



UNIDAD ACADÉMICA

FACULTAD DE BIOLOGÍA

DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

**Determinación bacteriana y de metales pesados en tortuga golfina
(*Lepidochelys olivacea*), en playa Ceuta municipio de Elota, Sinaloa**

Tesis que presenta:

M. en C. Jorge Eduardo Valdés Flores

Para obtener el grado de Doctorado en Ciencias Biológicas

Director(s) de tesis:

Dr. Vicente Olimón Andalón

Dr. Vicente Adrián Canizalez Román

Asesor(s) de tesis:

Dr. Alan Alfredo Zavala Norzagaray

Culiacán, Sinaloa

Agosto, 2023





Dirección General de Bibliotecas
Ciudad Universitaria
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57
dgbuas@uas.edu.mx

UAS-Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional Buelna

Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial
Compartir Igual, 4.0 Internacional





AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a el campo Tortuguero de Playa Ceuta guiado por el M.C Igmarr Sosa Cornejo, por facilitarnos los medios disponibles para poder efectuar los muestreos en tortugas marinas y al director de la Facultad de Biología Dr. Vicente Olimón Andalón y Director de tesis de este proyecto, quien en todo momento me brindó el apoyo tanto económico como intelectual para la realización de este proyecto de investigación.

Así mismo al Laboratorio de Biología Celular y Molecular de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Sinaloa, en especial al Dr. Vicente Adrián Canizalez Román, quien es Director de tesis de este proyecto, por el invaluable apoyo para el desarrollo del mismo. Por otra parte, al Programa de Protección y Conservación de Vida Silvestre del Departamento de Medio Ambiente del IPN-CIIDIR Unidad Sinaloa dirigido por el Dr. Alan Alfredo Zavala Norzagaray quien me asesoró en todo momento, al igual que el Dr. Cesar Paul Ley Quiñonez.

Al programa de becas de CONACYT 2018-2022.

Este estudio fue desarrollado bajo las leyes de regulación mexicanas y los permisos otorgado por la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) a través de la Dirección General de Vida Silvestre para la obtención de los permisos de colecta científica y los permisos y facilidades otorgadas por la CONANP para el acceso al Área Natural Protegida



ÍNDICE GENERAL

1. RESUMEN	1
2. ABSTRACT	3
I. INTRODUCCIÓN	5
II. ANTECEDENTES	9
2.1. Características generales de la tortuga marina	9
2.2. Especies de tortugas marinas presentes en México.....	9
2.3. Características de identificación, hábitos alimenticios y distribución de <i>L. olivacea</i> (golfina)	10
2.4. Tortuga golfina (<i>Lepidochelys olivacea</i>).....	11
2.5. Situación actual de la tortuga marina en México	12
2.6. Reportes de infecciones por patógenos en humanos por consumo de tortuga marina.....	13
2.7. Resistencia bacteriana a antibióticos.....	14
2.8. Reportes de contaminación por metales pesados en tortugas marinas.....	15
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
IV. JUSTIFICACIÓN.....	18
V. HIPÓTESIS.....	19
VI. OBJETIVOS	20
6.1. Objetivo general.....	20
6.2. Objetivos específicos.....	20
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	21
7.1. Lugar de obtención de muestras	21
7.2. Tipo de estudio	21
7.3. Identificación de ejemplares de <i>L. olivacea</i> (golfina).....	22
7.4. Muestreo en tortuga <i>L. olivacea</i> (golfina).....	23
7.5. Aislamiento de cepas microbianas	24
7.6. Caracterización de las cepas aisladas de tortuga golfina.....	24
7.7. Pruebas de susceptibilidad a las diferentes familias de antibióticos	26
7.8. Determinación de metales pesados en sangre en tortuga golfina.....	26
7.9. Análisis estadísticos	28
7.10. Lugar de realización	28
7.11. Financiamiento	28



VIII. RESULTADOS	29
8.1. Muestreo de tortugas marinas en playa Ceuta.....	29
8.2. Registro de datos morfométricos LCC.....	30
8.3. Identificación de <i>Vibrio</i> spp.	31
8.4. Caracterización de <i>V. parahaemolyticus</i>	32
8.5. Identificación de enterobacterias.....	32
8.6. Caracterización de <i>E. coli</i>	35
8.7. Evaluación de la resistencia a antibióticos	35
8.8. Determinación de metales pesados en sangre.	36
IX. DISCUSIÓN	39
X. CONCLUSIONES	48
XI. PERSPECTIVAS.....	49
XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
XIII. ANEXOS	64



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resistencia antimicrobiana de las cepas bacterianas aisladas de tortuga golfina (<i>Lepidochelys olivacea</i>) capturadas en playa Ceuta, Sinaloa.	36
Tabla 2. Concentración de metales pesados ($\mu\text{g g}^{-1}$) (peso húmedo) en sangre de tortuga golfina (<i>Lepidochelys olivacea</i>) capturadas en playa Ceuta, Sinaloa, 2018.....	37
Tabla 3. Concentración de metales pesados en sangre de tortugas marinas, comparado con los niveles encontrados en el presente estudio de tortugas golfina anidadoras (<i>Lepidochelys olivacea</i>) en playa Ceuta, Sinaloa, 2018.....	38



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de <i>Lepidochelys olivacea</i> según la CCC (2009).	11
Figura 2. Playa de anidación Ceuta, Sinaloa.	21
Figura 3. Ficha de identificación de las diferentes especies de tortuga marina que considera la forma de cabeza, plastrón y la cantidad de escudos en el caparazón según Wyneken (2004).	22
Figura 4. Sitio de muestreo para ejemplares de <i>L. olivacea</i> en playa Ceuta en el periodo Julio-diciembre de 2018.	29
Figura 5. Numero de tortugas golfina (<i>Lepidochelys olivacea</i>) capturadas por mes en playa Ceuta, durante el periodo Julio-diciembre de 2018.	30
Figura 6. Distribución de frecuencia de tallas de tortuga golfina en playa Ceuta, durante el periodo julio-diciembre 2018.	31
Figura 7. <i>Vibrio</i> spp. aisladas en tortuga golfina.	32
Figura 8. Diferentes cepas bacterianas aisladas de zona oral y cloaca en tortuga golfina.	33
Figura 9. Prevalencia en (%) de las diferentes familias bacterianas aisladas de tortuga golfina.	34
Figura 10. Distribución de frecuencias de las diferentes familias, según la zona de aislamiento en tortuga golfina.	34



1. RESUMEN

Las tortugas marinas han jugado un rol muy importante en la salud de los océanos durante más de 100 millones de años. En la actualidad los ecosistemas marinos se ven afectados por diversos factores antropogénicos, principalmente por el intemperismo geológico, procesos industriales y uso común de componentes metálicos, afectando organismos y microorganismos dentro de un ecosistema. Dentro de los organismos más susceptibles se encuentran las tortugas marinas; esto debido a que se sabe que bioacumulan metales pesados. Algunos de estos elementos pueden ser considerados como tóxicos no esenciales, o bien, esenciales para el funcionamiento fisiológico de los organismos, pero que en altas concentraciones pueden resultar perjudiciales para los seres vivos. Además, por sus características biológicas y patrones migratorios, estos organismos pueden transportar intercontinentalmente microorganismos y contribuir con la diseminación de patógenos de un ecosistema a otro. Hoy en día se han aislado diversos microorganismos patógenos para el humano en tortugas marinas incluyendo *Vibrio* spp., *Aeromonas* spp., *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp., *E. Coli* patogénica entre otros. En las costas del océano pacifico se encuentran cinco de las siete especies reportadas en el mundo llamadas *Chelonia agassizii* (Negra), *Caretta caretta* (Caguama), *Dermochelys coriácea* (Laúd), *Eretmochelys imbricata* (Carey) y *Lepidochelys olivacea* (Golfina), esta última especie es conocida por anidar en diversas playas en el estado de Sinaloa, México. El presente trabajo de investigación tiene como objetivo determinar las bacterias y la presencia de metales pesados (Cu,Zn,Pb,Cd,As y Hg) en tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*) en playa Ceuta municipio de Elota, Sinaloa. Durante los meses de julio a diciembre del 2018, se lograron muestrear 52 ejemplares de tortugas golfina (*Lepidochelys olivacea*) aparentemente sanas en playa Ceuta, municipio de Elota, Sinaloa. mediante hisopados orales y cloacales. Se caracterizó la microflora bacteriana oral y cloacal aeróbica y su resistencia antimicrobiana. En este sentido se identificaron 19 cepas pertenecientes a 4 especies de la familia *Vibrionadaceae*, mediante pruebas bioquímicas y moleculares, identificando principalmente *V. alginolyticus* (42.1%;8/19), seguida de *V. parahaemolyticus* en un 31.5% (6/19 confirmados por PCR, gen taxonómico *r72H*), de las cuales solo el 16.6% resultó positivo (1/6 para el gen toxigénico *tdh*) y negativo para los genes de virulencia *trh*, *toxRS/NEW*, *orf-8*. *V. mimicus* (15.7%;3/19) y *V. furnisii* (10.5%;2/19). Asimismo, como parte del aislamiento bacteriano, se identificaron otras 17 especies Gram negativas, aislando principalmente la familia *Enterobacteriaceae* (32%;26/81), de las cuales destaca *K. pneumoniae* (23%;6/26), seguido de *E. coli* en un 19.2% (5/26; 3/5 pertenecientes al patotipo EAEC y 1/5 al patotipo EPEC), *E. amnigenus*, *E. sakazakii* y *R. ornithinolytica* en un 15.3% (4/26), respectivamente. *E. cloacae* (2/26; 7.7%) y finalmente *R. aquatilis* (1/26; 3.8%). Posteriormente encontramos a la familia *Pseudomonadaceae* (30.8%;25/81), donde destaca su prevalencia *P. aeruginosa* (88%;22/25), seguido de *P. fluorescens* (12%;3/25). De la familia *Aeromonadaceae*, identificamos solamente *A. hydrophila* (24.7%;20/81). De la familia *Morganellaceae* (4.9%;4/81), identificamos *P. mirabilis* (75%;3/4) y *P. alcalifaciens* (25%;1/4). De la familia *Yersiniaceae* (3.7%;3/81), identificamos *S. ficaria*,



S. fonticola y *S. liquefaciens* en un 33.3% (1/3), respectivamente. De la familia *Burkholderiaceae* solo se identificó *B. cepacia* (2.4%;2/81) y finalmente de la familia *Chromobacteriaceae* se identificó *C. violaceum* (1.2%;1/81). Como parte de la evaluación de la resistencia a antibióticos de las bacterias *P. aeruginosa*, *V. alginolyticus*, *K. pneumoniae*, *V. parahaemolyticus*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *V. mimicus* y *V. furnisii*. Se observó resistencia principalmente a ampicilina, perteneciente a la familia de los betalactámicos (85.4%;47/55), seguida de cefotaxima (67.2%;37/55), ácido nalidíxico (54.5%;30/55), tetraciclina (49%;27/55), sulfametoxazol-trimetoprima (45.4%;25/55), cloranfenicol (34.5%;19/55), gentamicina (16.3%;9/55), ceftazidima (5.4%;3/55) y finalmente no se encontró resistencia al antibiótico ciprofloxacino, entre los antibióticos evaluados. Por otra parte, se realizó extracción sanguínea a un total de 47 tortugas, de las cuales se descartó el 25.5% (12/47), esto debido a que las muestras presentaban una cantidad excesiva de grasa imposibilitando su lectura. Un total del 74.5% (35/47) fueron analizadas con éxito. Las tortugas presentaron una media LCC de 65.52 cm (61.0-71.0 cm \pm 2.29) y ACC de 70.08 cm (63.0-74.0 cm \pm 3.10). Los oligoelementos esenciales (Zn y Cu), se encontraron en altas concentraciones (9.43 $\mu\text{g g}^{-1} \pm 6.56$ y 2.11 $\mu\text{g g}^{-1} \pm 0.94$, respectivamente) en comparación con los metales tóxicos (Cd: 0.61 $\mu\text{g g}^{-1} \pm 0.51$ y Pb: 0.099 $\mu\text{g g}^{-1} \pm 0.063$) la concentración de metales en sangre de tortugas anidadoras disminuyó en el siguiente orden Zn>Cu>Cd>Pb. Las concentraciones de As y Hg resultaron por debajo del límite de detección. No se observó relación entre el tipo de metal o concentración con la talla de la Tortuga ($p>0.05$). Estos resultados nos muestran el panorama actual del estado de salud de las tortugas marinas y la salud de los ecosistemas en esta zona costera del estado de Sinaloa.



