

El papel de la membrana corioalantoidea en la retención de contaminantes organoclorados (plaguicidas) y su relación con otras variables ambientales: sedimentos y plasma de tortuga marina golfina (*Lepidochelys olivacea*) de Baja California Sur, México.

Sergio Rosales Ledezma¹, Orlando Lugo Lugo², Tania Zenteno Zavín² y Lia Celina Méndez Rodríguez².

¹Laboratorio de Cromatografía de Gases. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, U.N.A.M. Av. De Los Barrios No. 1. Los Reyes Iztacala Tlalnepantla, C.P. 54090, Estado de México, México. Tel.: 56 23 12 12. Email: sergioro@servidor.unam.mx

²Laboratorio de Estrés Oxidativo, Planeación Ambiental y Conservación. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. CIBNOR Baja California Sur., Mar Bermejo No. 195, Col. Playa Palo de Santa Rita Apdo. Postal 128; La Paz, BCS 23090, México, Tel.:(52) (612) 123-8484 Fax:(52) (612) 125-3625; (612) 123-8484 ext. 3341 y 3665. Email: olugo04@cibnor.mx, tzenteno04@cibnor.mx,

lmendez04@cibnor.mx

RESUMEN

Se ha sugerido que las tortugas al consumir sus alimentos, como algas, sargazo y vegetación marina pueden ingerir agua y sedimentos contaminados por compuestos organoclorados (OCs). También se considera que la exposición a los bifenilos policlorados (PCBs) por parte de las tortugas marinas es de manera directa y la transferencia de estos contaminantes se daría desde la madre hacia los huevos y posiblemente perturbar el nacimiento de las crías. La acumulación de los OCs en los huevos de aves y reptiles puede desembocar en la exposición del individuo a altos niveles de contaminantes durante las primeras fases de desarrollo, momentos en los que los efectos tóxicos podrían resultar más adversos que los ocurridos en etapas posteriores, juveniles y adultos. El presente estudio representa los primeros datos de contaminantes plaguicidas reportados para tortuga marina golfina (*Lepidochelys olivacea*) en la zona geográfica de Todos Santos Baja California Sur, México. En este trabajo se observó que existe una relación directa entre las variables (huevo y cascarón con membrana corioalantoidea) y una asociación débil entre las variables (sedimento, plasma sanguíneo). Los niveles de OCs se determinaron por cromatografía de gases de alta resolución. Las concentraciones encontradas variaron desde 2.4 hasta 48.3 $\eta\text{g g}^{-1}$ en cascarón con membrana corioalantoidea (CAMs), en huevo el rango fue de 1.1 hasta 14.5 $\eta\text{g g}^{-1}$, en plasma se encontraron niveles traza por debajo de 1 $\eta\text{g g}^{-1}$ y en sedimentos vario desde 8.4 a 42 $\eta\text{g g}^{-1}$. Los resultados obtenidos de estos huevos de tortuga indican que: 1) Las concentraciones de las CAMs junto con el cascarón representan casi el 86% de las concentraciones de los huevos enteros y 2) Las CAMs se pueden obtener de una manera no letal para determinar las concentraciones de OCs en tortugas marinas. Las concentraciones de OCs más frecuentemente detectadas en muestras de tejidos biológicos no se consideran carcinogénicas, ni responsables directos de la muerte del organismo. Sin embargo, conducen a una serie de efectos crónicos que los hace ser considerados disruptores hormonales, inmunosupresores, así como causantes de efectos adversos en el sistema reproductivo y nervioso de los organismos. Los huevos y el plasma al ser obtenidos de una manera inocua, son indicativos de que el muestreo puede proporcionar una buena medida de la exposición de los organismos hacia los OCs y se podría utilizar para monitorear la contaminación ambiental.

ABSTRACT

Palabras Clave: Tortuga marina, Plaguicidas, Huevos de tortuga, *Lepidochelys olivacea*, Compuestos Organoclorados (OCs).

It has been suggested that the turtles when they eat their food, like algae, sargassum and marine vegetation could also ingest water and sediments contaminated by organochlorine compounds (OCs). In this study suggests that exposure to PCBs from marine turtles could be a direct way, and the transfer of these contaminants would be from the mother to the eggs and possibly disrupt the birth of the baby turtles. Accumulation of the OCs in the eggs of birds and reptiles can result in exposure of individuals to high levels of pollutants during the early stages of development, moments in which the toxic effects may be more adverse than those in later stages, juveniles and

adults. The present study represents the first data of polluting pesticides reported for this specie of marine turtle in the geographic zone of Todos Santos Baja California Sur Mexico. In this study the relationship was examined among the involved variables (sediment, plasma blood, egg, shell with chorioallantoic membrane). This work showed that there was a direct relationship between the variables (egg and chorioallantoic membrane shell) and a weak association between the variables (sediment, blood plasma). The organochlorine pesticide levels were determined by high resolution gas chromatography. The found concentrations varied from 2,4 to 48,3 $\eta\text{g g}^{-1}$ in shell with chorioallantoic membrane (CAMs), in egg the range was of 1,1 to 14,5 $\eta\text{g g}^{-1}$, in plasma were levels below 1 $\eta\text{g g}^{-1}$ and in sediments vary from 8,4 to 42 $\eta\text{g g}^{-1}$. Data from these turtle eggs indicate 1) The concentrations of CAMs with the shell representing almost 86% of the concentrations of whole eggs and 2) The CAMs are collected from non-lethal way to determine the concentrations of OCs on sea turtles. Concentrations of OCs more frequently detected in samples of biological tissues are not considered carcinogenic or directly responsible for the death of the organism. However, lead to a number of chronic effects that makes them considered hormone disruptors, immunosuppressants, as well as causing adverse effects on the reproductive and nervous system of organisms. Eggs and plasma indicate that sampling may provide a nonlethal measure the exposure of OCs and could be used to monitor environmental pollution.

Key words: Turtle, Pesticides, Turtle Eggs, *Lepidochelys olivacea*, Organochlorines Compounds.

