101	18.93	45-138



**Figura 3.** Apreciación de la delgadez en una tortuga *C. caretta* anidadora, vistas frontal y lateral (las flechas indican la formación de surcos pronunciados en su cuello).

### **Determinación de los POC**

Se analizaron 37 muestras de plasma de tortuga *C. caretta* para identificar y cuantificar 16 POC (Cuadro 3). Los límites de detección y cuantificación para cada POC se encuentran en el anexo 4. Todas las muestras contaron con al menos un POC, y solo cuatro presentaron los 16 POC evaluados. En el anexo 5, se muestran datos completos de cada muestra analizada. Dos muestras no se incluyeron dentro de los análisis



estadísticos, ya que presentaron lecturas extremas en comparación con el resto de las muestras, quedando así 35 muestras en total. De estas dos muestras, una tortuga (XP116) mostró concentraciones de  $\gamma$ -HCH, p,p'-DDD y p,p'-DDT de 450.30, 1055.93 y 608.10 ng/ml respectivamente; y la otra tortuga (XW466) concentraciones de 94.05 (aldrín), 56.31 ( $\alpha$ -HCH), 65.13 (heptacloro) y 602.22 (p,p'-DDT) ng/ml. Ninguna de estas dos tortugas presentó lesiones.

Siete de los 16 POC se presentaron con una frecuencia de 46 a 60% (Cuadro 3, Fig. 4). El  $\beta$ -HCH fue el más frecuente (60%) seguido del  $\gamma$ -HCH y aldrín (51%);  $\alpha$ -HCH, heptacloro y p,p'-DDE (49%) y el  $\delta$ -HCH (46%). Los POC menos frecuentes fueron p,p'-DDT (11%) y endosulfán sulfato (9%).

De los 16 POC, los que presentaron las concentraciones más elevadas fueron el  $\beta$ -HCH (4.97 ng/ml) y el p,p'-DDT (4.87 ng/ml) (Fig. 4). Por su parte, los plaguicidas que menor concentración mostraron fueron el endrín aldehído (0.93 ng/ml), p,p'-DDD (0.94 ng/ml) y p,p'-DDE (1.06 ng/ml) (Cuadro 3, Figura 5).

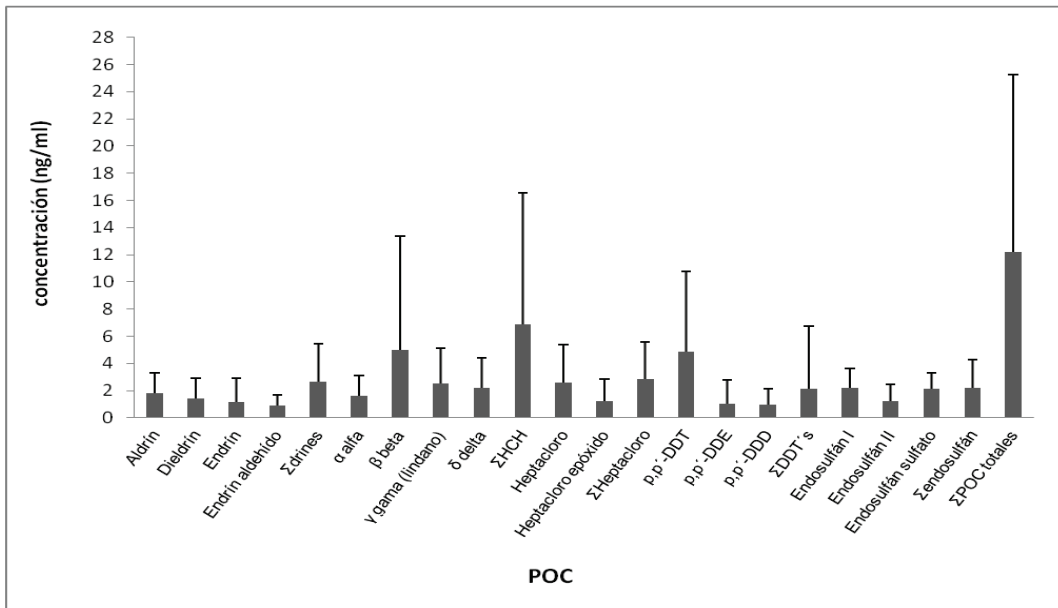
En cuanto a las sumatorias por familia, el grupo que presentó la concentración promedio más alta fue  $\Sigma$ HCH, siendo éste el grupo de POC con mayor frecuencia reportada (Fig. 4) y donde el  $\beta$ -HCH presentó la mayor concentración de todos los POC analizados (Fig. 5). Por otro lado, el grupo que mostró la menor concentración fue  $\Sigma$ DDT's (2.13 ng/ml) (Cuadro 3, Fig. 5), siendo el p,p'-DDT el que aportó la mayor concentración promedio (4.87 ng/ml), presente en cuatro de las muestras.

**Cuadro 3.** Estadística descriptiva de las concentración de plaguicidas orgnoclorados (POC) (ng/ml) en plasma de tortuga anidadoras de caguama (*C. caretta*) de la playa Aventuras-DIF, Quintana Roo; México.

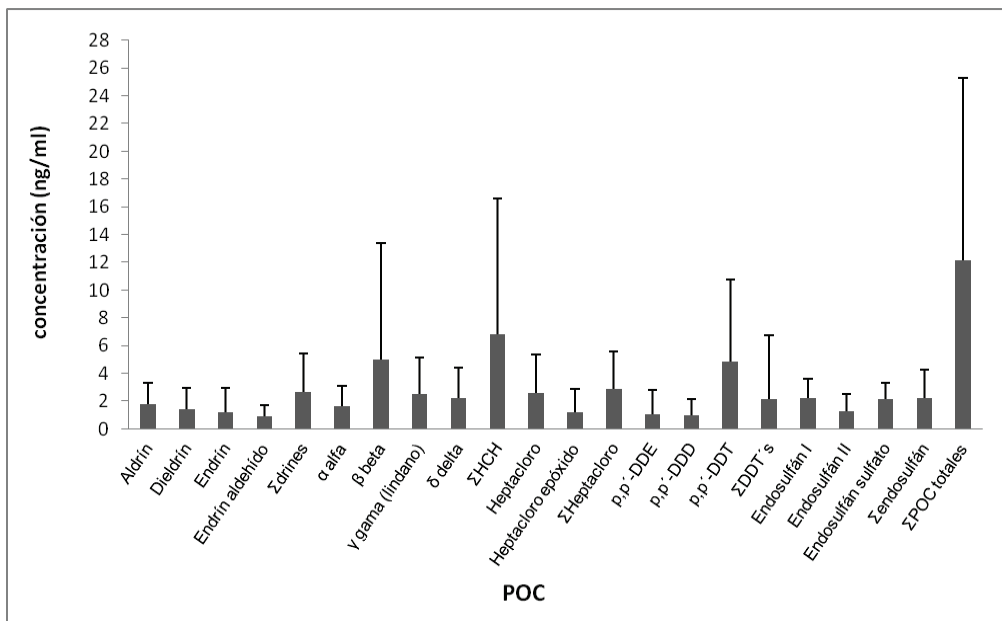
	n>LOD *	Media ( $\pm$ DE)	Mediana	Rango	Frecuencia de aparición de [POC] (%)	
<b>Aldrín</b>	18	1.80	1.52	1.15	0.07 - 4.95	51
<b>Dieldrín</b>	13	1.41	1.54	0.79	0.10 - 5.64	37
<b>Endrín</b>	15	1.16	1.77	0.48	0.17 - 7.00	43
<b>Endrín aldehído</b>	11	0.93	0.74	0.67	0.23 - 2.46	31
<b><math>\Sigma</math>drines</b>	28	2.67	2.75	1.97	0.07 - 10.09	
<b><math>\alpha</math>-HCH</b>	17	1.63	1.46	1.21	0.14 - 5.66	49
<b><math>\beta</math>-HCH</b>	21	<b>4.97</b>	8.39	1.67	0.09 - 28.88	60
<b><math>\gamma</math>-HCH (lindano)</b>	18	2.50	2.62	1.35	0.09 - 10.14	51
<b><math>\delta</math>-HCH</b>	16	2.22	2.20	1.04	0.27 - 6.53	46
<b><math>\Sigma</math>HCH</b>	31	<b>6.85</b>	9.73	4.32	0.09 - 42.88	
<b>Heptacloro</b>	17	2.58	2.78	1.94	0.16 - 11.22	49
<b>Heptacloro epóxido</b>	13	1.23	1.63	0.73	0.07 - 5.93	37
<b><math>\Sigma</math>Heptacloro</b>	21	2.85	2.75	2.20	0.16 - 11.22	
<b>p,p'-DDE</b>	17	1.06	1.72	0.27	0.03 - 6.21	49
<b>p,p'-DDD</b>	10	0.94	1.21	0.51	0.17 - 4.09	29
<b>p,p'-DDT</b>	4	<b>4.87</b>	5.88	2.94	0.40 - 13.21	11
<b><math>\Sigma</math>DDT's</b>	22	2.13	4.64	0.36	0.04 - 21.16	
<b>Endosulfán I</b>	5	2.20	1.43	3.15	0.15 - 3.26	14
<b>Endosulfán II</b>	9	1.25	1.24	0.75	0.13 - 3.79	26
<b>Endosulfán sulfato</b>	3	2.15	1.17	2.09	1.02 - 3.35	9
<b><math>\Sigma</math>endosulfán</b>	13	2.21	2.08	2.01	0.13 - 6.94	
<b><math>\Sigma</math>POC totales</b>	35	12.18	13.09	7.72	0.35 - 49.82	

Las letras en negrita denotan los valores más altos en POC individuales y por sumatoria de familia.

\*= número de muestras con concentraciones >LOD, el resto estaban <LOD o fueron no detectables (ND).



**Figura 4.** Frecuencia (%) de POC en las muestras de plasma de tortugas anidadoras de *C. caretta* de la playa Aventuras-DIF, Quintana Roo, México.



**Figura 5.** Concentración de POC en plasma (ng/ml) de tortugas anidadoras de *C. caretta* de la playa Aventuras-DIF, Quintana Roo, México (promedio  $\pm$ DE).

### Bioquímica sanguínea y hemograma (parámetros sanguíneos)

De las 37 tortugas muestreadas, no se pudo obtener el mismo número de muestras para todos los análisis sanguíneos, debido a problemas que se presentaron durante la

toma de muestra, como dificultad en encontrar la vena, obtención insuficiente de volumen de muestra, hemólisis, ocasionalmente resistencia por parte de la tortuga al tratar de obtener la muestra, entre otros.

Se evaluaron en total siete parámetros de bioquímica sanguínea (glucosa, albumina, AST, LDH, ácido úrico, urea y BUN) en 26 muestras de plasma de tortugas *C. caretta*. Los resultados resumidos se presentan en el Cuadro 4 y en el Anexo 6 se encuentran los valores de cada tortuga. Para el hemograma (HTO, RBC, WBC y diferenciación de células blancas), el número de muestras obtenido fue de 11 (Cuadro 5). Durante el conteo de la diferenciación de células blancas, se observó que no hubo hemoparásitos. Los parámetros medidos al compararse con valores reportados por otros autores en tortugas marinas juveniles, sub-adultos, adultos o en hembras anidadoras, principalmente de *C. caretta* (Anexos 7 y 8), se observó que la mayoría de los valores de este estudio se encontraban cercanos a los valores reportados y solamente glucosa, albumina, ácido úrico y basófilos diferían.

**Cuadro 4.** Parámetros de bioquímica sanguínea de tortugas *C. caretta* anidadoras de la playa Aventuras-DIF, Quintana Roo, México (n=26).

Parámetro	Media	(+ DE)	Rango (mín-máx)
Glucosa (mg/dl)	546.15	288.32	40.0 – 1080.0
Albumina (g/dl)	4.85	1.21	3.10 - 7.40
Acido Urico (mg/dl)	9.94	3.09	3.60 - 16.10
Aspartato amino transferasa (U/l)	103.23	77	28.0 - 421.0
Lactato deshidrogenasa (U/l)	24.58	9.54	5.0 - 43.00
Urea (mg/dl)	45.55	29.24	4.30 - 130.90
BUN (mg/dl)	21.29	13.66	2.0 - 61.20

**Cuadro 5.** Valores de hemograma (n=11) en tortugas anidadoras de *C. caretta* de la playa Aventuras-DIF, Quintana Roo, México.

Parámetro	Media	(±DE)	Rango
HTO (%)	33.82	2.86	30.00-38.00
RBC ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ )	0.4	0.05	0.32-0.53
WBC ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	4.17	0.79	2.97-5.20
Heterófilo (%)	59.09	12.11	31.00-78.00
Linfocitos (%)	31	11.7	20.00-61.00
Eosinófilos (%)	5.82	6.84	0-19.00
Monocitos (%)	2.18	1.47	0-5.00
Basófilos (%)	1.91	2.34	0-8.00

### Relación entre las concentraciones de POC y los parámetros sanguíneos

Los POC se correlacionaron positiva o negativamente con algunos de los parámetros de la bioquímica sanguínea (glucosa, ácido úrico, LDH y albumina) y con el hemograma (RBC, heterófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos) (Cuadro 6). El ácido úrico fue el parámetro que más veces se relacionó de manera negativa con aldrín,  $\Sigma\text{Drines}$ ,  $\alpha\text{-HCH}$ ,  $\Sigma\text{-HCH}$  y  $\Sigma\text{POC}$  totales. Todos lo análisis de las muestras que presentaron correlaciones significativas con la prueba de Spearman, fueron graficadas (Anexo 10).

**Cuadro 6.** Coeficientes de correlación de Spearman [rs (p-valor) [n]] entre los plaguicidas organoclorados (ng mL<sup>-1</sup>), bioquímica sanguínea y hemograma de tortugas anidadoras de caguama (*C. caretta*) de la playa Aventurs-DIF, Quintana Roo, México, en la temporada 2012. (Formato del cuadro tomado de Labrada (2011))

Parámetro	Aldrin	Endrin	Endrin aldehído	ΣDrínes	α-HCH	γ-HCH (lindano)	ΣHCH	Heptacloro	p,p'-DDE	p,p'-DDD	p,p'-DDT	Endosulfán sulfato	ΣPOCs totales
Glucosa (mg/dL)									-0.40 (0.05) 24				
ác. Úrico (mg/dL)	-0.49 (0.02) 24			-0.51 (0.01) 24	-0.56 (0.004) 24		-0.64 (0.001) 24						-0.62 (0.001) 24
LDH (U/L)											-0.47 (0.02) 24		
Albumina (g/dL)								-0.56 (0.01) 24					
RBC (x10 <sup>6</sup> /μL)					0.65 (0.03) 11							0.70 (0.02) 11	
Heterófilos (%)													
Linfocitos (%)		0.78 (0.004) 11		0.62 (0.04) 11									
Monocitos (%)		0.67 (0.02) 11											
Eosinófilos (%)										0.62 (0.04) 11			
Basófilos (%)				0.63 (0.04) 11									0.63 (0.04) 11

## **DISCUSIÓN**

Las tortugas anidadoras de la playa de Aventuras-DIF, presentaron la talla considerada para adultos (LCC>87 cm) (Deem, et al., 2009), con LCC de  $97.07 \pm 5.10$  cm (87-107.50) y ACC  $88.28 \pm 5.50$  cm (79.9-100.60), como talla promedio de anidación de la temporada 2012. Zurita, Herrera y Prezas (1993) reportaron medidas del LCC similares ( $100 \pm 5.39$  cm) para las tortugas de Quintana Roo en los 90's. El promedio de huevos por nido fue de  $101 \pm 19$  (45-138), siendo 10 huevos menos de lo reportado por Zurita, Herrera y Prezas. (1993) para la misma zona en los 90's ( $111 \pm 22$ , rango 45-185). El potencial reproductivo en las hembras de *C. caretta*, para la temporada 2012, al parecer se sigue conservando.

En la apariencia física, la mayoría de las tortugas parecían tener buen aspecto, solo se observaron mutilaciones en dos tortugas, que probablemente se debieron a depredadores o accidentes con embarcaciones.

### **Determinacion de plaguicidas organoclorados (POC)**

Este estudio reporta por primera vez los niveles de POC en plasma sanguíneo de tortugas anidadoras de *C. caretta* de Quintana Roo. Existen todavía pocos estudios que hallan utilizado determinaciones en sangre entera o en el plasma sanguíneo (e.g. Keller et al., 2004 a y c; Labrada-Martagón et al., 2011; García, 2011, Guirlet et al., 2010) y que puedan facilitar la comparación con tortugas de otras regiones y tiempos; la mayoría de los trabajos se han efectuado en tejido adiposo, subcutáneo, huevos, hígado, riñones, pulmón, y muchas veces sobre tortugas varadas o muertas (e.g. Mckenzie et al., 1999; Storelli y Marcotrigiano, 2000; Pugh and Becker, 2001; Monagas, 2007; van der Merwe et al., 2009; Lazar et al., 2011; Malarvannan et al., 2011). El

muestreo en sangre es una alternativa con mejores ventajas (Keller, et al., 2004 a y b) por ser una técnica de fácil recolección, relativamente no invasiva en organismos de vida libre, entre otras (Keller et al., 2004b).

De las muestras analizadas, los POC más frecuentes en las muestras fueron el grupo de los hexaclorociclohexanos (HCH) ( $\beta$ -HCH 60%,  $\gamma$ -HCH 51%;  $\alpha$ -HCH 49% y  $\delta$ -HCH 46%), seguido del heptacloro y p,p'-DDE (49%) (Fig. 4). Resultados similares obtuvo García (2011), donde  $\alpha$ -HCH y lindano ( $\gamma$ -HCH) fueron los más frecuentes en tortugas anidadoras de *C. mydas* y *E. imbricata* de Campeche respectivamente y, la  $\Sigma$ HCH en ambas especies.

Los HCH están formados por varios isómeros, siendo  $\gamma$ -HCH (lindano) el más tóxico (García, 2011), pero menos estable que el  $\alpha$ -HCH (Pugh y Becker, 2001). En peces, la toxicidad  $LC_{50}$  del  $\gamma$ -HCH se ha reportado que oscila entre 100  $\mu$ g/l (Clark, 1997). En este estudio, las concentraciones más altas del grupo de los HCH, así como de todos los POC medidos, se detectaron en  $\beta$ -HCH ( $4.97 \pm 8.39$  ng/ml) y la  $\Sigma$ HCH ( $6.85 \pm 9.73$  ng/ml) (Fig. 5); mientras que  $\delta$ -HCH y  $\alpha$ -HCH presentaron las concentraciones más bajas de este grupo (Cuadro 3, Fig. 5). García (2011), también observó que la concentración de  $\beta$ -HCH (10.13 ppm/húmeda) fue la más alta en tortugas anidadoras *C. mydas*, y en *E. imbricata* fue  $\alpha$ -HCH (10.16 ppm/húmeda); estas concentraciones fueron más elevadas que las del presente estudio. Labrada-Martagón et al. (2011) reportaron que  $\beta$ -HCH fue el segundo contaminante con mayor concentración en plasma sanguíneo en tortugas *C. mydas* juveniles-adultos de Punta Abrejo (1.17, 0.001-10.71 ng/l) y Bahía Magdalena (4.58, 0.001-23.35 ng/ml) en La Península de Baja California (México), siendo semejantes a los de nuestro estudio. Sin embargo, otros autores (Mckenzie et al., 1999; Gardner et al., 2003; Guirlet et al., 2010) han reportado a los



HCH como uno de los menos frecuentes o en menor concentración en tejido adiposo, músculo, hígado, riñón, sangre y huevos de tortuga *C. caretta*, *C. mydas*, *L. olivacea* y *D. coriacea*. Por ejemplo, Guirlet et al. (2010) presentaron en sangre de anidadoras de *D. coriacea*, niveles de la  $\Sigma$ HCH ( $0.15 \pm 0.16$  ng/ml) que está por debajo de lo obtenido aquí. Estas diferencias pueden ser debidas a la distribución y lugares de alimentación de las poblaciones.

Dentro de los POC, los HCH son poco bioacumulables por ser menos liposolubles, más volátiles y porque su vida media en la biota es corta (Malarvannan et al., 2011). En las tortugas anidadoras de Quintana Roo es probable que las concentraciones de los HCH fueran más altas que otros POC por una exposición reciente. Labrada (2011) ha mencionado que aun se utiliza a los isómeros de HCH en la agricultura y en el control de vectores de enfermedades en América del Norte. Es posible que en otras partes del mundo se siga usando de manera legal o clandestina. Esto podría ser un factor de mayor exposición en las tortugas que lleguen a sitios donde se distribuyen y depositan estos contaminantes, por ejemplo, en Colombia, Costa Rica y Nicaragua se han detectado en forma cuantificable a isómeros de los HCH en agua o sedimentos (Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente, s/d). Por otra parte, y en específico para el  $\beta$ -HCH, Kelly en el 2006 (citado en García, 2011) y Kelly et al. (2007) han mencionado que la biomagnificación de este compuesto se ha observado en animales terrestres y acuáticos que respiran aire. Esto lo atribuye como una resistencia de la transformación metabólica o a una lenta eliminación; mientras que en animales invertebrados y peces no existe un almacenamiento significativo, probablemente por una mejor eliminación a través de las agallas.

Con respecto al DDT, éste compuesto por sus características de alta persistencia, insolubilidad en agua y muy soluble en grasas, es fácilmente acumulable en los organismos y difícil de eliminar (Monagas, 2008; García, 2011). En este estudio, el DDT estuvo poco presente en las muestras (11%), pero su concentración promedio ( $4.87 \pm 5.87$  ng/ml) fue la segunda más elevada de todos los POC evaluados (Cuadro 3, Fig. 5). Labrada-Martagón et al. (2011) reportaron frecuencias y concentración de DDT similares (rango: 0.001-3.98 ng/ml) en plasma sanguíneo de tortugas *C. mydas* juvenil-adulto de Bahía Magdalena, pero difiere de la concentración descrita por García (2011) en plasma de anidadoras *E. imbricata* (5.07 ppm/húmedo). En plasma sanguíneo de *C. caretta* juveniles, se ha registrado  $0.29 \pm 1.90$  ng/gr lípido (Keller et al., 2004a). El DDT, sigue siendo uno de los compuestos que aun se sigue utilizando en lugares en desarrollo a pesar de sus efectos tóxicos; en peces su toxicidad  $CL_{50}$  está alrededor de  $1 \mu\text{g/l}$ , siendo mayor en comparación con el heptacloro y  $\gamma$ -HCH (Clark, 1997).

El DDE y DDD son dos de los productos de degradación del DDT, de los cuales el DDE es el más activo de los dos isómeros (García, 2011), relativamente estable y más persistente que el DDT (Podreka et al., 1998; Pugh y Becker, 2001). Este metabolito se ha investigado que tiene un efecto sobre la determinación del sexo, funcionando como un disruptor endocrino con efectos sobre el crecimiento, desarrollo y reproducción de la fauna silvestre (Podreka et al., 1998). El DDE, se ha encontrado en varios estudios como un compuesto predominante y en altas concentraciones en tejido adiposo, hígado y músculo (e.g. Ribitski, Hale y Musick, 1995; McKenzie et al., 1999; Storelli y Marcotrigiano, 2000; Storelli, Barone y Marcotrigiano, 2007; Lazar et al., 2011; Malarvannan et al., 2011). En el presente estudio, el DDE se encontró en 49% del total de muestras (Fig. 4), pero su concentración fue más baja ( $1.06 \pm 1.72$  ng/ml)

comparada con el resto de los POC evaluados (Cuadro 3, Fig. 5). Guirlet, et al. (2010) halló al DDE como el más frecuente de los DDTs (58%) en sangre y huevos de tortugas anidadoras de *D. coriacea* en África, pero reporta la concentración como  $\Sigma$ DDTs. Por su parte, García reportó niveles de DDE más elevados en plasma sanguíneo de tortugas anidadoras de *C. mydas* y, Camacho, et al. (2013) más bajos en plasma de anidadoras de *C. caretta* con respecto al presente estudio (Anexo 9). En plasma sanguíneo de tortugas anidadoras de *E. imbricata* en Campeche (García, 2011) y en tortugas *C. mydas* del Golfo de California (Labrada-Martagón et al., 2011), este compuesto estuvo ausente. Pugh y Becker (2001) explican que el DDE es considerado un compuesto más volátil que el DDT, y cuando este último es transformado a DDE por acción microbiana, es fácilmente transportado a través de la atmósfera hasta lugares como el mar abierto, donde se espera que la proporción DDE/DDT sea más alta en estos ambientes y en los organismos que ahí habitan. Por lo tanto, la mayoría de estos compuestos en el mar y organismos marinos está en forma de DDE (Clark, 1997). De esta manera, las tortugas en este estudio pudieron estar más expuestas a DDE.

Por su parte, el DDD, presentó concentraciones bajas con respecto a los POC evaluados (Cuadro 3, Fig. 5). Esto puede deberse a que este isómero es raramente almacenado, ya que es inestable y fácilmente degradable a otro isómero (DDA), el cual es soluble en agua y eliminado por la orina (Pugh y Becker, 2001). García (2011) reportó al DDD en una sola muestra en *C. mydas*, pero su concentración (7.06 ppm/húmedo) fue mayor a la obtenida aquí. Del mismo modo Labrada-Martagón et al. (2011) reportaron en plasma sanguíneo de *C. mydas* poca frecuencia y un rango de concentración de 0.005-11.80 ng/ml más amplio que el del presente estudio.

La  $\Sigma$ DDTs, en el presente estudio tuvo la concentración más baja por grupo de familia, siendo el orden  $\Sigma$ HCH >  $\Sigma$ heptacloro >  $\Sigma$ drines >  $\Sigma$ endosulfan >  $\Sigma$ DDTs (Cuadro 3, Fig. 5), pero otros autores han observado que puede ser uno de los de mayor concentración en diferentes tejidos (tejido adiposo, músculo, hígado, plasma) de las tortugas marinas *C. mydas*, *E. imbricata* y *C. caretta* (e.g. McKenzie et al., 1999; Keller et al., 2004c; García, 2011; Lazar et al., 2011; Malarvannan et al., 2011). Por ejemplo, García (2011) reportó niveles de  $\Sigma$ DDTs mucho más altos (93.09 ppm/húmeda) en plasma sanguíneo de *E. imbricata*. Sin embargo, Guirlet, et al. (2010) en sangre de tortugas anidadoras de *D. coriacea*, reportaron niveles de  $\Sigma$ DDTs ( $0.31 \pm 0.22$ , rango 0.09-1.04 ng/ml) que resultan menores a los encontrados aquí. De manera general se ha mencionado que las cantidades de  $\Sigma$ DDTs que llegan a los océanos es de 165.0 ton/año, ocupando el tercer lugar después de la  $\Sigma$ HCH y  $\Sigma$ PCBs (Clark, 1997). Al parecer los DDTs, presentan poca bioacumulación con respecto a otros POC en la población anidadora de Quintana Roo. Posiblemente las tortugas que anidan en Quintana Roo, estuvieron expuestas al DDT tiempo atrás y su metabolismo ha ido transformándolo en sus respectivos isómeros (DDE y DDD), los cuales aparecieron con mayor frecuencia y sin concentraciones de DDT (excepto por cuatro tortugas). De las cuatro tortugas que presentaron altos niveles de DDT, puede ser que hallan sido expuestas recientemente a DDT o que fisiológicamente su organismo ha sido menos capaz de realizar la conversión por algún motivo en particular.