2. ABSTRACT

Sea turtles have played an important role in the health of the oceans for more than 100 million years. At present, marine ecosystems are affected by various anthropogenic factors, mainly due to geological weathering, industrial processes and the common use of metallic components, affecting organisms and microorganisms within an ecosystem. Among the most susceptible organisms are sea turtles; This is because they are known to bioaccumulate heavy metals. Some of these elements can be considered non-essential toxic, or essential for the physiological functioning of organisms, but in high concentrations they can be harmful to living beings. In addition, due to their biological characteristics and migratory patterns, these organisms can transport microorganisms intercontinentally and contribute to the spread of pathogens from one ecosystem to another. Today, various pathogenic microorganisms for humans have been isolated from sea turtles, including *Vibrio* spp., *Aeromonas* spp., *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp., and pathogenic *E. Coli*, among others. On the coasts of the Pacific Ocean there are five of the seven species reported in the world called *Chelonia agassizii* (Black), *Caretta caretta* (Loggerhead), *Dermochelys coriacea* (Leatherback), *Eretmochelys imbricata* (Carey) and *Lepidochelys olivacea* (Golfina). This last species is known to nest on various beaches in the state of Sinaloa, Mexico. The objective of this research work is to determine the bacteria and the presence of heavy metals (Cu, Zn, Pb, Cd, As and Hg) in olive ridley turtles (*Lepidochelys olivacea*) in Ceuta beach, municipality of Elota, Sinaloa. During the months of July to December 2018, 52 apparently healthy *olive ridley* turtles (*Lepidochelys olivacea*) were sampled at Ceuta beach, Elota municipality, Sinaloa. through oral and cloacal swabs. The aerobic oral and cloacal bacterial microflora and their antimicrobial resistance were characterized. In this sense, 19 strains belonging to 4 species of the *Vibrionadaceae* family were identified through biochemical and molecular tests, mainly identifying *V. alginolyticus* (42.1%; 8/19), followed by *V. parahaemolyticus* in 31.5% (6/19 confirmed by PCR, taxonomic gene *r72H*), of which only 16.6% were positive (1/6 for the *tdh* toxigenic gene) and negative for the virulence genes *trh*, *toxRS/NEW*, *orf-8*. *V. mimicus* (15.7%;3/19) and *V. furnisii* (10.5%;2/19). Likewise, as part of the bacterial isolation, another 17 Gram-negative species were identified, mainly isolating the *Enterobacteriaceae* family (32%; 26/81), of which *K. pneumoniae* stands out (23%; 6/26), followed by *E. coli* in 19.2% (5/26; 3/5 belonging to the EAEC pathotype and 1/5 to the EPEC pathotype), *E. amnigenus*, *E. sakazakii* and *R. ornithinolytica* in 15.3% (4/26), respectively. *E. cloacae* (2/26;7.7%) and finally *R. aquatilis* (1/26; 3.8%). Later we find the *Pseudomonadaceae* family (30.8%;25/81), where *P. aeruginosa* stands out (88%;22/25), followed by *P. fluorescens* (12%;3/25). Of the *Aeromonadaceae* family, we identified only *A. hydrophila* (24.7%;20/81). From the *Morganellaceae* family (4.9%;4/81), we identified *P. mirabilis* (75%;3/4) and *P. alcalifaciens* (25%;1/4). Of the family *Yersiniaceae* (3.7%;3/81), we identified *S. ficaria*, *S. fonticola* and *S. liquefaciens* in 33.3% (1/3), respectively. Only *B. cepacia* (2.4%; 2/81) was identified from the *Burkholderiaceae* family, and finally *C. violaceum* (1.2%; 1/81) from the



Chromobacteriaceae family. As part of the evaluation of the antibiotic resistance of the bacteria *P. aeruginosa*, *V. alginolyticus*, *K. pneumoniae*, *V. parahaemolyticus*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *V. mimicus* and *V. furnisii*. Resistance was observed mainly to ampicillin, belonging to the beta-lactam family (85.4%;47/55), followed by cefotaxime (67.2%;37/55), nalidixic acid (54.5%;30/55), tetracycline (49% ;27/55), sulfamethoxazole-trimethoprim (45.4%;25/55), chloramphenicol (34.5%;19/55), gentamicin (16.3%;9/55), ceftazidime (5.4%;3/55) and finally no resistance to the antibiotic ciprofloxacin was found among the antibiotics evaluated. On the other hand, blood samples were taken from a total of 47 turtles, of which 25.5% (12/47) were discarded, due to the fact that the samples had an excessive amount of fat, making it impossible to read them. A total of 74.5% (35/47) were successfully analyzed. The turtles presented a mean LCC of 65.52 cm (61.0-71.0 cm \pm 2.29) and ACC of 70.08 cm (63.0-74.0 cm \pm 3.10). The essential trace elements (Zn and Cu) were found in high concentrations (9.43 $\mu\text{g g}^{-1} \pm 6.56$ and 2.11 $\mu\text{g g}^{-1} \pm 0.94$, respectively) compared to the toxic metals (Cd: 0.61 $\mu\text{g g}^{-1} \pm 0.51$ and Pb: 0.099 $\mu\text{g g}^{-1} \pm 0.063$) the concentration of metals in the blood of nesting turtles decreased in the following order Zn>Cu>Cd>Pb. The concentrations of As and Hg were below the detection limit. No relationship was observed between the type of metal or concentration with the size of the Turtle ($p>0.05$). These results show us the current panorama of the health status of sea turtles and the health of the ecosystems in this coastal area of the state of Sinaloa.



I. INTRODUCCIÓN

Las tortugas marinas son uno de los grupos de vertebrados más primitivos que aparecieron hace casi 230 millones de años. Desempeñan un papel destacado en el mantenimiento de ecosistemas equilibrados y saludables en los lechos de pastos marinos y los arrecifes de coral, además contribuyen en el transporte de nutrientes hacia ecosistemas naturalmente pobres en nutrientes (playas de anidación), y participan como medio de transporte para otras especies marinas (percebes y cangrejos comensales) (Jackson 1997; Jackson y col. 2001; Bjorndal y Jackson.,2003). En el ciclo de vida de las tortugas marinas se requieren diversos ecosistemas incluyendo el terrestre (playas de anidación), en el cual las hembras salen a anidar y donde se lleva a cabo el desarrollo embrionario; el costero (zona nerítica), donde se alimentan y terminan su desarrollo; y el mar abierto (zona oceánica), donde las crías pasan los primeros 5 a 20 años de su vida en su etapa conocida como “años perdidos” (antes de alcanzar la madurez sexual y dirigirse a las zonas de alimentación) (Aduriz y Campos.,2006). Las tortugas adultas pueden alimentarse en áreas fijas como los mantos de algas marinas o en áreas transitorias como las zonas en el océano donde ocurren afloramientos estacionales, pero relativamente predecibles de medusas o invertebrados bénticos (Meylan y Meylan.,2000). Durante el ciclo de vida, las tortugas son frecuentemente afectados por contaminantes que los seres humanos desechan en el ambiente marino como son el intemperismo geológico, procesos industriales, uso común de componentes metálicos, desechos sólidos, excreciones de organismos vivos, el uso de insecticidas y fertilizantes en la agricultura, afectando la salud del ecosistema (Lagueux et al.,2005; Aguirre y Starkey.,1994; Aranda-Cirerol.,2001; Clark R.,2001), (Wilcox y



Aguirre.,2004). En México, la tortuga marina forma parte de la historia y del patrimonio biológico (Alvarado et al.,2005), utilizándose como parte de las tradiciones de las comunidades costeras (Nichols, et al.,2003). En los años 50's la explotación de este organismo no impactaba sobre sus poblaciones; sin embargo, esto cambió desde 1965 cuando inició la pesca dirigida como consecuencia de la alta demanda de piel de tortuga para sustituir a la de cocodrilo, capturando 11,900 toneladas equivalentes a 297,500 tortugas en el año 1967 (Briseño-Dueñas et al.,2002). En 1990 se decretó una veda total por tiempo indefinido que detuvo la sobre explotación de este organismo (Cifuentes.,2006). En las costas del océano pacifico se encuentran cinco de las siete especies reportadas en el mundo llamadas *Chelonia mydas agassizii* (Verde o Negra), *Caretta caretta* (Caguama), *Dermochelys coriácea* (Laúd), *Eretmochelys imbricata* (Carey) y *Lepidochelys olivacea* (Golfina), esta última especie es conocida por anidar en playas al suroeste del estado de Sinaloa, México. La tortuga marina por sus características biológicas, como la talla, longevidad y la interacción entre la interfaz agua-aire también funciona excelentemente como especie centinela, que puede proveer información esencial y temprana que advierta de posibles daños en el ambiente o un ecosistema, pues ésta recibe cargas ambientales no solo de los alimentos, sino también de la aspiración de agentes microbianos y contaminantes en el ambiente marino, lo que proporcionaría un rápido diagnóstico de riesgo (Aguirre y Lutz.,2004; Tabor y Aguirre.,2004). Actualmente se han descrito diversos agentes zoonóticos de origen terrestre en las especies marinas con severas consecuencias para la salud de la fauna silvestre con potencial zoonótico para los seres humanos y los animales domésticos (House et al.,2002). Las nutrias marinas (*Enhydra lutris*) parecen ser susceptibles a una serie de enfermedades y parásitos que pueden tener



un origen antropogénico. Evidencia molecular ha demostrado que *Toxoplasma gondii* encontrada en nutrias marinas, es similar a los encontrados en los seres humanos y gatos. Asimismo, la brucelosis es una enfermedad infecciosa importante de muchos mamíferos terrestres, incluyendo seres humanos. Los miembros del género *Brucella* recientemente se han identificado en varias especies de cetáceos y pinnípedos. A las especies de *Brucella* se les aisló a partir del tejido del feto abortado de delfines nariz de botella a lo largo de la costa de California (House et al.,2002). En tortugas marinas se han descrito diversos patógenos con potencial zoonótico, entre ellas algunas bacterias como *Vibrio sp.*, *Mycobacterium sp.*, *Salmonella sp.*, *Clamidia sp.* y *Leptospira sp.* (Zavala-Norzagaray et al.,2015; Paul et al.,1992; Gambino-Shirley et al.,2015; Mitura et al.,2017; Lindtner-Knific, Renata et al.,2013). Asimismo, otras bacterias como *Aeromonas hydrophila*, *V. alginolyticus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Flavobacterium spp.* y *Bacillus spp.*, siendo microbiotas bacterianas comunes en tortugas marinas de Hawaii y Australia; mismas que están asociadas con otras enfermedades como estomatitis ulcerosa, rinitis obstructiva, neumonía compleja y fibropapilomatosis (Glazebrook y Campbell.,1990; Glazebrook et al.,1993; Aguirre y Starkey.,1994). En un trabajo realizado por Zavala-Norzagaray y colaboradores en el 2015, muestrearon un total de 42 tortugas negras (*C. mydas agassizii*) y 22 tortugas golfina (*L. olivacea*), en donde aislaron 13 especies diferentes de bacterias Gram (-) negativas, en donde las especies aisladas con mayor frecuencia fueron *V. alginolyticus* en un 60% (39/64), *V. parahaemolyticus* (26% 17/64) y *V. cholerae* en un 9% (6/64). Es importante mencionar que los 64 ejemplares de tortugas marinas fueron capturados en sitios de alimentación.