INTRODUCCIÓN

La sociedad actual es producto del desarrollo de la práctica industrial y agrícola, lo que supone un aumento en el uso de una gran variedad de productos químicos. Estas sustancias, sus derivados y aquellos generados en el proceso de su producción, suelen terminar en el mar. Los compuestos orgánicos como los bifenilos policlorados (PCB) y plaguicidas organoclorados (OCs), como el dicloro difenil tricloroetano (DDT) y sus derivados, han contaminado el ambiente mundial desde 1940 cuando inició su producción (Iwata *et al.*, 1993), propagándose por todas las regiones geográficas como resultado de su uso intensivo en actividades agrícolas e industriales. Actualmente, el transporte atmosférico es reconocido como la principal causa de su dispersión (Takeoka *et al.*, 1991) y la primera fuente de contaminación de las regiones polares y ambientes de mar abierto (Ono *et al.*, 1987; Bacon *et al.*, 1992). Sin embargo, los OCs continúan siendo detectados en las diferentes muestras ambientales y en los tejidos animales debido a su estabilidad, su capacidad de bioacumulación, su presencia en los diferentes ecosistemas y su continua utilización en algunos países en vías de desarrollo (Iwata *et al.*, 1994; Letcher *et al.*, 1995; Rybitski *et al.*, 1995). En México, los asentamientos humanos de las entidades federativas aledañas al Golfo de California, se han formado y desarrollado en valles y zonas montañosas donde las principales actividades económicas son la agricultura, la ganadería, la pesca, el turismo, la industria y la minería. En esta región, la agricultura se distingue por ser una de

las más tecnificadas del país. De acuerdo con la información que existe, los principales contaminantes de origen ambiental en los alimentos en México son los OCs y sus derivados (Mena *et al.*, 1986). Los OCs presentan una resistencia a ser degradados metabólicamente lo que, unido a su lipoafinidad, hace que tras su ingestión sean acumulados en el tejido adiposo, principalmente en vertebrados (Colborn *et al.*, 1996). Las mayores concentraciones de OCs en tortugas se han encontrado en la grasa subcutánea, posteriormente en el hígado, riñón y músculo pectoral (Martineau *et al.*, 1987; Hale *et al.*, 1991; Bernhoft *et al.*, 1994; Rybitski *et al.*, 1995; McKenzie *et al.*, 1999). La grasa subcutánea contiene la mayor cantidad de contenido lipídico y porcentaje de triglicéridos (expresado sobre el total de lípidos, que pueden ser detectados en tejido sanguíneo a través de una química sanguínea), (Rybitski *et al.*, 1995).

Es escasa la información disponible y pocos son los estudios que se han publicado con respecto a las concentraciones de OCs en tortugas marinas (Rybitski *et al.*, 1995; Pugh *et al.*, 2001) y a causa de la tendencia de los OCs a la bioacumulación a lo largo de las cadenas tróficas, se pueden llegar a medir niveles considerables en los tejidos de las diferentes especies de animales, incluido al ser humano (Waliszewski *et al.*, 2002). Niveles de PCBs, junto con el DDT y sus derivados, han sido reportados en huevos de tortuga caguama (*Caretta caretta* conocida también como tor-

tuga loggerhead, tortuga caguama o tortuga boba), estudio realizado en Georgia y del sur de Carolina (Hillestad *et al.*, 1974) y en huevos de tortuga verde (*Chelonia mydas*) de la isla de la Ascensión (Thompson *et al.*, 1974), sin dar la relación de transferencia de estos compuestos de la madre a los huevos. También han sido reportados contaminantes en huevos de tortugas caguama y verde de la Florida (Clark *et al.*, 1980) y compuestos organoclorados procedentes de tejido hepático y muscular (McKim *et al.*, 1983). Cobb y Wood en 1997, en su trabajo determinaron la concentración de compuestos organoclorados en crías de tortugas caguama (*Caretta caretta*) sin necesidad de recurrir a un tipo de muestras que impliquen la muerte del ejemplar, realizaron un estudio basado en la comparación de los niveles de contaminantes OCs detectados en las membranas corioalantoidea frente a los detectados en el huevo. Las concentraciones de PCBs en las membranas corioalantoidea resultaron mayores que las observadas en los huevos. La acumulación de los OCs en los huevos de aves y reptiles puede desembocar en la exposición del individuo a altos niveles de contaminantes durante las primeras fases de desarrollo, momentos en los que los efectos tóxicos pueden resultar más adversos que los ocurridos en etapas posteriores, juveniles y adultas (Bern, 1992; Thomas *et al.*, 1992). Estudios durante la década de los 90s han sugerido que los DDTs y PCBs pueden causar debilidad reproductiva en ciertos reptiles, incluyendo algunas especies de tortugas, por su vulnerabilidad y susceptibilidad a los efectos tóxicos (Hebert *et al.*, 1993; Bishop *et al.*, 1994 a,b 1995; Bishop *et al.*, 1996) en sus primeros estadios de vida (Bergeron *et al.*, 1994; Guillette *et al.*, 1995; Bishop *et al.*, 1998).

Las concentraciones de OCs más frecuentemente detectadas en muestras de tejidos biológicos no se consideran carcinogénicas ni responsables directos de la muerte del organismo. Sin embargo, conducen a una serie de efectos crónicos que los hace ser considerados disruptores hormonales, inmunosupresores (Anderson, 1989), así como causantes de efectos adversos en el sistema reproductivo (Bergeron *et al.*, 1994; Guillette *et al.*, 1995; de Solla *et al.*, 2003; Argemi *et al.*, 2005-33) y nervioso de los organismos (Colborn *et al.*, 1996). Las investigaciones realizadas desde principio de los años 90 indican que algunos plaguicidas imitan, incrementan o inhiben la acción de las hormonas, alterando el funcionamiento adecuado del sistema endócrino (Adami *et al.*, 1995; Ahlborg *et al.*, 1995; Wolff *et al.*, 1995; Kang *et al.*, 1996; López-Carrillo *et al.*, 2001, 2002).