En el grupo de los drines, el isómero dieldrín (proveniente de aldrín) es el más tóxico, persistente (García, 2011), de muy lenta eliminación y reportado comúnmente en la biota marina (Pugh y Becker, 2001). En peces la toxicidad  $LC_{50}$  del dieldrín, se ha encontrado aproximadamente en 9  $\mu$ g/l, y aunque los drines fueron retirados en los

70's, éstos continuaron usándose hasta los años 80's; aunque todavía existe su uso en pequeñas cantidades (especialmente de dieldrín). Se ha descrito que todos estos drines llegan al mar, representando en los océanos un aporte de 43 ton/año (Clark, 1997). Sin embargo, este grupo ha sido poco estudiado y su información es limitada en las tortugas marinas (e.g. Mckenzie et al, 1999; Gardner et al., 2003), donde los niveles de concentración obtenidos en tejidos (e.g. tejido adiposo, hígado, músculo, riñones) son menores con respecto a otros POC (Pugh y Becker, 2001). En el presente estudio, el drin con mayor concentración fue el aldrín y el de menor concentración endrín aldehído ( $0.93 \pm 0.74$  ng/ml), siendo también el menor de todos los POC medidos (Cuadro 3, Fig. 5). Labrada-Martagón et al. (2011) solo reportaron niveles de endrín (1.06, 0.005-5.17 ng/ml) y aldrín (mediana 10.43, 0.05-27.86 ng/ml) en plasma sanguíneos de tortugas *C. mydas* juveniles-adultos. Este último compuesto estuvo por debajo de los niveles permisibles en mariscos para consumo humano (Labrada, 2011) y fueron mayores comparados con el presente estudio ( $1.80 \pm 1.51$  ng/ml), por lo que las concentraciones de aldrín podrían no ser aun alarmantes. En tortugas anidadoras de *C. mydas*, García (2011) reportó aldrín, endrín y dieldrín, y en tortugas *E. imbricata* solo a este último, pero en concentraciones más elevadas que en el presente estudio; mientras que Camacho et al. (2013) mostró niveles más bajos de dieldrín en *C. caretta* anidadoras (Anexo 9).

Con respecto al heptacloro y el heptacloro epóxido, son moderadamente tóxicos en humanos y animales, pueden dañar al sistema nervioso, aunque existen pocos datos de su cuantificación y efectos (CNR COP, 2004). El heptacloro epóxido, es un metabolito producto de la degradación del heptacloro y considerado más tóxico (CNR COP, 2004; García, 2011). Este es uno de los clordanos más destacados, sin embargo en tortugas

marinas la información es escasa y raramente se reporta de manera individual (García, 2011; Pugh y Becker, 2001). En el presente estudio, el heptacloro y heptacloro epóxido se presentaron en 49 y 37 % de todas las muestras (Fig. 4), pero el heptacloro tuvo mayor concentración promedio (Fig. 5), esto podría indicar que las tortugas tienen poco tiempo de haber sido expuestas a heptacloro y que todavía no lo han metabolizado o lo hacen de manera más lenta. Gracia (2011) también encontró que el heptacloro ( $22.81 \pm 19.80$  ppm/húmedo) estaba en mayor concentración que heptacloro epóxido ( $1.27 \pm 1.30$  ppm/húmedo) en plasma sanguíneo de tortugas anidadoras de *C. mydas* y, en tortugas *E. imbricata* solo hubo presencia de heptacloro ( $26.28 \pm 19.65$  ppm/húmedo), las concentraciones de este autor fueron mayores a las obtenidas aquí. De igual forma obtuvieron Labrada-Martagón et al. (2011) en plasma sanguíneo de *C. mydas* juveniles-adultos de Bahía Magdalena, cuyos niveles fueron similares a los obtenidos aquí (heptacloro: 2.73, 0.001-13.77 ng/ml y heptacloro epóxido: 1.84, 0.005-1.69 ng/ml). Sus resultados menciona que estuvieron por debajo de los niveles máximos permisibles en mariscos para consumo humano dictados por la FDA, lo cual indica que las concentraciones en las tortugas del presente estudio estuvieron por debajo de estos niveles permisibles (Labrada, 2011). Es posible que si se analizará otros tejidos (como hígado o el adiposo), se encuentren mayores concentraciones de heptacloro epóxido, como sucede en mamíferos, donde tiende a metabolizarse rápidamente en hígado y se almacena en la grasa (Extension Toxicology Network, 1996).

En cuanto al endosulfán, éste consta de una mezcla de dos isómeros (endosulfán I y II); su metabolito endosulfán sulfato es igualmente tóxico y su persistencia es mayor que la de los isómeros (Watts, 2009). El endosulfán es un insecticida de amplio espectro, a diferencia de otros organoclorados tiene relativamente más baja persistencia tanto en

los suelos como en los seres vivos (APVMA, 2005; Watts, 2009). No obstante, su uso ha sido restringido por la toxicidad en humanos y en casi todos los organismos vivos, y la persistencia en el ambiente (Watts, 2009). Aun así, todavía hay varios países de América Latina, África, Asia y del Mar Mediterráneo que siguen usando endosulfán (Government of Kerala, 2011) a pesar de existir variedad de estudios en agua, sedimento y biota, y de sus posibles efectos adversos (Watts, 2009, Government of Kerala, 2011). Se ha descubierto, que el endosulfán tiene efecto como disruptor endocrino y neurológico a largo plazo, además de atribuirle daño genotóxico y hasta cancerígeno (APVMA, 2005; Watts, 2009). En peces, el endosulfán es extremadamente tóxico (Watts, 2009), mencionándose que la toxicidad  $LC_{50}$  oscila entre 0.10 a 0.50  $\mu\text{g/l}$  (Clark, 1997). En tortugas marinas aun no se tiene reportada su toxicidad y efectos, y pocos trabajos reportan su presencia (e.g. Gardner et al., 2003; García, 2011; Labrada, 2011). En aguas marinas se indica que generalmente el endosulfán y sus metabolitos se encuentran en niveles más bajos que en el agua dulce (Watts, 2009). En el presente estudio, este grupo mostró poca frecuencia (Cuadro 3, Fig. 4), siendo el endosulfán II el más comúnmente encontrado en las muestras (26%). Respecto a las concentraciones, la más alta de este grupo estuvo dada por endosulfán I ( $2.20 \pm 1.43$  ng/ml) y, la  $\Sigma$ endosulfán presentó una de las concentraciones bajas ( $2.20 \pm 2.08$  ng/ml) por grupo de familia (Cuadro 3, Fig. 5). Resultados similares obtuvieron Labrada-Martagón et al. (2011) en plasma sanguíneo de tortugas *C. mydas* juveniles-adultos de bahía Magdalena, donde este grupo de compuestos fue poco presente y los niveles de endosulfán I (0.005-1.22 ng/ml), endosulfán II (0.005-7.54 ng/ml) y endosulfán sulfato (0.005-12.99 ng/ml) fueron parecidos a los del presente estudio, pero con rangos más amplios; en Punta Abreojos estos compuestos no fueron detectados (nd). García (2011)

también reportó poca frecuencia de este grupo, pero las concentraciones (ppm/humeda) se mostraron más altas tanto en plasma sanguíneo de las tortugas anidadoras de *E. imbricata* (endosulfán II: 14.98 y endosulfán sulfato: 10.25) como de *C. mydas* (endosulfán I: 94.94, endosulfán sulfato: 8.90). La poca frecuencia encontrada de estos contaminantes, quizás se debió a que comparado con otros POC, su persistencia es más baja, ya que el endosulfán es rápidamente metabolizado por los animales a través de las enzimas microsomales (APVMA, 2005, Watts, 2009). García (2011) sugirió que, por ejemplo, el endosulfán sulfato posiblemente es eliminado vía huevo en las tortugas *E. imbricata* de Campeche, ya que no encontró muchas tortugas anidadoras con este compuesto. No obstante, esto no está bien comprobado y son necesarios más estudios.

De manera general, en el presente estudio, los niveles de POC fueron relativamente bajos. Esto puede deberse a que las regiones donde se distribuyen y alimentan estas tortugas, tal vez no poseen fuentes de contaminación fuertemente evidentes, como otras zonas altamente industrializadas y urbanizadas (Gardner et al., 2003; Malarvannan et al., 2011). Así mismo, la variación de las concentraciones puede estar dada por la diferente exposición que cada tortuga tiene, al presentar una amplia diversidad de hábitats y una condición física particular (Rybitski et al., 1995; Moganans et al., 2008). Por otro lado, el tamaño, sexo, estado nutricional, la ingesta reciente, el estado de hidratación, los cambios a corto plazo en el metabolismo, o la movilización de los lípidos almacenados pueden influir en las concentraciones de los plaguicidas organoclorados (Rybitski, Hale y Musick, 1995; Keller et al., 2004a).

Es posible que las concentraciones medidas, estén reflejando exposición reciente a contaminantes o a la movilización de reservas de lípidos hacia la sangre. Esto ha sido



mencionado por otros autores como Keller et al. (2004a), Guirlet et al. (2010) y Labrada (2011), quienes han medido a estos contaminantes en sangre. En la movilización de las reservas de lípidos del tejido adiposo hacia el torrente sanguíneo, puede darse cuando hay cambios nutricionales, estacionales o de enfermedades y variar las concentraciones de los POC (Keller et al., 2004a). Guirlet et al. (2010), ha sugerido que los períodos donde se necesita altos requerimientos de energía, como es la migración a los sitios de anidación, la vitelogénesis para la formación de los huevos y en el mismo evento de anidación (por la cantidad de huevos que ponen), puede movilizar las reservas de lípidos. Así mismo, una ingesta reciente podría indicar que la contaminación probablemente proviene de los alimentos ingeridos en las zonas de alimentación, ya que las tortugas marinas están más expuestas a los POC cuando la búsqueda de alimento esta cercana a la costa que en zonas fuera de éstas (Guirlet et al, 2010), lo cual indica que están más cerca de posibles zonas de descarga y/o acumulación de contaminantes. Para las tortugas de Quintana Roo, se conocen algunas zonas de alimentación de sus etapas como juveniles, subadultos y adultos, de las cuales probablemente obtienen en mayor medida los contaminantes que fueron medidos.

Trabajos hechos con dispositivos de telemetría, han descubierto algunos posibles sitios de distribución de estas tortugas, pudiendo dar información de presuntos sitios de alimentación. Uno de estos trabajos más sobresalientes es el de Cuevas et al. (2012), en poblaciones anidadoras de tortugas *C. caretta* de Quintana Roo, donde utilizaron marcas satelitales y revelaron que al parecer una vez alcanzada la madurez sexual de estas tortugas, no se desplazan lejos de sus sitios de anidación, sino que permanecen dentro del Gran Caribe. Esto puede ser reforzado por estudios de marcaje y recaptura,

como el de Conant et al. (2009), quienes encontraron cinco tortugas *C. caretta* anidadoras de Quintana Roo alimentándose en Cuba. Otros estudios mencionan, además de Cuba, a Nicaragua y Honduras como sitios de alimentación de estas tortugas anidadoras (Zurita et al., 1994; Encalada, Zurita y Bowen, 1999). En otras etapas, como subadultos, se mencionan sitios de desplazamiento en los que destacan Brasil (Lima et al., 2014), Virginia y Massachusetts (Rankin-Baransky et al., 2001); y en la etapa de juveniles se les ha encontrado en Uruguay (Caraccio et al., 2008) y en sitios más alejados, como las islas de Las Azores, Madeira y el mar Mediterráneo (Encalada, Zurita y Bowen, 1999). Otra herramienta que ha ayudado a identificar poblaciones y con ello sus posibles sitios de tránsito, son los estudios moleculares (e.g. ADN mitocondrial) (Encalada, Zurita y Bowen, 1999). Con el avance de estas tecnologías, es posible llegar a saber cuales son los sitios potenciales de alimentación y de obtención de POC. En Quintana Roo, al parecer no se tienen estudios de áreas de alimentación de estas tortugas anidadoras; sin embargo no se descarta la probabilidad de que halla algún sitio de alimentación. Únicamente se ha mencionado que en Quintana Roo se ha observado zonas desde el norte hasta el sur del estado, donde se puede encontrar a las tortugas *C. mydas*, *C. caretta*, *E. imbricata* y *D. coriacea*, dentro y fuera de la temporada de reproducción, es decir, que estas especies se les puede hallar durante todo el año en diferentes facetas de desarrollo (Herrera, 1991). Sin embargo, para las hembras anidadoras de *C. caretta* de esta región, no se sabe si tienen sitios de alimentación dentro de las costas de Quintana Roo.

Se requieren más estudios de telemetría en estas tortugas anidadoras, como los programas que actualmente se realizan en otras poblaciones, por ejemplo el de la National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA) y la World Wildlife Fund

(WWF) que da seguimiento a tortugas marinas de *D. coriácea* en el Caribe (NOAA Fisheries, s/d), y de *C. caretta* anidadoras de Baja California, en el Pacífico (Seaturtle.org, 2009). También es de utilidad hacer uso de herramientas como el estudio con isotopos estables (e.g. NOAA Fisheries, s/d) que pueden dar información de los posibles sitios de alimentación de esta población de tortugas que anidan en Quintana Roo.

Las comparaciones hechas en este estudio con otros autores (Anexo 9), mostraron que los resultados obtenidos aquí fueron más cercanos a los encontrados por Labrada (2011) en tortugas *C. mydas* juveniles-adultos de la península de Baja California. También fueron los mejores para comparar, ya que se uso la misma matriz (plasma sanguíneo), unidades de medición (ng/ml) y la técnica de extracción de POC pertenece al mismo autor (referencia de Díaz, 2004; aunque con modificaciones en cada estudio), todo lo cual facilita su comparación. Las concentraciones de los POC encontrados en el estudio de Labrada (2011) y, también por Camacho et al. (2013) en tortugas anidadoras de *C. caretta* en Cabo Verde, fueron reconocidas como relativamente bajas. Por tal motivo, en el presente estudio podría considerarse que también las concentraciones de POC se hallaron bajas.

### **Bioquímica sanguínea y hemograma (parámetros sanguíneos)**

De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio, la bioquímica sanguínea mostró que los valores de urea, BUN, y enzimas AST y LDH, se encontraron cercanos a los valores promedio o rangos reportados por otros estudios en tortugas marinas aparentemente sanas, rehabilitadas o en estado de anidación normal (Anexo 7), provenientes de distintas regiones geográficas, ya que no se encontraron trabajos

reportados para Quintana Roo. Los valores de glucosa, albumina y ácido úrico, fueron los parámetros que se mostraron más elevados comparado con lo reportado por otros autores (Anexo 7). Sin embargo, el valor del ácido úrico únicamente fue parecido a los valores reportados por Labrada-Martagón et al. (2010) en tortugas juveniles y subadultas de *C. mydas* residentes de Baja California Sur, en el océano Pacífico (Anexo 7), quienes consideraron que las tortugas analizadas se encontraban en buen estado físico y de salud.

La glucosa es considerada como un indicador del estado nutricional y de homeostasis (Keller et al., 2004c); mientras que la albumina es principalmente un indicador de deshidratación (Wilkinson, 2004). Por su parte, en los reptiles, el ácido úrico se considera un producto final del catabolismo de las proteínas (eliminación de nitrógeno) (Labrada, 2011), considerándose más un indicador nutricional (Keller et al., 2004c; Wilkinson, 2004; Labrada, 2011). Los factores que pueden aumentar estos parámetros son variados. Se ha mencionado que el estrés es un factor importante en el manejo de fauna silvestre, logrando producir elevadas alteraciones en valores como glucosa, albumina y ácido úrico (Wilkinson, 2004; Montilla et al., 2008; Labrada, 2011). La elevación en la glucosa, puede ser también atribuido al aumento de glucocorticosteroides, causado por estrés (Labrada-Martagón et al., 2010). En cocodrilos y serpientes, se ha presentado hiperglucemia emocional de 10 hasta 25 %; en tortugas acuáticas (*Pseudemys*), la glucosa se eleva cuando son sometidas a caídas bruscas de temperatura y, cuando utilizan la vía de glucólisis anaerobia como fuente de energía durante las inmersiones (Dessauer, 1970). Se ha reportado hiperglucemia por anoxia hasta 450.45 mg/dL en tortugas acuáticas (Milton, 2008), durante la hibernación y el buceo como una habilidad para permanecer sin oxígeno por intervalos

considerables de tiempo y sin daño aparente (McArthur, 2004; Milton, 2008). Por otra parte, en tortugas marinas, la glucosa aumenta debido a la dieta o cuando se ha ingerido alimento recientemente (Padilla, 2008, Deem et al., 2009); sin embargo, esto es poco probable en el presente estudio, ya que se sabe que las tortugas no se alimentan durante el periodo reproductivo (García, 2011), sino que utilizan las reservas almacenadas y experimentan pérdida de peso (Guirlet et al., 2010). En el caso de la albumina, los niveles pueden elevarse por deshidratación; por el proceso de vitelogénesis durante el estado reproductivo (Deem et al., 2009), en el cual hay una demanda de incremento de la síntesis de proteínas, como la albumina (Goldberg, et al., 2011), para la producción de los huevos; o puede estar asociada con el estrés, durante la toma de muestra (Labrada, 2011). En ambientes nutricionalmente ricos, las tortugas marinas pueden mostrar altas concentraciones de ácido úrico, albumina (Labrada, 2011), pero el presente estudio se realizó durante la época de anidación y no en periodo de alimentación. También, el ácido úrico puede aumentar por daño a tejidos y a una dieta inadecuada (Labrada, 2011). La deshidratación en algunos reptiles puede producir cambios fisiológicos con hiperuricemia, e incremento en el hematocrito, urea y albumina. En algunos reptiles, se ha observado hiperuricemia superior a 16.81mg/dl, atribuyéndolo a insuficiencia renal o deshidratación; sin embargo, la hiperuricemia no es una medida fiable de enfermedad renal, ya que también aumentará si la deshidratación disminuye la tasa de filtración en el glomérulo (unidad anatómica funcional del riñón). Para descartar hiperuricemia por enfermedad renal se necesita de estudios histopatológicos, así como medir otros parámetros (e.g. AST, LDH, creatinina, calcio, potasio, urea, glucosa) y realizar su interpretación; mientras que los parámetros como urea, albumina, ácido úrico, HTO y potasio, pueden reflejar mejor los cambios en

el estatus de hidratación (McArthur, 2004; Wilkinson, 2004). En el presente estudio, probablemente el aumento de los niveles de glucosa, albumina y ácido úrico esten asociados a deshidratación, estrés y proceso de anidación, como factores más influyentes.

La enzima AST se usa comúnmente como indicador de daño hepático y muscular (Keller et al., 2004c; Wilkinson, 2004); niveles elevados se presenta en animales enfermos por diversas condiciones (e.g. infección por el virus del herpes, glomerulonefritis, heridas, estomatitis, artritis séptica); en enfermedad renal, se ha reportado que pueden elevarse los niveles de AST, LDH (e.g. 3093 U/l y 297 U/l respectivamente, en tortugas terrestres) (McArthur, 2004; Wilkinson, 2004). La LDH es una enzima indicadora de inflamaciones y parasitemias (Wilkinson, 2004; Labrada, 2011), ésta se encuentra asociada a los riñones, hígado, músculo esquelético, corazón, y en menor grado, al intestino; si los niveles se elevan (e.g. 700 U/l), puede ser indicativo de enfermedades con daño a tejidos (e.g. estomatitis, obstrucción intestinal, artritis séptica, falla renal) (Wilkinson, 2004; Casal et al., 2009). En el presente estudio, no fueron elevados los niveles de AST y LDH, lo cual podría indicar que aparentemente no hay algún daño hepático o muscular alarmante, o problema de enfermedad con daño a tejidos o músculo.

La urea en tortugas, es considerada un indicador nutricional, más que una sustancia de desecho o indicador de enfermedad renal. Niveles altos de urea, se asocian con la deshidratación (aunque presente valores normales de ácido úrico), catabolismo, enfermedad renal o combinación de estos factores (McArthur, 2004; Wilkinson, 2004). En tortugas marinas, la BUN también se considera más como indicador del estado nutricional y del metabolismo de las proteínas (Keller et al., 2004c, Montilla et al., 2008).

Altos niveles de BUN pueden indicar ingesta reciente (Keller et al, 2004c), o altos niveles de BUN y valores bajos de proteínas totales puede indicar catabolismo de las reservas proteicas, usadas para compensar la falta de alimento (Delgado et al., 2011). En el presente estudio, los niveles de urea y BUN se mantuvieron dentro de lo reportado por algunos autores en tortugas marinas consideradas sanas o en estado de anidación normal (Anexo 7), por lo que no se consideró que estuviesen en estado crítico de inanición.

Con respecto al hemograma, en la mayoría de los reptiles, incluidos los quelonios, los valores normales del HTO están entre 15-55%, y es considerado un indicador de anemia (< 15%) o de deshidratación (> 55%) (Martínez-Silvestre, Lavín y Cuenca, 2011; Stacy, Alleman y Sayler, 2011). Por su parte, los valores de referencia del RBC oscilan entre 0.30-2.50 x10<sup>6</sup>/μl, dependiendo de la especie y lugar de punción (Martínez-Silvestre, Lavín y Cuenca, 2011). En los WBC varios trabajos en tortugas marinas, consideradas sanas, refieren recuentos promedio de 1.6 a 22.8 x10<sup>3</sup>/μl (Anexo 8). En el presente estudio se encontró que los valores del HTO, RBC y WBC, fueron consistentes con los valores de referencia descritos y estuvieron dentro de los rangos reportados para individuos de *C. caretta* y *C. mydas* en diferentes etapas y consideradas como saludables o en estado normal de anidación (Anexo 8). En el conteo leucocitario, se distinguieron cinco tipos de leucocitos, cuya predominancia numérica fue: heterófilos (59.09%), linfocitos (31%), eosinófilos (5.82%), monocitos (2.18%) y basófilos (1.91%). Este orden concuerda con lo descrito en otros estudios para otras tortugas marinas consideradas sanas (Casal et al., 2007; Casal et al., 2009; Basile et al., 2012; Prieto-Torres et al., 2012). En ocasiones, el orden entre los heterófilos y linfocitos se invierte (e.g. stamper et al., 2005), pero ambas formas se

consideran normales en muchas especies de reptiles sanos (Martínez-Silvestre, Lavín y Cuenca, 2011). El orden en que se encuentren estos dos tipos de leucocitos puede deberse al sitio de venopunción, criterios o dificultad para identificar las células, edad de la tortuga, estrés, entre otros (Casal et al., 2009; Prieto-Torres et al., 2012). En las tortugas marinas, los heterófilos son los leucocitos más abundantes, su función principal es fagocitar y destruir organismos patógenos (bacterias, hongos, virus, parásitos, protozoarios), por lo que constituyen la primera línea de defensa contra infecciones (Labrada, 2011, Zhang, Gu y Li, 2011); en los reptiles constituyen 30 al 45% del total de leucocitos y, en quelonios, pueden estar arriba del 50% (Stacy, Alleman y Sayler, 2011). Por su parte, los linfocitos reflejan la función inmune en el cuerpo, encargándose de la producción de anticuerpos y atacando materia extraña (Zhang, Gu y Li, 2011). Los eosinófilos en reptiles saludables, incluyendo a las tortugas, representan 7 a 20% de los leucocitos; y los monocitos, usualmente están entre 0 a 10% y, en algunas especies de reptiles, llegan a 20% (Martínez-Silvestre, Lavín y Cuenca, 2011; Stacy, Alleman y Sayler, 2011). El porcentaje de monocitos se incrementa durante la estimulación antigénica crónica, inflamación crónica, enfermedades parasitarias o bacterianas (Stacy, Alleman y Sayler, 2011); o pueden elevarse los monocitos junto con los heterófilos, en respuesta a eventos de fagocitosis (Zhang, Gu y Li, 2011), pero en el presente estudio no se observó esto (Fig. 4). Los basófilos son los leucocitos de respuesta inmune que menos se encuentran en las tortugas marinas y su conteo varía mucho entre especies (Zhang, Gu y Li, 2011); en tortugas saludables se ha descrito que son escasos (Casal et al., 2009; Zhang, Gu y Li, 2011), pero pueden llegar a tener un máximo de 40% de basófilos (Stacy, Alleman y Sayler, 2011). En el presente estudio, los basófilos fueron los únicos leucocitos que comparativamente estuvieron más altos con respecto a otros



trabajos (Anexo 8); sin embargo, fueron consistentes en ocupar la última posición de los conteos leucocitarios. Los resultados del conteo hematológico al parecer no están indicando la existencia de alguna condición patológica o anémica crónica, al encontrarse similitudes con los valores expuestos en otras tortugas consideradas como saludables. Probablemente los valores podrían usarse como referencia para estudios futuros en la región.

En este estudio, se observó que varios de los parámetros medidos presentaron amplios rangos en sus valores bioquímicos (e.g. glucosa, AST, urea). Lara (2011) ha mencionado que es difícil definir los valores bioquímicos y del hemograma en las tortugas marinas, ya que existen intervalos muy amplios de sus valores que han sido reportados en varios estudios. Por ejemplo, Deem et al. (2009), Flint et al (2010) y Labrada-Martagón et al. (2010) describen intervalos amplios para algunos parámetros (e.g. LDH, AST, glucosa, BUN). Wilkinson (2004) menciona que en reptiles, los valores de la bioquímica sanguínea suelen producir rangos amplios, debido a que estos animales ejercen menos control sobre su mecanismo homeostático que las aves y los mamíferos, y están sujetos a variaciones estacionales. Asimismo, un hecho importante es que las tortugas marinas son los únicos reptiles con amplia movilidad por eventos de migración, lo cual tiene efectos en la variación de la bioquímica sanguínea y hemograma (Stamper et al., 2005). Por lo tanto, actualmente no existen valores “normales” establecidos de manera general en las tortugas marinas.

El tamaño de muestra también podría influir en la variabilidad de los datos, en el presente estudio, éste fue relativamente pequeño. Sin embargo, se han hecho estudios con mayores tamaños de muestra que presentan amplia variación en los parámetros medidos (e.g. Deem et al., 2009; Flint et al., 2010; Stamper et al., 2005). Es

recomendable ampliar el número de muestras y tener información más robusta para observar si se reduce o no la variabilidad.

Los niveles de cada parámetro medido son representativos de una población específica y pueden variar entre poblaciones. Labrada-Martagón et al. (2010), mencionan que debe tenerse en cuenta que los valores se generan a partir de las condiciones particulares de hábitat, la región geográfica, condiciones climáticas, estación, año, dieta, condición corporal, peso, talla, sexo y estado de salud de los individuos, entre otros factores. Además, existen otros factores que pueden en conjunto, causar variaciones en los parámetros, como el muestreo y manipulación de la muestra, especie, estado reproductivo, el número de anidación por temporada, genética, técnicas de análisis empleadas y analizadores, la temperatura, contaminación (Keller et al., 2004c; Wilkinson, 2004; Montilla et al., 2008; Flint et al., 2010; Labrada-Martagón et al., 2010; Honarvar et al., 2011). En tortugas marinas anidadoras, los trabajos todavía son escasos y se sabe poco al respecto. Por lo tanto, es conveniente que se sigan realizando estudios para entender más a fondo la dinámica de cada parámetro.