Las tortugas marinas son un grupo de organismos marinos que se sabe que bioacumulan metales pesados (Storelli y Marcotrigiano.,2000; Gardner et al.,2006; Cortés-Gómez et al.,2017). Los metales pesados son elementos que han formado parte de la vida en el planeta; sin embargo, algunos de estos elementos pueden ser considerados como tóxicos no esenciales, o bien, esenciales para el funcionamiento fisiológico de los organismos, pero que en altas concentraciones pueden resultar perjudiciales para los seres vivos. Por ello los estudios sobre la acumulación de estos contaminantes inorgánicos han tenido un importante impacto científico. En México, a pesar de contar con seis de las siete especies de tortugas marinas, pocos son los estudios sobre metales pesados y los valores de referencia relacionados con la salud de las tortugas marinas. El tejido sanguíneo se ha utilizado como un excelente indicador de contaminación por metales en tortugas marinas, y ofrece información sobre la exposición reciente (Day et al.,2005; Ley-Quíñonez et al.,2013, 2017; Bucchia et al.,2015), así como las relaciones entre la concentración en sangre y otros tejidos (Van de Merwe et al.,2010). En base a lo anterior, en el presente proyecto de investigación se tiene como objetivo determinar las bacterias y presencia de metales pesados en tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*), en la playa de Ceuta municipio de Elota, Sinaloa. Esto nos permitirá conocer si las tortugas marinas en esta región costera del Estado, son portadoras de microorganismos o metales pesados que pudieran impactar en su salud y en la salud de los ecosistemas.



II. ANTECEDENTES

2.1. Características generales de la tortuga marina

Las tortugas marinas son reptiles de sangre fría que habitan en todos los océanos tropicales, pertenecen a la clase *Reptilia*, orden *Testudines* y se dividen en dos familias *Dermochelydae* y *Cheloniidae* (Lagueux et al.,2005). Se caracterizan por poseer el rango de distribución más amplia de todos los reptiles; habitando en los océanos y mares tropicales y subtropicales (Aduriz y Campos.,2006). Actualmente, existen siete especies de tortugas marinas reportadas por la comunidad científica llamadas tortuga Laúd (*Dermochelys coriacea*), Carey (*Eretmochelys imbricata*), Caguama o Cabezona (*Caretta caretta*), Golfina (*Lepidochelys olivacea*), Lora (*Lepidochelys kempii*), Aplanada (*Natator depressus*), y Verde o Negra (*Chelonia mydas agassizii*) (Spotila.,2004). Son considerados organismos cosmopolitas con la excepción de la tortuga lora que se concentra en el Golfo de México y la costa oriental de Estados Unidos de América (Meylan y Meylan.,2000), y la tortuga Aplanada que es endémica de la plataforma continental de Australia (Theissinger et al.,2009).

2.2. Especies de tortugas marinas presentes en México

Las costas mexicanas son privilegiadas teniendo la presencia de seis de las siete especies de tortugas marinas, la tortuga Laúd, Carey, Caguama, Golfina, Lora y Verde o Negra (Aduriz y Campos.,2006). En el océano pacífico están presentes estas especies, a



excepción de la tortuga Lora (endémica del golfo de México), donde la región provee la alimentación necesaria para su desarrollo, cuya dieta principal se constituye de abundantes algas, pastos marinos e invertebrados (Nichols.,2003). En el estado de Sinaloa a partir del 2005, se iniciaron las primeras prospecciones en la zona norte en el municipio de Guasave, donde se documentó la presencia de tres de las cinco especies reportadas para Sinaloa: Tortuga golfina, Verde o Negra y Carey (Zavala et al.,2007), pero se desconoce con exactitud sus patrones de distribución, migración, uso del hábitat y las amenazas que afectan en mayor o menor grado a estas poblaciones, que podrían ser la pesca incidental, pesca dirigida, contaminación y agentes infecciosos que pueden estar afectando a estas especies y a la vez pueden representar una amenaza a la salud humana por la prevalencia del consumo ilegal.

2.3. Características de identificación, hábitos alimenticios y distribución de *L. olivacea* (golfina)

Cada especie de tortuga marina presenta características morfológicas únicas, pudiéndose realizar una identificación precisa (Fitzgerald, 2004). Asimismo, su alimentación y distribución contribuyen a conocer las áreas de alimentación y anidación (Aguirre y Starkey.,1994; Paullier.,2004). A continuación, se describen características de identificación, hábitos alimenticios (Paullier.,2004; Spotila.,2004; Eckert et al.,2000; Lagueux et al.,2005) y distribuciones según la Corporación para la Conservación Caribeña (2009), la CCC (Siglas en inglés para Caribbean Conservation Corporation) de la especie a muestrear, la tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*) (CCC, 2009).



2.4. Tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*)

Características de identificación. Es una tortuga pequeña, de cabeza triangular, caparazón ancho, con 5 a 9 placas corneas costales, 5 a 9 centrales y 12-14 pares de marginales, ocasionalmente más. Hábitos alimenticios. Es omnívora al igual que la tortuga Caguama, alimentándose principalmente de crustáceos y moluscos. Se distribuye en el océano pacifico oriental y se observa desde el Noroeste de Península y Golfo de California hasta Chile (Fig. 1).



Figura 1. Distribución de *Lepidochelys olivacea* según la CCC (2009).



2.5. Situación actual de la tortuga marina en México

En México, las especies con una categoría de riesgo se encuentran en la norma oficial mexicana NOM-059-SEMARNAT-2001, la cual contempla a todas las especies de tortugas marinas del país en peligro de extinción (P) (SEMARNAT, 2001), esto como resultado de la captura de hembras y saqueo de nidos (Gardner y Nichols.,2001), depredación de huevos, crías y adultos por animales domésticos (Alvarado y Delgado.,2005), captura incidental y dirigida de adultos y juveniles en el océano (Spotila.,2004), poblaciones humanas en zonas costeras y turismo (Briseño-Dueñas.,2002; Alvarado y Delgado.,2005) y la contaminación constante (Wilcox y Aguirre.,2004; Aguirre et al.,2006). Este último factor como resultado de las actividades humanas, la destrucción de hábitats, la perturbación en sitios de reproducción de especies nativas y la aparición de enfermedades en la fauna silvestre son algunos de los crecientes problemas que se presentan en los océanos, presentando alteraciones y repercusiones en la salud de las especies, de los ecosistemas, incluso en la salud humana (Aguirre et al.,2006). Algunas de las causas de mortalidad y disminución de las poblaciones de tortugas marinas en el mundo son principalmente: el consumo de huevos y carne de tortuga. En el noroeste mexicano se tiene una larga tradición de consumo y la veda establecida desde 1990 no ha logrado detener la pesca furtiva, estimándose una mortalidad de hasta 35,000 tortugas/año relacionadas con el consumo humano (Koch et al.,2004). El consumo de carne de tortuga en muchos círculos sociales de México y Estados Unidos sigue siendo común y frecuente; la “tradición” es la que mantiene esta cultura, siendo un platillo preferido en muchas fiestas y reuniones de Semana Santa; además de comercializar productos secundarios que extraen



de ellas para la fabricación de artesanías hechas con el caparazón, aceite y piel (Chacón y Arauz.,2001). En la mayoría de los países centroamericanos existen muchos mercados y opciones de comercio; la carne se vende en el mercado costero, mientras que los objetos de ornato hacia el interior de los países. Los cosméticos y otros productos de aceite de tortuga marina que derivan de la captura “subsistente” e “indígena”, podrían ser considerados legales; este aspecto depende de la claridad y especificidad de las leyes, sin embargo, mucha de la comercialización es ilegal (Reuter.,2004).

2.6. Reportes de infecciones por patógenos en humanos por consumo de tortuga marina

Aunque no existe una microbiología de inocuidad de los alimentos para el consumo de carne de tortuga marina o huevos, esta práctica ilegal es común en países con áreas costeras en todo el mundo. Los efectos de salud en los humanos que consumen tortugas marinas infectadas con patógenos han sido reportados (Aguirre et al.,2006). Por ejemplo, *Vibrio mimicus* en Costa Rica (Campos et al.,1996), *V. cholerae* en China (Lu H.K. et al.,2006) *Salmonella chester* en Australia (O’Grady and Krause.,1999), se asociaron a enfermedades humanas por el consumo de carne y/o huevos de tortuga marina. Por lo tanto, es importante investigar de manera efectiva información precisa sobre los riesgos potenciales para la salud humana asociados con el consumo de estos organismos y sus huevos en áreas donde esta práctica es común (Aguirre et al.,2006). Hasta donde sabemos, no hay informes de la diversidad bacteriana que pudieran afectar a estos organismos en las playas de anidación en el noroeste de México.



2.7. Resistencia bacteriana a antibióticos

Por otra parte, otro gran problema asociado a la diversidad bacteriana, es la resistencia antimicrobiana debido a que los mismos genes de resistencia que se encuentran en los entornos clínicos se encuentran actualmente diseminados entre diversos ecosistemas, sin ningún registro de contaminación por antibióticos previo (José L. Martínez.,2009). En el último siglo, el abuso y el uso indebido de antibióticos provocó la aparición alarmante de Cepas multi resistentes a las diferentes familias de antibióticos, mismas que representan una amenaza creciente en el mundo tanto para humanos como para animales (Vitale, M. et al.,2019). En los últimos años, se ha informado con frecuencia de la propagación de cepas resistentes a antibióticos en entornos naturales, es decir, animales salvajes, suelos, agua de mar. Por lo tanto, los animales marinos que están completamente inmersos en su entorno, pueden ser indicadores de la salud ambiental, reservorios y esparcidos de cepas antibiótico resistentes (Albahry et al.,2009; Pace et al.,2019). En este sentido las tortugas marinas se han propuesto como indicadores de salud de los hábitats marinos y portadores de cepas bacterianas resistentes a antibióticos principalmente por su longevidad y estilo de vida migratorio. Por lo que podría entrar en la red alimentaria por la ingestión de carne contaminada o podría liberarse durante el depósito de huevos (Alduina, R. et al.,2020).



2.8. Reportes de contaminación por metales pesados en tortugas marinas

Otro grupo importante de contaminantes que afectan a las tortugas marinas, son los oligoelementos que incluyen metales pesados y metaloides, que representan una amenaza tanto para la vida silvestre como para los humanos (Ross et al.,2017). La contaminación del océano es un problema global (Wilcox y Aguirre.,2004), esto debido a que múltiples estudios han detectado contaminantes de metales pesados en los sedimentos marinos de la región (Páez-Osuna et al.,2017), productos de la acuicultura (Delgado-Álvarez et al.,2015) y vida silvestre, incluidos peces (Soto-Jiménez et al.,2003, 2011; Quintero-Álvarez et al.,2012). Dichos contaminantes se transfieren a lo largo de las cadenas tróficas, lo que hace que los organismos a niveles más altos estén expuestos a concentraciones más grandes. Las tortugas marinas son un grupo de organismos marinos que se sabe que bioacumulan metales pesados (Storelli y Marcotrigiano.,2000; Gardner et al.,2006; Cortés-Gómez et al.,2017a) y esta es una de las amenazas que afectan a estos animales protegidos (Godley et al.,1999; Aguirre et al.,2006; Frías-Espericueta et al.,2006; Cortés-Gómez et al.,2017b; Ley-Quíñonez et al.,2017).