Sin embargo, en algunos estudios se han reportado mayores niveles de plaguicidas y otros OCs en tortugas marinas en comparación con peces marinos y

otras especies más, estos trabajos han demostrado deformidades en los organismos que han eclosionado (Hutchinson *et al.*, 1994). En investigaciones anteriores se han reportado los niveles de PCBs en tortugas marinas, pero la mayoría reportan las concentraciones totales, y no a los congéneres de manera individual (Thompson *et al.*, 1974). Una extensiva revisión sobre los contaminantes ambientales en tortugas fue publicada por Meyers-Schöne y Walton (1994), los cuales mencionan que la mayor parte de las publicaciones están relacionados con especies de agua dulce. Por lo tanto se necesita establecer una base de datos que permita a los científicos determinar cuál es el papel de los OCs y otros contaminantes sobre el posible efecto de la declinación en las poblaciones de tortugas marinas.

Las siete especies de tortugas marinas consideradas en peligro de extinción internacional (IUCN, 2007) pueden presentar altas concentraciones de estos contaminantes debido a su larga vida, y a su tránsito por varias fuentes potenciales de contaminantes durante las migraciones. Hasta el momento, no ha habido una correlación directa, entre la mortalidad de las tortugas marinas con los altos niveles de contaminantes detectados en muestras de tejidos y los estudios que vinculan a los OCs con el decremento de las poblaciones de tortugas marinas. Aún más la sensibilidad de esta especie (*Lepidochelys olivacea*) hacia los contaminantes OCs es desconocida, ya que no hay reportes publicados que establezcan concentraciones-límite seguras en que estos compuestos pudiesen afectar a la eclosión de los huevos. En el presente trabajo se sugiere si los niveles detectados de OCs en tortuga golfina pudiese ser un factor de peso para la no eclosión de los huevos.

En el desarrollo del trabajo se aplicó un análisis de correlación *del momento producto de Pearson* para contar con un indicador del grado de intensidad o fuerza de la relación (asociación) entre las variables involucradas (sedimento, plasma sanguíneo, huevo, cascarón con membrana corioalantoidea). Se utilizó el paquete estadístico Stat-Plus de Microsoft Excel.

Nuestra Hipótesis Nula: $H_0: \rho = 0$ (de NO ASOCIACIÓN)

Hipótesis Alternativa: $H_a: \rho \neq 0$ (de ASOCIACIÓN)

El objetivo principal de esta investigación, fue dar a conocer los niveles de OCs (plaguicidas) detectados en sedimento, plasma, huevos y cascarón con membrana corioalantoidea de tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*) de Baja California Sur y estimar la posible transferencia de estos compuestos de la madre hacia los huevos.

ÁREA DE ESTUDIO

Punta San Cristóbal se localiza a una altura de 13 m sobre el nivel del mar en el paralelo 22°57'59.4" Latitud Norte con 110°03'59.8" Longitud Oeste en Punta

San Cristóbal con 22°59'20" de Latitud Norte y con 110°03'70" de Longitud Oeste en Punta El Cardoncito (fig. 1) Playa El Suspiro se encuentra en Punta San Cristóbal en el paralelo 22° 52' 40" Latitud Norte y 109° 57' 40" Longitud Oeste en Cabo Falso.

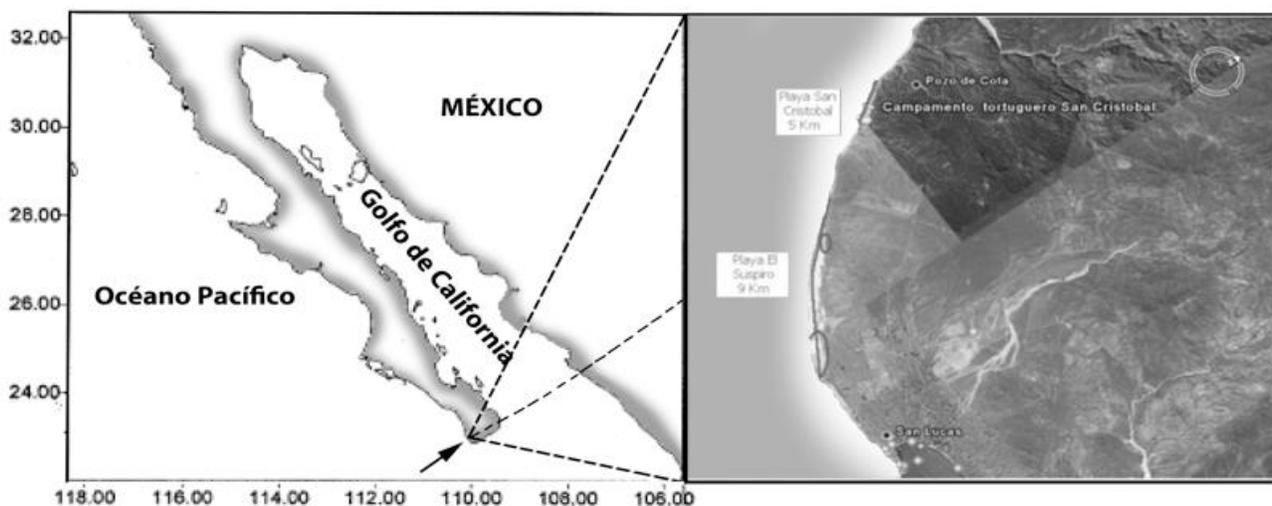


Figura 1. Localización del área de estudio.

METODOLOGÍA

La colecta de sangre, sedimentos y huevos de tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*) se llevo a cabo durante los meses de septiembre y octubre del 2008 en en dos campamentos, uno en la región de Punta San Cristóbal: Playa San Cristóbal y otro en Playa El Suspiro. En esta primera etapa preliminar, se atraparon seis tortugas para tomar sus medidas estándares morfométricas (Ancho del caparazón curvo: *CCW*; Ancho del caparazón lineal: *SCW*; Longitud del caparazón curvo: *CCL*; Longitud de caparazón lineal: *SCL*).

Después de la anidación, se tomaron muestras de sangre de las madres sexualmente maduras de entre 10 y 20 años de edad, las cuales corresponden aproximadamente al 30% de las tortugas que arriban por temporada anual en el área total de las playas en estudio (Marquéz *et al.*, 1982). Las muestras de sangre, se tomaron del seno venoso, aproximadamente 10 ml. por tortuga, usando jeringas estériles y tubos de tipo vacutainer heparinizados.