Es necesario realizar el perfil de la bioquímica sanguínea, con los parámetros bioquímicos que puedan ayudar a una mejor interpretación de las variaciones. Además, involucrar otros estudios, como el índice de condición corporal, examen físico externo, búsqueda de parásitos, conteo de carga de epibiontes y descripciones morfológicas de los leucocitos, para poder tener un mejor diagnóstico de su salud. Esto también ha sido sugerido por algunos autores para un estudio integral en las poblaciones de tortugas marinas (Deem, 2001; Padilla, 2008; Labrada, 2011).

## **Relación entre los plaguicidas organoclorados (POC) con los parámetros sanguíneos.**

En las tortugas *C. caretta* juveniles, se ha mencionado que las correlaciones entre los parámetros sanguíneos y los plaguicidas organoclorados pueden sugerir que las tortugas son altamente sensitivas a efectos sub-letales como la modulación del sistema inmune, alteraciones en las proteínas y de la homeostasis de carbohidratos y iones (Guirlet et al. 2010). También se espera, que la tendencia a sufrir enfermedades en las tortugas marinas, aumente por causa de estos contaminantes (Keller et al., 2004c; Guirlet et al., 2010). Sin embargo, el efecto exacto sobre su salud no es bien conocido. Como objetivo principal de este estudio, se correlacionaron los POC evaluados con los parámetros sanguíneos medidos para observar posibles relaciones entre estos y sugerir explicaciones de cómo los contaminantes podrían modular estos parámetros. De los pocos estudios realizados (Peden-Adams et al., 2002; Keller et al., 2004c; Komoroske et al., 2011; Labrada, 2011; Camacho et al., 2013), se ha referido que los indicadores bioquímicos y hematológicos de las tortugas marinas pueden ser influenciados de manera adversa por los contaminantes (Camacho et al, 2013) y tener alta sensibilidad fisiológica aun a bajas concentraciones de éstos (Keller et al., 2004c; Labrada, 2011; Camacho et al., 2013). No obstante, la exposición reciente a los contaminantes podría no ser lo suficientemente aguda para producir patrones de respuesta evidentes, pero sí alterar los perfiles bioquímicos y hematológicos de las tortugas. Estas alteraciones, pueden resultar de la aclimatación fisiológica y, de la demanda energética para la biotransformación y la eliminación de las sustancias químicas (Komoroske et al., 2011). Sin embargo, los contaminantes no son el único factor que puede estar modulando estos parámetros (Camacho et al., 2013), siendo necesarios más estudios que explore

el efecto que pueden tener los contaminantes, así como las causas precisas de estas relaciones (Keller et al., 2004c; Labrada, 2011; Camacho et al., 2013).

En este estudio, las correlaciones de Spearman se mostraron significativas, siendo tanto positivas como negativas, y en algunos casos resultaron ser correlaciones bajas (Cuadro 6). Esto último pudo deberse al relativo pequeño tamaño de muestra; también a la naturaleza de los datos muestreados, ya que varios de éstos se encontraban en el límite de detección (LOD), es decir que estaban en concentraciones muy bajas. Sin embargo, se decidió tomar en cuenta a estos datos por ser parte de las muestras obtenidas y que simplemente su concentración medida se halló baja, por lo tanto no fueron excluidas y vistas como datos sin concentración alguna. Keller (2003) en su trabajo con tortugas *C. caretta*, presenta de manera similar sus resultados.

Se encontró correlación negativa entre la glucosa y el p,p'-DDE ( $r_s = -0.40$ ,  $p < 0.05$ ) (Cuadro 6, Anexo 10). Resultados similares tuvieron Keller et al. (2004c) con dieldrín y la  $\Sigma$ DDTs en tortugas *C. caretta* juveniles de Carolina del Norte; lo mismo que Camacho et al. (2013) con la  $\Sigma$ PCBs, en anidadoras de *C. caretta* de Cabo Verde (África); y Labrada (2011) con endrín, en *C. mydas* juveniles-adultos de Punta Abre Ojos, en la Península de Baja California, México. En otros organismos, como aves rapaces, Sonne et al. (2010; 2012) también se ha observado este mismo patrón de la glucosa con diferentes contaminantes organoclorados, como el heptacloro epóxido, mirex, HCB y  $\Sigma$ PCBs. Keller et al. (2004c), señalan que la glucosa está fuertemente regulada por el hígado, y las complejas interacciones con el hipotálamo, la glándula pituitaria y las glándulas suprarrenales, donde es posible que los POC interfieran en alguno de estos múltiples puntos de control. El hipotálamo y las glándulas mencionadas están

relacionadas con la producción de hormonas como la corticotropina y corticosterona, y de enzimas implicadas en la producción de la glucosa (Keller, 2003).

El principal órgano de almacenamiento y síntesis de glucosa es el hígado (Keller, 2003; Pocok y Richards, 2005), y diariamente se necesita de un gradiente de concentración de glucosa en la sangre para satisfacer las necesidades metabólicas y de hormonas que regulan las fluctuaciones de la glucosa (Pocok y Richards, 2005). La penetración de los compuestos tóxicos (como los POC) hasta la sangre de los organismos, es a través de la piel, branquias o tubo digestivo (Espina y Venegas, 2005). Una vez que son ingeridos y absorbidos los POC, pasan a las células de los órganos blanco como el hígado y riñón, donde generalmente el hígado se encarga de metabolizar la mayoría de estas sustancias (Fernícola y Jauge, 1985; Espina y Venegas, 2005). Por ejemplo, el hígado es un sitio importante para la biotransformación del DDT a DDE, y su posterior eliminación por la bilis (Fernícola y Jauge, 1985). Es posible que en este órgano, los POC mencionados estén produciendo alteraciones en las enzimas hepáticas que regulan la glucosa, o en la producción o inhibición de la actividad de alguna hormona que regula a la misma.

Algo similar fue sugerido en aves por Sonne et al. (2012), quienes encontraron correlaciones negativas de la glucosa con la  $\Sigma$ PCBs. Propusieron que la  $\Sigma$ PCBs estaba indicando cambios a nivel endocrino, reduciendo la respuesta de la corticosterona debida al estrés y suprimiendo de esta manera las concentraciones de la glucosa en el plasma sanguíneo. La corticosterona, es una hormona que está implicada en la regulación del metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos. El papel que juegan en los carbohidratos está asociado a mantener las reservas del glucógeno del hígado, ejercer acción antiinsulina y estimular la producción del glucógeno, y de la

gluconeogénesis (Pocok y Richards, 2005). Los glucocorticoides como la corticosterona, actúan después de un estímulo de estrés (Real Academia Nacional de Medicina, s/d), dentro de los cuales pueden estar sustancias como los POC (Sonee et al., 2010). Cuando una sustancia tóxica actúa como disruptor endocrino, altera la función de este sistema. En este caso, estas sustancias tóxicas pueden bloquear sitios de enlace, donde las hormonas naturales ya no pueden actuar o también pueden funcionar como falsas hormonas, cambiando así el mensaje y alterando la actividad celular (Rendón, 2005). Cualquiera de estas formas, podrían estar alterando la regulación de la glucosa, disminuyéndola cuando la concentración de DDE aumenta. En este estudio no se midió la corticosterona, pero se sugieren su estudio para tener información que apunte hacia esta vía.

El ácido úrico, presentó correlación negativa con aldrín,  $\Sigma$ drines,  $\alpha$ -HCH,  $\Sigma$ HCH y  $\Sigma$ POCs (Cuadro 6, Anexo 10). Resultados similares encontró Labrada (2011) con el endrín ( $r_s = -0.32$ ) en tortugas *C. mydas* juveniles-adultos, y Camacho et al. (2013) con la  $\Sigma$ PCBs ( $r_s = -0.32$ ), en tortugas anidadoras de *C. caretta*. En otras especies animales, Fox et al. (2007) encontraron la misma tendencia con la dioxina 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (TCDD) medidos en hígado de gaviotas argétea (*Larus argentatus*). Por el contrario, Komoroske et al. (2011) reportaron correlaciones positivas y negativas con varios metales pesados y el 4,4'-DDE ( $r_s = 0.51$ ) en tortugas *C. mydas* juveniles-adultos de la Bahía de San Diego, California (un sistema costero crónicamente contaminado). En aves rapaces, Sonne et al. (2010; 2012) observaron que el ácido úrico se asoció positivamente con diferentes compuestos, como el heptacloro epóxido,  $\Sigma$ PCBs,  $\Sigma$ PFC,  $\Sigma$ clordanos, HCB y  $\Sigma$ PBDEs. Estas tendencias tanto positivas como negativas, pueden ser debidas a la especie animal y los mecanismos

metabólicos que cada uno tiene en respuesta a sustancias tóxicas, la ruta y tiempo de exposición, el tipo de compuesto y su dosis, la calidad de su dieta, entre otros (Sonne et al., 2010).

El ácido úrico, se describe en los reptiles como un producto catabólico final para eliminación del nitrógeno de las proteínas, cuyo aumento se ha asociado a la dieta (Labrada, 2011). En general, el ácido úrico es producido en el hígado y diariamente se genera tanto de fuentes endógenas (degradación de proteínas, de las purinas, ácidos nucleicos), como exógenas (principalmente del alimento), existiendo un balance entre la producción y eliminación de uratos (Díaz, Fernández y Parede, 1997). La hipouriacemia es menos frecuente que la hiperuracemia, y se produce por un déficit en las enzimas implicadas en la producción de ácido úrico, bloqueando la degradación de las purinas. Las causas se han descrito por enfermedades y la administración de fármacos (Díaz, Fernández y Parede, 1997); también recientemente en trabajos de laboratorio, se ha encontrado asociaciones donde este ácido se ve disminuido cuando las concentraciones de ciertos contaminantes aumentan (e.g. Burgin et al., 2001; Wade et al., 2002), sugiriendo una posible intervención de los contaminantes.

Al respecto, en el estudio de Burgin et al. (2001) con ratas machos de laboratorio expuestas a dos mezclas de PCBs, encontraron que varias actividades enzimáticas antioxidantes, como la EROD, se vieron elevadas conforme la dosis de las mezclas incrementaban. Aunado a ello, algunos parámetros se vieron alterados como la glutatión (GSH), el ácido ascórbico y el ácido úrico; este último disminuía a medida que la concentración de las mezclas de PCBs aumentaba. Sugirieron que las mayores concentraciones de los contaminantes y/o la composición en la que se encontraban, pueden causar estrés oxidativo y, la medición de los tres parámetros medidos es

considerada como marcadores de defensa antioxidantes. En otro trabajo realizado en ratas machos de laboratorio expuestas a dosis de una mezcla de compuestos orgánicos persistentes (incluidos algunos POC), Wade et al., (2002) observaron que el ácido úrico decrecía con las más altas concentraciones de esta mezcla. Además en el hígado hallaron inducción de la actividad enzimática de la EROD a partir de la dosis más baja de la mezcla, acompañada de alteraciones en el tamaño de este órgano y lesiones que aumentaban conforme la dosis incrementaba. Los estudios histopatológicos en riñón e hígado les revelaron daños a estos órganos. De acuerdo a estos trabajos, es posible que las asociaciones negativas encontradas en presente estudio, se deban al estrés oxidativo por contaminantes que inducen a actividades como la EROD, y así alterar algún punto del metabolismo del ácido úrico.

La actividad EROD (etoxiresorforin-O-dietilasa), forma parte de las enzimas oxidasas de función mixta, que es un mecanismo de defensa de la primera fase del metabolismo de detoxificación, el cual induce a enzimas tales como las del citocromo P450 que tienden a detoxificar los compuestos tóxicos (Rendón, 2005; Fox et al., 2007). La aparente inducción de la actividad EROD por ciertos contaminantes, puede ir acompañada de alteraciones en la transformación metabólica de sustratos endógenos y también de sustancias tóxicas exógenas (Fox et al., 2007). Se ha indicado, que en caso de hipouricemia, puede existir una obstrucción en la actividad enzimática involucrada en la descomposición de las proteínas o ácidos nucleicos (Díaz, Hernández y Parede, 1997), lo cual no permite la producción de ácido úrico y que sus niveles disminuyan. Hay que recalcar que en el presente estudio, el ácido úrico fue el parámetro que tuvo correlaciones negativas con más contaminantes, destacando la  $\Sigma$ POC. Esto podría indicar mayor afectación sobre el ácido úrico por varios plaguicidas, resultando en la



variación de su metabolismo que a largo plazo produzca daños al hígado y riñón como fue mencionado por Wade et al. (2002) y, a otras sustancias corporales como la glutatión y el ácido ascórbico (Burgin et al. 2001).

Con respecto a las enzimas AST y LDH, solo se encontró correlación negativa entre la LDH con el p,p'-DDT ( $r_s = -0.471$ ,  $p < 0.05$ ) (Cuadro 6, Anexo 10). Resultados parecidos fueron reportados en perros alimentados con comida contaminada por organohalogenados y mercurio (Sonne et al., 2008); en ratas machos de laboratorio expuestas a las dosis más altas (100X y 1000X) de una mezcla de compuestos orgánicos persistentes (Wade et al., 2002); y en peces expuestos a diferentes grupos de contaminantes (e.g. carbaryl, DDT, HCB, endosulfán) (Rendón, 2005); en tortugas marinas, al parecer no se tiene reportado. También, se han encontrado correlaciones positivas en ratas de laboratorio (Hayes et al., 1984) y humanos (Fischbein, 1985) expuestos a PCBs en ambos casos. Rendon (2005) menciona que la respuesta de la LDH parece depender del tiempo de exposición y su variación (aumento o disminución) puede ser debida al tipo de sustancia y al organismo.

La LDH, es una enzima importante en los procesos energéticos de varios animales y se se ha utilizado como un biomarcador de daño tisular, bajo la suposición de que los organismos bajo estrés químico necesitan energía extra y rápida (Rendón, 2005). Sin embargo, la información de su posible modulación por contaminantes todavía es poca. Existen pocos trabajos que han mostrado que una dosis letal a crónica de contaminantes (e.g PCBs), puede causar diferente respuesta de esta enzima por la concentración del contaminante (Sonne et al., 2008). Por ejemplo, en el estudio de Hayes et al. (1984) y Fischbein (1985), observaron citotoxicidad en el tejido del hígado, donde las lesiones se midieron por medio de la inducción y liberación de la LDH como

respuesta al daño ocasionado en las células de este órgano. Sin embargo, en el estudio de Wade et al. (2002), la LDH disminuía en ratas expuestas a una mezcla de contaminantes orgánicos persistentes. Observaron que desde la dosis más baja se inducía la actividad enzimática EROD en el hígado, aumentando considerablemente en la dosis más alta; los análisis histopatológicos mostraron alteraciones en el tamaño de este órgano y lesiones que aumentaban conforme la dosis subía. Sugirieron que la disminución de la LDH podría deberse a una posible inducción de las reacciones de oxidasas de función mixta, o a una directa inhibición de la LDH por uno o más de los contaminantes de la mezcla de COP's. En el presente estudio, posiblemente se inició una inducción de la actividad enzimática EROD, como parte del proceso de detoxificación mencionado por Wade et al. (2002).

En la enzima AST, no se hallaron correlaciones significativas a pesar de que es una enzima muy utilizada para estos estudios, debido a su sensibilidad e indicador de daño hepatocelular en tortugas marinas (Keller et al., 2004c).

En la albumina se observó correlación negativa con el heptacloro ( $r_s = -0.558$ ) (Cuadro 6, Anexo 10). Esto coincide con lo encontrado por Keller et al. (2004c) con la  $\Sigma$ clordanos ( $r_s = -0.365$ ) y mirex ( $r_s = -0.315$ ) en tortugas *C. caretta* juveniles en Carolina del Norte. En otras especies, Fox et al. (2007) obtuvieron la misma tendencia con la  $\Sigma$ PCBs ( $r_s = -0.315$ ) y DDE ( $r_s = -0.33$ ) en gaviotas, y Greichus, Call y Ammann (1975) con PCBs ( $p < 0.01$ ) en pelicanos. También se han hallado correlaciones positivas con el 4,4'-DDE ( $r_s = 0.49$ ) en tortugas *C. mydas* (Komoroske et al. 2011), y con algunos hidrocarburos aromáticos policíclicos (fluorantreno y fenantreno) en tortugas anidadoras de *C. caretta* (Camacho et al. 2013).

La albumina es sintetizada en el hígado y es altamente sensible e indicador de la función de los hepatocitos (Fox et al., 2007). Los cambios en los niveles de la albumina y otros parámetros correlacionados con los contaminantes organoclorados puede tener impacto sobre el hígado (Sonne et al., 2010). Fox et al. (2007) mencionan que la albúmina plasmática es claramente vulnerable a las sustancias químicas tóxicas que inducen a su modulación, pero todavía no hay un mecanismo específico que explique su variación. De manera general, expresan que los cambios en los sistemas biológicos por los contaminantes tóxicos, se producen por la inducción del gasto energético y/o por los procesos de estrés. Concluyen que la disminución de la albúmina plasmática puede tener impactos en la disponibilidad de proteínas y aminoácidos para tejidos, en la unión y transporte de nutrientes u hormonas.

En el presente estudio, todas las correlaciones negativas encontradas con los parámetros bioquímicos pueden sugerir que a largo plazo tendrán implicaciones adversas en los tejidos y funciones enzimáticas del hígado. Keller (2003) ha mencionado que este órgano es un sitio importante de regulación no solo de la albumina, sino también de otras sustancias del cuerpo (e.g. glucosa, lípidos), donde se sabe que los contaminantes organoclorados alteran la actividad de enzimas hepáticas responsables de la regulación de muchas funciones, y como consecuencia producen cambios en las concentraciones de estas sustancias corporales. Además el hígado es un órgano donde ocurren muchos procesos de transformación de sustancias, entre ellas la detoxificación de compuestos tóxicos como los POC (Espina y Venegas, 2005). En tortugas marinas, Mckenzie et al. (1999) han encontrado que el órgano donde más se acumulaban los compuestos organoclorados (e.g. DDT, PCB, clordanos, dieldrín) es el hígado, además del tejido adiposo. Por otra parte, también los POC posiblemente

estén interviniendo a nivel endocrino, que a largo plazo podrían tener efectos a este nivel. Labrada (2011) menciona que la alteración endocrina puede tener efectos serios en el éxito reproductivo y en el crecimiento de la población de tortugas.

A corto plazo, las correlaciones obtenidas sugieren que las variaciones de los parámetros bioquímicos podrían estar siendo moduladas en parte por los contaminantes y posiblemente sea con efecto reversible. Sin embargo, hay que tener en cuenta que el presente estudio es estadísticamente correlativo, como también lo menciona Keller et al. (2004c) en su estudio con las tortugas juveniles de *C. caretta*. Es necesario realizar más estudios para obtener más información, incrementar otros nuevos parámetros o marcadores a evaluar que puedan explicar mejor la existencia de estas relaciones y cómo podrían estarse dando. Por el momento, solo se puede suponer posibles explicaciones como la inducción actividades enzimáticas (e.g. EROD) debidas al estrés por los contaminantes, o a nivel endocrino inhibiendo o activando hormonas encargadas de regular sustancias corporales.

Con respecto a los parámetros hematológicos, también se encontraron correlaciones significativas de Spearman en la mayoría de los conteos celulares. En el conteo total de glóbulos rojos (RBC), se observó una asociación positiva con el  $\alpha$ -HCH ( $r_s = 0.65$ ),  $\gamma$ -HCH ( $r_s = 0.70$ ) y endodulfán sulfato ( $r_s = 0.70$ )  $p < 0.05$  (Cuadro 6, Anexo 10). Sin embargo, esto difiere con lo hallado por Keller et al. (2004c) con la  $\Sigma$ clordanos ( $r_s = -0.66$ ,  $p < 0.05$ ) y por Lutcavage et al. (1995) con exposiciones a petróleo crudo, ambos autores en tortugas juveniles de *C. caretta*. En humanos, se ha encontrado correlaciones negativas con PCBs (Lawton et al., 1985). Los RBC pueden variar de acuerdo a las condiciones ambientales y al estado nutricional (Martínez-Silvestre et al., 2011); pero también varios estudios han encontrado que los contaminantes como los

organoclorados pueden disminuir estos glóbulos (Keller et al., 2004c). Es recomendable realizar más estudios y aumentar el número de muestras, que quizás pudieran estar influyendo en el resultado del presente estudio.

En los heterófilos, se mostró una correlación negativa con endrín aldehído ( $r_s=-0.736$ ) (Cuadro 6, Anexo 10). Resultados similares encontraron Camacho et al. (2013 a, b) con el p,p'-DDE ( $r_s=-0.34$ ,  $p<0.01$ ) y en metales como el aluminio ( $r_s=-0.29$ ,  $p<0.05$ ) en tortugas *C. caretta* anidadoras. En otras especies, Grasman, Scanlon y Fox (2000) observaron la misma tenencia con la  $\Sigma$ PCBs ( $r_s=-0.42$ ,  $p<0.029$ ) en gaviotas argétea y Yu, Halbrook y Sparling, (2012) con la  $\Sigma$ PCBs y el Aroclor® 1260 en tortugas acuáticas (*T. scripta*).

Los heterófilos son muy importantes en las tortugas marinas, ya que reflejan la primera línea de defensa contra microorganismos y materia extraña (Labrada, 2011; Zhang, Gu y Li, 2011). Los cambios por contaminación es un campo poco explorado en las tortugas marinas. Yu et al. (2012) mencionan que en tortugas acuáticas *Trachemys scripta elegans*, la exposición prolongada de contaminantes como los PBCs, pueden estar suprimiendo la función inmune y alterando algunos parámetros hematológicos (e.g. heterófilos); esto mismo fue retomado por Camacho, et al. (2013) en tortugas marinas anidadoras de *C. caretta*. Por otra parte, Grasman, Scanlon y Fox (2000) midieron algunos biomarcadores en gaviotas adultos expuestos a compuestos organoclorados, destacando la actividad 7-etoxiresorufin-O-deetilasa (EROD) y observando que los heterófilos se asociaban negativamente con dicha actividad enzimática, sugiriendo que las variaciones en los heterófilos pueden ser causadas por los contaminantes y la inducción de la EROD. Sin embargo, mencionan que se necesita más estudios que expliquen la relevancia biológica de las asociaciones estadísticas

encontradas y los efectos causales detrás de estas correlaciones. En el presente estudio, es posible que exista inducción de la actividad EROD (mencionada anteriormente) por los contaminantes. Esta actividad enzimática, también podría estar actuando sobre la modulación de otros conteos leucocitarios como los eosinófilos, monocitos y basófilos.

En los linfocitos, se observaron correlaciones positivas con el endrín ( $r_s=0.780$ ) y la  $\Sigma$ drines ( $r_s=0.624$ )  $p<0.05$  (Cuadro 6, Anexo 10). Resultados similares obtuvieron Keller et al. (2006), cuando observaron proliferación de los linfocitos de tortugas juveniles de *C. caretta* expuestos a varios POC (a nivel laboratorio y de campo), demostrando por primera vez que las exposiciones por POC (e.g.  $\Sigma$ PCBs, 4,4'-DDE y  $\Sigma$ clordanos) modulan el sistema inmune de las tortugas a concentraciones inferiores a las reportadas en otras especies animales con alteraciones en la respuesta inmune. Esto sugirió que las tortugas *C. caretta* pueden llegar a ser muy sensibles a efectos inmunomoduladores por los contaminantes organoclorados. En el estudio de Grasman, Scanlon y Fox (2000) en las gaviotas, también observaron las mismas asociaciones positivas con PCBs y HCP (porfirinas altamente carboxiladas). Estos hallazgos pueden sugerir modulación del sistema inmune en las tortugas anidadoras del presente estudio. Los linfocitos, reflejan la función inmune en el cuerpo, encargándose de la producción de anticuerpos y atacando a materia extraña (Zhang, Gu y Li, 2011). Una evaluación más exhaustiva de la función inmune puede lograrse mediante la medición de la hormona tiroidea, ya que niveles normales de ésta son necesarios para el desarrollo adecuado, mantenimiento y funcionamiento tanto de los anticuerpos como de las respuestas inmunes mediadas por las células (Smits et al., 2002). Se ha descrito que los compuestos organoclorados interactúan con el sistema tiroideo por medio de

diferentes mecanismos, por ejemplo pueden intervenir directamente con la glándula tiroidea y su función, o con enzimas metabolizadoras de estas hormonas, o unirse competitivamente a transportadores de la hormona tiroidea, entre otros (Álvarez, 2010). Varios trabajos han revelado que diferentes contaminantes producen estrés asociado a esta hormona (disminuyéndola o suprimiéndola) y proliferación de los linfocitos (Smits et al., 2002). Por lo tanto, los contaminantes tienen la capacidad de inhibir, activar, o mimetizar hormonas (Labrada, 2011). En el presente estudio, algo similar podría estar sucediendo, pero se necesita estudios que evalúen esta hormona para conocer si podría ser la vía que induce a la proliferación de los linfocitos.

Los eosinófilos, monocitos y basófilos también mostraron correlación positiva con los POC. En los eosinófilos la correlación se mostro con el p,p'-DDD ( $r_s=0.615$ ,  $p<0.05$ ), los monocitos con endrín ( $r_s=0.67$ ,  $p<0.02$ ) y los basófilos con la  $\Sigma$ Drines y  $\Sigma$ POCs ( $r_s=0.63$ ,  $p<0.04$ ) (Cuadro 6, Anexo 10). Resultados similares obtuvieron Keller (2003) entre los eosinófilos y p,p'-DDE ( $r_s=0.71$ ), la  $\Sigma$ DDT ( $r_s=0.71$ ) y  $\Sigma$ OCs ( $r_s=0.60$ ), en tortugas *C. caretta* juveniles; y Camacho et al. (2013) con p,p'-DDE ( $r_s=0.35$ ,  $p<0.01$ ) y la  $\Sigma$ HAPs ( $r_s=0.33$ ,  $p<0.02$ ) en tortugas *C. caretta* anidadoras. Labrada (2011) observó correlaciones positivas entre los monocitos y la  $\Sigma$ ciclodienos ( $r_s=0.45$ ,  $p<0.05$ ), en *C. mydas* juveniles-adultos en la Península de Baja California, México. Todos estos autores sugieren estimulación del sistema inmune debido al estrés de estas sustancias contaminantes en el interior del organismo. Se ha descrito que los eosinófilos, monocitos y basófilos pueden variar por diversos factores, como eventos estacionales o ambientales, enfermedades parasitarias o virales (Martínez-Silvestre, Lavín y Cuenca, 2011). Sin embargo, la variación de estos conteos leucositarios por los contaminantes

como los POC, es un campo que recientemente se está explorando en las tortugas, debido a que es poco lo que se conoce.

El presente estudio ha reflejado la existencia de posibles asociaciones entre los parámetros sanguíneos y los plaguicidas organoclorados, que se mostraron con correlaciones significativas a pesar del número de muestra relativamente pequeño, presentar bajas concentraciones y, donde las representaciones gráficas aparentemente parecen estar poco relacionadas en algunos parámetros (e.g. LDH y eosinófilos). No obstante, esto es similar a lo presentado por Keller (2003) en su estudio con tortugas *C. caretta* juveniles.