Existen estudios sobre la acumulación de metales pesados en tortuga golfina capturadas en sitios de alimentación en el norte de Sinaloa (Zavala-Norzagaray et al., 2014a) y muertos varados en la playa de anidación de Ceuta, Sinaloa (Frías-Espericueta et al.,2006). Sin embargo, este último estudio no identificó si los organismos varados eran hembras reproductivas pertenecientes a la playa de Ceuta u organismos transitorios y se desarrolló



Universidad Autónoma de Sinaloa

Facultad de Biología
Posgrado en Ciencias Biológicas



hace más de 10 años utilizando muestras de tejido. Por lo que estos resultados, no nos proporcionan información sobre la bioacumulación de metales pesados para las hembras que anidan en este sitio o el posible riesgo de que los metales puedan estar presentes a través de la transmisión materna vertical a los huevos (F. C-CM et al.,2010; Páez-Osuna et al.,2010; Páez-Osuna et al.,2011). La sangre ya se ha utilizado como un excelente indicador de contaminación por metales en tortugas marinas, y ofrece información sobre la exposición reciente (Day et al.,2005; Ley-Quiñonez et al.,2013, 2017; Bucchia et al.,2015), así como las relaciones entre la concentración en sangre y otros tejidos (Van de Merwe et al.,2010).



III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad el ecosistema marino se ve afectado por diferentes factores antropogénicos, afectando organismos y microorganismos susceptibles dentro de los que se encuentran las tortugas marinas. Existen diversos reportes donde se muestra que estos organismos presentan contaminación por metales pesados y una gran diversidad de bacterias, por lo que las tortugas marinas podrían verse afectadas. Además, estos organismos podrían actuar como vectores en la diseminación de microorganismos entre diversos ecosistemas. Por lo que, en México, particularmente en los sitios de anidación del estado de Sinaloa, no existen estudios sobre el estado de salud de las tortugas marinas y sus ecosistemas.



IV. JUSTIFICACIÓN

La determinación bacteriana y de metales pesados en tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*), en playa Ceuta, Sinaloa; nos permitirá conocer si las tortugas marinas en esta región costera del Estado, son portadoras de microorganismos o metales pesados que pudieran impactar en su salud y en la salud de los ecosistemas.



V. HIPÓTESIS

La tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*) en playa Ceuta, Sinaloa; es portadora de bacterias y de metales pesados (Cu, Zn, Pb, Cd, As y Hg), que impactan en su salud y en la salud de los ecosistemas.



VI. OBJETIVOS

6.1. Objetivo general.

Determinar la presencia de bacterias y metales pesados (Cu,Zn,Pb,Cd,As y Hg) en tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*), en playa Ceuta, Sinaloa.

6.2. Objetivos específicos.

1. Identificar las bacterias presentes en tortuga golfina mediante pruebas bioquímicas y moleculares.
2. Determinar los factores de virulencia de las bacterias aisladas de tortuga golfina, mediante pruebas moleculares.
3. Evaluar la resistencia a antibióticos de las bacterias aisladas de tortuga golfina.
4. Determinar la presencia de metales pesados (Cu,Zn,Pb,Cd,As y Hg), en sangre de tortuga golfina.



VII. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. Lugar de obtención de muestras

Playa de anidación Ceuta (Fig. 2). En este lugar se llevó a cabo el trabajo de campo para la recolección de muestras. Mismos donde existe una amplia franja de playa protegida y sitio de refugio para la protección, conservación, repoblación, desarrollo y control de tortugas golfina que llegan a desovar.

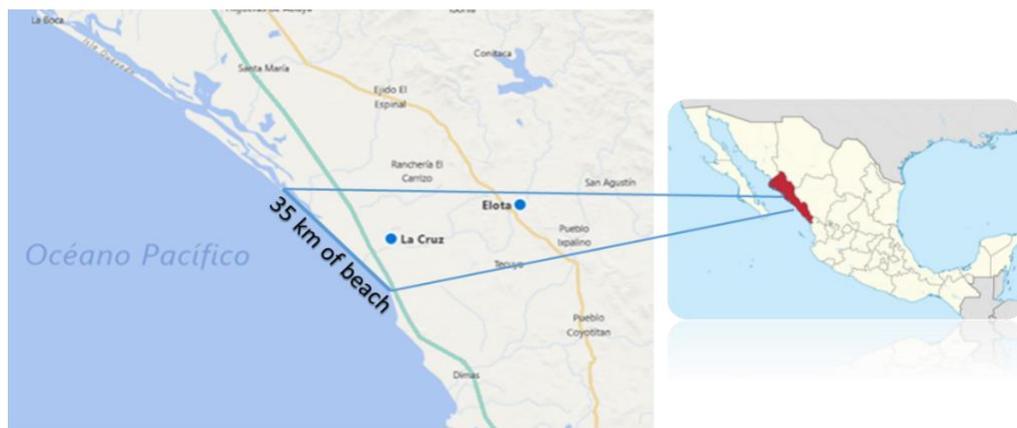


Figura 2. Playa de anidación Ceuta, Sinaloa.

7.2. Tipo de estudio

Esta investigación es de tipo observacional, de nivel exploratorio, descriptivo, comparativo y transversal.

7.3. Identificación de ejemplares de *L. olivacea* (golfina)

La identificación de especies de tortugas marinas en playa Ceuta, se realizó con base a la guía de anatomía especializada de tortugas marinas propuesta por Wyneken (2004), que considera aspectos morfológicos como: la forma de cabeza, plastrón y la cantidad de escudos en el caparazón (Fig. 3).

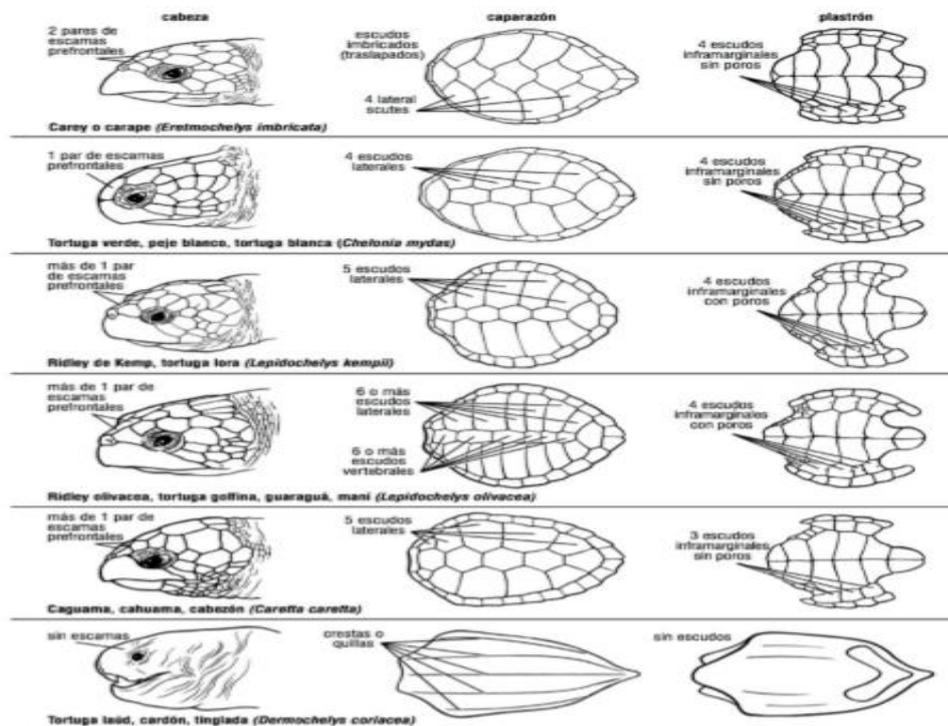


Figura 3. Ficha de identificación de las diferentes especies de tortuga marina que considera la forma de cabeza, plastrón y la cantidad de escudos en el caparazón según Wyneken (2004).



7.4. Muestreo en tortuga *L. olivacea* (golfina)

7.4.1. Marcación de tortugas para su identificación. Se realizó el registro de datos morfométricos a todas las tortugas marinas capturadas, luego se procedió a la marcación en la aleta trasera, con una placa metálica especial, la cual cuenta con un número de serie y un número telefónico para reportes de captura y recaptura, esto con la finalidad de evitar la duplicidad de muestras durante las capturas y contribuir al conocimiento sobre las migraciones de las poblaciones en caso de que una tortuga fuera recapturada en otra zona geográfica.

7.4.2. Colecta de hisopados orales y cloacales. De cada tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*), se colectaron muestras orales y cloacales mediante la utilización de hisopos por duplicado (2 series), la primera serie de hisopos se colocó en medio de transporte APA (Agua Peptonada alcalina pH 8.5) que se utiliza principalmente para el aislamiento de *Vibrio* spp. y la segunda se colocó en medio de transporte APT (Agua Peptonada tamponada), la cual se utiliza para la conservación de enterobacterias como *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *E. coli*, entre otras. hasta su análisis en el laboratorio.



7.5. Aislamiento de cepas microbianas

7.5.1. Enriquecimiento primario. Todas las muestras de hisopados orales y cloacales colectadas de tortuga golfina, se colocaron directamente en APA (Agua Peptonada Alcalina) y APT (Agua Peptonada Tamponada) como medio de enriquecimiento y se incubaron a 37 ± 2 °C por 24h.

7.5.2. Aislamiento mediante agar selectivo. Posteriormente a la incubación, se tomarán los hisopos colectados de las tortugas marinas y se inocularán directamente sobre placas de agar con tiosulfato, citrato, sales biliares y sacarosa (TCBS) para las *Vibrio* spp. Para las enterobacterias se pasaron sobre placas de agar S.S, MacConkey y EMB. las cuales se incubaron a 37 ± 2 °C por 24 h.

7.6. Caracterización de las cepas aisladas de tortuga golfina

7.6.1. Extracción de ADN. Las colonias aisladas e identificadas, se confirmaron mediante PCR, por lo que se colocaron tubos con las suspensiones bacterianas en agua a 100°C durante 5 minutos, finalmente el DNA extraído se tomó directamente de la parte del sobrenadante y se empleó como templado en la reacción de PCR para la amplificación.



7.6.2. Amplificación por PCR. Una vez obtenido el ADN de las cepas bacterianas, se procedió a realizar la amplificación de genes por PCR, para confirmar molecularmente la identificación de las diferentes cepas aisladas. La mezcla de reactivos para PCR consistió en 12.5 μ L del reactivo Go Taq Green Master Mix 2X (promega), 1 μ L del iniciador (F-sentido y R-antisentido), 1 μ L de DNA templado y se ajustó el volumen de agua (grado biología molecular) para un volumen final de 25 μ L, para cada reacción.

7.6.3. Electroforesis en gel agarosa. Al finalizar la amplificación de PCR los productos se visualizaron en un gel de agarosa al 2% preparado en una cámara de electroforesis y se adicionó a la cámara una solución de TAE 1X hasta cubrir el gel de agarosa, así mismo se colocó un control positivo y un control negativo como control de calidad de la PCR.

Adicionalmente, se colocó un marcador de tamaño molecular para identificar el tamaño del amplicón. La electroforesis se realizó a 100 V durante 40 minutos y las bandas de DNA fueron teñidas con Gel Red, para ser visualizadas y analizadas a través de un sistema de fotodocumentación (GelDoc, BIORAD).