Las muestras de sangre se centrifugaron a 3000 rpm por tres minutos para la separación del plasma. El plasma obtenido se congeló a -20°C para su posterior análisis. Se utilizó el método de Keller *et al.*, 2004 y Dabrowska *et al.*, 2006, modificado en éste trabajo; para el análisis de OCs.

Posteriormente se tomó una alícuota de 2.0 ml. de plasma sanguíneo y se transfirió a un tubo de ensayo de 20 ml., se agregó una cantidad igual de metanol grado HPLC (1:1), y se añadieron 10 µl de estándar interno Tri-CDD 10 ηg µl⁻¹ (1, 7,8- Tricloro- dibenzo-p-dioxina C₁₂H₅Cl₃O₂). Se agitó en vortex, por 30 segundos y se dejó reposar por 15 minutos para desnaturalizar las proteínas. En seguida se realizó la operación de extracción dos veces más usando 7.5 ml. de hexano-diclorometano (1:5 v/v) grado HPLC.

El extracto se agito en vortex por 15 segundos y se sonicó por 15 segundos más, se dejó reposar por 30 minutos. En este paso para la determinación de lípidos se utilizó una alícuota de 1.0 ml. que representa entre 20 y 30% del extracto total. Los lípidos se cuantificaron por gravimetría, se realizó una centrifugación por 15 minutos a 1500 rpm a una temperatura entre 8.0 y 10°C, las fases de hexano-DCM (capa superior) se juntaron y se transfirieron a un matríz de fondo plano. Los extractos obtenidos, se concentraron en un centrievaporador (marca LABCONCO) a una temperatura entre 37 y 38°C. Después se eluyó el concentrado en una columna cromatográfica empacada con 13g de fluorisil y 2.0g de sílica deactivada (1% agua desionizada) y se usaron 30 ml. de hexano como eluyente. El eluato se concentró con una corriente de gas nitrógeno (grado cromatográfico). El extracto final se concentró y se intercambió por isoctano a un volumen de aforo

de 100 µl. Finalmente se agregó TCDD (1,2,3,4-Tetracloro-dibenzo-p-dioxina ($C_{12}H_4Cl_4O_2$, CAS No. 30746-58-8, Cat. No. D-401-STP), como sorrugado.

Tras 45 días de incubación se colectaron 8 huevos que no eclosionaron (se envolvieron en papel aluminio y se congelaron a $-20^{\circ}C$) por nido; de al menos 6 nidos por campamento, siendo 96 huevos la colecta total de los dos campamentos para la realización de este estudio. Esta muestra corresponde aproximadamente al 30% de las tortugas que arriban por temporada anual de anidación del área total de la playa de San Cristóbal y playa El Suspiro; censo realizado (1995-2006) por Rodríguez et al., 2008; la estimación de las anidaciones a partir del método de muestreo se basa en el modelo propuesto por Márquez y Van Dissel (1982). Los huevos no eclosionados se descongelaron y se enjuagaron con agua destilada y se les determinó la concentración de OCs, correlacionándolos con los niveles de OCs detectados en sedimento, plasma y cascarón con su membrana corioalantoidea. Para la determinación de los OCs de sedimentos del sitio de anidación (nido del campo tortuguero), se pesaron 5 g de muestra (en base húmeda) y se siguió el mismo procedimiento anteriormente mencionado. La extracción se realizó con 150 ml. de acetona-hexano (1:1) grado HPLC en un equipo Soxhlet de 6 a 8 horas. El extracto se pasó a la parte superior de una columna empacada con 13 g de fluorisil desactivada al 1.0% y se enjuagó el recipiente con hexano dos veces, drenando estos residuos a la columna. Se eluyó con 200 ml. de una mezcla de DCM al 6% con hexano (Fracción 1). De ésta fracción se obtuvieron Aldrín, Heptacloro-époxico, DDE, DDD, y DDT de los OCs. Después se eluyó con 200 ml. de una mez-

cla de DCM al 15% en hexano (Fracción 2). Obteniéndose de esta fracción: Dieldrin y Edrin de los OCs. Se concentró cada fracción hasta 5 ml., se envasaron en tubos de 10 ml. hasta su análisis cromatográfico. Las muestras se analizaron en cromatógrafo de gases en un equipo Agilent modelo 6890N, detector de masas modelo 5973N y un detector de captura de electrones (Niquel63). Para la separación de los OCs se usó una columna cromatográfica capilar de sílica fundida HP-5MS (parte: 19091S-433-Agilent Technologies) de 30 m X 0.25 mm. de diámetro interno y 0.25µm de grosor de película. El helio se usó como gas acarreador, con un flujo de 1.0 ml. min.⁻¹. La identificación y cuantificación de los plaguicidas se realizó en base a los tiempos de retención y el área bajo la curva de los picos, comparándolos con el patrón establecido por los estándares internos y externos de concentración de acuerdo a Murtaugh y Bunch. (1976). Los límites de detección para los 20 congéneres de los plaguicidas se determinaron dos veces al nivel del ruido y fueron entre 0.001 a 0.002 ng g⁻¹, siendo el límite de extinción entre 0.0025ngg₋₁.

Los parámetros de base son: Temperatura del Inyector: 280°C. Temperatura del Detector: 300°C. Tipo de Inyección: splitless. Gas: Helio de alta pureza grado cromatográfico, con un flujo de 1 ml. min.⁻¹. Programa de separación: Temperatura inicial: 90°C por 1 min. Rampa 1 del programa: 10°C/min hasta 150°C. Rampa 2 del programa: 3°C/min hasta 280°C, por 15 min. Tiempo total de corrida: 65.33 minutos. Todos los cálculos se realizaron dentro del rango lineal del detector con una curva de calibración de cinco niveles.