La exposición a los contaminantes ambientales, pueden inducir a cambios fisiológicos en los animales a través de diversos mecanismos (Smits et al., 2002). Sin embargo, y como han mencionado en sus trabajos Bustnes et al. (2008) y Camacho et al. (2013), debe tenerse en cuenta que los posibles cambios que estos contaminantes pueden tener, no excluye la existencia de otros factores adyacentes y, tal vez desconocidos, que puedan afectar los resultados. Por ejemplo, factores como la nutrición, el estrés, ciclos estacionales, además de las sustancias químicas tóxicas, pueden alterar los valores del hemograma (Grasman, Scanlon y Fox, 2000). Para esclarecer más la influencia que los contaminantes pueden tener sobre el organismo de las tortugas marinas, en la medida de lo posible debe aumentarse los estudios donde se observe cómo se comportan los parámetros sanguíneos por estaciones, género, estado nutricional, enfermedad, carga de epibiontes, índice de condición corporal, entre otras variables. Esto ampliaría el panorama sobre las variaciones de los parámetros sanguíneos en estas poblaciones. Aunado a ello, sería necesario trabajos a nivel laboratorio que puedan complementar y hacer más válidos los resultados en campo,



como los estudios *in vitro* efectuados por Keller et al. (2006) para corroborar la linfoproliferación por contaminantes. También, como mencionan Camacho, et al. (2013), realizar estudios que incluyan diferentes biomarcadores de exposición a POC para entender los efectos de los contaminantes sobre el organismo en estas especies. Entre estos se recomienda evaluar algunas enzimas de las reacciones de función mixta como la EROD, hormonas como las tiroideas, corticosterona, y otras sustancias metabólicas (e.g. la glutatión, el ácido ascórbico) que ofrezcan más indicios de como podrían estar variándose los parámetros sanguíneos que mostraron correlación con los POC. Por último, sería de interés evaluar la relación de estos contaminantes en varios órganos y tejidos con los parámetros bioquímicos y hematológicos que amplíen el conocimiento de los efectos clínicos en las tortugas, como lo ha sugerido Labrada (2011).

Al igual que varios trabajos realizados (e.g. Grasman Scanlon y Fox, 2000; Keller et al., 2004c; Komoroske et al., 2011; Labrada, 2011; Camacho et al., 2013), este estudio no puede asegurar contundentemente una relación causa-efecto. No obstante, se observa que ya se suman varios estudios al respecto en diferentes especies animales, entre ellas las tortugas marinas, y con tendencias similares encontradas entre los parámetros sanguíneos y los POC. Las correlaciones significativas encontradas sugieren que los POC podrían estar produciendo efectos adversos sobre los parámetros sanguíneos de las tortugas (que posiblemente sean reversibles), pero que a largo plazo pueden tener implicaciones con daño a órganos como el hígado y riñones, efectos principalmente a nivel endocrino y, que finalmente pueden repercutir en la posible pérdida de individuos de las poblaciones futuras.

Finalmente todos estos estudios además de contribuir con información y dar a conocer posibles cambios en el metabolismo, pueden ser útiles también para continuar las

investigaciones en estas poblaciones. De esta forma y para fines de conservación, esto puede ayudar a mantener protegidas a las zonas de la región que son muy importantes para las tortugas que anidan aquí, pero que se encuentran amenazadas porque este es un sitio altamente turístico, donde se ha observado que las áreas de anidación se han ido haciendo cada vez menores y están siendo sujetas a cambios del hábitat que ponen en riesgo a la especie.

## CONCLUSIONES

Las concentraciones determinadas de los 16 POC fueron consideradas como relativamente bajas y posiblemente aun no tengan un impacto fuertemente negativo en estas tortugas anidadoras en comparación con otras poblaciones.

Los parámetros sanguíneos medidos, aparentemente mostraron compatibilidad con los valores de otras tortugas consideradas saludables o en estado de anidación normal. Las variaciones en los parámetros de la glucosa, albumina, ácido úrico y los basófilos, no necesariamente indican signos de enfermedad, si no que pueden ser cambios por factores intrínsecos o extrínsecos que tienen que ser nuevamente regulados por el mismo metabolismo.

Por último, la hipótesis propuesta en este estudio se aceptó para la mayoría de parámetros sanguíneos, únicamente fue rechazada para el RBC, y no hubo ningún tipo de relación con el HTO, WBC, BUN y la enzima AST. A pesar del reducido tamaño de muestra y de las bajas concentraciones encontradas, este estudio está sugiriendo estadísticamente una relación entre los parámetros sanguíneos y los POC. Además alude a que los POC podrían ser capaces de modificar estos parámetros del metabolismo o de la respuesta inmune sin producir daños aparentemente más graves en el organismo a corto plazo. Este estudio es el primero de la región de Quintana Roo en dar a conocer información sobre las posibles asociaciones de los contaminantes con los parámetros sanguíneos de tortugas anidadoras de *C. caretta*.

## LITERATURA CITADA

- Aguilar, V. A., 2010. *Desarrollo de técnicas de biopsia de cetáceos para el control de la contaminación marina por organoclorados*. [pdf] Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Gobierno de España. Disponible en: <<http://www.premiosfundacionbiodiversidad.es/segundaedicion/trabajos-lucha-contaminacion.php> > [Accesado 2 de Enero del 2012].
- Álvarez, M. P., 2010. *Hormonas tiroideas: efectos de la exposición a compuestos organoclorados y relación con el neurodesarrollo*. Tesis de Doctorado. Universitat Pompeu Fabra.
- APVMA, (2005) *The reconsideration of approval of the active constituent Endosulfan, registrations of products containing Endosulfan and their associated labels*. Final review report and regulatory decision. Australia: Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority.
- Arias, V. J. A., Rojas, C. D., Dierkmeier, C. G., Riera, B. C. and Cabrera, C. N., 1990. *Características generales de los plaguicidas organoclorados*. [pdf] Biblioteca virtual de desarrollo sostenible y salud ambiental. Disponible en: <<http://www.bvsde.ops-oms.org/bvsacd/eco/033965/033965-02-A1.pdf>.> [Accesado 23 de Febrero de 2013].
- Basile, F., Di Santi, A., Ferretti, L., Bentivegna, F. and Pica, A., 2012. Hematology of the Mediterranean population of sea turtle (*Caretta caretta*): comparison of blood values in wild and captive, juvenile and adult animals. *Comparative Clinical Pathology*. 21(6), pp. 1401–1406.

- 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 Veterinary Research*, 53(12), pp. 2224-2227.
- Bolten, A. B., 2000. Técnicas para la medición de tortugas marinas. En: K.L. Eckert, K.A.Bjorndal, F.A. Abreu-Grobios y M. Donnelly, eds. *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas*. Traducido del inglés por R. D. Briseño, et al. USA: UICN/CSE Grupo Especialista en Tortugas Marinas Publicación 4. pp. 126-131.
- Burgin, D. E., Diliberto, J. J., Derr-Yellin, E. C., Kannan, N., Kodavanti, P. R. S. and Birnbaum, L. S., 2001. Differential effects of two lots of aroclor 1254 on enzyme induction, thyroid hormones, and oxidative stress. *Environmental Health and Perspectives* 109(11), pp. 163-168.
- Bustnes, J.O., Fauchald, P., Tveraa, T., Helberg, M. and Skaare, J.U., 2008. The potential impact of environmental variation on the concentrations and ecological effects of pollutants in a marine avian top predator. *Environment International*, 34(2), pp. 193–201.
- Camacho, M, Luzardo, O.P., Boada, L. D., López, J. L. F., Medina, M., Zumbado, M. and Orós, J., 2013. Potential adverse health effects of persistent organic pollutants on sea turtles: Evidences from a cross-sectional study on Cape Verde loggerhead sea turtles. *Science of the Total Environment*, 458–460, pp. 283–289.
- Camiñas, J. A., 2002. *Estatus y conservación de las Tortugas Marinas en España*. En: J. M. Pleguezuelos, R.Márquez y M. Lizana, eds. Atlas y libro rojo de los anfibios y reptiles de España. 2ª ed. España: Ministerio de Medio Ambiente. pp. 344-380.

- Caraccio, M. N., Domingo, A., Márquez, A., Naro-Maciel, E., Miller, P. y Pereira, A., 2008. Las aguas del atlántico sudoccidental y su importancia en el ciclo de vida de la tortuga cabezona (*Caretta caretta*): evidencias a través del análisis del ADNmt. *Collective Volumen of Scientific Paper ICCAT*, 62(6), pp.1861-1837.
- Casal, A.B. and Orós, J., 2007. Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells of juvenile loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). *Research in Veterinary Science*, 82(2), pp.158–165.
- Casal, A. B. and Orós, J., 2009. Plasma biochemistry and hematology values in juvenile loggerhead sea turtle undergoing rehabilitation. *The Veterinary Records*, 164(21), pp. 663-665.
- Casal, A. B., Camacho, M., López-Jurado, F. L., Juste, C. and Orós, J., 2009. Comparative study of hematologic and plasma biochemical variables in Eastern Atlantic juvenile and adult nesting loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). *Veterinary Clinical Pathology*, 38(2), pp. 213-218.
- Choi, G. Y. and Eckert, K. L., 2009. *Manual de Mejores Prácticas para la Protección de Playas de Anidación de Tortugas Marinas*. Informe Técnico No. 9. Ballwin, Missouri: Red de Conservación de Tortugas Marinas en el Gran Caribe (WIDECAST).
- Clark, D. R. and Krynitsky, A. J., 1985. DDE residues and artificial incubation of loggerhead sea turtle eggs. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 34(1), pp. 121-125.
- Clark, D. R., 1997. *Marine Pollution*. 4a ed. Great Britain. Clarendon Press-Oxford.

- Colborn, T., F. Vom Saal and Soto, A., 1993. Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environmental Health Perspectives*, 101(5), 378-384.
- Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP), 2011. *Ficha de identificación*. [pdf] México: Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. Disponible en: [http://procer.conanp.gob.mx/tortugas/sitio/pdf/fichas\\_tortugas/tortuga\\_caguama\\_2011.pdf](http://procer.conanp.gob.mx/tortugas/sitio/pdf/fichas_tortugas/tortuga_caguama_2011.pdf) > [Accesado 5 en noviembre 2011].
- Conant, T.A., Dutton, P.H., Eguchi, T., Epperly, S.P., Fahy, C.C., Godfrey, M.H., MacPherson, S.L., Possardt, E.E., Schroeder, B.A., Seminoff, J.A., Snover, M.L., Upton, C.M. and Witherington, B.E., 2009. *Loggerhead sea turtle (Caretta caretta) 2009 status review under the U.S. Endangered Species Act*. Report of the Loggerhead Biological Review Team to the National Marine Fisheries Service.
- CNRCOP, 2004. *Breve perfil de las sustancias COP incluidas en el Convenio de Estocolmo y el Reglamento*. Centro Nacional de Referencia sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes. [pdf] Disponible en: <http://www.cnrcop.es/gc/assets/docs/Heptacloro.pdf> > [accesado 19 de Agosto de 2013].
- Córdoba, B. J. A., Gutiérrez, B. F. P., Rodríguez, R. C. L. y Caicedo, C. H. 2000. *Plan de acción para la conservación de las tortugas marinas del Caribe Colombiano*. Santafé de Bogotá, Colombia: Ministerio del Medio Ambiente.
- Cuevas, E., González, G. B., Guzmán, H. V., Van Dam, R. P., García, A. P., Abreu, G. F. A., and Huerta, R. P., 2012. Tracking turtles off México's Yucatán Peninsula. *Swot the state of the world's sea turtles report*, 7, pp. 8-9.

- Deem S. L., Karech, W. B. and Weisman, W., 2001. Putting theory into practice: wildlife health in conservation. *Conservation Biology*, 15(5), pp. 1224-1233.
- Deem, S. L., Dierenfeld, D. S., Sounquet, G. P., Alleman, R., Cray, C., Poppenga, R. H., Norton, T. M. and Karesh, W. B., 2006. Blood values in free-ranging nesting leatherback sea turtles (*Dermochelys coriacea*) on the Coast of The Republic of Gabon. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 37(4), pp. 464-471.
- Deem, S. L., Norton, T. M., Mitchell, M., Segars, A., Alleman, A. R., Cray, C., Poppenga, R. H., Dodd, M. and Karesh, W. B., 2009. Comparison of blood values in foraging, nesting, and stranded loggerhead turtles (*Caretta caretta*) along The Coast of Georgia, USA. *Journal of Wildlife Diseases*, 45(1), pp. 41–56.
- Delgado, C., Valente, A., Quaresma, I., Costa, M and Dellinger, T., 2011. Blood biochemistry reference values for wild juvenile loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) from Madeira Archipelago. *Journal of Wildlife Diseases*, 47(3): pp. 523–529.
- Dessauer, H. C., 1970. Blood chemistry of reptiles: physiological and evolutionary aspects. En: C. Gans, ed. *Biology of the reptilian*. London: ACADEMIC PRESS LONDON INC. Capítulo 1.
- Diario Oficial de la Federación, 2010. *Norma Oficial Mexicana NOM-059 SEMARNAT-2010. Protección ambiental de 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*. México: SEMARNAT.
- Díaz, J. P., Fernández, M. T. B. y Parede, F. S., 1997. *Aspectos básicos de bioquímica clínica*. Madrid, España: Díaz de Santos.



- Díaz, B. F., 2004. *Informe sobre metales y contaminantes orgánicos persistentes en niños y muestras ambientales de 10 sitios contaminados de México*. México: Instituto Nacional de Ecología, Facultad de Medicina de la Universidad de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México.
- D'Illio, S., Mattei, D., Blasi, M. F., Alimonti, A. and Bogialli, S., 2011. The occurrence of chemical elements and POPs in loggerhead turtles (*Caretta caretta*): An overview. *Marine Pollution Bulletin*, 62(8), pp. 1606–1615.
- Flora, Fauna y Cultura de México, A. C., 2013. *Logros y resultados 2013*. [pdf] Disponible en: <<http://florafaunaycultura.org/informe-actividades.php>> [Accesado 28 enero del 2015]
- Fundación Ecológica eco-Bahía, (s/d). *Programa de Protección y Conservación de Tortugas Marinas en el Litoral Central de Quintana Roo*. [online] Disponible en: <[http://www.eco-bahia.org/es/tortugas/tortugas\\_progr.htm](http://www.eco-bahia.org/es/tortugas/tortugas_progr.htm)> [Accesado 3 de septiembre del 2013].
- Encalada, S. E., Bjorndal, K. A., Bolten, A. B., Zurita, J. C., Schroeder, B., Possardt, E., Sears, C. J. and Bowen, B. W., 1998. Population structure of loggerhead turtle (*Caretta caretta*) nesting colonies in the Atlantic and Mediterranean as inferred from mitochondrial DNA control region sequences. *Marine Biology*, 130(4), pp. 567-575.
- Encalada, S. E., Zurita, J. C. and Bowen, B. W., 1999. Genetic Consequences of Coastal Development: The Sea Turtle Rookeries at X'cacel. Mexico *Marine Turtle Newsletter*, 83: pp. 8-10.
- Espina, S. y C. Vanegas, 2005. Ecotoxicología y contaminación. En: A. V. Botello, J. Rendón-von Osten, G. Gold-Bouchot y C. Agraz-Hernández, eds. *Golfo de*

- México. *Contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias*, 2ª ed. México: Universidad Autónoma de Campeche, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Ecología. pp. 79-120.
- Espinosa-Reyes, G., Ilizaliturri H., C. A., González, M.D. J., Torres-Dosal, A., M., S. J., Costilla, S. R., Trejo, A. A., Pérez-Maldonado, I. N. y Díaz-Barriga, F. M., 2007. *Monitoreo ambiental, determinantes de la exposición y efectos de contaminantes críticos en humanos y biota en Coatzacoalcos, Veracruz*. México: Instituto Nacional de Ecología. Dirección General de Investigación sobre la Contaminación Urbana.
- Extension Toxicology Network, 1996. *Heptachlor*. National Pesticide Information Center. [online] Disponible en: <<http://extoxnet.orst.edu/pips/heptachl.htm>> [Accesado 19 de Agosto de 2013].
- Fernícola, N. A. G. G. y Jauge, P., 1985. *Nociones básicas de toxicología*. México. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud.
- Fischbein, A., 1985. Liver function tests in workers with occupational exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs): comparison with Yusho and Yu-Cheng. *Environmental Health Perspectives*. 60, pp. 145–150.
- Flint, M., Patterson-Kane, J. C., Limpus, C. J., Work, T. M., Blair, D. and Mills, P. C., 2009. Postmortem diagnostic investigation of disease in free-ranging marine turtle populations: a review of common pathologic findings and protocols. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 21(6), pp. 733–759.
- Flint, M., Morton, J. M., Limpus, C. J., Patterson-Kane, J. C. and Mills, P. C., 2010. Reference intervals for plasma biochemical and hematologic measures in

- loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) from Moreton Bay, Australia. *Journal of Wildlife Diseases*, 46(3), pp. 731–741.
- Fossi, M. C., Marsili, L., Neri, G., Casini S., Bearzi, G., Politi, E., Zanardelli, M. and Panigada, S., 2000. Skin biopsy of Mediterranean cetaceans for the investigation of interspecies susceptibility to xenobiotic contaminants. *Marine Environmental Research*, 50(1-5), pp. 517-521.
- Fox, G. A., Jeffrey, D. A., Williams, K. S., Kennedy, S. W. and Grasman, K. A., 2007. Health of herring gulls (*Larus argentatus*) in relation to breeding location in the early 1990s. I. Biochemical Measures. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 70(17), pp. 1443–1470.
- Frazier, J. G., 2000. Conservación basada en la comunidad. En: K.L. Eckert, K.A. Bjorndal., F.A. Abreu-Grobios y M. Donnelly, eds. *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas*. Traducido del inglés por Briseño R. D. et al., USA: UICN/CSE Grupo Especialista en Tortugas Marinas Publicación 4. pp 16-20.
- Frazier, J., 2001. Generalidades de la historia de vida de las tortugas marinas. En: L. K. Eckert, y G. F. A. Abreu, eds. Traducido al español por D. R. Briseño y G. F. A. Abreu. *Conservación de Tortugas Marinas en la Región del Gran Caribe: Un Diálogo para el Manejo Regional Efectivo*. Memorias. Santo Domingo, República Dominicana: WIDECAS. pp. 3-18.
- García, G. M. B. G., 2011. *Bioacumulación y transferencia materna de contaminantes orgánicos persistentes en la tortuga carey (Eretmochelys imbricata) y tortuga blanca (Chelonia mydas) de la costa de Campeche, México*. Tesis de maestría. Instituto de Ecología, A. C.

- Gardner, S. C., Pier, M. D., Wesselman, R. and Juarez, A., 2003. Organochlorine contaminants in sea turtles from the Eastern Pacific. *Marine Pollution Bulletin*, 46(9), pp. 1082–1089.
- Glennemeier, K. A. and Begnoche, L. J., 2002. Impact of Organochlorine Contamination on Amphibian Populations in Southwestern Michigan. *Journal of Herpetology*, 36(2), pp. 233-244.
- Government of Kerala, 2011. *Endosulfan the Kerala history. Report on health effects of endosulfan and progress of rehabilitation activities in Kerala*. India: Government of Kerala, Department of Health and family welfare.
- Goldberg, I. D. W., Wanderlinde, J., Freire, I. M. A., da Silva, L. C. P. and Almosny, N. R. P., 2011. Serum biochemistry profile determination for wild loggerhead sea turtles nesting in Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brazil. *Ciência Rural*, 41(1), pp. 143-148.
- Grasman, K.A., Scanlon, P. F. and Fox, G. A., 2000. Geographic variation in hematological variables in adult and pre fledgling herring gulls (*Larus argentatus*) and possible associations with organochlorine exposure. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 38(2), pp. 244–253.
- Greichus, Y. A., Call, D. J. and Ammann, B. M. 1975. Physiological effects of polychlorinated biphenyls or a combination of DDT, DDD, and DDE in penned white pelicans. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 3(3), pp. 330-343.
- Guirlet, E., Das, K., Thomé, J. P. and Girondot, M., 2010. Maternal transfer of chlorinated contaminants in the leatherback turtles, *Dermochelys coriacea*, nesting in French Guiana. *Chemosphere*, 79(7), pp. 720–726.

- Hayes, M.A., Roberts, E., Roomi, M.W., Safe, S.H., Farber, E. and R.G. Cameron, (1984). Comparative influences of different PB-type and 3-MC-type polychlorinated biphenyl-induced phenotypes on cytotoxicity of bromobenzene and acetaminophen. *Toxicology and Applied Pharmacology* 76 (1), pp. 118–127.
- Herrera, P. R. L., 2011. La tortuga marina omnipresente en la cultura maya. En: C. Pozo, C. N. Armijo, y S. Calmé, eds. *Riqueza biológica de Quintana Roo. Un análisis para su conservación*, Tomo I. México, D.F.: El Colegio de la frontera Sur (ECOSUR), Comisión Nacional para el conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), Gobierno del Estado de Quintana Roo y Programa de Pequeñas Donaciones (PPD). pp. 241-247.
- Honarvar, S., Brodsky, M. C., Fitzgerald, D. B., Rosenthal, K. L. and Hearn, G. W., 2011. Changes in plasma chemistry and reproductive output of nesting leatherbacks. *Herpetologica*, 67(3), pp. 222–235.
- Innis, C., Tlusty, M., Perkins, C., Holladay, C., Merigo, C. and Weber, E. S., 2008. Trace metal and organochlorine pesticide concentrations in cold-stunned juvenile Kemp's ridley turtles (*Lepidochelys kempii*) from Cape Cod, Massachusetts. *Chelonian Conservation and Biology*, 7(2), pp. 230–239.
- Innis, C, Merigo, C., Dodge, K., Tlusty, M., Dodge, M., Sharp, B. Myers, A., McIntosh, A., Wunn, D., Perkins, C., Herdt, T. H., Norton, T. and Iutavag, M., 2010. Health evaluation of leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*) in the Northwestern Atlantic during direct capture and fisheries gear disentanglement. *Chelonian Conservation and Biology*, 9(2), pp. 205–222.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía, 2011. [online] Disponible en: [http://mapserver.inegi.gob.mx/geografia/espanol/datosgeogra/basicos/estados/roo\\_geo.cfm](http://mapserver.inegi.gob.mx/geografia/espanol/datosgeogra/basicos/estados/roo_geo.cfm) >. [Accesado 2 de marzo de 2013].

IPCS (international programme on chemical safety), s/d. *Environmental health criteria 91. Aldrin and dieldrin*. [online] IPCS INCHEM. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc91.htm> > [Accesado 22 de Diciembre de 2013].

Kakizoe, Y., Sakaoka, K., Kakizoe, F. Yoshii, M., Nakamura, H., Kanou, Y. and Uchida, I., 2007. Successive changes of hematologic characteristics and plasma chemistry values of juvenile loggerhead turtles (*Caretta caretta*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 38(1), pp. 77-84.

Keithmaleesatti, S., Varanusupakul, P., Siriwong, W., Thirakhupt, K., Robson, M., and Kitana, N., 2009. Contamination of organochlorine pesticides in nest soil, egg, and blood of the snail-eating turtle (*Malayemys macrocephala*) from the Chao Phraya River Basin, Thailand. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 52, pp. 444-449.

Keller, J. M., 2003. *Occurrence and effects of organochlorine contaminants in sea turtles*. Tesis de doctorado. Duke University.

Keller, J. M., Kucklick, J. R., Harms, C. A. and McClellan-Green, P.D., 2004a. Organochlorine contaminants in sea turtles: correlations between whole blood and fat. *Environmental Toxicology Chemistry* 23(3), pp. 726–738.

Keller, J. M., Kucklick, C. A. and McClellan-Green, P. D., 2004b. Organochlorine Contaminants in loggerhead sea turtle blood: extraction techniques and

distribution among plasma and red blood cells. *Archives Environmental Contamination and Toxicology* 46(2), pp. 254–264.

Keller, J. M., Kucklick, J. R., Stamper, M. A., Harms, C. A. and McClellan-Green, P. D.. 2004c. Associations between organochlorine contaminant concentrations and clinical health parameters in loggerhead sea turtles from North Carolina, U.S.A. *Environmental Health Perspective*, 112(10), pp. 1074-1079.

Keller, J. M., McClellan, P. D. G., Kucklick, J. R., Keil, D. E. and Peden, M. M. A., 2006. Effects of organochlorine contaminants on loggerhead sea turtle immunity: comparison of a correlative field study and In vitro exposure experiments. *Environmental Health Perspectives*, 114(1), pp.70-76.

Kelly, B. C., Ikonomou, M. G., Blair, J. D., Morin, A. E. and Gobas. F. A. P. C. 2007. Food web-specific biomagnification of persistent organic pollutants. *Science* 317 pp. 236-239.

Klavinš, M., Rodinov, V. and Vereskuns, G. 1998. Metals and organochlorine compounds in fish from Latvian Lakes. *Bulletin of Environmental Contamination and toxicology*. 60(4), pp.538-545.

Komoroske, L. M., Lewison, R. L., Seminoff, J. A., Deheyn, D. D. y P. H. Dutton, (2011). Pollutants and the health of green sea turtles resident to an urbanized estuary in San Diego, CA. *Chemosphere*, 84(5): pp. 544–552.

Kutlu, S., Colakoglu, N., Halifeoglu, I., Sandal, S., Seyran, A. D., Aydin, M. and Yılmaz, B., 2007. Comparative evaluation of hepatotoxic and nephrotoxic effects of aroclors 1221 and 1254 in female rats. *Cell Biochemistry and Function*, 25(2), pp. 167–172.

- Labrada, V. M., 2011. *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 de doctorado. Orientación en Biología Marina. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C.
- 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), pp. 162–172.
- Labrada-Martagón, V., Tenorio, P. A. R., Méndez-Rodríguez, L., 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*, 154(2), pp. 65–75
- Lara, U. M. M., 2011. *Establecimiento de valores hematológicos y bioquímicos de las tortugas carey (Eretmochelys imbricata) y blanca (Chelonia mydas), con y sin parásitos o fibropapiloma, que anidan en Yucatán*. Tesis de doctorado. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán.
- Lawton, R. W., Ross, M. R., Feingold, J., and Brown, J. F., 1985. Effects of PCB exposure on biochemical and hematological findings in capacitor workers. *Environ Health Perspect*, 60, pp. 165–184.
- Lazar, B., Maslov, L., Romanić, S. H., Grac̃an, R., Krauthacker, B., Holcer, D. y N. Tvrtković, 2011. Accumulation of organochlorine contaminants in loggerhead sea turtles, *Caretta caretta*, from the eastern Adriatic Sea. *Chemosphere*, 82(1), pp. 121–129.