7.7. Pruebas de susceptibilidad a las diferentes familias de antibióticos

7.7.1 Uso de Sensi-discos. Las cepas aisladas fueron procesadas por el método estándar de difusión en disco en agar Müller-Hinton. Posteriormente en caldo Müller-Hinton se incubarán en agitación durante toda la noche a 37 °C. Posteriormente con la ayuda de un hisopo de rayón estéril, la suspensión fue inoculada en agar Müller-Hinton, seguido a esto depositamos los Sensi-discos con la ayuda de un dispensador de 8 plazas, el noveno antibiótico lo colocamos de manera manual. Los Sensi-discos utilizados fueron los siguientes: ampicilina (10 µg), tetraciclina (30 µg), trimetoprima-sulfametoxazol (1.25 µg/23.75 µg), cloranfenicol (30 µg), ácido nalidíxico (30 µg), ciprofloxacino (5 µg), ceftazidima (30 µg), gentamicina (10 µg), y cefotaxima (30 µg).

Este cultivo, se incubó por 18-24 horas a 37°C, posteriormente con la ayuda de un vernier digital se procedió a realizar las mediciones de los halos de inhibición y de esta manera se identificó y clasificó su resistencia, intermedio o sensibilidad a las diferentes familias de antibióticos evaluados.

7.8. Determinación de metales pesados en sangre en tortuga golfinia.

Se tomaron muestras sanguíneas a ejemplares de *L. olivacea* después del proceso de anidación, en la playa de anidación de Ceuta, Sinaloa, México (Fig.1). De cada



tortuga se recogió una muestra de 5 ml del seno cervical dorsal con una aguja de calibre 21 y una jeringa vacutainer con un tubo con EDTA como agente anticoagulante (Owens 1999; Ley-Quíñonez et al.,2017). Las muestras se almacenaron en refrigeración a 4 ° C hasta su procesamiento en el laboratorio. Se colectaron mediciones morfométricas de cada tortuga (CCL = longitud del caparazón curvado y CCW = ancho del caparazón curvado) y se realizó un examen físico detallado en el que se verificó al individuo en busca de daños en la piel, tumores, amputaciones de aletas, anomalías físicas, emaciación, debilidad y carga de epibióticos (Deem et al.,2009; Espinoza-Romo et al.,2018). Finalmente, las tortugas fueron liberadas ilesas.

Se procesó un total de 0,5 g de cada muestra de sangre (peso húmedo) utilizando una mezcla ácida de 5 ml de HNO₃, HCl y H₂O₂ (proporción 2: 2: 1) en un sistema de microondas (MARS Xpress, CEM) durante 35 minutos (Ley-Quíñonez et al.,2011, 2013, 2017; Zavala-Norzagaray et al.,2014b). Se utilizaron dos réplicas del material de referencia (RM) TORT-3 (Consejo Nacional de Investigación de Canadá, Ottawa) para identificar el porcentaje de recuperación y la evaporación durante el proceso de digestión, y se agregaron dos muestras de sangre con un multielemento estándar SIGMA 6000 (Perkin- Elmer) para identificar la eficiencia del equipo y la posible interferencia generada por el tejido de análisis. Para identificar la posible contaminación y garantizar la precisión del análisis, se colocaron 4 objetivos (agua desionizada). Las concentraciones de metales pesados (basadas en el peso húmedo) se determinaron con un espectrofotómetro atómico de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES) modelo OPTIMA 4300TM DV



(Perkin-Elmer). Se realizaron curvas de calibración para el espectrofotómetro utilizando un estándar multielemento SIGMA 6000 (Perkin Elmer).

7.9. Análisis estadísticos

Todos los datos obtenidos se analizaron en el programa Sigma Plot® versión 12, y se utilizó una prueba de Chi cuadrada (χ^2) para las comparaciones de las proporciones con un nivel de significancia del 95% ($p \leq 0.05$). Así mismo medias aritméticas y desviaciones estándar (SD), la unidad de medida utilizada para las concentraciones de metales es en microgramos por gramo, en peso húmedo. El análisis de varianza de una vía (ANOVA) ($\alpha=0.05$) y la prueba de comparación múltiple de Tuckey.

7.10. Lugar de realización

La parte experimental se llevó a cabo en la Unidad de Investigación de la Facultad de Medicina, en el laboratorio de Biología Molecular, a cargo del Dr. Adrián Canizalez Román, lugar a donde se transportaron las muestras aisladas para su estudio.

7.11. Financiamiento

Este proyecto de investigación fue financiado por Becas Nacionales CONACyT. No. de apoyo 712481. Convocatoria 2018-2.



VIII. RESULTADOS

8.1. Muestreo de tortugas marinas en playa Ceuta

De los monitoreos realizados en playa Ceuta en el periodo de Julio-diciembre del 2018 (Fig. 4), se logró el muestreo de 52 ejemplares de tortugas marinas. De acuerdo a sus características morfométricas (Fig. 3), todos los ejemplares muestreados eran hembras en etapa de reproducción, pertenecientes a la tortuga golfina (*L. olivacea*). En el mes de septiembre se capturaron la mayoría de los ejemplares 29/52 (55.7%), seguido por los meses de octubre 10/52 (19.2%), noviembre 9/52 (17.3%) y agosto 4/52 (7.6%) (Fig. 5).

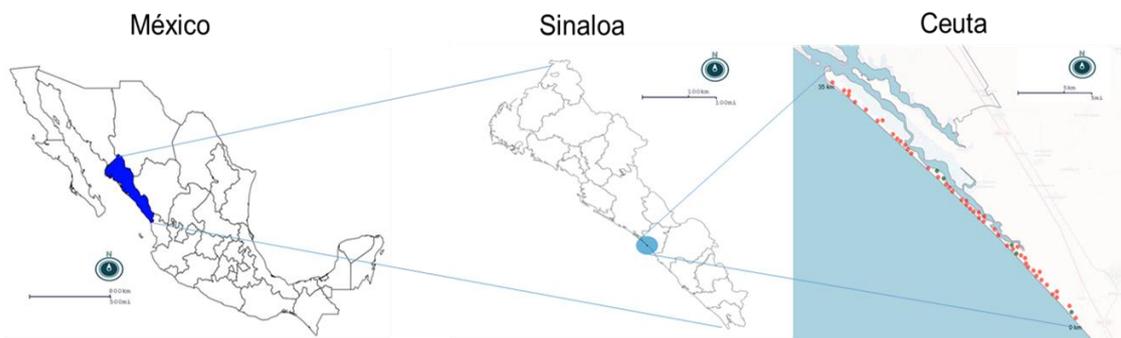


Figura 4. Sitio de muestreo para ejemplares de *L. olivacea* en playa Ceuta en el periodo Julio-diciembre de 2018.

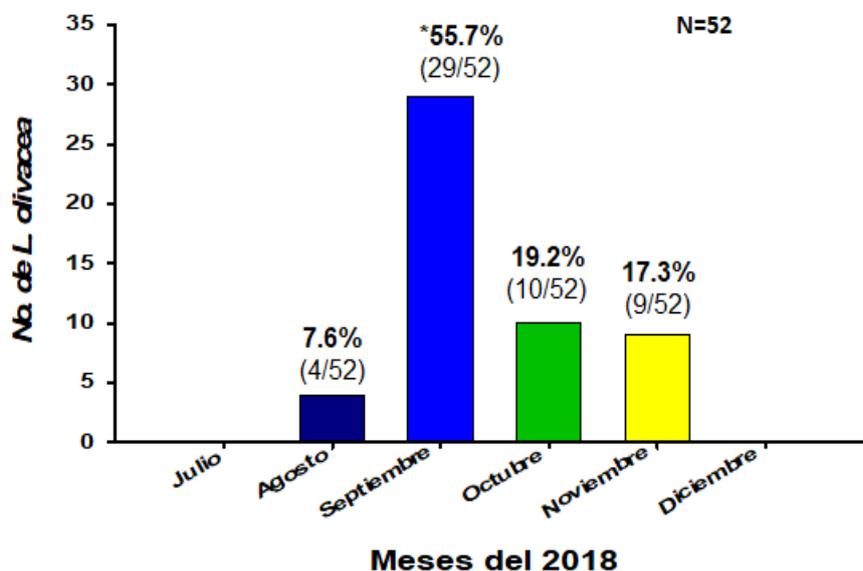


Figura 5. Numero de tortugas golfina (*Lepidochelys olivacea*) capturadas por mes en playa Ceuta, durante el periodo Julio-diciembre de 2018.

8.2. Registro de datos morfométricos LCC

La talla de los organismos capturados se clasificó mediante una distribución de frecuencias por intervalos o categorías de 10cm, tomando en cuenta la medida del Largo Curvo del Caparazón (LCC). El 96.1% (50/52) del total de las tortugas muestreadas presentaron una talla esperada para hembras en etapa de reproducción (61-70 cm) y solo el 3.9% (2/52) de las hembras sobrepasaron la talla de 70 cm (Fig. 6).

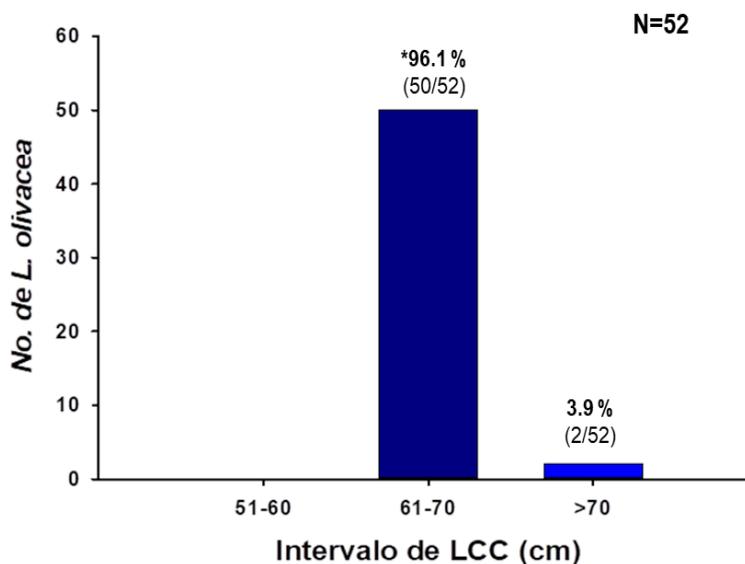


Figura 6. Distribución de frecuencia de tallas de tortuga golfina en playa Ceuta, durante el periodo julio-diciembre 2018.

8.3. Identificación de *Vibrio* spp.

Se identificaron 19 cepas pertenecientes a la familia *Vibrionadaceae* por pruebas bioquímicas y moleculares, aislando principalmente *V. alginolyticus* en un (42.1%;8/19), seguido por *V. parahaemolyticus* (31.5%;6/19), *V. mimicus* (15.7%;3/19) y *V. furnisii* (10.5%;2/19) (Fig. 7).

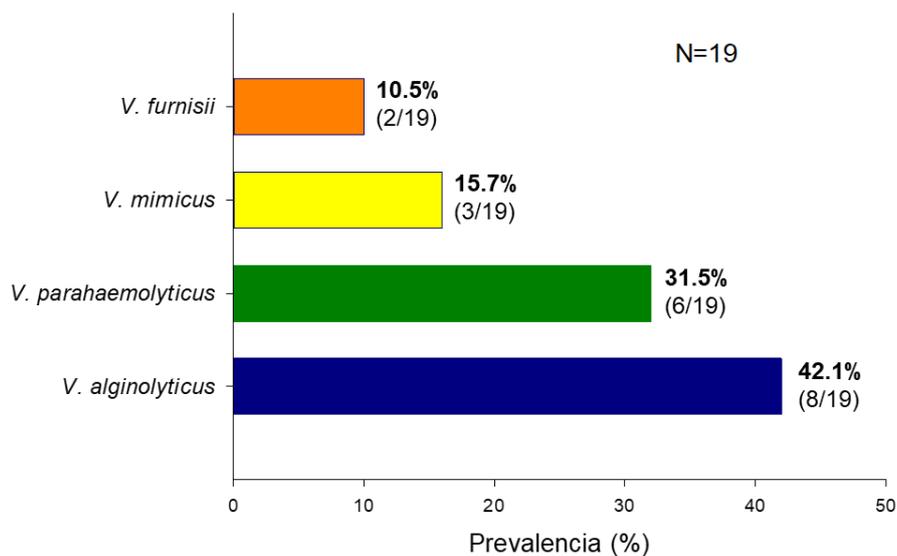


Figura 7. *Vibrio* spp. aisladas en tortuga golfina.