Cuadro No. 1	ng g ⁻¹	ng g ⁻¹	ng g ⁻¹	ng g ⁻¹
NOMBRE DEL COMPUESTO	Sedimento	Plasma Tortuga	Huevo-Tortuga	Cascarón-CAMs-Tortuga
α-Lindano	ND	ND	ND	ND
β-Lindano	8,4	ND	14,5	48,3
γ-Lindano	10,9	ND	ND	7,4
δ-Lindano	ND	ND	ND	10,6
Heptacloro	ND	ND	ND	21,8
Aldrín	ND	ND	ND	20,0
Heptacloro epoxido	ND	ND	ND	7,2
γ-Clordano	ND	ND	ND	ND
Endosulfan I	ND	ND	ND	ND
α-Clordano	ND	ND	ND	3,8
Tri-CDD (E. I)	0,9	1,0	1,0	0,9
p,p' -DDE	ND	ND	ND	ND
Endrin	ND	ND	ND	8,7

Endosulfan II	ND	ND	ND	ND
p,p'-DDD	ND	ND	ND	ND
Endrin Aldehido	ND	ND	ND	2,4
Endosulfan Sulfate	ND	ND	ND	ND
TCDD (Sorrugado)	1,4	1,3	1,1	1,0
p,p'-DDT	ND	ND	ND	ND
Endrin Cetona	ND	ND	ND	ND
Metoxicloro	4,2	0,3	5,5	5,3
Suma		2,6	22,1	137,5
Porcentaje		1,6 %	13,6 %	84,8 %

Cuadro 1. Cuadro de resultados de plaguicidas, estándar interno (E.I).

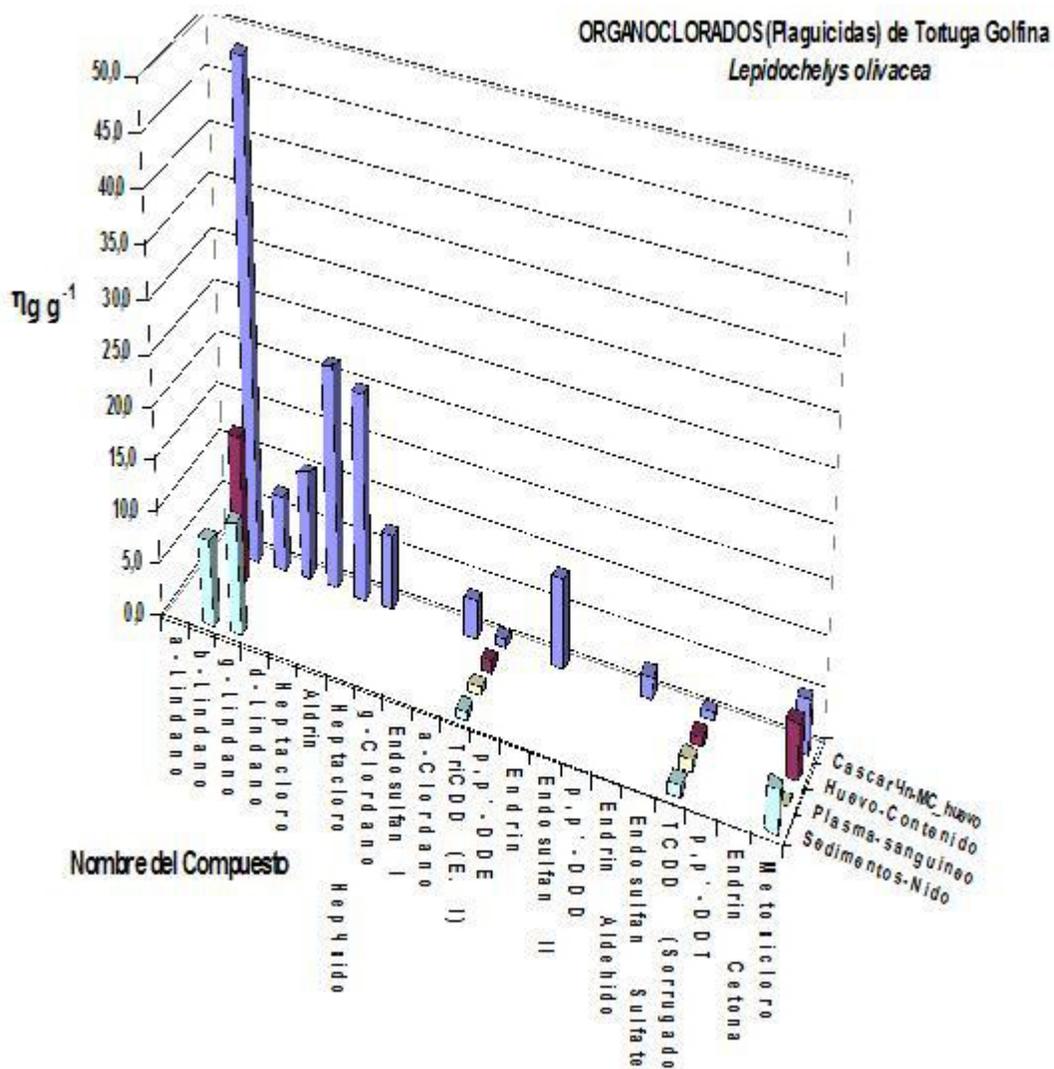


Figura 2. Plaguicidas detectados en el estudio.

DISCUSIÓN

El presente estudio representa los primeros datos reportados para esta especie de tortuga en la zona geográfica de Todos Santos Baja California Sur, México. El contenido lipídico en los huevos de tortuga y membrana corioalantoidea unida a su cascarón analizados fue en promedio de 41,963 y 4,921 mg g⁻¹ respectivamente; habiendo una relación lipídica entre el huevo y el cascarón de 8.5 o una relación porcentual de aproximadamente un 12%.

Las concentraciones de OCs (plaguicidas) variaron desde 2.4 hasta 48.3 $\eta\text{g g}^{-1}$ en cascarón con CAMS y en el huevo el rango fue de 1.1 hasta 14.5 $\eta\text{g g}^{-1}$, lo que evidencia que es posible que la membrana corioalantoidea sirva como barrera fisiológica protectora para capturar y retener los OCs y de esta manera no llegar de una manera directa hacia el embrión en proceso de desarrollo para su posterior eclosión; resultados que concuerdan con los reportados por Cobb y Wood en 1997 para tortuga caguama (*Caretta caretta*); en plasma se encontraron niveles traza debajo de 1 $\eta\text{g g}^{-1}$ y en sedimentos desde 8.4 a 42 $\eta\text{g g}^{-1}$.