- Le Boeuf, B. J., Giesy, J. P., Kannan, K., Kajiwara, N., Tanabe, S. and Debier, C., 2002. Organochloride pesticides in California sea lions revisited. *BMC Ecology*, 2(11), pp.1-8.
- Lima, E. H. S. M., Melo, M. T. D., Santos, A. S., Arenas, A. A. and Godfrey, M. H., 2014. Second Record of Tagged Loggerhead Moving Between South and North Atlantic. *Marine Turtle Newsletter*, 143, pp.16.
- Lutz, P. L. and Dunbar-Cooper, A. 1987. Variations in the blood chemistry of the loggerhead sea turtle, *Caretta caretta*. *Fishery Bulletin* 85(1), pp. 37-43.
- Lutcavage, M. E., Lutz, P. L., Bossart, G. D. and Hudson, D. M., 1995. Physiologic and clinicopathologic effects of crude oil on loggerhead sea turtles. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 28(4), pp.417-422.
- Malarvannan, G., Takahashi, S., Isobe, T., Kunisue, T., Sudaryanto, A., Miyagi, T., Nakamura, M., Yasumura, S., and Tanabe, S., 2011. Levels and distribution of polybrominated diphenyl ethers and organochlorine compounds in sea turtles from Japan. *Marine Pollution Bulletin*, 63(5-12), pp.172–178.
- Márquez, R., 1996. *Las tortugas marinas en nuestro tiempo*. México: Fondo cultura económica.
- Martínez-Silvestre, A., Lavín, S. y Cuenca, R., 2011. Hematología y citología sanguínea en reptiles. *Clínica Veterinaria de Pequeños Animales*, 31(3), pp. 131-141.
- McArthur, S., 2004. Clinical pathology. En: S. McArthur, R.Wilkinson, and J. Meyer, eds. *Medicine and surgery of tortoises and turtles*. Oxford, UK.: Blackwell Publishing Ltd. pp. 379-401.

- Mckenzie, C., Godley, B. J., Furness, R. W. and Wells, D.E., 1999. Concentrations and patterns of organochlorine contaminants in marine turtles from Mediterranean and Atlantic waters. *Marine Environmental Research*, 47(2), pp.117-135.
- Medellín, R. A., et al., 2009. *Conservación de especies migratorias y poblaciones transfronterizas, en Capital natural de México, vol. II: Estado de conservación y tendencias de cambio*. México: CONABIO, pp. 459-515.
- Medina, M. D. A., 2002. *Mytilopsis sallei y Brachidontes exustus como bioindicadores de contaminación por plaguicidas organoclorados en la Bahía de Chetumal, Q. Roo*. Tesis de licenciatura. Instituto Tecnológico de Chetumal.
- Milton, S. L., 2008. The physiology and anatomy of anoxia tolerance in the freshwater turtle brain. En: J. Wyneken, M. H. Godfrey and V. Bels, eds. *Biology of turtles*. Boca Ratón, Florida: CRC Press. pp. 301-344.
- Molinero, L. M., 2003. *¿Y si los datos no siguen una distribución normal?.... Sociedad Española de Hipertensión*. [online] Disponible en: <http://www.seh-lelha.org/noparam.htm> [Accesado 13 de junio del 2013].
- Monagas, M. P., 2007. *Detección de compuestos organoclorados en tortugas marinas varadas en las islas canarias y causas de mortalidad*. Tesis doctorado. Universidad de las Palmas de Gran Canaria.
- Monagas, P., Orós, J., Araña, J. and González-Díaz, O. M., 2008. Organochlorine pesticide levels in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) stranded in the Canary Islands, Spain. *Marine Pollution Bulletin*, 56(11), pp. 1949–1956.
- Moncada, F., Abreu-Grobois, F. A., Bagley, D., Bjorndal, K. A., Bolten, A. B., Camiñas, J. A., Ehrhart, L., Muhlia-Melo, A., Nodarse, G., Schroeder, B. A., Zurita, J. and Hawkes, L. A., 2010. Movement patterns of loggerhead turtles *Caretta caretta* in

- Cuban waters inferred from flipper tag recaptures. *Endangered Species Research*, 11(1), pp. 61-68.
- Montilla, A. J. F, Hernández, J. L. R., Bravo, A. R. H., Vera, V. J. M. y Mesa, J. F. M., 2008. Valores bioquímicos en sangre de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) presentes en la Alta Guajira, Venezuela. *Revista Científica FCV-LUZ*, 17(4), pp. 431-436.
- NOAA Fisheries, s/d. *Migration and Habitat Use*. [online] NOAA Fisheries, Southwest Fisheries Science Center. Disponible en: <https://swfsc.noaa.gov/textblock.aspx?Division=PRD&ParentMenuId=212&id=1334> [Accesado 1 enero del 2013].
- Ongley, E.D., 1997. *Lucha Contra la Contaminación Agrícola de los Recursos Hídricos. (Estudio FAO Riego y Drenaje - 55). Los plaguicidas, en cuanto contaminantes del agua*. Burlington, Canadá: FAO. Departamento de desarrollo sostenible. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/w2598s/w2598s00.htm#Contents>. [Accesado 1 enero del 2013].
- Owens, D. W., 2000. Ciclos reproductivos y endocrinología. En: K.L. Eckert, K.A.Bjorndal, F.A. Abreu-Grobios y M. Donnelly, eds. *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas*. Traducido del inglés por R. D. Briseño, et al. USA: UICN/CSE Grupo Especialista en Tortugas Marinas Publicación 4. pp. 126-131.
- Padilla, S. E. P., 2008. *Hematología, índice corporal y lesiones externas del cocodrilo de pantano *Crocodylus moreletti* en los Humedales del norte del Estado de Campeche, México*. Tesis de Maestría. El Colegio de la Frontera Sur.

- Peden-Adams M. M., Keller, J., Day, R., Johnson, A., EuDaly, J., Keil, D., Keil, D., Kucklick, J., Christopher, S., Maier, P. and Stender, B., 2002. *Relationship of lymphoproliferation and clinical blood parameters to contaminants in loggerhead turtles* [Abstract]. SETAC 16–20 November 2002. Disponible en: <<http://abstracts.co.allenpress.com/pweb/setac2002/document/20475>> [Accesada 21 de mayo de 2012].
- Pocok, G. y C. D. Richards, 2005. *Fisiología humana: la base de la medicina*. 2ª ed. Barcelona, España. Edit. Masson.
- Podreka, S., Georges, A., Maher, B. and Limpus, C. J., 1998. The environmental contaminant DDE fails to influence the outcome of sexual differentiation in the marine turtle *Chelonia mydas*. *Environmental Health Perspectives*, 106(4), pp. 185-188.
- Prieto-Torres, D. A., Hernández-Rangel, J. L., Bravo-Henrique, A. R., Alvarado-Árraga, M. C., Dávila-Ojeda, M. J. y Quiroz-Sánchez, N. R., 2012. Valores hematológicos de la población anidadora de tortuga verde (*Chelonia mydas*) en el refugio de fauna silvestre isla de aves, Venezuela. *Revista Científica FCV-LUZ*, 22(3), pp. 273–280.
- Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente, s/d. Residuos de plaguicidas agrícolas en aguas costeras del Caribe. Colombia, Costa Rica y Nicaragua 2008-2011. Kingston, Jamaica. Unidad de Coordinación Regional para el Caribe
- Pugh, R. S. y P. R. Becker, 2007. *Sea turtle contaminants: A review with annotated bibliography*. Report NISTIR 6700. Charleston USA: SC: National Institute of Standards and Technology.

- Ramírez, J. A. y Lacasaña, M., 2001. Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Archivos de Prevención y Riesgos Laborales*, 4(2), pp. 67-75.
- Rankin-Baransky, K., C.J., Williams, A.L., Bass, B.W., Bowen, and Spotila, J.R., 2001. Origin of loggerhead turtle (*Caretta caretta*) strandings in the northwest Atlantic as determined by mtDNA analysis. *Journal of Herpetology* 35(4), pp. 638-646.
- Real Academia Nacional de Medicina, s/d. *Anales de la Real Academia Nacional de Medicina* - 1999 - Tomo CXVI - Tomo 2. Madrid: Real Academia Nacional de Medicina.
- Rendón, V. O. J., 2005. Uso de biomarcadores en ecosistemas acuáticos. En: A. V. Botello, J. Rendón-von Osten, G. Gold-Bouchot y C. Agraz-Hernández, eds. *Golfo de México. Contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias*, 2ª ed. México: Universidad Autónoma de Campeche, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Ecología. pp. 121-140.
- Rendón, V. O. J., 2006. Ecosistemas acuáticos y contaminación por compuestos orgánicos persistentes (COPs). *JAINA Boletín Informativo*, 16(1), pp. 57-60
- Rybitski, M. J., Hale, R. C. y Musick, J. A., 1995. Distribution of organochlorine pollutants in Atlantic Sea Turtles. *Copeia*, 1995(2), pp. 379-390.
- Seaturtle.org, 2009. Seguimiento via satélite del desplazamiento de tortugas marinas, anidando en Baja California Sur-México. [online] Seaturtle.org. Disponible en: <[http://www.seaturtle.org/tracking/?project\\_id=1057](http://www.seaturtle.org/tracking/?project_id=1057)> [Accesado 30 de Abril de 2011].
- Secretaría CIT, 2004. *Una Introducción a las Especies de Tortugas Marinas del Mundo*. San José, Costa Rica. Secretaría Pro Tempore de la Convención Interamericana

para la Protección y Conservación de las Tortugas Marinas. [pdf]. Disponible en:  
<<http://www.iacseaturtle.org/publicaciones.htm>> [Accesado 30 de Abril de 2011].

- Smits, J. E., Fernie, K. J., Bortolotti, G. R. and Marchant, T. A., 2002. Thyroid Hormone Suppression and Cell-Mediated Immunomodulation in American Kestrels (*Falco sparverius*) Exposed to PCBs. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 43(3), pp. 338–344.
- Sonne, C., Dietza, R., Kirkegaard, M., Letcherb, R. J., Shahmirib, S., Andersenc, S., Møllera, P., Olsend, A. K. and Jensen, A. L. 2008. Effects of organohalogen pollutants on haematological and urine clinical–chemical parameters in Greenland sledge dogs (*Canis familiaris*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 69(3), 381–390.
- Sonne, C., Bustnes, J. O., Herzke, D., Jaspers, V. L. B., Covaci, A., Halley, D. J., Moumf, T., Eulaers, I., Eens, M., Ims, R. A., Hanssen, S. A., Erikstad, K. E., Johnsen, T., Schnug, L., Rigét, F. F. and Jensen, A. L., 2010. Relationships between organohalogen contaminants and blood plasma clinical–chemical parameters in chicks of three raptor species from Northern Norway. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(1), pp. 7–17.
- Sonne, C., Bustnes, J. O., Herzke, D., Jaspers, V. L. B., Covaci, A., Eulaers, I., Halley, D. J., Moum, M., Ballesteros, M., Eens, M. Ims, R. A., Hanssen, S. A., Erikstad, K. E., Johnsen, T. V., Rigét, F. F., Jensen, A. L. and Kjølgaard-Hansen, M., 2012. Blood plasma clinical–chemical parameters as biomarker end points for organohalogen contaminant exposure in Norwegian raptor nestlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 80, pp. 76–83.

- Stacy, N. I., Alleman, A. R. and Sayler, K. A., 2011. Diagnostic Hematology of Reptiles. *Clinics in Laboratory Medicine*, 31(1), pp. 87–108.
- Stamper, M. A., Harms, C., Epperly, S. P., Braun-McNeill, J., Avens, A. and Stoskopf, M. K., 2005. Hematologic parameters in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*), a comparison between migratory and residential animals in Pamlico Sound, North Carolina. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 36(4), pp. 635–641.
- Storelli, M. M. and Marcotrigiano, G. O., 2000. Chlorobiphenyls, HCB, and organochlorine pesticides in some tissues of *Caretta caretta* (Linnaeus) specimens beached along the Adriatic Sea, Italy. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 64(4), pp. 481-488.
- Storelli, M.M., Barone, G. and Marcotrigiano, G.O., 2007. Polychlorinated biphenyls and other chlorinated organic contaminants in the tissues of Mediterranean loggerhead turtle *Caretta caretta*. *Science of the Total Environment*, 373(2-3), pp. 456–463.
- Storelli, M.M., Casalino, E., Barone, G., and Marcotrigiano, G.O., 2008. Persistent organic pollutants (PCBs and DDTs) in small size specimens of bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) from the Mediterranean Sea (Ionian Sea). *Environment International*, 34(4), pp. 509–513.
- Valdivia, P. A., Zenteno-Savín, T., Gardner, S. C. and Aguirre, A. A., 2007. Basic oxidative stress metabolites in eastern Pacific green turtles (*Chelonia mydas agassizii*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 146(1-2), 111–117.
- van de Merwe, J. P., Hodge, M., Olszowy, H. A., Whittier, J. M., Ibrahim, K. and Lee, S. Y., 2009. Chemical contamination of green turtle (*Chelonia mydas*) eggs in

- Peninsular Malaysia: implications for conservation and public health. *Environmental Health Perspectives*, 117(9), pp. 1397-1401.
- van der Oost, R., Beyers, J. and Vermeulen, N. P. E., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13(2), pp. 57–149.
- Viveros, L. P., 1992. *Las tortugas marinas en Quintana Roo*. Cuadernos de divulgación no.1. Chetumal, Quintana Roo: Centro de investigaciones de Quintana Roo.
- Wade, M. G., Foster, W. G., Younglai, E. V., McMahon, A., Leingartner, K., Yagminas, A., Blakey, D., Fournier, M., Desaulniers, D. and Hughes, C. L., 2002. Effects of subchronic exposure to a complex mixture of persistent contaminants in male rats: systemic, immune, and reproductive effects. *Toxicological sciences*, 67(1), pp. 113-143.
- Wallace, B. P., DiMatteo, A. D., Bolten, A. B., Chaloupka, M. Y., Hutchinson, B. J., et al., 2011. *Global conservation priorities for marine turtles*. PLoS ONE 6(9), pp. 1-14. e24510. doi:10.1371/journal.pone.0024510
- Watts, M., 2009. *Endosulfan*. 2a ed. Malaysia: Pesticide Action Network Asia & Pacific.
- Wilkinson, R., 2004. Clinical pathology. En: S. McArthur, R. Wilkinson, and J. Meyer, eds. *Medicine and surgery of tortoises and turtles*. Oxford, UK.: Blackwell Publishing Ltd. pp. 141-186.
- Yu, S., Halbrook, R. S. and Sparling, D. W., 2012. Accumulation of polychlorinated biphenyls (PCBs) and evaluation of hematological and immunological effects of PCB exposure on turtles. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88(6), pp. 823–827.
- Zar, J. H., 1999. *Biostatistical analysis*. 4 ed. USA: Prentice-Hall.



- Zhang, F., Gu, H. and Li, P., 2011. A review of chelonian hematology. *Asian Herpetological Research*, 2(1), pp. 12-20.
- Zurita, J. C. G., Herrera, R. y Prezas, B., 1993. Tortugas marinas del Caribe. En: S. I. Salazar-Vallejo y N. E. González, eds. *Biodiversidad marina y costera de México*. México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Aprovechamiento de la Biodiversidad, Centro de Investigaciones de Quintana Roo. pp. 733-751.
- Zurita, J.C., Prezas, B., Hererra, R. y Miranda, J. L., 1994. Sea turtle tagging program in Quintana Roo, Mexico. In: K.A. Bjorndal, A.B. Bolten, D.A. Johnson and P.J. Eliazar (Eds.). *Proceedings of the fourteenth Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*. NOAA-TM-NMFS-SEFSC-351. pp. 300-303.
- Zurita, J. C. G., 2009. Situación actual de la tortuga caguama en el golfo de México y en el Mar Caribe. En: Sarti, L., A. Barragán y C. Aguilar (Comp.). *Memorias de la reunión nacional sobre conservación de tortugas marinas 2007*. Veracruz, Veracruz, México: Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas, SEMARNAT. pp. 59-62.

## ANEXOS

### Anexo 1

Lista de plaguicidas organoclorados determinados en las muestras y del estándar.

<b>Drines</b>	<b>Hexaclorociclohexano (HCH's)</b>	<b>Heptacloros</b>	<b>DDT's</b>	<b>Endosulfanes</b>
Aldrín	Alfa	Heptacloro	p,p'-DDD	Endosulfán I
Dieldrín	Beta	Heptacloro époxico	p,p'-DDE	Endosulfán II
Endrín aldehído	Gama (Lindano)		p,p'-DDT	Endosulfan sulfato
	Delta			

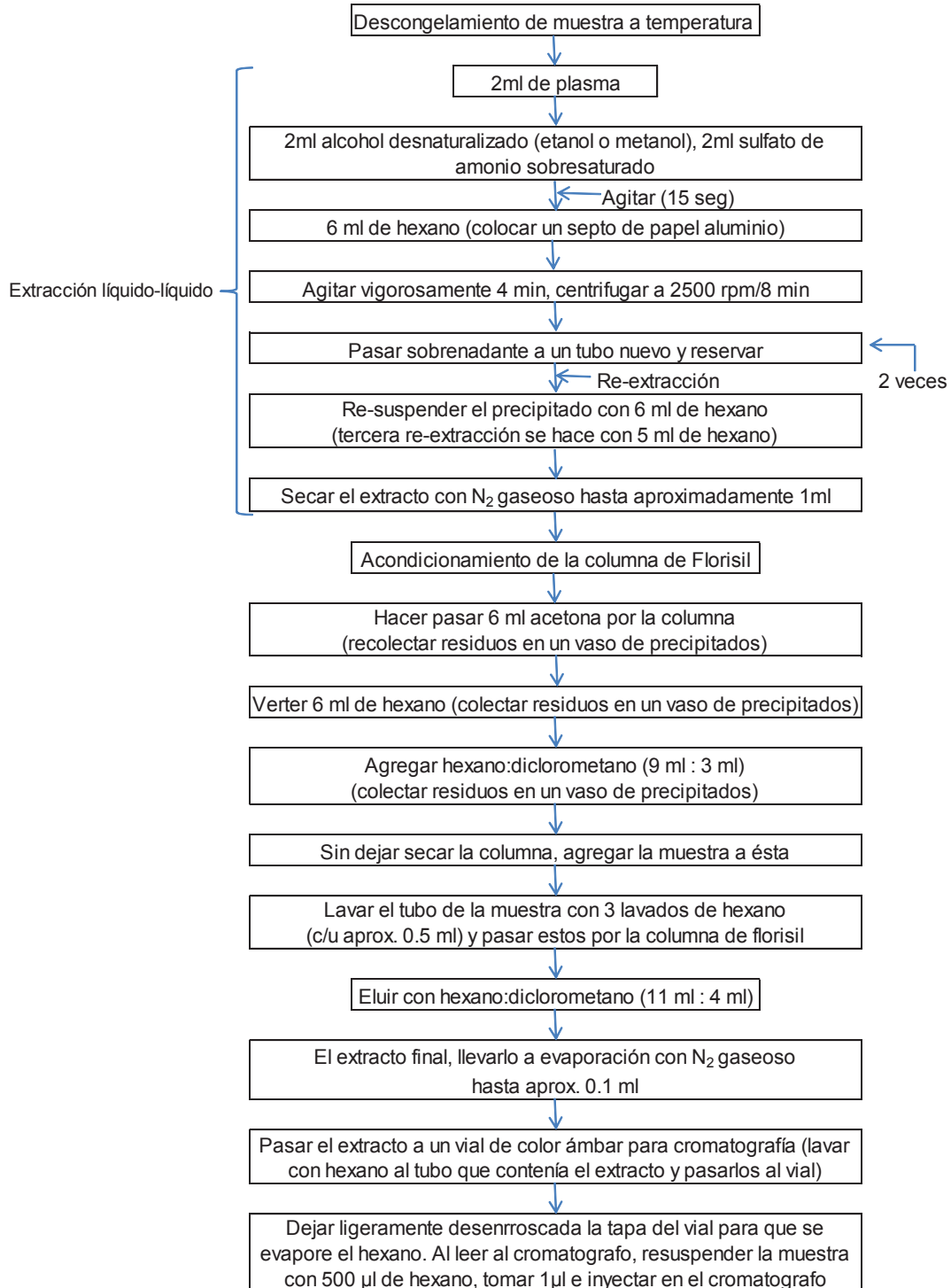
### Anexo 2

#### Aspectos éticos en la investigación

Para el desarrollo de este estudio, en el cual se necesitó de la obtención de muestras de sangre de tortuga *Caretta caretta*, se contó con los permisos que autorizan la colecta científica que se requieren para una población u especie en riesgo, otorgado por la Dirección General de la Vida Silvestre. Este permiso fue el oficio no. SGPA/DGVS 02713/12. También, se tuvo contacto con los campamentos tortugueros a cargo de estas zonas de anidación y, de los cuales se obtuvo apoyo para la realización del presente trabajo. Estos campamentos fueron de la Fundación Ecologica Bahía Príncipe Tulum, A. C. (donde se realizó la obtención de muestras), y Flora, Fauna y Cultura de México, A. C. (donde se proporcionó alojamiento y datos de las tortugas muestreadas).

### Anexo 3

Técnica de extracción de plaguicidas organoclorados (POC) en plasma de tortugas marinas, según Díaz (2004), con modificaciones.



#### Anexo 4

Límites de detección (LD) y cuantificación (LC) del cromatografo para los POC.

<b>POC</b>	<b>LD (ng/ml)</b>	<b>LC (ng/ml)</b>
Aldrín	0.064	0.213
Dieldrín	0.032	0.105
Endrín	0.004	0.013
Endrín aldehído	0.103	0.344
$\alpha$ -HCH	0.014	0.047
$\beta$ -HCH	0.031	0.104
$\gamma$ -HCH	0.030	0.100
$\delta$ -HCH	0.059	0.197
Heptacloro	0.046	0.155
Heptacloro hepóxido	0.029	0.094
p,p'-DDE	0.022	0.072
p,p'-DDD	0.095	0.315
p,p'-DDT	0.174	0.581
Endosulfán I	0.040	0.135
Endosulfán II	0.26	0.060
Endosulfán sulfato	0.139	0.464

Anexo 5

Concentración individual de plaguicidas organoclorados (POC) en ng/ml de tortugas *C. caretta* anidadoras de Quintana Roo, en la temporada 2012.

Tortuga marca	Drines				Hexaclorociclohexano				Heptacloro		DDT's				Endosulfán I		
	Aldrin	Dieldrin	Endrin	Endrin aldehído	$\alpha$ -HCH	$\beta$ -HCH	$\gamma$ -HCH	$\delta$ -HCH	Heptaclo ro	Heptacloro epóxido	p,p'- DDE	p,p'- DDD	p,p'- DDT	Endosulfán I	Endosulfán II	Endosulfán sulfato	
XF007	ND	0.641	6.997	2.456	0.139	2.775	1.881	1.421	6.135	0.740	2.951	1.752	ND	3.154	3.787	ND	
XM973	0.548	1.223	0.425	ND	2.070	1.710	0.747	ND	0.855	0.120	6.210	0.002	ND	1.219	1.384	2.092	
XL342	1.412	0.997	ND	ND	1.236	2.883	0.917	ND	0.941	1.255	1.495	ND	1.120	ND	ND	1.021	
XF335	ND	2.396	ND	ND	0.891	0.089	0.750	ND	1.082	ND	1.092	ND	0.401	ND	0.291	3.353	
XB547	ND	2.311	2.806	2.097	0.563	0.186	0.496	ND	1.943	0.099	3.852	4.091	13.214	ND	2.268	ND	
XL319	3.825	ND	ND	1.024	4.487	7.915	1.033	ND	4.466	1.697	0.030	0.830	4.755	ND	2.012	ND	
XV421	0.801	0.671	ND	ND	1.499	ND	ND	6.534	ND	2.973	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
XW500	3.440	0.475	ND	0.827	2.305	ND	ND	4.928	ND	1.158	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
XW857	ND	0.791	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
XL105	2.438	ND	ND	0.667	2.420	ND	ND	6.005	ND	0.729	0.272	ND	ND	ND	ND	ND	
XW919	0.686	ND	0.200	ND	ND	ND	1.404	2.442	2.502	0.732	0.131	ND	ND	ND	ND	ND	
XF376	ND	ND	ND	ND	0.306	ND	3.061	1.233	2.034	0.321	0.037	ND	ND	ND	ND	ND	
XW861	0.194	ND	ND	ND	ND	ND	0.094	ND	0.161	ND	0.370	ND	ND	ND	ND	ND	
XF558	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.110	ND	0.244	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
XZ695	0.923	ND	ND	ND	ND	1.244	0.720	0.540	0.364	0.114	0.208	ND	ND	ND	ND	ND	
XF315	ND	ND	ND	0.256	0.825	1.672	1.294	0.266	2.375	0.065	0.179	0.169	ND	ND	0.132	ND	
XW342	1.178	ND	0.461	0.334	1.211	2.543	3.819	0.727	4.522	ND	0.602	ND	ND	ND	0.750	ND	
XP116	ND	ND	ND	ND	ND	ND	<b>450.3</b>	ND	ND	ND	ND	<b>1055.9</b>	<b>608.1</b>	ND	ND	ND	
XL003	ND	2.666	ND	0.232	ND	28.882	6.369	2.974	ND	ND	ND	0.834	ND	ND	0.209	ND	
XW466	<b>94.052</b>	ND	ND	ND	<b>53.315</b>	ND	ND	ND	<b>65.128</b>	ND	ND	<b>602.22</b>	ND	ND	ND	ND	

XW927	ND	ND	0.633	ND	5.660	27.074	10.141	ND	ND	5.934	ND	ND	ND	ND	0.384	ND
EK746	ND	ND	0.623	ND	0.599	ND	5.147	ND	0.607	ND	ND	0.229	ND	ND	ND	ND
XF046	1.059	0.113	0.976	ND	1.163	ND	3.730	ND	1.885	ND	0.443	0.391	ND	ND	ND	0.053
XW910	3.599	0.256	ND	1.247	1.263	1.562	ND	5.236	11.224	ND	ND	0.078	ND	0.153	ND	ND
XZ654	ND	ND	0.483	ND	1.054	ND	3.271	ND	2.575	ND	ND	0.340	ND	ND	ND	ND
AM044	0.066	ND	ND	ND	ND	1.367	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
XW434	1.650	5.644	1.946	0.665	ND	15.771	ND	ND	ND	ND	0.037	0.166	ND	3.261	ND	ND
J5771	0.467	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
XW455	1.125	ND	0.324	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
XZ696	4.955	0.098	0.167	ND	ND	1.667	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
XW911	4.071	ND	0.446	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.637	0.637	ND	3.196	ND	ND
XW875	ND	ND	0.684	ND	ND	1.559	ND	0.725	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
XW861-r	ND	ND	ND	ND	ND	0.728	ND	0.659	ND	ND	0.065	ND	ND	ND	ND	ND
XP990	ND	ND	ND	ND	ND	0.985	ND	0.575	ND	ND	0.062	ND	ND	ND	ND	ND
XZ946	ND	ND	ND	ND	ND	0.513	ND	0.407	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
XW348	ND	ND	ND	ND	ND	1.764	ND	0.839	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
XW826	ND	ND	0.180	0.401	ND	1.417	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
% frecuenci a	51	37	43	31	49	60	51	46	49	37	49	29	11	14	26	9

ND= valores no detectados.

Las letras en negritas denotan las dos muestras que no fueron tomadas en cuenta para los análisis estadísticos por presentar valores muy extremos.

## Anexo 6

Valores de bioquímica sanguínea de tortugas *C. caretta* anidadoras de Quintana Roo (n=26), en la temporada 2012. Se presenta con largo y ancho curvo de caparazón (LCC y ACC).