8.4. Caracterización de *V. parahaemolyticus*

De las cepas consideradas de gran importancia clínica identificamos *V. parahaemolyticus*, aislada en un 31.5% (6/19 confirmadas por PCR, gen taxonómico *r72H*), solo el 16.6% resultó positiva (1/6 para el gen toxigénico *tdh*), resultando negativo para los genes de virulencia *trh*, *toxRS/NEW*, *orf-8*.

8.5. Identificación de enterobacterias

Como parte de la identificación bacteriana, fue posible el aislamiento e identificación de otras 17 enterobacterias Gram-negativas, por pruebas bioquímicas y moleculares, aislando principalmente la familia *Enterobacteriaceae* (32%;26/81), de las cuales destaca *K. pneumoniae* (23%;6/26), seguido de *E. coli* en un 19.2% (5/26; 3/5 pertenecientes al



patotipo EAEC y 1/5 al patotipo EPEC), *E. amnigenus*, *E. sakazakii* y *R. ornithinolytica* en un 15.3% (4/26), respectivamente. *E. cloacae* (2/26; 7.7%) y finalmente *R. aquatilis* (1/26; 3.8%). Posteriormente encontramos a la familia *Pseudomonadaceae* (30.8%;25/81), donde destaca su prevalencia *P. aeruginosa* (88%;22/25), seguido de *P. fluorescens* (12%;3/25). De la familia *Aeromonadaceae*, identificamos solamente *A. hydrophila* (24.7%;20/81). De la familia *Morganellaceae* (4.9%;4/81), identificamos *P. mirabilis* (75%;3/4) y *P. alcalifaciens* (25%;1/4). De la familia *Yersiniaceae* (3.7%;3/81), identificamos *S. ficaria*, *S. fonticola* y *S. liquefaciens* en un 33.3% (1/3), respectivamente. De la familia *Burkholderiaceae* solo se identificó *B. cepacia* (2.4%;2/81) y finalmente de la familia *Chromobacteriaceae* se identificó *C. violaceum* (1.2%;1/81) (Fig. 8, Fig. 9). Asimismo, cabe mencionar que no se encontró diferencia significativa entorno a la zona de aislamiento (oral y cloacal) en las diferentes familias bacteriana (Fig.10).

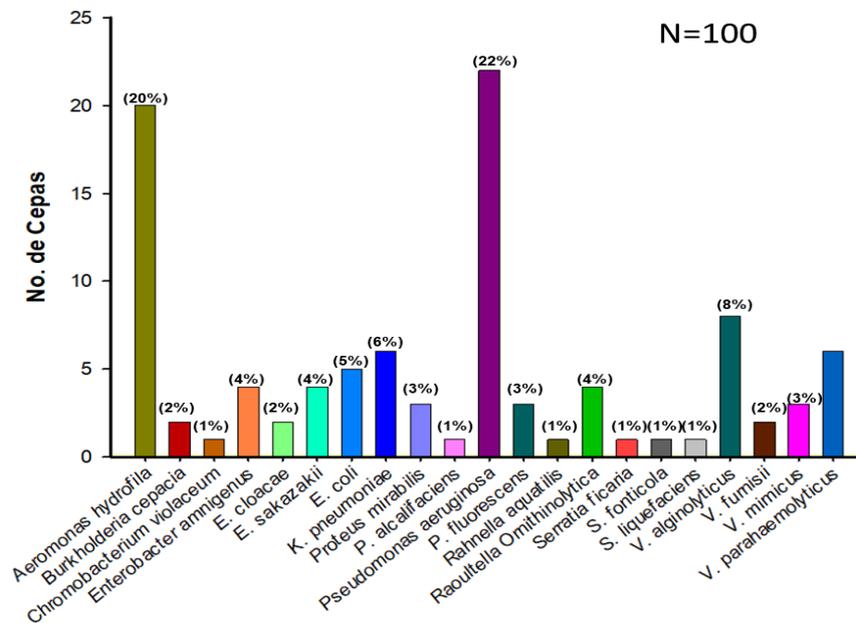


Figura 8. Diferentes cepas bacterianas aisladas de zona oral y cloaca en tortuga golfinia.

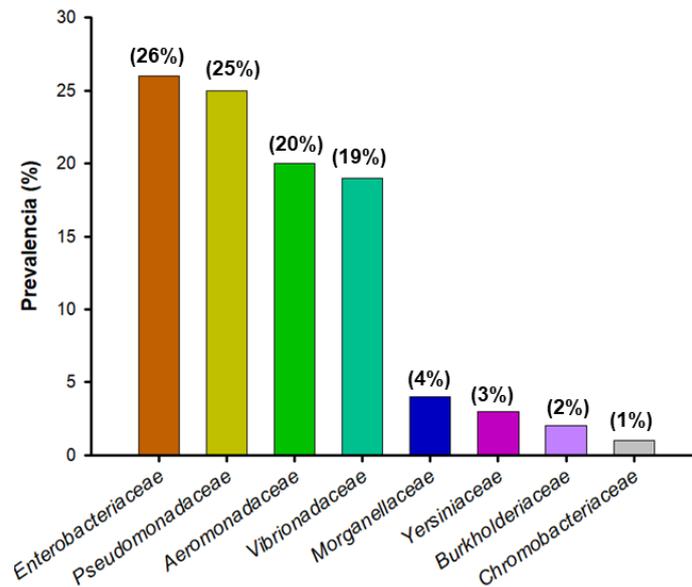


Figura 9. Prevalencia en (%) de las diferentes familias bacterianas aisladas de tortuga golfina.

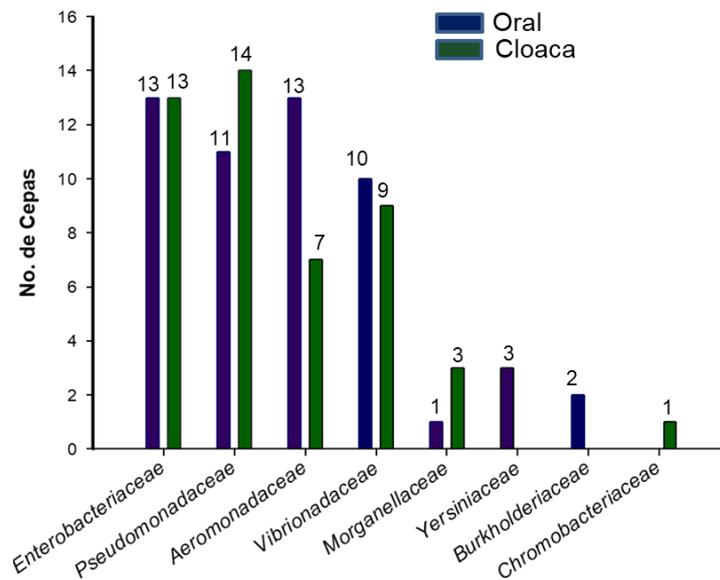


Figura 10. Distribución de frecuencias de las diferentes familias, según la zona de aislamiento en tortuga golfina.



8.6. Caracterización de *E. coli*

De las cepas identificadas para *E. coli* (5%;5/100), se les realizó la caracterización, resultando positivo el 80% (4/5) para la identificación del patotipo, encontrando (3/5) pertenecientes al patotipo *EAEC* (Confirmadas por PCR con presencia del gen *Pcvd+*) y (1/5) al patotipo *EPEC* (presencia del gen *eae+*).

8.7. Evaluación de la resistencia a antibióticos

Como parte de la evaluación de la resistencia a antibióticos de las bacterias *P. aeruginosa*, *V. alginolyticus*, *K. pneumoniae*, *V. parahaemolyticus*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *V. mimicus* y *V. furnisii*. Se observó resistencia principalmente a ampicilina, perteneciente a la familia de los betalactámicos (85.4%;47/55), seguida de cefotaxima (67.2%;37/55), ácido nalidíxico (54.5%;30/55), tetraciclina (49%;27/55), sulfametoxazol-trimetoprima (45.4%;25/55), cloranfenicol (34.5%;19/55), gentamicina (16.3%;9/55), ceftazidima (5.4%;3/55) y finalmente no se encontró resistencia al antibiótico ciprofloxacino, entre los antibióticos evaluados (Tabla 1).



Tabla 1. Resistencia antimicrobiana de las cepas bacterianas aisladas de tortuga golfinia (*Lepidochelys olivacea*) capturadas en playa Ceuta, Sinaloa.

Familias y antimicrobianos	Total n= 55 (%)	<i>P. aeruginosa</i> n=22 (%)	<i>V. alginolyticus</i> n=8 (%)	<i>K. pneumoniae</i> n=6 (%)	<i>V. parahaemolyticus</i> n= 6 (%)	<i>E. coli</i> n= 5 (%)	<i>P. mirabilis</i> n= 3 (%)	<i>V. mimicus</i> n= 3 (%)	<i>V. furnisii</i> n= 2 (%)
Aminoglycoside									
<i>Gentamicin</i>	9 (16.3)	6 (27.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (16.6)	0 (0.0)	2 (66.6)	0 (0.0)	0 (0.0)
Quinolones and Fluoroquinolones									
<i>Ciprofloxacin</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>Nalidixic acid</i>	30 (54.5)	21 (95.4)	0 (0.0)	3 (50.0)	0 (0.0)	2 (40.0)	3 (100)	1 (33.3)	0 (0.0)
Sulfonamides and potentiated sulfonamides									
<i>Sulfamethoxazole-trimethoprim</i>	25 (45.4)	17 (77.2)	0 (0.0)	4 (66.6)	0 (0.0)	1 (20.0)	2 (66.6)	1 (33.3)	0 (0.0)
Tetracyclines									
<i>Tetracycline</i>	27 (49.0)	17 (77.2)	0 (0.0)	3 (50.0)	0 (0.0)	2 (40.0)	2 (66.6)	3 (100)	0 (0.0)
Beta lactams									
<i>Ampicillin</i>	47 (85.4)	18 (81.8)	8 (100)	5 (83.3)	4 (66.6)	4 (80.0)	3 (100)	3 (100)	2 (100)
Cephalosporins									
<i>Ceftazidime</i>	3 (5.4)	1 (4.5)	1 (12.5)	0 (0.0)	1 (16.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>Cefotaxime</i>	37 (67.2)	21 (95.4)	1 (12.5)	6 (100)	2 (33.3)	3 (60.0)	3 (100)	1 (33.3)	0 (0.0)
Phenicol									
<i>Chloramphenicol</i>	19 (34.5)	12 (54.5)	0 (0.0)	3 (50.0)	0 (0.0)	1 (20.0)	1 (33.3)	2 (66.6)	0 (0.0)

8.8. Determinación de metales pesados en sangre.

Se realizó la extracción sanguínea a un total de 47 tortugas, de las cuales se descartó el 25.5% (12/47), esto debido a que presentaban una cantidad excesiva de grasa imposibilitando la lectura. Un total del 74.5% (35/47) fueron analizadas con éxito. Las tortugas presentaron una media LCC de 65.52 cm (61.0-71.0 cm \pm 2.29) y ACC de 70.08 cm (63.0-74.0 cm \pm 3.10). Los oligoelementos esenciales (Zn y Cu), se encontraron en altas concentraciones (9.43 $\mu\text{g g}^{-1} \pm 6.56$ y 2.11 $\mu\text{g g}^{-1} \pm 0.94$, respectivamente) en comparación con los metales tóxicos (Cd: 0.61 $\mu\text{g g}^{-1} \pm 0.51$ y Pb: 0.099 $\mu\text{g g}^{-1} \pm 0.063$) (Tabla 2).