MATRIZ DE CORRELACIÓN DE PEARSON ENTRE LAS VARIABLES INVOLUCRADAS				
	Sedimento ($\eta\text{g g}^{-1}$)	Plasma Tortuga ($\eta\text{g g}^{-1}$)	Huevo-Tortuga ($\eta\text{g g}^{-1}$)	CAM-Cascarón de Huevo-Tortuga ($\eta\text{g g}^{-1}$)
Sedimento ($\eta\text{g g}^{-1}$)	1,000			
Plasma Tortuga ($\eta\text{g g}^{-1}$)	$r = 0,031; p = 0,8942$ (NO ASOCIACIÓN)	1,000		
Huevo-Tortuga ($\eta\text{g g}^{-1}$)	$r = 0,609; p = 0,0034$ (ASOCIACIÓN)	$r = 0,048; p = 0,8363$ (NO ASOCIACIÓN)	1,000	
CAM-Cascarón de Huevo-Tortuga ($\eta\text{g g}^{-1}$)	$r = 0,498; p = 0,0215$ (NO ASOCIACIÓN)	$r = -0,163; p = 0,8363$ (NO ASOCIACIÓN)	$r = 0,769; p = 4,70492\text{E-}05$ (ASOCIACIÓN)	1,000
	Coeficientes de Correlación de Pearson			
	g.l. = n-2			Valor de tablas: 1%
				0,549

Cuadro 2. Matriz de correlación de Pearson, entre las variables involucradas.

En el análisis estadístico de correlación del momento producto de Pearson establecido en este estudio, no se encontró una asociación entre las variables estudiadas (sedimento, plasma sanguíneo, huevo). Por tanto en este estudio se aceptó la Hipótesis Nula de no asociación entre las variables involucradas. La relación significativa más fuerte, se presentó entre la membrana corioalantoidea y el huevo con una r (coeficiente de correlación de Pearson) de 0.8, con una probabilidad $p = 4.70492\text{E-}05$ y un 99% de confiabilidad; en donde H_0 es aceptada por haberse presentado una relación más estrecha.

CONCLUSIONES

Se puede inferir que las mayores concentraciones OCs encontrados en cascarón y CAMs de alrededor de un 85% (cuadro 1, fig.2), (datos que concuerdan con los resultados de Cobb et al., 1997), pueden provenir de la madre y de ella transferirse a los huevos; esta transmisión se lleva a cabo de manera casi inmediata del plasma al hígado, tejido adiposo, riñón, músculo (Martineau et al., 1987; Mothershead et al., 1991; Bernhoft et al., 1994; Rybitski et al., 1995; McKenzie et al., 1999) y hacia los huevos (Gardner et al., 2003), aunque es posible que la madre lleve a cabo un mecanismo fisiológico de detoxificación.

Los resultados obtenidos de estos huevos de tortuga nos indican que 1) Las concentraciones de las CAMs junto con el cascarón representan casi el 85% de las

concentraciones en los huevos enteros y 2) Las CAMs se pueden obtener de una manera no letal para determinar las concentraciones de compuestos organoclorados en tortugas marinas. Las concentraciones de OCs (plaguicidas) detectadas son relativamente bajas tanto en huevo como en plasma, pero la sensibilidad de esta especie hacia los contaminantes es aún desconocida y en general se considera que los OCs en las aguas del golfo de California están por debajo de los límites internacionales establecidos para la protección de la biota acuática (1×10^{-4} mg l⁻¹ para DDE y 16×10^{-4} mg l⁻¹ para HCB) (Gutierrez-Galindo et al., 1992). También es difícil asegurar con los niveles observados en este estudio que impacto podrían ocasionar los OCs (plaguicidas) en esta especie de tortuga, ya que pocos estudios toxicológicos concernientes a OCs en tortugas marinas han sido publicados y no se han establecido concentraciones-límite seguras de estos compuestos que pudiesen afectar a las poblaciones de estos reptiles; es decir, no hay referencias de concentraciones toxicológicas para esta especie.

Con respecto a la asociación débil a moderada que se observó entre los huevos y el sedimento, se podría inferirse que los plaguicidas detectados podrían haber llegado al huevo a través de la cáscara que tiene características de permeabilidad osmótica, tanto a líquidos como a gases, y a través de ella se efectúan los intercambios necesarios durante el casi mes y medio que dura el desarrollo embrionario.

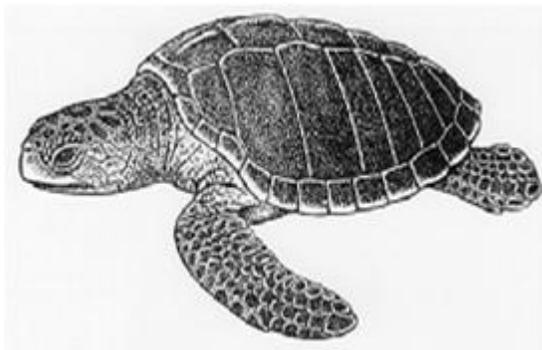


Figura 3. Tortuga golfinia o lora (*Lepidochelys olivacea*). IUCN. (2006, 2007); en peligro de extinción.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecemos a la M en C. Elizabeth González y a René Pinal del campamento tortuguero ASUPMATOMA, A.C. A.P. 68, Cabo San Lucas B. C. S. Tel:(624)143 07 58 asupmatoma@hotmail.com Por su apoyo incondicional para la realización de este trabajo.