Clave	Glucosa (mg/dl)	Ac. úrico (mg/dl)	AST (U/l)	LDH (U/l)	Albumina (g/dl)	Urea (mg/dl)	BUN (mg/dl)	LCC (cm)	ACC (cm)
XF315	320	12.30	73.00	5.00	4.40	4.30	2.00	100.20	87.40
XW927	840	3.60	125.00	43.00	6.10	100.80	47.10	92.70	88.30
XR313	700	7.30	108.00	21.00	3.80	27.90	13.00	94.90	88.80
XF335	560	8.60	67.00	13.00	3.30	7.50	3.50	99.20	87.70
XZ695	980	8.40	89.00	21.00	5.00	41.70	19.50	96.80	92.70
XW342	80	5.80	75.00	29.00	3.20	15.80	7.40	93.90	83.50
XW500	800	6.40	58.00	14.00	5.40	59.50	27.80	87.00	82.80
EK746	880	9.40	145.00	16.00	5.70	46.50	21.70	101.10	94.30
AM044	820	12.10	86.00	19.00	5.70	6.50	3.10	99.60	94.50
XW434	680	7.80	204.00	19.00	5.10	39.90	18.70	102.10	92.20
XB547	400	8.60	193.00	14.00	7.10	41.70	19.50	100.00	90.10
XW857	620	12.43	87.00	31.00	3.70	34.40	16.10	106.70	97.10
XW861	40	11.78	129.00	28.00	6.20	53.80	25.10	106.40	100.60
XW910	320	7.02	115.00	40.00	3.80	70.90	33.10	92.60	80.00
XL342	120	8.86	98.00	17.00	6.40	130.90	61.20	100.80	88.60
XL105	680	9.10	85.00	22.00	6.00	13.60	6.30	96.30	86.80
XZ946	420	11.80	73.00	26.00	5.20	38.70	18.10	93.50	83.20
XV421	360	7.30	421.00	37.00	7.40	34.70	16.20	107.50	96.40
XF007	400	16.00	28.00	30.00	3.10	28.60	13.40	104.60	95.00
XF376	240	13.80	67.00	28.00	4.20	58.00	27.10	95.60	89.50
XP116	420	12.10	74.00	36.00	5.10	44.50	20.80	94.20	89.60
XZ654	540	11.10	54.00	26.00	3.90	70.40	32.90	94.10	79.90
XW919	1080	12.60	62.00	40.00	3.90	67.10	31.30	92.80	86.20
XF558	600	16.10	44.00	27.00	4.20	57.00	26.70	91.00	82.00
XW466	320	10.80	64.00	16.00	3.80	69.60	32.50	102.10	97.20
XL003	980	7.40	60.00	21.00	4.50	20.10	9.40	99.30	82.80
<b>media</b>	546.15	9.94	103.23	24.58	4.85	45.55	21.29	97.88	89.12
<b>desv est</b>	288.32	3.09	77.00	9.54	1.21	29.24	13.66	5.24	5.70
<b>mediana</b>	550.00	9.25	80.00	24.00	4.75	41.70	19.50	98.00	88.70
<b>mínimo</b>	40.00	3.60	28.00	5.00	3.10	4.30	2.00	87.00	79.90
<b>máximo</b>	1080.00	16.10	421.00	43.00	7.40	130.90	61.20	107.50	100.60

## Anexo 7

Resumen de valores de la bioquímica sanguínea (media + DE, rango) reportados en tortugas de *C. caretta*, *C. mydas* y *E. imbricata*.

Parámetro	Presente estudio	<i>C. caretta</i> <sup>A</sup> (Anidadoras)	<i>C. caretta</i> <sup>B</sup> (anidadora)	<i>C. caretta</i> <sup>C1</sup> (anidadora)	<i>C. caretta</i> <sup>D</sup> (anidadora)	<i>E. imbricata</i> <sup>E1</sup> (anidadora)	<i>C. mydas</i> <sup>E2</sup> (anidadora)
Glucosa (mg/dl)	546.15 (± 288.32), 40-1080	87.18 (± 23.99) 38.00-136.00		96.04 (± 14.95) 73.88-113.51		107 (± 1.67), 104-110	126 (± 5.00), 118-135
Albumina (g/dl)	4.85 (± 1.21), 3.10-7.40	1.65 (± 0.23) 1.20-2.30	1.70, 1.10-2.60	1.70 (± 0.20), 1.40-1.90	1.30 (± 0.40), 0.50-2.10	0.38 (± 0.05), 0.31-0.48	0.35 (± 0.06), 0.30-0.49
Aspartato amino transferasa	103.23 (± 77), 28-421	221.40 (± 67.15) 87.00-372.00	123, (51-214)	157*, 116-190	151 (± 61.86), 46-330	138 (± 7.20), 129-284	139 (± 9.98), 128-163
Lactato deshidrogenasa (U/l)	24.58 (± 9.54), 5-43	134.68 (± 130.54) 1.00-671.00	310, <100-827	592*, 22-1172		549 (± 96.2) 442-1142	539 (± 166.60), 429-899
Ac. úrico (mg/dl)	9.94 ± (3.09), 3.60-16.10	0.82 (± 0.33) 0.10-19.00		0.40*, 0.20-0.90	1.68, 0.80-3.36	5.30 (± 0.40), 4.70-6.00	5.70 (± 1.30), 4.20-8.60
Urea (mg/dl)	45.55 ± (29.24), 4.30-130.90	31.30 (± 8.14) 14.00-56.00	43.24, 30-58.30		35.25, (± 13.50), 11-70		
BUN (mg/dl)	21.29 ± (13.66), 2.0-61.20			8.03*, 5.03-13.03		37.30 (± 1.48) 34.20-39.80	33.50 (± 7.30), 24.40-46.10

A= Camacho, et al., 2013 media ±(DE), rango. Isla Boa Vista, Cabo Verde, África.

B= Casal, et al., 2009 media, rango. Cabo Verde, África. (Atlántico oriental)

C1 y C2=Deem, et al., 2009 media ± (DE), rango, \*= mediana. Georgia, USA (Atlántico Norte).

D= Goldberg, et al., 2011 media ± (DE), rango. Río de Janeiro, Brasil.

E1 y E2= Lara, 2011 media ± (DE), rango. Yucatán, México.

...Continúa cuadro 16

Parámetro	<i>C. caretta</i> <sup>F</sup> (Juveniles- adultos)	<i>C. caretta</i> <sup>G</sup> (Juveniles)	<i>C. caretta</i> <sup>C2</sup> (forrajera)	<i>C. caretta</i> <sup>H</sup> (Subadultos- adultos)	<i>C. mydas</i> <sup>I1</sup> (Subadultos)	<i>C. mydas</i> <sup>I2</sup> (adultos)
Glucosa (mg/dl)	80.10 (± 21.80)	109 (± 18), 76-146	105.95 (± 20), 70.27-136.94	14.41 (3.60-36.04) 250.45 (169.37-273.87)	119.54 (± 32.17), 71.50-198	164.83 (± 16.92), 79-298
Albumina (g/dl)	0.60 (± 0.20)	1.10 (± 0.20), <1.00-1.50	1.30 (± 0.30), 0.80-1.60	0.60 (0.50-0.80) 1.80 (1.60-1.90)	1.27 (± 0.37), 0.79- 2.00	1.47 (± 0.60), 0.92-2.10
Aspartato amino transferasa	185 (± 86)	229 (± 59), 128-355	165*, 2.00-255	78.70 (71.1-87.4) 274.60 (250.3-296.9)	169.10 (± 74.90), 10.14-262	167.07 (± 131.89), 18.70-271
Lactato deshidrogenasa (U/l)	120 (± 82)	182 (± 102), 60-465	572*, 6.00-1376	29.40 (25.40-34.20) 391.80 (320.80-440.50)		
Ac. úrico (mg/dl)	0.70 (± 0.20)	0.80 (± 0.70), 0.30-3.40	0.70*, 0.20-1.20	0.084 (0.034-0.44) 2.66 (2.30-2.72)	3.06 (± 4.40), 0.30- 12.90	4.58 (± 4.58) 1.20-9.80
Urea (mg/dl)				9.00 (7.21-128.52) 297.90 (270.27-324.32)		
BUN (mg/dl)	49 (± 19)	101 (± 40), 25-197	83.21*, 1.00-107.27			

F= Bolten, Jacobson y Bjorndal, 1992 media ±(DE). Florida (Atlántico)

G= Keller, et al., 2004c media ± (SE), rango. Carolina del Norte (Atlántico Norte)

H= Flint, et al., 2010 mediana e intervalos de referencia (90% de confianza para el límite más bajo y más alto) (Australia)

I1 e I2= Labrada-Martagón, et al., 2010 media ± (DE), rango. Punta Abrejos, Baja California Sur, México



## Anexo 8

Resumen de valores del hemograma (media  $\pm$  DE, rango) reportados en tortugas de *C. caretta* y *C. mydas*.

Parámetro	Presente estudio	<i>C. caretta</i> <sup>A1</sup> (juveniles migrantes)	<i>C. caretta</i> <sup>A2</sup> (juveniles residentes)	<i>C. caretta</i> <sup>B</sup> (juveniles)	<i>C. caretta</i> <sup>C</sup> (hembras adultas)	<i>C. caretta</i> <sup>D</sup> (anidadoras)	<i>C. caretta</i> <sup>E</sup> (adultos silvestres)	<i>C. mydas</i> <sup>F</sup> (anidadoras)
HTO (%)	33.82 ( $\pm$ 2.86), 30-38	28, 23-35.6	32 23.60-36.80	28 ( $\pm$ 5.77), 19-43	36.57 ( $\pm$ 4.38)	40, 28-54	29 ( $\pm$ 5) 21-33	30.77 ( $\pm$ 4.1) 23-46
RBC ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ )	0.40 ( $\pm$ 0.05), 0.32-0.53	0.88 0.64-1.18	0.38 0.28-0.57		0.38 ( $\pm$ 0.53)	0.09, 0.02-0.40	0.41 ( $\pm$ 0.08) 0.34-0.56	0.46 ( $\pm$ 0.14)
WBC ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	4.17 ( $\pm$ 0.79), 2.97-5.20	14.3 4.66-21.90	15.80 8.46-20.01		5.69 ( $\pm$ 2.46)	1.6, 0.3-4.40	22.80 ( $\pm$ 11.03) 13.5-39	3.66 ( $\pm$ 0.24)
Heterófilo (%)	59.09 ( $\pm$ 12.11), 31-78	60 18.40-74.60	27 11.20-47.60	75.80 ( $\pm$ 9.08) 51.61-88.61	48.22 ( $\pm$ 3.23)		52.60 ( $\pm$ 25.7) 9.9-78	52.30 ( $\pm$ 12.8) 20-85
Linfocitos (%)	31 ( $\pm$ 11.70), 20-61	36 17.40-64.80	65 42.80-82.40	18.41 ( $\pm$ 7.11) 4.40-30.92	42.44 ( $\pm$ 11.3)		42.30 ( $\pm$ 25.3) 20-85.40	36 ( $\pm$ 12.3) 10-74
Monocitos (%)	2.18 ( $\pm$ 1.47), 0-5			1.20 ( $\pm$ 1.36) 0-5.31	0.67 ( $\pm$ 1.53)		1.80 ( $\pm$ 1.9) 0.2-5.0	3.8 ( $\pm$ 3.7) 0-14
Eosinófilos (%)	5.82 ( $\pm$ 6.84), 0-19	2 0-10.60	6 1.60-15.80	4.51 ( $\pm$ 6.33) 0-29.40			2.30 ( $\pm$ 1.9) 1.00-4.50	7.4 ( $\pm$ 5.7) 0-26
Basófilos (%)	1.91 ( $\pm$ 2.34), 0-8	0	0	0 ( $\pm$ 0)	0.36 ( $\pm$ 0.29)		1 ( $\pm$ 0.0)	0.40 ( $\pm$ 1.5) 0-9

A= Stamper, et al., 2005, % mediana y percentiles 10-90. Pamlico Sound, Carolina del Norte (Atlántico Norte).

B= Casal y Orós, 2007, % media ( $\pm$  DE), rango. Las Palmas de Gran Canaria, Islas Canarias, España (Atlántico Norte)

C= Kakioe, et al., 2007, % media ( $\pm$  DE). Honshu, Japón (Océano Pacífico).

D=Casal, et al., 2009, % mediana, rango. Islas Canarias y Cabo Verde, España y África (Atlántico Oriental).

E= Basile, et al., 2012, % media ( $\pm$  DE), rango. Nápoles, Italia (Mar Mediterráneo).

F= Prieto-Torres, et al. 2012, % mediana, rango. Isla aves, Venezuela. (Mar Caribe).

## Anexo 9

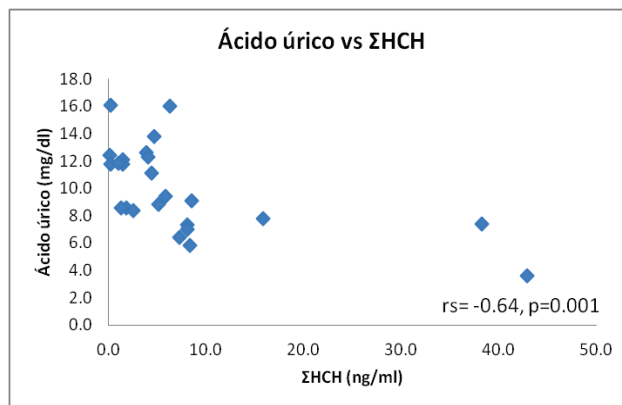
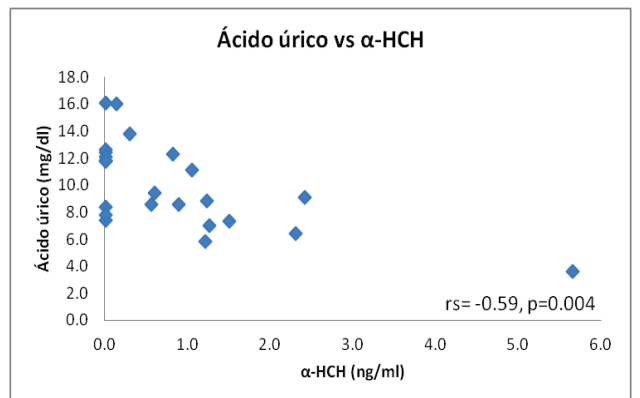
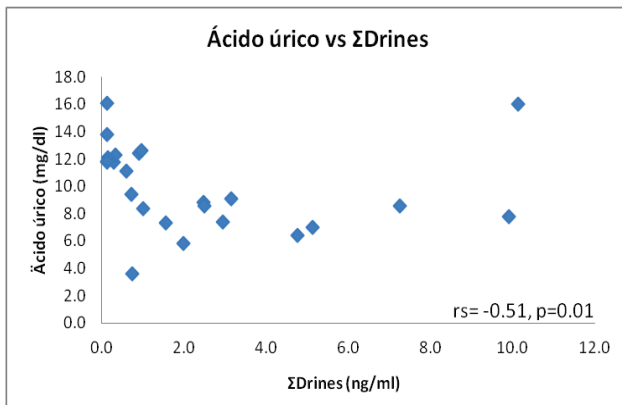
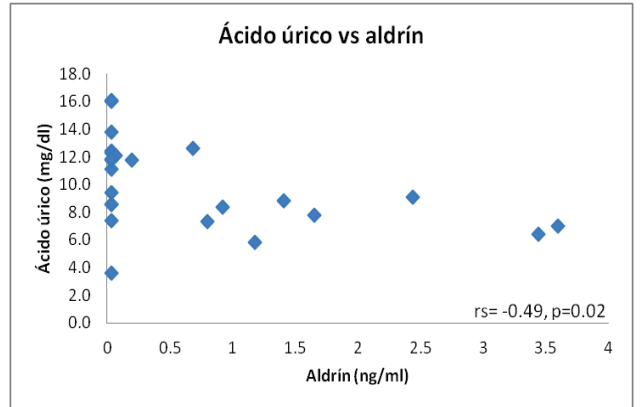
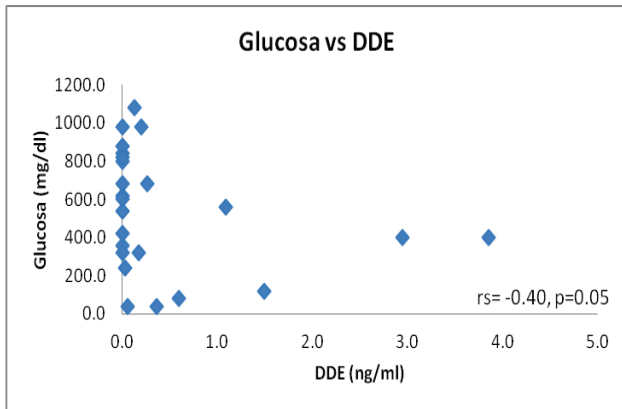
Concentraciones de POC en sangre o/y plasma sanguíneo (promedio,  $\pm$  DS, rango) de tortugas marinas en ng/ml\* o ppm/húmeda\*\*.

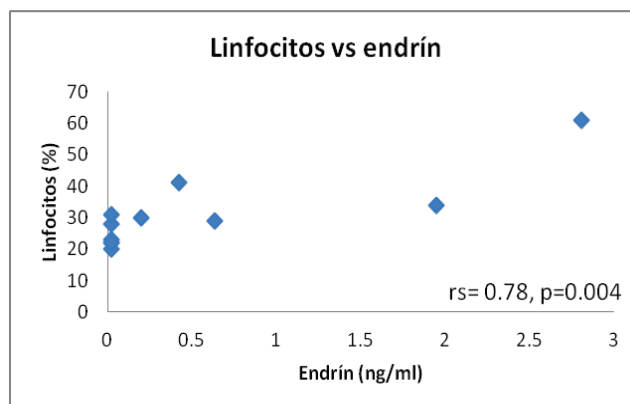
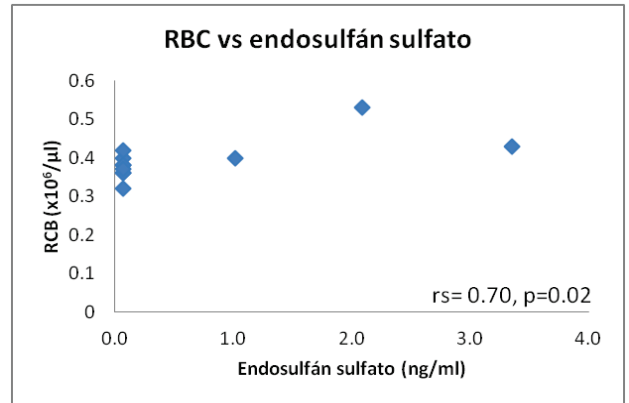
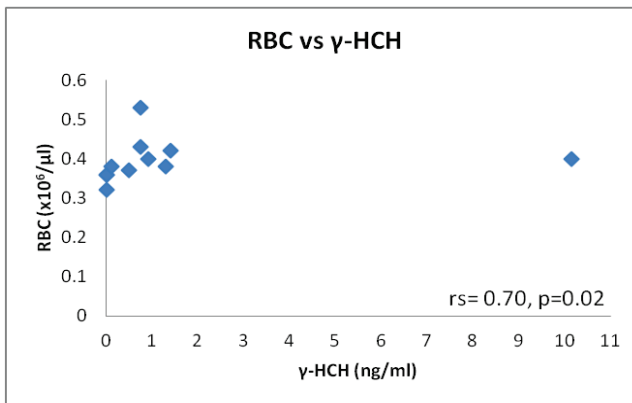
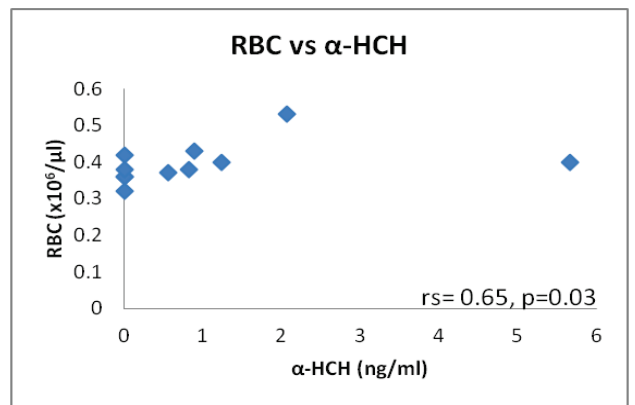
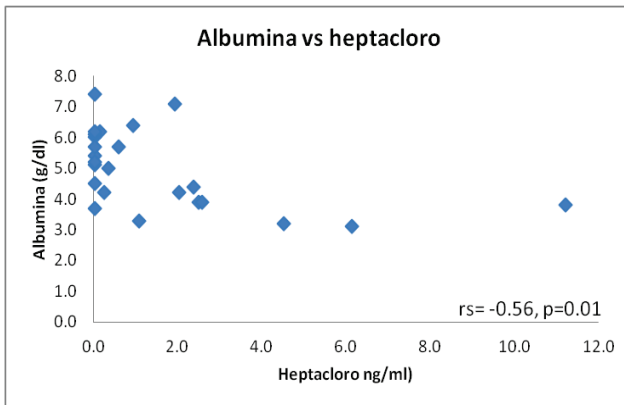
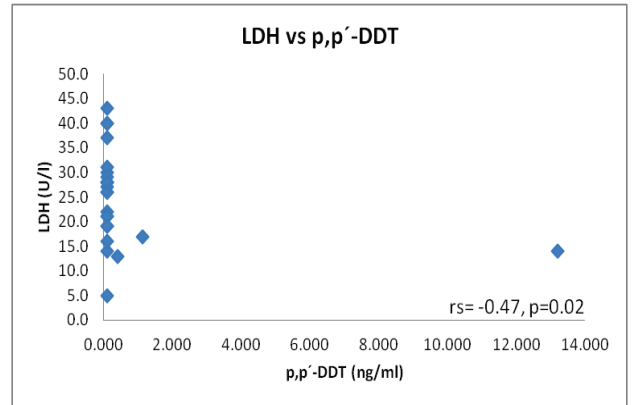
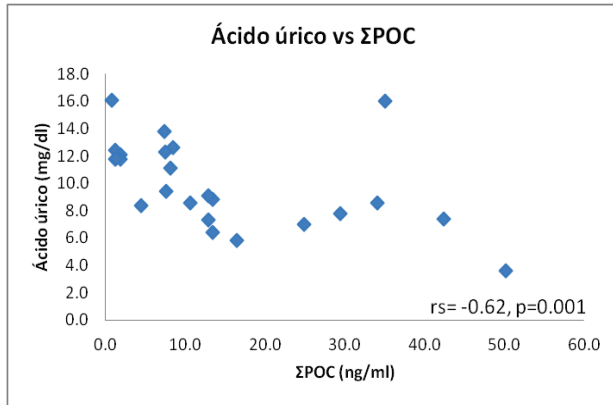
POC	Presente estudio*	Labrada (2011)*	García (2010) **		Guirlet et al. (2010)*	Camacho et al. (2013)*
	Caguama anidadora	Verde Juvenil-adulto	Carey anidadora	Blanca anidadora	Laúd anidadora	Caguama anidadora
<b>Aldrin</b>	1.80 $\pm$ 1.52, 0.07-4.95	0.95, 0.005-25.94 <sup>(1)</sup> y 10.43, 0.05-27.86 <sup>(2)</sup>		3.49 $\pm$ 3.15		
<b>Dieldrin</b>	1.41 $\pm$ 1.54, 0.10-5.64		1.52	11.33 $\pm$ 8.36		0.008 $\pm$ 0.03
<b>Endrin</b>	1.16 $\pm$ 1.77, 0.17-6.10	1.06, 0.005-5.17 <sup>(1)</sup>		5.23 $\pm$ 4.30		
<b>Endrin aldehído</b>	0.93 $\pm$ 0.74, 0.23-2.46					
<b><math>\Sigma</math>drines</b>	2.67 $\pm$ 2.75, 0.07-10.09		1.52 $\pm$ 0.50	8.37 $\pm$ 7.92		
<b><math>\alpha</math> alfa</b>	1.63 $\pm$ 1.46, 0.14-5.66	0.161, 0.001-1.34 <sup>(1)</sup> y 1.32, 0.001-2.37 <sup>(2)</sup>	10.16 $\pm$ 7.21	7.09 $\pm$ 4.78		
<b><math>\beta</math> beta</b>	4.97 $\pm$ 8.39, 0.09-28.88	1.17, 0.001-10.71 <sup>(1)</sup> y 4.584, 0.001-23.35 <sup>(2)</sup>	5.60 $\pm$ 5.62	10.13 $\pm$ 6.12		
<b><math>\gamma</math> gama (lindano)</b>	2.50 $\pm$ 2.62, 0.09-10.14	0.77, 0.001-9.80 <sup>(1)</sup> y 2.96, 0.001-9.64 <sup>(2)</sup>	5.86 $\pm$ 6.52	6.49 $\pm$ 6.09		
<b><math>\delta</math> delta</b>	2.22 $\pm$ 2.20, 0.27-6.53	0.79, 0.001-9.83 <sup>(1)</sup> y 2.61, 0.001-10.57 <sup>(2)</sup>	5.96 $\pm$ 6.53	9.97 $\pm$ 10.68		
<b><math>\Sigma</math>HCH</b>	6.85 $\pm$ 9.73, 0.09-42.88		14.12 $\pm$ 13.92	14.67 $\pm$ 13.56	0.15 $\pm$ 0.16, 0.09-0.90	
<b>Heptacloro</b>	2.58 $\pm$ 2.78, 0.16-11.22	8.60, 0.001-36.49 <sup>(1)</sup> y 2.73, 0.001-13.77 <sup>(2)</sup>	26.28 $\pm$ 19.65	22.81 $\pm$ 19.80		
<b>Heptacloro epóxido</b>	1.23 $\pm$ 1.63, 0.06-5.93	0.005-7.88 <sup>(1)</sup> y 1.84, 0.005-1.69 <sup>(2)</sup>		1.27 $\pm$ 1.30		
<b><math>\Sigma</math>Heptacloro</b>	2.85 $\pm$ 2.74, 0.16-11.22		26.29 $\pm$ 19.65	23.03 $\pm$ 20.27		
<b>p,p'-DDE</b>	1.06 $\pm$ 1.72, 0.03-6.21			8.53 $\pm$ 1.67		0.075 $\pm$ 0.07
<b>p,p'-DDD</b>	0.94 $\pm$ 1.20, 0.17-4.09	0.005-11.80 <sup>(2)</sup>		7.06		
<b>p,p'-DDT</b>		0.001-0.26 <sup>(1)</sup> y 3.98 <sup>(2)</sup>				
<b><math>\Sigma</math>DDT's</b>	2.13 $\pm$ 4.64, 0.04-21.16		93.09 $\pm$ 52.19	29.92 $\pm$ 35.25	0.31 $\pm$ 0.22, 0.09-1.04	
<b>Endosulfán I</b>	2.20 $\pm$ 1.43, 0.15-3.26	0.005-1.22 <sup>(2)</sup>		94.94 $\pm$ 18.30		
<b>Endosulfán II</b>	1.25 $\pm$ 1.24, 0.13-3.79	0.005-7.54 <sup>(2)</sup>	14.98			
<b>Endosulfán sulfato</b>	2.15 $\pm$ 1.17, 1.02-3.35	0.005-12.99 <sup>(2)</sup>	10.25	8.9		
<b><math>\Sigma</math>endosulfán <math>\Sigma</math>POCs</b>	2.20 $\pm$ 2.08, 0.13-6.94 12.18 $\pm$ 13.1, 0.35-49.83		12.61 $\pm$ 3.345	97.91 $\pm$ 23.38		0.09 $\pm$ 0.08