Tabla 2. Concentración de metales pesados ($\mu\text{g g}^{-1}$) (peso húmedo) en sangre de tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*) capturadas en playa Ceuta, Sinaloa, 2018.

Concentración de metales pesados en sangre de tortuga.		
Variable	Media \pm EE	Min-Max
Zn	9.430 \pm 6.560	1.50-26.73
Cu	2.118 \pm 0.945	0.56-3.83
Pb	0.0992 \pm 0.0634(10)	0.00-0.19
Cd	0.619 \pm 0.514(1)	0.03-1.70
As	LD	-
Hg	LD	-

LD- Limite de Detección; Los datos están presentados como Media \pm EE o rango en parentesis.
na – Numero de muestras arriba del LD en parentesis si ≤ 16 .

La concentración de metales en sangre de tortugas anidadoras disminuyó en el siguiente orden Zn>Cu>Cd>Pb. Las concentraciones de As y Hg resultaron menores al LDD. No se observó relación entre el tipo de metal o concentración con la talla de la Tortuga ($p>0.05$) (Tabla 2).



Tabla 3. Concentración de metales pesados en sangre de tortugas marinas comparado con los niveles encontrados en el presente estudio de tortugas golfina anidadoras (*Lepidochelys olivacea*) en playa Ceuta, Sinaloa, 2018.

Concentración de metales pesados en sangre de tortugas marinas.

Especies		Zn	Cu	Cd	Pb	Autor
<i>L. olivácea</i>	Mexico	9.43±6.56	2.11±0.94	0.61±0.51(1)	0.099±0.063(10)	<i>This study</i>
<i>L. olivácea</i>	Mexico	37.12 ± 3.67	1.02 ± 1.47	1.33 ± 0.20	LD	Zavala-Norzagaray et al. (2014)
<i>L. olivácea</i>	Mexico	10.43 ± 4.12	0.60 ± 0.11	0.17 ± 0.10	0.02 ± 0.01	Costés-Gómez et al. (2014)
<i>L. olivácea</i>	Mexico	58.4 ± 4.7	2.28 ± 0.40	0.45 ± 0.20	0.19 ± 0.03	Páez-Osuna et al. (2010a,b)
<i>C. mydas</i>	Mexico	63.58 ± 17.06	1.71 ± 0.73	0.99 ± 0.35	LD	Ley-Quiñónez et al. (2013)
<i>C. mydas</i>	Mexico	13.92 ± 0.49	NA	0.06 ± 0.00	NA	Labrada et al. (2011)
<i>C. mydas</i>	Iran	36.78 ± 3.20	2.01 ± 0.23	0.37 ± 0.02	0.77 ± 0.20	Sinaei et al. (2017)
<i>C. mydas</i>	Australia	7.54 ± 0.63	0.97 ± 0.09	0.33 ± 0.009	NA	van de Merwe et al. (2010)
<i>C. caretta</i>	Mexico	44.81 ± 17.53	2.83 ± 0.62	1.80 ± 0.63	LD	Ley-Quiñónez et al. (2011)
<i>C. caretta</i>	Spain	4.97 ± 2.9	1.27 ± 8.46	0.29 ± 0.25	0.06 ± 0.02	Camacho et al. (2013)
<i>C. caretta</i>	Australia	11.54 ± 1.77	0.67 ± 0.13	0.30 ± 0.30	0.02 ± 0.01	Trocini (2013)
<i>D. coriacea</i>	French Guiana	44.4 ± 1.12	5.36 ± 1.12	0.32 ± 0.12	NA	Guirlet et al. (2008)
<i>L. kempii</i>	Mexico	7.50	0.52	NA	0.01	Kenyon et al. (2001)

Concentración en $\mu\text{g g}^{-1}$; NA-no analizados, LD- Limite de Detección; Los datos son presentados como media \pm EE (error estandar) or range in parentheses. na – number of samples above the LD in parenthesis if ≤ 16



IX. DISCUSIÓN

El presente estudio se realizó en tortugas golfina anidadoras capturadas en la playa de Ceuta, municipio de Elota, Sinaloa. El periodo del muestreo comprendido fue de Julio-diciembre del 2018. Como parte de los recorridos realizados para la captura de ejemplares de *L. olivacea*, El mes de septiembre fue donde se registró la mayoría de estos organismos, seguido por los meses de octubre, noviembre y diciembre (Fig. 5). De acuerdo a sus características morfométricas (Fig. 3), todos los ejemplares muestreados eran hembras pertenecientes a la tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*). En este sentido, a finales del verano y principios de otoño hay mayor cantidad de microalgas y algunas especies de pastos marinos que son la dieta principal de las tortugas marinas (Orduña-Rojas.,2008). Razón por la que por décadas se ha registrado la presencia de estos organismos en el estado de Sinaloa en los meses de julio a diciembre. Sin embargo, los cambios de temperatura en el ambiente marino, probablemente debido al calentamiento global, los periodos de anidación han venido variando. Todos los organismos capturados presentaron un buen estado físico y se encontraban aparentemente sanos. El 96.1% de los ejemplares presentó medidas óptimas para esta especie en etapa de reproducción sexual (61-70 cm LCC) (Fig. 6), considerando valores ≥ 62.2 cm en el LCC como la talla mínima para hembras anidadoras (Márquez, 1990). Como parte de la caracterización bacteriana, se identificaron 19 cepas pertenecientes a 4 especies de la familia *Vibrionadaceae*, mediante pruebas bioquímicas y moleculares, identificando principalmente *V. alginolyticus* (42.1%;8/19), seguida de *V. parahaemolyticus* en un 31.5% (6/19 confirmados por PCR, gen taxonómico *r72H*), de las cuales solo el 16.6% resultó positivo (1/6 para el gen toxigénico *tdh*) y



negativo para los genes de virulencia *trh*, *toxRS/NEW*, *orf-8*. *V. mimicus* (15.7%;3/19) y *V. furnisii* (10.5%;2/19). La especie *V. parahaemolyticus* es considerada de gran importancia clínica, caracterizada por presentar gastroenteritis, diarrea acuosa, náusea, vómito, fiebre y dolor de cabeza, ocasionalmente se presenta como una enfermedad tipo disentería, heces con sangre y mucosas, fiebre elevada; las heridas abiertas se pueden infectar; la infección sistémica y rara vez la muerte (Elmahdi et al.,2016) ya que se han registrado diversos brotes principalmente por la ingesta o contacto con alimentos marítimos. En el estado de Sinaloa, *V. parahaemolyticus* ha sido ampliamente estudiado a nivel de serotipos, distribución de genes de virulencia y la presencia de la cepa pandémica *O3:K6* por Velázquez-Román et al., (2012, 2014).

Asimismo, como parte del aislamiento bacteriano, se identificaron otras 17 especies Gram negativas, aislando principalmente la familia *Enterobacteriaceae* (32%;26/81), de las cuales destaca *K. pneumoniae* (23%;6/26), seguido de *E. coli* en un 19.2% (5/26; 3/5 pertenecientes al patotipo *EAEC* y 1/5 al patotipo *EPEC*), *E. amnigenus*, *E. sakazakii* y *R. ornithinolytica* en un 15.3% (4/26), respectivamente. *E. cloacae* (2/26; 7.7%) y finalmente *R. aquatilis* (1/26; 3.8%). Posteriormente encontramos a la familia *Pseudomonadaceae* (30.8%;25/81), donde destaca su prevalencia *P. aeruginosa* (88%;22/25), seguido de *P. fluorescens* (12%;3/25). De la familia *Aeromonadaceae*, identificamos solamente *A. hydrophila* (24.7%;20/81). De la familia *Morganellaceae* (4.9%;4/81), identificamos *P. mirabilis* (75%;3/4) y *P. alcalifaciens* (25%;1/4). De la familia *Yersiniaceae* (3.7%;3/81), identificamos *S. ficaria*, *S. fonticola* y *S. liquefaciens* en un 33.3% (1/3), respectivamente. De la familia *Burkholderiaceae* solo se identificó *B. cepacia* (2.4%;2/81) y finalmente de



la familia *Chromobacteriaceae* se identificó *C. violaceum* (1.2%;1/81). *P. aeruginosa* se identificó en mayor proporción (22%;22/100), respecto a las demás especies bacterianas identificadas. Misma que es considerada de gran importancia clínica ya que infecta los pulmones, las vías respiratorias, urinarias, los tejidos (heridas) y también causa otras sepsis (Gee w. et al.,2004); sin dejar de lado las especies *K. pneumoniae* (6/100), *Proteus mirabilis* (3/100) y *E. coli* patogénica (5/100), ya que son de las principales enterobacterias que generan patogénesis en los seres humanos principalmente de tipo intestinal. A *E. coli* se les realizó caracterización para la identificación de genes que codifican para patogenicidad, resultando (3/5) positivos para el patotipo *EAEC* (gen *Pcvd+*) y 1/5 positivo para *EPEC* (gen *eae+*). En la actualidad estas bacterias siguen siendo de gran importancia clínica, esto debido a la recurrente infección por estos patógenos. Sin embargo, Santoro (2016) y Hernández y col. (2003), destacan que este tipo de enterobacterias que son patógenas para el humano, suelen formar parte de la flora normal en estos organismos.

En el último siglo, el abuso y el uso indebido de antibióticos provocó la aparición alarmante de Cepas multi resistentes a las diferentes familias de antibióticos, mismas que representan una amenaza creciente en el mundo tanto para humanos como para animales (Vitale, M. et al.,2019). En los últimos años, se ha informado con frecuencia de la propagación de cepas resistentes a antibióticos en entornos naturales, es decir, animales salvajes, suelos, agua de mar. Por lo tanto, los animales marinos que están completamente inmersos en su entorno, pueden ser indicadores de la salud ambiental, reservorios y esparcidores de cepas antibiótico resistentes (Albahry et al.,2009; Pace et al.,2019). En este sentido las tortugas marinas se han propuesto como indicadores de salud de los hábitats



marinos y portadores de cepas bacterianas resistentes a antibióticos principalmente por su longevidad y estilo de vida migratorio. Por lo que podría entrar en la red alimentaria por la ingestión de carne contaminada o podría liberarse durante el depósito de huevos (Alduina, R. et al., 2020). Como parte de la evaluación de la resistencia a antibióticos de las bacterias *P. aeruginosa*, *V. alginolyticus*, *K. pneumoniae*, *V. parahaemolyticus*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *V. mimicus* y *V. furnisii*. Se observó resistencia principalmente a ampicilina, perteneciente a la familia de los betalactámicos (85.4%;47/55), seguida de cefotaxima (67.2%;37/55), ácido nalidíxico (54.5%;30/55), tetraciclina (49%;27/55), sulfametoxazol-trimetoprima (45.4%;25/55), cloranfenicol (34.5%;19/55), gentamicina (16.3%;9/55), ceftazidima (5.4%;3/55) y finalmente no se encontró resistencia al antibiótico ciprofloxacino, entre los antibióticos evaluados.