LITERATURA CITADA

- Adami H., Lipworth L., Titus-Ernstoff L., Hsieh C., Hanberg A., Ahlborg U., Baron J. y Trichopoulos D. 1995. Organochlorine compounds and estrogen related cancers in women. *Cancer Cause & Control*. 6, 551-566.
- Ahlborg U.G., Lipworth L., Titus-Ernstoff L., Hsieh C., Hanberg A., Baron J., Trichopoulos A. y Adami H. 1995. Organochlorine compounds in relation to breast cancer, endometrial cancer, and endometriosis: an assessment of the biological and epidemiological evidence. *Critical Rev. Toxicol.* 25, 463-531.
- Anderson, R. S. 1989. Effects of pollutant-exposure on hemocyte-mediated immune function. *J. Shell-fish Res.* 8:435-436.
- Argemi, F., Cianni, N., Porta, A. 2005. Disrupción endocrina: perspectivas ambientales y salud pública. *Acta Bioquím Clíin Latinoam*; 39(3):291-300.
- Bacon, C. E., Jarman, W. M., & Costa, D. P. 1992. Organochlorine and polychlorinated biphenyl levels in pinniped milk from the Arctic, the Antarctic, California and Australia. *Chemosphere*, 24:779-791.
- Bergeron, J. M., Crews, D., & McLachlan, J. A. 1994. PCBs as environmental estrogens: turtle sex determination as a biomarker of environmental contamination. *Environmental Health Perspectives*, 102(9):780-781.
- Bern, H. A. 1992. The fragile fetus. pp: 9-15. En: Colborn, T., Clement, C. (EDS). *Chemically Induced Alterations in Sexual and Functional Development: The Wildlife/Human Connection*. Princeton Scientific Publishing, Princeton, NJ.
- Bernhoft, A., & Skaare, J. U. 1994. Levels of selected individual polychlorinated biphenyls in different tissues of harbour seals (*Phoca vitulina*) from the southern coast of Norway. *Environmental Pollution*, 86:99-107.
- Bishop CA, Brown GP, Brooks RJ, Lean DRS, Carey JH. 1994a. Organochlorine contaminant concentrations in eggs and their relationship to body size, and clutch characteristics of the female common snapping turtle (*Chelydra serpentina serpentina*) in Lake Ontario, Canada. *Arch Environ Contam Toxicol.* 27: 82-87.
- Bishop CA, Brooks RJ, Ng P, Kennedy S, Stegeman JJ, Norstrom RJ. 1994b. Effects of chlorinated hydrocarbons on snapping turtles in Areas of Concern in the Great Lakes. Abstracts (No. 317) of the fifteenth annual meeting of the Society of Environmental Toxicology and Chemistry 30 Oct 3 Nov 1994; Denver, Colorado. p.57
- Bishop, C. A., Lean, D. R. S., Brook, R. J., Carey, J. H., & NG, P. 1995. Chlorinated hydrocarbons in early life stages of the common snapping turtle (*Chelydra serpentina serpentina*) from a coastal wetland on Lake Ontario, Canada. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 14(3):421-426.
- Bishop, C. A., NG, P., Norstrom, R. J., Brooks, R. J., & Pettit, K. E. 1996. Temporal and geographic variation of organochlorine residues in eggs of the common snapping turtle (*Chelydra serpentina serpentina*) and comparisons in PCB patterns in herring gulls (*Larus argentatus*) in the Great Lakes basin in Ontario, Canada (1981-1991). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 31(4): 512-524.
- Bishop, C. A., NG, P., Pettit, K. E., Kennedy, S., Stegeman, J. J., Norstrom, R. J., & Brooks, R. J. 1998. Environmental contamination and developmental abnormalities in eggs and hatchlings of the common snapping turtle (*Chelydra serpentina serpentina*) from the Great Lakes-St. Lawrence River basin (1989-91). *Environmental Pollution*, 99:1-14.
- Clark, D. R., and A. J. Krynskiy. 1980. Organo-chlorine residues in eggs of loggerhead and green sea turtles nesting at Merritt Island, Florida-July and August 1976. *Pestic. Monit. J.* 14:7-10.
- Cobb, G. P., & Wood, P. D. 1997. PCB concentrations in eggs and chorioallantoic membranes of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) from the Cape Romain National Wildlife Refuge. *Chemosphere*, 34(3): 539-549.
- Colborn, T., & Smolen, M. J. 1996. Epidemiological analysis of persistent organochlorine contaminants in cetaceans. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 146:91-172.
- Dabrowska H., Fisher S. W., Estenik J., Kidexhel R., Stromberg P. 2006. Polychlorinated Biphenyl Concentrations, Congener Profiles, and Ratios in the Fat Tissue, Eggs, and Plasma of Snapping Turtles (*Chelydras. serpentina*) from the Ohio Basin of Lake Erie, USA. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 51, 270-286.
- de Solla Shane R., Bishop Christine A., Van Der Kraak Glen., and Brooks Ronald J. 2003. Relative Contributions of Organochlorine Contaminants, Parasitism and Predation Success of Eastern Spiny Softshell Turtles (*Apalone spiniferus spiniferus*) from Southern Notario, Canada. *Ecotoxicology*, 12, 261-270.
- Gardner, S.C., Pier, M. D., Wesselman, R. y Arturo Juárez. 2003. Organochlorine contaminants in sea turtles from the Eastern Pa-

cific. *Mar. Pollut. Bull.* 46(9):1082-1089.

Guillette JR., L. J., Crain, D. A., Rooney, A. A. & Pickford, D. B. 1995. Organization versus activation: the role of endocrine-disrupting contaminants (EDCs) during embryonic development in wildlife. *Environmental Health Perspectives*, 103(6):157-164.

[50] Gutiérrez-Galindo, E., G. Flores, M. Ortega & J. Villaescua. 1992. Pesticidas en las aguas costeras del Golfo de California: Programa de vigilancia con mejillón 1987-1988. *Cien. Mar.* 18: 77-99.

Hale, R. C. 1988. Disposition of polycyclic aromatic compounds in blue crabs, *Callinectes sapidus*, from the southern Chesapeake Bay. *Estuaries*, 11:255-263.

Hebert, C. E., Glooschenko, V., Haffner, G. D., & Lazar, R. 1993. Organic contaminants in snapping turtle (*Chelydra serpentina*) populations from southern Ontario, Canada. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 24:35-43.

Hillestad, H. O., R.J. Reimold, R. R. Stickney, H. L. Windom, and J. H. Jenkins. 1974. Pesticides, heavy metals and radionuclide uptake in logger-head sea turtles from South Carolina and Georgia. *Herp. Review.* 5:75.