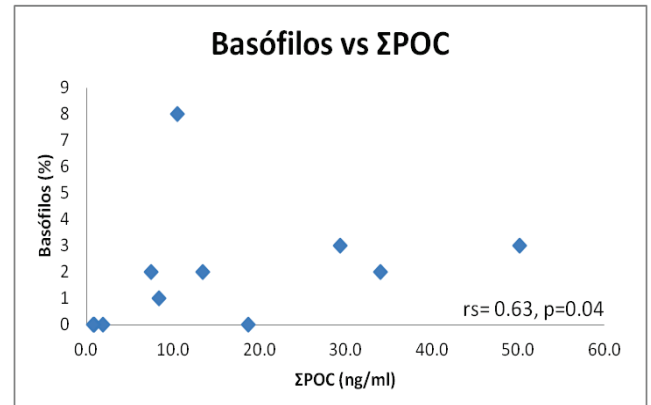
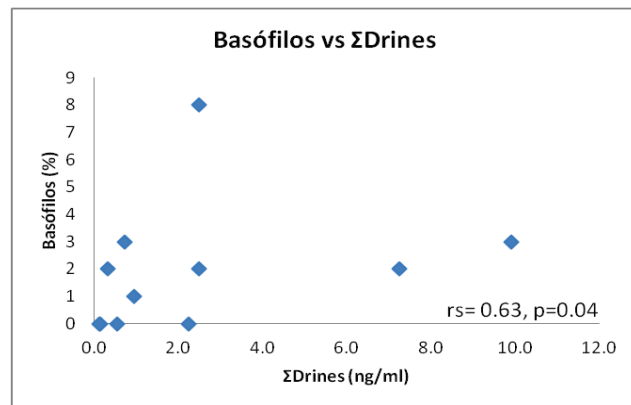
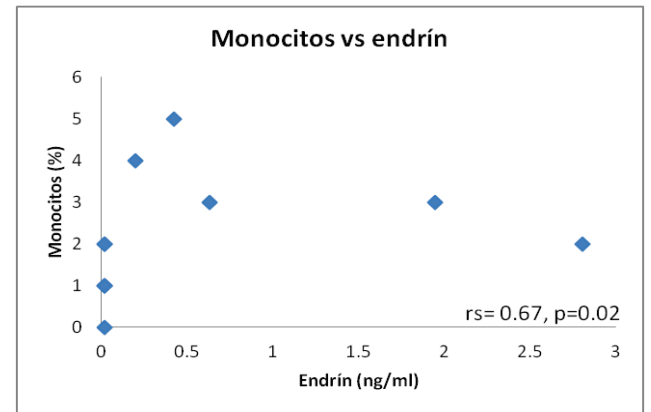
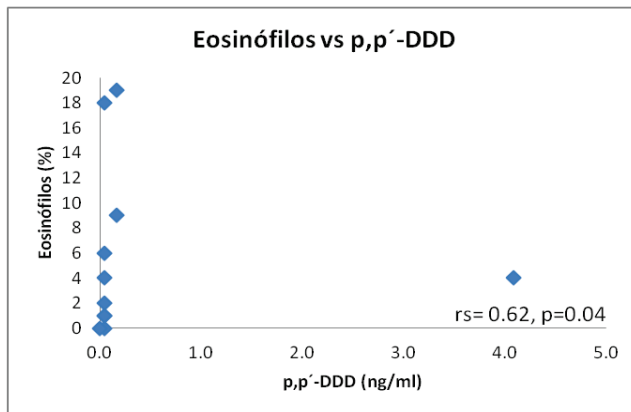
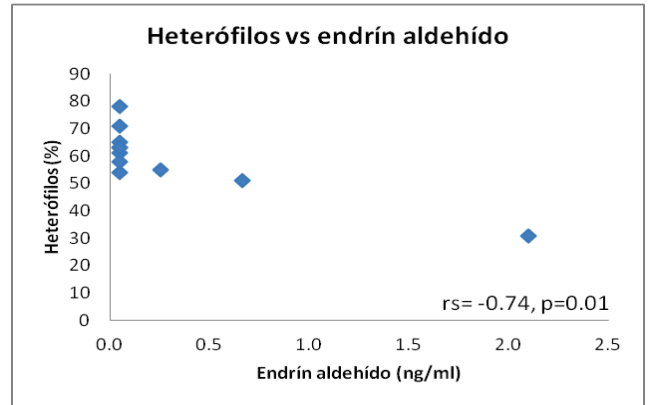
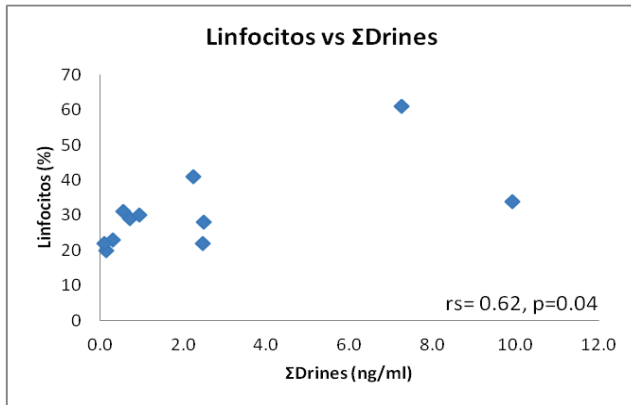
(1): Punta Abre Ojos, (2): Bahía María Magdalena

## Anexo 10

Gráficas de correlaciones de Spearman ( $r_s$ )  $p < 0.05$  entre los parámetros sanguíneos y POC en plasma sanguíneo de tortugas *C. caretta* anidadoras de la playa Aventuras-DIF, Quintana Roo, México.

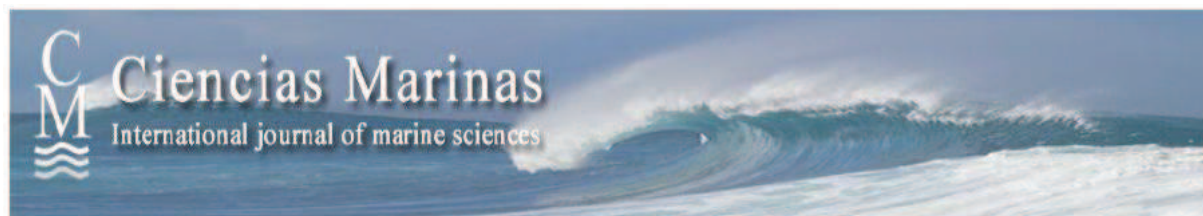






## Anexo 11

Artículo sometido a la revista Ciencias Marinas.



USUARIO/A Su identificación actual es...  
dulcethelma

### Envíos activos

[ACTIVO](#) [ARCHIVO](#)

<u>ID</u>	<u>MM-DD</u> <u>ENVIAR</u>	<u>SECC.</u>	<u>AUTORES</u>	<u>TÍTULO</u>	<u>ESTADO</u>
2512	01-21	ART	González Castillo	<u>DETERMINACIÓN DE</u> <u>PLAGUICIDAS</u> <u>ORGANOCLORADOS</u> <u>Y SU RELACIÓN...</u>	Esperando asignación

2012 Impact Factor: 0.62. ----- D.R. UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA  
(copyright) Print ISSN 0185-3880.

**Título:**

**Determinación de plaguicidas organoclorados y su relación con parámetros sanguíneos en tortugas Caguama (*Caretta caretta* (Linnaeus, 1758)) de Quintana Roo, México**

**Autor:**

Dulce Thelma González-Castillo<sup>1\*</sup>, Teresa Álvarez-Legorreta.<sup>1</sup>, Arturo Torres-Dosal<sup>1</sup> y José Omar Zapata-Pérez<sup>2</sup>

**Institución:**

1 El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR),

2 Centro de Investigación de estudios avanzados del IPN Unidad-Mérida.

**Título corto:**

**Determinación de plaguicidas organoclorados y su relación con parámetros sanguíneos en tortuga *Caretta caretta*.**

Dulce Thelma González Castillo

[dgonzal@ecosur.edu.mx](mailto:dgonzal@ecosur.edu.mx)

Av. Del Centenario Km 5.5

Quintana Roo, Chetumal, México C.P.77900

Tel: (01983) 835-0440

**Determinación de plaguicidas organoclorados y su relación con parámetros sanguíneos en tortugas Caguama (*Caretta caretta* (Linnaeus, 1758)) de Quintana Roo, México**

## **Abstract**

The aim of this study was to determine and correlate the concentration of 16 organochlorine pesticides (OCPs) with seven plasma biochemistry parameters and hematology in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) of the coast of Quintana Roo, not reported so far. Most biochemical parameter and hematologic values were found near or within the values reported by some authors. The results showed that the highest average concentrations OCPs were given by  $\beta$ -HCH (4.97 ng / ml) and p, p'-DDT (4.87 ng / ml) individually, and family group corresponded to the  $\Sigma$ HCH (6.85 ng / ml). The lowest concentration OCPs were endrin aldehyde (0.93 ng / ml) and p, p'-DDD (0.94 ng / ml). Significant and positive correlations ( $p < 0.05$ ) were given between  $\alpha$ -HCH,  $\gamma$ -HCH and endosulfan sulfate with the number of red blood cells (RBC); endrin and  $\Sigma$ drines with lymphocytes; endrin with monocytes, p, p'-DDD with eosinophils and  $\Sigma$ OCPs with the  $\Sigma$ drines and basophils. Negative correlations were given between p, p'-DDT and LDH enzyme; aldrin,  $\alpha$ -HCH,  $\Sigma$ drines,  $\Sigma$ OCPs and  $\Sigma$ HCH with uric acid; heptachlor with albumin; p, p'-DDE and  $\Sigma$ HCH with glucose, and endrin aldehyde with heterophile. The results suggest that there may be a possible influence of OCPs on body substances and modify the metabolism of turtles, which appear to be physiologically sensitive to low concentrations of OCPs. It is necessary to continue and expand the studies to make more valid results.

*Palabras claves:* plasma biochemistry parameters, hematology, organochlorine pesticides, turtle *C. caretta*, bioaccumulation.

## **INTRODUCCIÓN**

En México, se encuentran siete de las ocho especies de tortugas marinas, de las cuales cuatro llegan a Quintana Roo (*Chelonia mydas*, *Caretta caretta*, *Eretmochelys imbricata* y



esporádicamente *Dermochelys coriacea*) (Herrera, 2011). Las tortugas marinas se caracterizan por ser migratorias (Camiñas, 2002) y a nivel ecológico, juegan un papel importante en los ambientes marinos (Frazier, 2001). En México, la tortuga caguama (*Caretta caretta*), es una de las colonias con mayor diversidad genética del Atlántico Norte (Encalada et al., 1998) y son la segunda población más importante Atlántico Occidental (Medellín, 2009). Muchos factores llevan al declive de las poblaciones de tortugas marinas, entre ellas destaca la pesca clandestina e incidental, la comercialización, la depredación natural, la destrucción o cambio de sus hábitats de anidación y la contaminación de los sitios de alimentación (Camiñas, 2002; Medellín, 2009). Debido esto, se han creado varias iniciativas para su conservación, como son los planes de manejo, el establecimiento de campamentos tortugeros, veda permanente, prohibición de artes de pesca, entre otros (Medellín, 2009). Una de las repercusiones de los contaminantes, es su larga persistencia o bioacumulación en el ambiente (e.g. plaguicidas organoclorados) y su capacidad para ingresar y concentrarse paulatinamente en las redes tróficas (proceso de biomagnificación) generando cambios ecológicos negativos (Rendón, 2006). Los plaguicidas organoclorados (POC) son compuestos sintéticos de hidrocarburos clorados (Ramírez y Lacasaña, 2001), y debido a sus características (alta afinidad lipídica, alta estabilidad química y baja volatilidad) tienden a acumularse y biomagnificarse en las cadenas alimenticias (Keithmaleesatti et al., 2009), favoreciendo así su persistencia en el ambiente y lenta biodegradabilidad (Ramírez y Lacasaña, 2001). Varios autores han reportado la exposición a POC en las tortugas marinas (McKenzie et al., 1999; Pugh and Becker, 2001; Gardner et al., 2003; Keller et al., 2004a; Moganas, 2008; Malarvannan et al., 2011), manifestado posibles efectos negativos, como interferir en el sistema inmune (Keller et al., 2006), producir disrupción endocrina (Colborn et al., 1993), posibles alteraciones en la bioquímica sanguínea y hemograma (Keller et al., 2004b; Labrada, 2011; Camacho et al., 2013), entre otros. El estrés a factores

ambientales, como la causada por contaminantes químicos, pueden llevar al organismo a responder como una forma de adaptación (Sonee et al., 2010). Sin embargo, entre más estresado este un organismo, la probabilidad de supervivencia se reduce, resultando en un desequilibrio en el funcionamiento normal del cuerpo (homeostasis). Esto es debido a la movilización de recursos y gasto energético (Labrada, 2011), que conlleva a una perturbación de la bioquímica sanguínea (Sonne et al., 2010) y del hemograma (Grasman et al., 2000). De este modo, algunos (Keller et al., 2004b; Labrada, 2011) han observado que las tortugas marinas pueden tener una alta sensibilidad fisiológica aun a bajas concentraciones de contaminantes organoclorados. Debido a que aun hay falta de información en las tortugas marinas, el objetivo de este estudio fue determinar los niveles de plaguicidas organoclorados (POC), los valores de la bioquímica sanguínea y hemograma en tortugas marinas anidadoras de *Caretta caretta* de Quintana Roo, México, y la posible existencia de correlaciones entre estos.

## **MATERIALES Y METODOS**

**Área y colecta de muestras y datos.** El muestreo se llevo a cabo en la playa Aventuras-DIF, ubicada en el corredor turístico Cancún-Tulum (a 22 km al norte de Tulum), durante los meses de junio y julio de la temporada de anidación 2012. Se tomaron muestras sanguíneas mediante la técnica de punción en los senos venosos cervicales (Labrada, 2011). La zona del cuello fue previamente limpiada con yodo y, posteriormente se extrajeron tres muestras de sangre con aguja vacutainer® de 21x38 mm conectados a un tubo vacutainer® estéril con heparina como anticoagulante (Labrada, 2011), y se guardaron aproximadamente a 4°C hasta llegar al campamento. En dos de las tres muestras, el plasma sanguíneo fue separado a una velocidad de centrifugación de 3157 rpm alrededor 15 min, se guardaron en tubos de criogénesis (Corning<sup>MR</sup>) y se almacenaron a -69°C hasta realizar los análisis. Alternativamente, se obtuvieron los datos del largo curvo del caparazón (LCC) y el número de huevos puestos por cada tortuga como dato del

tamaño promedio y potencial reproductivo. En total se obtuvieron 37 muestras para los análisis de POC, de las cuales 26 contaron con la bioquímica sanguínea y solo 11 para el hemograma.

**Análisis sanguíneos.** Los parámetros de bioquímica sanguínea medidos en el plasma sanguíneo fueron la aspartato aminotransferasa (AST) (U/l), lactado deshidrogenasa (LDH) (U/l), glucosa, urea, nitrógeno:urea (BUN), ácido úrico (mg/dl) y albumina (g/dl). Los métodos de medición fueron enzimáticos colorimétricos, las lecturas para glucosa, urea y ácido úrico se hicieron en un espectrofotómetro marca VELAB modelo 5000b y la albumina, AST y LDH en un autoanalizador de química clínica marca MINDRAY modelo BS-300; todos estos análisis se realizaron en un laboratorio particular (Laboratorio de análisis clínicos-alimentos-suelos-aguas HIDROLAB).

Para el caso del hemograma, se utilizó el tubo de sangre restante sin centrifugar y se midió el hematocrito (HTO o PCV) en %, mediante el método de centrifugación. El conteo total de células rojas (RBC) ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ ) y blancas (WBC) ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ ) se hizo de manera manual. Para esto se colocó una pequeña cantidad de sangre en una cámara de Neubauer y se visualizó las células en un microscopio a 40X, el conteo y diferenciación de células blancas se efectuó realizando frotis sanguíneos que se fijaron con alcohol y se visualizó con tinción de Wright-Giemsa en un microscopio a 40 y 100X (Padilla, 2008). El conteo diferencial se hizo sobre 100 leucocitos y diferenciando las células en linfocitos, heterófilos, eosinófilos, monocitos y basófilos (%) (Wilkinson, 2004; Labrada, 2011).

**Análisis de POC.** El análisis de extracción, determinación y cuantificación de los POC, se llevo a cabo en el Laboratorio de Química de El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), Unidad Chetumal. La extracción se realizó mediante la técnica de Díaz (2004) con modificaciones. Se tomó 2 ml de plasma para la extracción de los POC con solventes grado HPLC (alcohol desnaturalizado, sulfato de amonio saturado y Hexano), seguida de una purificación con cloruro

de metileno, hexano, y una columna de florisil (supelclean™ LC-Florisil, Sigma-Aldrich®). Los extractos obtenidos fueron secados con gas nitrógeno alrededor de 0.1 ml. Se inyectó 1µL del extracto en un cromatografo de gases modelo Agilent modelo 7890, con detector de captura de electrones y una columna capilar de fenilmetil silicona al 5%, de 25 m x 0.25 mm x 25 µm. Se uso gas helio y nitrógeno de alta pureza como acarreador y auxiliar respectivamente. El programa de temperaturas fue 260°C para el inyector y 320°C del detector; la rampa inicio con 90°C/2min, aumentando hasta 180°C en intervalos de 30°C/min, después subió 3°C/min hasta alcanzar una temperatura final de 270°C. La identificación y cuantificación de los plaguicidas, se manejó con un estándar externo de una mezcla de plaguicidas de concentración conocida y se corrieron blancos con cada serie de muestras procesadas. Se obtuvieron los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ). Los resultados obtenidos se presentaron en ng/ml de plasma masa húmeda.

**Análisis estadísticos.** Los resultados de los parámetros sanguíneos se expresaron como promedio, desviación estándar ( $\pm$ DS), valores mínimo y máximo. En los POC, se obtuvo los valores individuales, así como la sumatorias ( $\Sigma$ ) por familia, y los porcentajes (%) de frecuencia. Se realizó un análisis exploratorio de los datos mediante la prueba de Shapiro-Wilk. La estadística no paramétrica fue utilizada, debido a que la mayoría de las pruebas no tuvieron distribución normal. La correlación de Spearman, fue utilizada para determinar la relación entre los valores de bioquímica sanguínea y el hemograma con los POC (Keller et al., 2004b; Labrada, 2011). Previo a los análisis estadísticos y para el caso de los POC, se uso la mitad del límite de detección en sustitución de las concentraciones “no detectados” (ND) como uno de los varios procedimientos utilizados para la asignación de valores ND (Keller, 2003; Díaz, 2004). Todos los análisis fueron realizados con los paquetes estadísticos Excel® y R versión 2.12.2, con un valor de significancia de  $\alpha= 0.05$ .

## **RESULTADOS**

La media, desviación estándar y rango del LCC de la tortugas fue de  $97.07 \pm 5.10$  (87-107.50) cm y del número de huevos puestos fue de  $101 \pm 19.00$  (45-138) huevos por nido. Los parámetros sanguíneos (bioquímica sanguínea y hemograma), se presentan en la tabla 1. Las concentraciones y frecuencia de aparición (%) de los 16 POC evaluados en las muestras, se muestran en la tabla 2. De las 37 muestras obtenidas para POC, dos fueron eliminadas por presentar valores muy elevados, y de las muestras restantes (n=35) se registró la presencia de al menos un POC. Los POC con mayor prevalencia fueron el  $\beta$ -HCH con 60% (n=21) seguido del  $\gamma$ -HCH y aldrín ambos con 51% (n=18);  $\alpha$ -HCH, heptacloro y p,p'-DDE con 49% (n=17) y el  $\delta$ -HCH con 46% (n=16). Los POC menos frecuentes fueron el p,p'-DDT (11%, n=4) y el endosulfán sulfato (9%, n=3). Los POC que presentaron la mayor concentración fueron el  $\beta$ -HCH (4.97 ng/ml) y el p,p'-DDT (4.87 ng/ml) y los de menor endrín aldehído (0.93 ng/ml) y p,p'-DDD (0.944 ng/ml). Por sumatorias de familia, el grupo que presentó la concentración más alta fue la  $\Sigma$ HCH (6.85 ng/ml) y la  $\Sigma$ DDT's (2.13 ng/ml) la menor.

Una serie de correlaciones significativas de Spearman, fueron encontradas entre los niveles de POC y los parámetros sanguíneos (tabla 3). Se mostró correlación negativa de la glucosa con las concentraciones de p,p'-DDE y  $\Sigma$ HCH; de igual forma se encontró entre el ácido úrico y aldrín,  $\Sigma$ drines,  $\alpha$ -HCH,  $\Sigma$ HCH y  $\Sigma$ POCs. También los niveles de p,p'-DDT se correlacionaron negativamente con la enzima LDH, y los heterófilos con endrín aldehído. Por el contrario, correlaciones positivas fueron halladas entre el RBC con el  $\alpha$ -HCH,  $\gamma$ -HCH y endosulfán sulfato; endrín y  $\Sigma$ drines se asociaron positivamente a los linfocitos; endrín con los monocitos; p,p'-DDD con eosinófilos y la  $\Sigma$ drines y  $\Sigma$ POCs con los basófilos.

## **DISCUSIONES**

En este estudio, se reporta por primera vez los niveles de concentración de plaguicidas organoclorados (POC) en tortugas marinas anidadoras de caguama (*C. caretta*). Existen todavía

pocos estudios que hayan utilizado determinaciones en sangre entera o plasma sanguíneo (Keller et al., 2004a y 2004b; Labrada, 2011; García, 2011, Guirlet et al., 2010), la mayoría se han efectuado en tejido adiposo, subcutáneo, huevos, hígado, riñones, pulmón (Rybitski et al., 1995; Pugh and Becker, 2001; Gardner et al., 2003; Moganans et al., 2008; Malarvannan et al., 2011) y muchas veces sobre tortugas varadas y/o muertas (Pugh and Becker, 2001). El muestreo en sangre es una alternativa nueva que ofrece mejores ventajas, como una técnica de fácil recolección, relativamente no invasiva, entre otras (Keller et al., 2004a y 2004b). Los niveles encontrados en el presente estudio fueron principalmente comparados con algunos autores que reportaron en la misma matriz y unidades (Guirlet et al., 2010; García, 2011; Labrada, 2011; Camacho et al., 2013). Se encontró que el grupo de POC más representativo fue el de los hexaclorociclohexanos (HCH), ya que estuvo con mayor frecuencia en las muestras medidas y en concentraciones relativamente más altas (principalmente en  $\beta$ -HCH), y lo mismo sucedió por sumatoria de familia ( $\Sigma$ HCH) (tabla 2). Los HCH son compuestos poco bioacumulables por ser menos liposolubles, más volátiles y su vida media en la biota es corta (Malarvannan et al., 2011). Es probable que en las tortugas de Quintana Roo las concentraciones de los HCH se deban a una exposición reciente. Labrada (2011) ha mencionado que aun se utiliza a los isómeros de HCH en la agricultura y en el control de vectores de enfermedades en América del Norte. Posiblemente en otras partes del mundo se siga usando de manera legal o clandestina a estos contaminantes, y las tortugas llegan a estos sitios donde se distribuyen y depositan. El p,p'-DDT fue otro POC que se encontró en niveles más altos en este estudio, pero su frecuencia fue mínima (11%).

En general, los niveles de los 16 POC medidos en este estudio, se consideraron relativamente bajos. Labrada (2011) reportó resultados similares en su estudio con tortugas verdes juveniles-adultos en la Bahía de Baja California, México. Las concentraciones encontradas en el presente estudio, pueden deberse a que las regiones donde se distribuyen y alimentan estas tortugas, tal

vez no poseen fuentes de contaminación fuertemente evidentes, como otras zonas altamente industrializadas y urbanizadas (Gardner, et al., 2003; Malarvannan, et al., 2011). Es posible que las concentraciones medidas, estén reflejando exposición reciente a contaminantes o a la movilización de reservas de lípidos hacia la sangre. Esto ha sido mencionado por otros autores (Keller et al. 2004a; Guirlet et al., 2010; Labrada, 2011), quienes han medido estos contaminantes en sangre. Guirlet et al., (2010) en su trabajo con tortugas anidadoras de laúd en La Guyana Francesa, han sugerido que los periodos donde se necesita altos requerimientos de energía, como la migración hacia los sitios de anidación y la vitelogénesis para la formación de los huevos, puede movilizar las reservas de lípidos. Así mismo, una ingesta reciente podría indicar que la contaminación probablemente proviene de las zonas de alimentación (Guirlet et al, 2010). Para las poblaciones anidadoras de Quintana Roo, todavía no están del todo conocidas cuáles son sus zonas de alimentación. Trabajos hechos con dispositivos de telemetría (Cuevas et al., 2012), han descubierto algunos posibles sitios de distribución y alimentación en regiones del Caribe y Centro América; y en trabajos de marcado en aletas han mencionado a lugares como Cuba (Conant et al., 2009). El avance de estas tecnologías aportará nueva información y contribuirá a más conocimientos de su distribución y posibles fuentes de contaminación.

En las tortugas caguama juveniles, se ha mencionado que las correlaciones entre los parámetros sanguíneos y los plaguicidas organoclorados pueden sugerir que las tortugas son altamente sensitivas a efectos sub-letales como la modulación del sistema inmune, alteraciones en las proteínas, de la homeostasis de carbohidratos y iones (Guirlet et al. 2010). También, se espera que la tendencia a sufrir enfermedades en las tortugas marinas aumente por causa de estos contaminantes (Keller et al., 2004b; Guirlet et al., 2010). Sin embargo, hasta el momento el efecto exacto sobre su salud no es bien conocido. Pocos estudios (Peden-Adams et al., 2002; Keller et al., 2004b; Komoroske et al., 2011; Labrada, 2011; Camacho et al., 2013), han referido

que los indicadores bioquímicos y hematológicos de las tortugas marinas pueden ser influenciados de manera adversa por los contaminantes (Camacho et al, 2013) y tener alta sensibilidad fisiológica aun a bajas concentraciones de éstos (Keller et al., 2004b; Labrada, 2011). En el presente estudio, se presentó algo similar, hallándose correlaciones significativas de Spearman que fueron tanto positivas como negativas (tabla 3).

Se encontró correlación negativa entre la glucosa y el p,p'-DDE (Tabla 3). Resultados similares fueron halladas en tortugas juveniles (Keller et al., 2004b), anidadoras de caguama (Camacho et al., 2013) y en tortugas juveniles-adultos de *C. mydas* (Labrada, 2011), que se asociaban a contaminantes como dieldrín, endrín,  $\Sigma$ DDTs y  $\Sigma$ PCB. Keller et al. (2004b), señalan que la glucosa está fuertemente regulada por el hígado, y las complejas interacciones con el hipotálamo, la glándula pituitaria y suprarrenales, y es posible que los POC interfieran en alguno de estos múltiples puntos de control de la glucosa.