Hutchinson, L., & Simmonds, M. 1994. Escalation of threats to marine turtles. *Oryx*, 26:95-102.

IUCN, 2007. Red List of Threatened Species. www.iucnredlist.org Downloaded on 31 August 2007. International Union for the Conservation of Nature and Natural Resources.

Iwata, H., Tanabe, S., Sakai, N., & Tatsukawa, R. 1993. Distribution of persistent organochlorines in the oceanic air and surface seawater and the role of ocean on their global transport and fate. *Environmental Science & Technology*, 27:1080-1098.

Iwata, H., Tanabe, S., Sakai, N., Nishimura, A. & Tatsukawa, R. 1994. Geographical distribution of persistent organochlorines in air, water and sediments from Asia and Oceania, and their implications for global redistribution from lower latitudes. *Environmental Pollution*, 85:15-33.

Kang K.S., Wilson M.R., Hayashi T., Chang CH. y Trosko J. 1996. Inhibition of gap junctional intercellular communication in normal human breast epithelial cells after treatment with pesticides, PCBs, and PBBs, alone or in mixtures. *Environ. Health. Perspect.* 104, 192-200.

Keller J. M., Kucklick J. R., McClellan-Green P. D. 2004. Organochlorine Contaminants in Loggerhead Sea Turtle Blood: Extraction Techniques and Distribution Among Plasma and Red Blood Cells. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 46, 254-264.

Letcher, R. J., Norstrom, R. J., & Bergman, A. 1995. Geographical distribution and identification of methyl sulfone PCB and DDE metabolites in pooled polar bear (*Ursus maritimus*) adipose tissue from western hemisphere Arctic and sub-Arctic regions. *Science of Total Environment*, 161:409-420.

López-Carrillo L Torres Sánchez L., Moline J., Ireland K. Y Wolff M. S. 2001. Breast-feeding and serum pp'DDT levels among Mexican women of childbearing age: A pilot study. *Environ. Res.* 87, 131-135.

López-Carrillo L., López-Cervantes M., Torres-Sánchez L., Blair A., Cebrán-García M. y García R. M. 2002. Serum levels of beta-hexachlorocyclohexane, hexachlorobenzene and polychlorinated biphenyls and breast cancer in Mexican women. *Eur. J. Cancer Prev.* 11, 1-8.

Márquez, R. & H. Van Dissel. 1982. A method for evaluating the number of massed nesting olive ridley sea turtles, *Lepidochelys olivacea*, during an arribazon, with comments on arribazon behaviour. *Neth. J. of Zool.* 32(3): 419-425.

Martineau, D., Beland, P., Desjardins, C., & Legace, A. 1987. Levels of organochlorine chemicals in tissues of beluga whales (*Delphinapterus leucas*) from the St. Lawrence Estuary, Quebec, Canada. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 16:137-147.

Mckenzie, C., Godley, B. J., Furness, R. W., & Wells, D. E. 1999. Concentrations and patterns of organochlorine contaminants in marine turtles from Mediterranean and Atlantic waters. *Marine Environmental Research*, 47:117-135.

Mckim, J. M., and K. L. Johnson. 1983. Polychlorinated biphenyls and p,p'-DDE in loggerhead and green postyearling Atlantic sea turtles. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 31:53-60.

Mena, J. y Loera, R. 1986. Impacto de las plagas en la agricultura en México. Cuadernos CIDICAP, Calera, Zacatecas, México.

Meyers-Schöne, L., & Walton, B. T. 1994. Turtles as monitors of chemicals contaminants in the environment. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 135:93-153.

Mothershead, R. F., Hale II, R. C., & Greaves, J. 1991. Xenobiotic compounds in blue crabs from a highly contaminated urban sub-estuary. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 10:1341-1349.

[47] Murtaugh, J. J. and Bunch, R. L. 1976. Steroles as a measure of fecal pollution. *J. Water Pollut. Cont. Fed.* 39: 404-409.

Ono, M., Kannan, N., Wakimoto, T., & Tatsukawa, R. 1987. Dibenzofurans a greater global pollutant than dioxins? Evidence from analyses of open ocean killer whale. *Marine Pollution Bulletin*, 18:640-643.

Pugh RS, Becker PR. 2001. Sea turtle contaminants: A review with annotated bibliography. Report #NISTIR 6700. National Institute of Standards and Technology, 144 pp.

Rodriguez, R. R., González, P.E., Pinal, R., Volker, K. 2008. AS-UPMATOMA, A.C., Completes twelve years of conservation of the olive ridley sea turtles (*Lepidochelys olivacea*) in Baja California Sur (1995-2006) Poster Final.

Rybitski, M. J., Hale, R. C., & Musick, J. A. 1995. *Distribution of organochlorine pollutants in Atlantic sea turtles.* *Copeia*, 2:379-390.

Takeoka, H., Ramesh, A., Iwata, H., Tanabe, S., Subramanian, A. N., Mohan, D., Magendron, A., & Tatsukawa, R. 1991. Fate of the insecticide HCH in the tropical coastal area of South India. *Marine Pollution Bulletin*, 22:290-297.

Thomas, K. B., & Colborn, T. 1992. Organochlorine endocrine disruptors in human tissues. pp.: 365-394. En: Colborn, T., & Clement, C. (EDS.). Chemically induced alterations in sexual and development: the wildlife-human connection. Princeton, NJ: Princeton Scientific.

Thompson, N. P., P. W. Rankin, and D. W. Johnston. 1974. Polychlorinated biphenyls and p,p'-DDE in green turtle eggs from Ascension Island, South Atlantic Ocean. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 11:399-406.

Waliszewski, S.M., Bermúdez, M.T., y Infanzón, R. M. 2002. Niveles de DDT en tejido adiposo materno, suero sanguíneos y leche de madres residentes en Veracruz, México. Estudio 1997-1999. *Rev. Int. Cont. Ambient.* 18(1): 17-25.

Wolff M.S. y Toniolo P.G. 1995. Environmental organochlorine exposure as a potential etiologic factor in breast cancer. *Environ. Hlth. Perspect.* 103, 141-145.

Fecha de recepción: 9 de febrero de 2011

Fecha de aceptación: 13 de abril de 2011