En el caso del ácido úrico, se observó correlación negativa con aldrín,  $\Sigma$ drines,  $\alpha$ -HCH,  $\Sigma$ HCH y  $\Sigma$ POC (tabla 3). Correlaciones similares fueron halladas con la  $\Sigma$ PCBs en tortugas anidadoras de caguama (Camacho et al., 2013), con endrín en tortugas verdes juveniles-adultos (Labrada, 2011), y en aves como la gaviota argétea (*Larus argentatus*) con la dioxina 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (TCDD) (Fox et al., 2007). En trabajos de laboratorio con ratas machos, Burgin et al. (2001) y Wade et al. (2002) han encontrado asociaciones donde el ácido úrico se ve disminuido cuando aumentan las concentraciones de exposiciones a PCBs y otros compuestos orgánicos persistentes (COP's). En ambos casos, encontraron que varias actividades enzimáticas antioxidantes, como la EROD (7-etoxiresorufin-O-deetilasa), se vieron elevadas conforme la dosis se incrementaba. Sumado a esto, Wade et al. (2002), hallaron daños en riñón e hígado con los estudios histopatológicos. La aparente inducción de la actividad EROD por ciertos



contaminantes, puede ir acompañada de alteraciones en la transformación metabólica de sustratos endógenos y también de sustancias tóxicas exógenas (Fox et al., 2007).

Otro parámetro que presentó correlación negativa, fue la enzima LDH con el p,p'-DDT, mientras que la enzima AST no tuvo correlación alguna. En perros alimentados con comida contaminada por compuestos organohalogenados y mercurio, Sonne et al. (2008) obtuvieron resultados parecidos con la disminución de la LDH, y también Wade et al. (2002) con ratas de laboratorio expuestas a las dosis más altas de una mezcla de COP's; sin embargo, en tortugas marinas al parecer aun no hay reportes. Pocos trabajos han mostrado que una dosis letal a crónica de contaminantes (e.g. PCBs), puede causar diferente respuesta de esta enzima por la concentración del contaminante usado (Sonne et al., 2008). La disminución de la LDH podría deberse por la posible inducción de las reacciones de oxidasas de función mixta o por una directa inhibición de la LDH por uno o más de los contaminantes de la mezcla de COP's, como es sugerido por Wade et al. (2002) en las ratas.

Por su parte, la albumina presentó correlación negativa con el heptacloro. Esto es similar a lo encontrado en tortugas juveniles de caguama por Keller et al. (2004b) con la  $\Sigma$ clordanos y el mirex, y en la gaviota argétea con la  $\Sigma$ PCBs y DDE (Fox et al., 2007). Estos autores señalan que la albumina al ser sintetizada en el hígado, es altamente sensible e indicador de la función de los hepatocitos y es claramente vulnerable a las sustancias tóxicas que inducen a su modulación. Los cambios en los niveles de la albumina y otros parámetros correlacionados con los contaminantes organoclorados puede tener impacto sobre el hígado (Sonne et al., 2010).

En el hemograma, se observó que el RBC se asoció positivamente con el  $\alpha$ -HCH,  $\gamma$ -HCH y endodulfán sulfato; sin embargo, esto difiere con lo hallado en tortugas caguama por Keller et al. (2004b) con la  $\Sigma$ clordanos, y por Lutcavage et al. (1995) en juveniles de la misma especie expuestas a petróleo crudo, cuyas correlaciones negativas sugieren que puede conducir a anemia.

En el caso de los heterófilos, se observó una correlación negativa con endrín aldehído. Resultados similares fueron encontrados en tortugas caguama anidadoras con el p,p'-DDE (Camacho et al., 2013) y en gaviotas argénteas con los ΣPCBs (Grasman et al., 2000), mencionando que la exposición de los contaminantes asociados puede estar suprimiendo el sistema inmune. En el trabajo de Grasman et al. (2000), también observaron que los heterófilos se asociaban negativamente con la actividad enzimática de EROD, sugiriendo que estas variaciones en los heterófilos pueden ser causadas por los contaminantes y la inducción de la EROD. Es posible que algo parecido ocurriera en el presente estudio con la variación de los heterófilos de las tortugas, y también podría modificar otros conteos leucocitarios como los eosinófilos, monocitos y basófilos. En los linfocitos, se observó correlación positiva con el endrín y la Σdrines. Resultados similares obtuvieron Keller et al. (2006), observando proliferación de los linfocitos expuestos a varios POC en estudio de campo y laboratorio, demostrando por primera vez que las exposiciones por POC modulan el sistema inmune de las tortugas caguama a concentraciones inferiores a las reportadas en otras especies que presentaron también alteraciones en la respuesta inmune. En aves, Grasman et al. (2000) mostraron las mismas asociaciones positivas de los linfocitos con PCBs. Estos hallazgos pueden sugerir modulación del sistema inmune en las tortugas anidadoras del presente estudio. Se ha mencionado que, una evaluación más exhaustiva de la función inmune puede lograrse mediante la medición de la hormona tiroidea, ya que niveles normales de ésta son necesarios para el desarrollo adecuado, mantenimiento y funcionamiento tanto de los anticuerpos como de las respuestas inmunes mediadas por las células y varios trabajos han revelado que diferentes contaminantes producen estrés asociado a esa hormona disminuyéndola o suprimiéndola, produciendo proliferación de los linfocitos (Smith et al., 2002). También, otras correlaciones positivas se dieron entre los eosinófilos con el p,p'-DDD, monocitos con aldrín, y los basófilos con endrín aldehído y ΣPOC. En tortugas juveniles caguama, Keller et al. (2004b)

observaron similar tendencia entre los eosinófilos y el p,p'-DDE, la  $\Sigma$ DDT y  $\Sigma$ OCs, al igual que Camacho et al. (2013) con p,p'-DDE y  $\Sigma$ HAPs en tortugas anidadoras de caguama. Labrada (2011) observó en tortugas *C. mydas* juveniles-adultos, correlaciones positivas entre los monocitos y la  $\Sigma$ ciclodienos. Todas estas células blancas participan en la respuesta inmune (Stacy et al., 2011), pero aun es poco lo que se sabe de ellas en las tortugas marinas y debe estudiarse más.

En este estudio, las correlaciones encontradas pueden sugerir a largo plazo implicaciones adversas en los tejidos y funciones de enzimas del hígado. Keller (2003) ha mencionado que este órgano es un sitio importante de regulación de sustancias del cuerpo (e.g. albumina, glucosa, lípidos), donde se sabe que los contaminantes organoclorados alteran la actividad de las enzimas hepáticas responsables de la regulación de muchas funciones, y como consecuencia producen cambios en las concentraciones de estas sustancias corporales. El hígado es un órgano donde ocurren muchos procesos de transformación de sustancias, entre ellas la dextocificación de las sustancias tóxicas como los POC (Espina y Venegas, 2005). En tortugas marinas, se ha encontrado que el órgano donde más se acumulaban los compuestos organoclorados (e.g. DDT, PCB, clordanos, dieldrín) es el hígado, además del tejido adiposo (Mckenzie et al., 1999). También es posible que los POC estén interviniendo a nivel endocrino, teniendo serios efectos en el éxito reproductivo y en el crecimiento de la población de las tortugas (Labrada, 2011).

Las exposiciones a los contaminantes ambientales, pueden inducir a cambios fisiológicos en los animales a través de diversos mecanismos (Smith et al., 2002). Sin embargo, debe tenerse en cuenta que los posibles cambios que estos contaminantes pueden tener mediante las correlaciones obtenidas, no excluyen la existencia de otros factores adyacentes (Camacho et al., 2013). Para esclarecer más la influencia que los contaminantes pueden tener sobre el organismo de las tortugas marinas, podría aumentarse los estudios donde se observe cómo se comportan los

parámetros sanguíneos por estaciones, estado nutricional, enfermas, índice de condición corporal, entre otras variables. Aunado a ello, es necesario trabajos que puedan evaluar diferentes biomarcadores para entender los efectos de los contaminantes, como lo han hecho algunos de los trabajos mencionados anteriormente. En lo posible, es de interés evaluar la relación de estos contaminantes en varios órganos y tejidos con los parámetros sanguíneos que amplíen el conocimiento de los efectos clínicos en las tortugas, como lo sugiere Labrada (2011). Al igual que varios de los trabajos realizados (e.g. Keller et al., 2004b; Labrada, 2011; Camacho et al., 2013), este estudio no puede asegurar una relación causa-efecto. No obstante, se observa que ya se suman varios estudios de correlación con tendencias similares en diferentes especies animales, entre ellas las tortugas marinas. Las correlaciones encontradas sugieren que los POC podrían producir efectos adversos sobre los parámetros sanguíneos de las tortugas de Quintana Roo, que a largo plazo pueden tener implicaciones de daño a órganos como hígado y riñones, con efectos principalmente a nivel endocrino, que finalmente pueden repercutir en la posible pérdida de individuos de las poblaciones futuras. Continuar investigaciones en estas poblaciones, puede ser útil para fines de conservación, ya que estos sitios son altamente turísticos, donde las áreas de anidación se han ido reduciendo y están sujetas a cambios de hábitat.

## **CONCLUSIONES**

Las correlaciones significativas encontradas entre los POC y los parámetros sanguíneos, están sugiriendo que los POC podrían ser capaces de modificar estos parámetros del metabolismo o en la respuesta inmune sin producir daños aparentemente más graves en el organismo a corto plazo, bajo estos niveles de concentración que se observaron relativamente bajos. Este estudio es el primero de la región de Quintana Roo en dar a conocer información sobre estas posibles asociaciones entre los POC y los parámetros sanguíneos en tortugas anidadoras de *C. caretta*.

## **AGRADECIMIENTOS**

A El Colegio de la Frontera Sur, Unidad-Chetumal; CONACyT, la Fundación Ecológica Bahía Príncipe Tulum, A.C., y Flora, Fauna y Cultura de México, A. C.

## REFERENCIAS

- Bolten AB, Jacobson ER, Bjorndal KA. 1992. Effects of anticoagulant and autoanalyzer on blood biochemical values of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). Am. J. Vet. Res. 53: 2224-2227.
- Burgin DE, Diliberto JJ, Derr-Yellin EC, Kannan N, Kodavanti PRS, Birnbaum LS. 2001. Differential effects of two lots of aroclor 1254 on enzyme induction, thyroid hormones, and oxidative stress. Environ. Health Perspect. 109: 163-168.
- Camiñas JA. 2002. Estatus y conservación de las Tortugas Marinas en España. In: Pleguezuelos JM, Márquez R, Lizana M (Eds). Atlas y libro rojo de los anfibios y reptiles de España. 2ª ed. Ministerio de Medio Ambiente, España, pp. 344-380.
- Camacho M, Luzardo OP, Boada LD, López JLF, Medina M, Zumbado M, Orós J. 2013. Potential adverse health effects of persistent organic pollutants on sea turtles: Evidences from a cross-sectional study on Cape Verde loggerhead sea turtles. Sci. Total Environ. 458-460: 283-289.
- Casal AB, Orós J. 2007. Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells of juvenile loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). Res. Vet. Sci. 82(2): 158-165.
- Casal AB, Camacho M, López-Jurado FL, Juste C, Orós J. 2009. Comparative study of hematologic and plasma biochemical variables in Eastern Atlantic juvenile and adult nesting loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). Vet. Clin. Path. 38(2): 213-218.
- Colborn T, vom Saal FS, Soto A. 1993. Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. Environ. Health Perspect. 101(5):378-384.

- Conant TA, Dutton PH, Eguchi T, Epperly SP, Fahy CC, Godfrey MH, MacPherson SL, Possardt EE, Schroeder BA, Seminoff JA, Snover ML, Upite CM, Witherington BE. 2009. Loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*) 2009 status review under the U.S. Endangered Species Act. Report of the Loggerhead Biological Review Team to the National Marine Fisheries Service. 222 pp.
- Cuevas E, González GB, Guzmán HV, Van Dam RP, García AP, Abreu GFA, Huerta RP. 2012. Tracking turtles off México's Yucatán Peninsula. Swot the state of the world's sea turtles report. 7: 8-9.
- Deem SL, Norton TM, Mitchell M, Segars A, Alleman AR, Cray C, Poppenga RH, Dodd M, Karesh WB. 2009. Comparison of blood values in foraging, nesting, and stranded loggerhead turtles (*Caretta caretta*) along The Coast of Georgia, USA. J. Wildlife Dis. 45(1): 41–56.
- Díaz BF, 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. 30 pp.
- Encalada SE, Bjorndal KA, Bolten AB, Zurita JC, Schroeder B, Possardt E, Sears CJ, Bowen BW. 1998. Population structure of loggerhead turtle (*Caretta caretta*) nesting colonies in the Atlantic and Mediterranean as inferred from mitochondrial DNA control region sequences. Mar. Biol. 130: 567-575.
- Espina S, Vanegas C.. 2005. Ecotoxicología y contaminación. In: Botello, A. V., Rendón-von, J., Gold-Bouchot, G. y C. Agraz-Hernández (Eds.). Golfo de México. Contaminación e impacto ambiental: diagnostico y tendencias, 2ª ed. Universidad Autónoma de Campeche,

- Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Ecología. México. pp. 79-120.
- Flint M, Morton JM, Limpus CJ, Patterson-Kane JC, Mills PC. 2010. Reference intervals for plasma biochemical and hematologic measures in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) from Moreton Bay, Australia. *J. Wildlife Dis.* 46(3): pp. 731–741.
- Fox GA, Jeffrey DA, Williams KS, Kennedy SW, Grasman KA. 2007. Health of herring gulls (*Larus argentatus*) in relation to breeding location in the early 1990s. I. Biochemical Measures. *J. Toxicol. Env. Heal. A.* 70: 1443–1470.
- Frazier J. 2001. Generalidades de la historia de vida de las tortugas marinas. In: Eckert LK., Abreu GFA (Eds.). Traducido al español por Briseño DR, Abreu GFA. Conservación de Tortugas Marinas en la Región del Gran Caribe: Un Diálogo para el Manejo Regional Efectivo. Memorias. Santo Domingo, República Dominicana: WIDECAST. pp. 3-18.
- García GMBG, 2011. Bioacumulación y transferencia materna de contaminantes orgánicos persistentes en la tortuga carey (*Eretmochelys imbricata*) y tortuga blanca (*Chelonia mydas*) de la costa de Campeche, México. Tesis de maestría. Instituto de Ecología, A. C. Xalapa, Veracruz, México. 120 pp.
- Gardner SC, Pier MD, Wesselman R, Juárez A. 2003. Organochlorine contaminants in sea turtles from the Eastern Pacific. *Mar. Pollut. Bull.* 46: 1082–1089.
- Goldberg IDW, Wanderlinde J, Freire IMA, da Silva LCP, Almosny NRP. 2011. Serum biochemistry profile determination for wild loggerhead sea turtles nesting in Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brazil. *Ciência Rural*, 41(1): 143-148.
- Grasman KA, Scanlon PF, Fox GA. 2000. Geographic variation in hematological variables in adult and pre fledgling herring gulls (*Larus argentatus*) and possible associations with organochlorine exposure. *Arch. Environ. Con. Tox.* 38: 244–253.

- Guirlet E, Das K, Thomé JP, Girondot M. 2010. Maternal transfer of chlorinated contaminants in the leatherback turtles, *Dermochelys coriacea*, nesting in French Guiana. *Chemosphere*, 79: 720–726.
- Herrera PRL. 2011. La tortuga marina omnipresente en la cultura maya. In: Pozo C, Armijo CN, Calmé S. (eds). Riqueza biológica de Quintana Roo. Un análisis para su conservación, Tomo I. El Colegio de la frontera Sur (ECOSUR), Comisión Nacional para el conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), Gobierno del Estado de Quintana Roo y Programa de Pequeñas Donaciones (PPD). México. pp. 241-247.
- Keithmaleesatti S, Varanusupakul P, Siriwong W, Thirakhupt K, Robson M, Kitana N. 2009. Contamination of organochlorine pesticides in nest soil, egg, and blood of the snail-eating turtle (*Malayemys macrocephala*) from the Chao Phraya River Basin, Thailand. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 52: 444-449.
- Keller JM. 2003. Occurrence and effects of organochlorine contaminants in sea turtles. Tesis de doctorado. Carolina del Norte, USA. Duke University. 344 pp.
- Keller JM, Kucklick JR, Harms CA, McClellan-Green P.D.. 2004a. Organochlorine contaminants in sea turtles: correlations between whole blood and fat. *Environ. Toxicol. Chem.* 23(3): 726–738.
- Keller JM, Kucklick JR, Stamper MA, Harms CA, McClellan-Green P. D.. 2004b. Associations between organochlorine contaminant concentrations and clinical health parameters in loggerhead sea turtles from North Carolina, U.S.A. *Environ. Health Perspect.* 112 (10): 1074-1079.
- Keller JM, McClellan PDG, Kucklick JR, Keil DE, Peden MMA. 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.
- Labrada VM. 2011. 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 de doctorado. La Paz, Baja California Sur, Orientación en Biología Marina. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. 207 pp.
- Lutcavage ME, Lutz PL, Bossart GD, Hudson DM. 1995. Physiologic and clinicopathologic effects of crude oil on loggerhead sea turtles. *Arch. Environ. Con. Tox.* 28: 417-422.
- Lutz PL, Dunbar-Cooper A. 1987. Variations in the blood chemistry of the loggerhead sea turtle, *Caretta caretta*. *Fish. B-NOAA* 85(1): 37-43.
- Malarvannan G, Takahashi S, Isobe T, Kunisue T, Sudaryanto A, Miyagi T, Nakamura M, Yasumura S, Tanabe S. 2011. Levels and distribution of polybrominated diphenyl ethers and organochlorine compounds in sea turtles from Japan. *Mar. Pollut. Bull.* 63(5-12): 172–178.
- Martínez-Silvestre A, Lavín S, Cuenca R. 2011. Hematología y citología sanguínea en reptiles. *Clin. Vet. Peq. Anim.* 31(3): 131-141.
- Mckenzie C, Godley BJ, Furness RW, Wells DE. 1999. Concentrations and patterns of organochlorine contaminants in marine turtles from Mediterranean and Atlantic waters. *Mar. Environ. Res.* 47(2): 117-135.
- Medellín RA, et al. 2009. Conservación de especies migratorias y poblaciones transfronterizas, en *Capital natural de México*, vol. II: Estado de conservación y tendencias de cambio. CONABIO. México. 459-515 pp.

- Moganas P, Orós J, Araña J, González-Díaz OM. 2008. Organochlorine pesticide levels in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) stranded in the Canary Islands, Spain. Mar. Pollut. Bull. 56: 1949–1956.
- Padilla SEP, 2008. Hematología, índice corporal y lesiones externas del cocodrilo de pantano *Crocodylus moreletti* en los Humedales del norte del Estado de Campeche, México. Tesis de Maestría. Campeche, Campeche, México. El Colegio de la Frontera Sur. 79 pp.
- Pugh RS, Becker PR. 2001. Sea turtle contaminants: A review with annotated bibliography. Report NISTIR 6700. SC:National Institute of Standards and Technology, Charleston USA. 144 pp.
- Ramírez JA, Lacasaña M. 2001. Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. Archivos de Prevención y Riesgos Laborales. 4(2):67-75.
- Rendón VOJ, 2006. Ecosistemas acuáticos y contaminación por compuestos orgánicos persistentes (COPs). JAINA Boletín Informativo, 16(1), pp. 57-60.
- Rybitski MJ, Hale RC, Musick JA. 1995. Distribution of organochlorine pollutants in Atlantic Sea Turtles. Copeia. 1995(2): 379-390.
- Smits JE, Fernie KJ, Bortolotti GR, Marchant TA. 2002. Thyroid Hormone Suppression and Cell-Mediated Immunomodulation in American Kestrels (*Falco sparverius*) Exposed to PCBs. Arch. Environ. Con. Tox. 43: 338–344.
- Sonne C, Dietza R, Kirkegaard M, Letcher RJ, Shahmirib S, Andersenc S, Mollera P, Olsend AK, Jensen AL. 2008. Effects of organohalogen pollutants on haematological and urine clinical–chemical parameters in Greenland sledge dogs (*Canis familiaris*). Ecotox. Environ. Safe. 69: 381–390.
- Sonne C, Bustnes JO, Herzke D, Jaspers VLB, Covaci A, Halley DJ, Moumf T, Eulaers I, Eens M, Ims RA., Hanssen SA, Erikstad KE, Johnsen T, Schnug L, Rigét FF, Jensen AL. 2010.

- Relationships between organohalogen contaminants and blood plasma clinical–chemical parameters in chicks of three raptor species from Northern Norway. *Ecotox. Environ. Safe.* 73: 7–17.
- Stacy NI, Alleman AR, Sayler KA. 2011. Diagnostic Hematology of Reptiles. *Clin. Lab. Med.* 31(1): 87–108.
- Stamper MA, Harms C, Epperly SP, Braun-McNeill J, Avens A, Stoskopf MK, 2005. Hematologic parameters in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*), a comparison between migratory and residential animals in Pamlico Sound, North Carolina. *J. Zoo Wildlife Med.* 36(4): 635–641.
- Wade MG, Foster WG, Younglai EV, McMahon A, Leingartner K, Yagminas A, Blakey D, Fournier M, Desaulniers D, Hughes CL. 2002. Effects of subchronic exposure to a complex mixture of persistent contaminants in male rats: systemic, immune, and reproductive effects. *Toxicol. Sci.* 67: 113-143.
- Wilkinson R. 2004. Clinical pathology. In: McArthur, S., Wilkinson, R. y J. Meyer (Eds.). *Medicine and surgery of tortoises and turtles.* Blackwell Publishing Ltd. Oxford, UK. pp. 141-186.

**Tabla 1.** Parámetros de bioquímica sanguínea (n=26) y hemograma (n= 11) de tortugas caguama (*Caretta caretta*) de Quintana Roo, México.

**Table 1.** Blood chemistry parameters (n = 26) and blood count (n = 11) of loggerhead turtles (*Caretta caretta*) in Quintana Roo, Mexico.

<b>Parameter</b>	<b>Mean</b>	<b>(± SD)</b>	<b>Range</b>
Glucose (mg/dl)	546.15	288.32	40.0 – 1080.0
Albumin (g/dl)	4.85	1.21	3.10 - 7.40
Uric acid (mg/dl)	9.94	3.09	3.60 - 16.10
AST (U/l)	103.23	77.00	28.00 - 421.00
LDH (U/l)	24.58	9.54	5.00 - 43.00
Urea (mg/dl)	45.55	29.24	4.30 - 130.90
BUN (mg/dl)	21.29	13.66	2.00 - 61.20
PCV (%)	33.82	2.86	30.00-38.00
RBC (x10 <sup>6</sup> /μl)	0.40	0.05	0.32-0.53
WBC (X10 <sup>3</sup> /μl)	4.17	0.79	2.97-5.20
Heterophils (%)	59.09	12.11	31.00-78.00
Lymphocytes (%)	31.00	11.70	20.00-61.00
Monocytes (%)	2.18	1.47	0.00-5.00
Eosinophils (%)	5.82	6.84	0.00-19.00
Basophils (%)	1.91	2.34	0.00-8.00

**Tabla 2.** Estadística descriptiva de la concentración de plaguicidas orgnoclorados (POCs) (ng/ml) en plasma de tortuga caguama (*C. caretta*) de Quintana Roo.

**Table 2.** Descriptive statistics of pesticide concentration orgnochlorine (OCPs) (ng/ml) in plasma of loggerhead (*C. caretta*) of Quintana Roo.

OCPs	n>LOD *	Mean ( $\pm$ SD)		Median	Range	Frecuency (%)
Aldrin	18	1.80	1.52	1.15	0.066 - 4.955	51
Dieldrin	13	1.41	1.54	0.79	0.098 - 5.6437	37
Endrin	15	1.16	1.77	0.48	0.166 - 6.997	43
Endrin aldehyde	11	0.93	0.74	0.67	0.232 - 2.456	31
$\Sigma$ Drines	28	2.67	2.75	1.97	0.066 - 10.094	
$\alpha$ -HCH	17	1.63	1.46	1.21	0.139 - 5.660	49
$\beta$ -HCH	21	<b>4.97</b>	8.39	1.67	0.089 - 28.882	60
$\gamma$ -HCH	18	2.50	2.62	1.35	0.094 - 10.141	51
$\delta$ -HCH	16	2.22	2.20	1.04	0.266 - 6.534	46
$\Sigma$ HCH	31	<b>6.85</b>	9.73	4.32	0.094 - 42.876	
Heptachlor	17	2.58	2.78	1.94	0.161 - 11.224	49
Heptachlor epoxide	13	1.23	1.63	0.73	0.065 - 5.934	37
$\Sigma$ Heptachlor	21	2.85	2.74	2.20	0.161 - 11.224	
p,p'-DDE	17	1.06	1.72	0.27	0.030 - 6.210	49
p,p'-DDD	10	0.94	1.20	0.51	0.170 - 4.091	29
p,p'-DDT	4	<b>4.87</b>	5.89	2.94	0.401 - 13.214	11
$\Sigma$ DDT's	22	2.13	4.64	0.36	0.037 - 21.157	
Endosulfan I	5	2.20	1.43	3.15	0.153 - 3.261	14
Endosulfan II	9	1.25	1.24	0.75	0.132 - 3.787	26
Endosulfan sulfate	3	2.15	1.17	2.09	1.020 - 3.353	9
$\Sigma$ endosulfan	13	2.20	2.08	2.01	0.132 - 6.940	
$\Sigma$ OCPs	35	12.18	13.09	7.72	0.354 - 49.827	

Bold letters denote the highest values of individual sum of OCPs and family. \* = Number of samples with concentrations > LOD, the rest were <LOD or were not detectable (ND).

**Table 3.** Coeficientes de correlación de Spearman [rs (p-valor)] entre los plaguicidas organoclorados (ng mL<sup>-1</sup>) y las variables morfológicas, bioquímica sanguínea (n=24) y hemograma (n=11) de tortugas caguama (*C. caretta*) de Quintana Roo, en la temporada 2012.

**Table 3.** Spearman correlation coefficients [rs (p-value)] between organochlorine pesticides (ng mL<sup>-1</sup>) and the morphometric variables, blood chemistry (n = 24) and blood count (n = 11) of loggerhead turtles (*C. caretta*) Quintana Roo, in the 2012 season.

Parameter	Aldrin	Endrin	Endrin aldehyde	ΣDrines	α-HCH	γ-HCH (lindane)	ΣHCH	Heptachlor	p,p'-DDE	p,p'-DDD	p,p'-DDT	Endosulfan sulfate	ΣOCPs
Glucose (mg/dl)									-0.40 (0.05)				
Uric acid (mg/dl)	-0.49 (0.02)			-0.51 (0.01)	-0.56 (0.004)		-0.64 (0.001)						-0.62 (0.001)
LDH (U/l)											-0.47 (0.02)		
Albumin (g/dl)								-0.56 (0.005)					
RBC (x10 <sup>6</sup> /μl)					0.65 (0.03)	0.70 (0.02)						0.70 (0.02)	
Heterophils (%)			-0.74 (0.01)										
Lymphocytes (%)		0.78 (0.004)		0.62 (0.04)									
Monocytes (%)		0.67 (0.02)											
Eosinophils (%)										0.62 (0.04)			
Basophils (%)				0.63 (0.04)									0.63 (0.04)

Abbreviations: LDH (lactate dehydrogenase), BUN (urea nitrogen), RBC (red blood cell count), WBC (white blood cell count), ΣDrines = aldrin, dieldrin, endrin, endrin aldehyde; Isomers ΣHCH = alpha (α), beta (β), gamma (γ) and delta (δ) of hexachlorocyclohexane. ΣOCPs = sum of total organochlorine pesticides. All tests are performed with a significance level of p < 0.05.