Por otra parte, respecto a la concentración de metales pesados, dentro de los elementos más abundantes en organismos se encuentran el Zn y el Cu, esto debido a que cumplen tareas esenciales en el desarrollo y función de procesos fisiológicos (Ley-Quiñónez et al., 2013; da Silva et al., 2014; Ley-Quiñónez et al., 2017). Sin embargo, altas concentraciones podrían presentar efectos tóxicos (ATSDR 2004, 2005). Las concentraciones de Cu en nuestro estudio resultaron relativamente altas comparado con otros estudios (Tabla 3), aún en general hay una pequeña variación entre las diferentes especies de tortugas (Páez-Osuna et al., 2010a; Van de Merwe et al., 2010; Camacho et al., 2013; Ley-Quiñónez et al., 2013; Trocini 2013; Zavala-Norzagaray et al., 2014; Ley-Quiñónez et al., 2017), excepto por las tortugas Laúd que presentan altos niveles de cobre, quizás debido a su dieta basada principalmente en zooplancton gelatinoso (Guirlet et al., 2008; Xu et al., 2011; Ley-Quiñónez et al., 2013). En general, las concentraciones de Cu en sangre están bajas para



todas las especies de tortugas, los diferentes estudios reportan concentraciones por debajo de $6.0 \mu\text{g g}^{-1}$; por lo tanto estas concentraciones observadas en hembras anidadoras en playa Ceuta pueden ser consideradas “normal” para las especies (Ley-Quiñónez et al.,2013; Zavala-Norzagaray et al.,2014). El Zn como el Cu, son elementos esencial para un crecimiento normal y procesos fisiológicos dentro de los organismos y existen las más altas concentraciones comparado con otros metales pesados (Ruelas-Inzunza et al.,2005; Cornish et al.,2007; Elorriaga-Verplancken y Aurióles-Gamboa 2008; Griesel et al.,2008; Sinaei and Bolouki 2017). Las concentraciones obtenidas en este estudio son similares a aquellos observados en tortugas golfinas anidadoras in el sureste del Pacífico Mexicano ($10.43 \mu\text{g g}^{-1}$) (Cortés-Gómez et al.,2014), y más altos que niveles encontrados en otros ejemplares de especies de tortugas marinas en áreas de alimentación (Kenyon et al., 2001; Van de Merwe et al.,2010; Camacho et al.,2013). Sin embargo, esto podría deberse a la ubicación geográfica y características de las áreas de alimentación y aparentan no representar un riesgo para la salud hacia las tortugas marinas (Van de Merwe et al.,2009a; Páez-Osuna et al.,2010a; Zavala-Norzagaray et al.,2014).

Recientemente se ha reportado un incremento en las concentraciones de metales como lo son el Cd, Pb y Zn, en zonas costeras en el Pacífico Mexicano, notablemente en el estado de Sinaloa y Nayarit, que podrían representar un riesgo por efectos tóxicos en la salud de los ecosistemas (Páez-Osuna 2014; Vazquez Botello et al.,2014). Con respecto a las redes tróficas del Golfo de California, la biomagnificación en organismos de Cd y Zn ha sido observada, mientras que el Cu muestra una biomagnificación parcial (Jara Marini et al., 2014; Páez-Osuna 2014). Sin embargo, Pb se ha desmotrado que se biodiluye a través de



niveles tróficos (Szefer et al.,2006; Soto-Jiménez et al.,2008; Ruelas-Inzunza et al.,2010; Jara Marini et al.,2014). De acuerdo con Soto-Jiménez y col. (2008), Las concentraciones de Pb en el Golfo de California estuvieron principalmente vinculados a actividades de perforación de gasolina en México y los Estados Unidos de América. Sin embargo el uso actual de combustibles bajos en Pb, ha resultado en una disminución en este metal en el océano y sus cadenas tróficas (Páez-Osuna.,2014). También se han observado concentraciones bajas de Pb en sangre de tortuga marina. (Ley-Quinónez et al.,2011, 2013; Zavala-Norzagaray et al.,2014) y tejidos (Gardner et al., 2006) en el Golfo de California. Sin embargo, los niveles de Pb encontrados en este estudio ($0.099\pm 0.063 \mu\text{g g}^{-1}$), resultaron más altas que los reportados por Cortez-Gómez (2014), y aún más bajos que las concentraciones reportadas por Páez-Osuna (2010b) (Tabla 3), ambos estudios fueron realizados en tortugas golfina anidadoras en el Pacífico Mexicano. Páez-Osuna y col. (2010), concluyeron que las concentraciones de Pb en tortugas marinas en Oaxaca son una reflexión de las bajas concentraciones de plomo en el área, por lo que tales niveles no representan un riesgo en la salud para la población anidadoras de tortugas golfina en esta región.

El Cd es el metal que presenta el mayor peligro para la salud ambiental tanto para humanos como para animales debido a su toxicidad. Motivo de la gran importancia en el área de ecotoxicología (Storelli and Marcotrigiano 2003; Storelli et al.,2008), particularmente en vida silvestre (Camacho et al.,2013; Cortés-Gómez et al.,2018) ya que la principal fuente de exposición al Cd es a través de cadenas tróficas (Van de Merwe et al.,2009b; Ley-Quinonez et al.,2017; Ross et al.,2017). Encontramos concentraciones de Cd más altas que



las reportadas en sangre de tortugas marinas de otras regiones (Kenyon et al., 2001; Guirlet et al., 2008; Páez-Osuna et al., 2010b; Van de Merwe et al., 2010; Labrada-Martagón et al., 2011; Camacho et al., 2013; Trocini 2013; Cortés-Gómez et al., 2014; Sinaei and Bolouki 2017). Además, el Cd estaba en niveles más bajos que los reportados anteriormente en la misma especie y región, pero en áreas de alimentación (Zavala-Norzagaray et al., 2014). Los niveles de Cd también fueron más bajos que las concentraciones encontradas en otras especies de tortugas marinas de la misma región (Ley-Quiñónez et al., 2013; Ley-Quinonez et al., 2017). De acuerdo con Storelly y Marcotrigiano (2003), el Cd se acumula en concentraciones más altas en organismos carnívoros, particularmente aquellos que se alimentan de especies calcáreas como cangrejos y moluscos (Storelli et al., 1998a; Ley-Quiñónez et al., 2011). Otros estudios indican que los organismos que se alimentan en ecosistemas semicerrados tienden a estar más expuestos a los procesos de bioacumulación de metales (Sakai et al., 2000b; Storelli et al., 2008; Ley-Quiñónez et al., 2013). El Golfo de California es un ejemplo de esto, con estudios previos que muestran la biomagnificación del Cd a través de las redes tróficas de las regiones, con organismos en niveles más altos que presentan mayores concentraciones de este metal (Jara Marini et al., 2014). Esta tendencia a altas concentraciones de Cd se ha documentado en todas las especies de tortugas marinas que se encuentran en el Golfo de California (Frías-Espericueta et al., 2006; Gardner et al., 2006; Kampalath et al., 2006; Ley-Quiñónez et al., 2011; Zavala-Norzagaray et al., 2014). Además, estos niveles son los más altos que se encuentran en las tortugas marinas a nivel mundial, esto es particularmente evidente en las tortugas bobas, una especie carnívora (Storelli., 2005); mencionaron que las concentraciones de Cd en las tortugas marinas son un reflejo de la carga contaminante en las áreas de alimentación, sin



embargo, la biodisponibilidad del Cd en los organismos marinos se debe principalmente a factores globales, y no necesariamente refleja áreas con alta actividad antropogénica, sino también contribuciones naturales oceánicas. Los organismos del océano Pacífico presentan concentraciones de Cd más elevadas que los del océano Atlántico (Fraga et al.,2018). Las concentraciones de Cd en poblaciones anidadoras de tortugas lora pueden representar un riesgo para las crías de tortugas después de la transferencia maternal (Páez-Osuna et al.,2010a), El Hg y el As se consideran entre los elementos tóxicos más importantes del medio ambiente (Yokel et al.,2006; Páez-Osuna 2014). Sin embargo, en nuestro estudio, las concentraciones de As y Hg en sangre estaban por debajo del LOD. Como las concentraciones en las tortugas marinas muestran variaciones por especie y fuente de alimento (Storelli et al.,1998a; Storelli and Marcotrigiano (2000); Zavala-Norzagaray et al.,2014; Cortés-Gómez et al.,2017; Ley-Quinonez et al.,2017). Diversos estudios han informado niveles de As en la tortuga golfinia, lo que representa concentraciones bajas en sangre y otros tejidos (1.19 a $3.34 \mu\text{g g}^{-1}$) comparado con otras especies de tortugas marinas (Cortés-Gómez et al.,2014, 2017; Zavala-Norzagaray et al.,2014). De acuerdo con Sakai y col. (2000), Las tortugas marinas que se alimentan de algas y moluscos acumulan altos niveles de As, mientras que las especies omnívoras, como la tortuga golfinia (Márquez 1990; Páez-Osuna et al.,2010b) tienden a acumular niveles más bajos de este metaloide (Agusa et al.,2008). Por otro lado, las concentraciones de Hg en los diferentes tejidos de las tortugas marinas tienden a ser bajas ($<0.5 \mu\text{g g}^{-1}$) (Storelli et al.,1998b; Sakai et al.,2000a; Anan et al.,2002; Maffuci et al.,2005; Kampalath et al.,2006; Innis et al.,2008; Day et al.,2010; Jerez et al., 2010; van de Merwe et al.,2010; Cortés-Gómez et al.,2017). Para el Pacífico mexicano, los niveles de Hg en la sangre de las tortugas marinas presentan



concentraciones por debajo del límite de detección LD (Ley-Quiñónez et al.,2011, 2013; Zavala-Norzagaray et al., 2014). Sin embargo, incluso en concentraciones bajas, este metal causa impactos negativos sutiles en la función inmune de las tortugas marinas dependiendo del tipo de especiación de Hg como el metilmercurio (Day et al.,2007).

En las tortugas marinas, la longitud del caparazón curvo (LCC) se usa para determinar la edad (Gardner et al.,2006; Páez-Osuna et al.,2010; Cortés-Gómez et al.,2014), y de acuerdo con Hart y col. (2014), el LCC observado en las tortugas estudiadas (65.52 cm) son similares a las tortugas golfina anidadoras en el Pacífico Mexicano (64 cm). Estadísticamente, no se encontró correlación significativa entre LCC vs concentraciones de metal ($p > 0.05$), posiblemente porque hubo poca diferencia entre los tamaños de los organismos estudiados, ya que todas eran tortugas anidadoras hembras adultas. Sin embargo, estos resultados son consistentes con estudios previos en la misma especie en el Pacífico mexicano (Frías-Espericueta et al.,2006; Páez-Osuna et al.,2010a, b; Zavala-Norzagaray et al.,2014) y otras tortugas marinas (Gardner et al.,2006; Ley-Quiñónez et al.,2011; Ley-Quinonez et al.,2013, 2017). Por otro lado, las concentraciones de metales en sangre de tortugas marinas en el Océano Atlántico, demuestran una correlación positiva con el tamaño, particularmente Pb (Kenyon et al.,2001; Wang 2005; Fussy et al.,2007; Camacho et al., 2012, 2013). Esta relación puede deberse a la actividad de perforación y extracción de petróleo, siendo una de las principales fuentes de contaminación de la zona. La contaminación por aceite aumenta los niveles de metales tóxicos como Ni, Cd y Pb (Vazquez et al.,2002; Turner and Rabalais.,2019) con riesgos potenciales para la biota marina (Villanueva and Botello 1992; Botello et al.,2005; Ruiz-Fernández et al.,2019).



X. CONCLUSIONES

Los resultados sobre la identificación bacteriana y su caracterización muestran un panorama crítico de salud del ecosistema marino en nuestra región. Se aislaron cepas de *V. parahaemolyticus*, *E. coli* patogénicas, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, entre otras. Lo que podría representar un alto riesgo en la propagación de microbios ambientales. Por parte de la evaluación de la resistencia antimicrobiana, observamos que la totalidad de las cepas evaluadas de las diferentes especies bacterianas, presentaron multi-resistencia, debido a que la totalidad de especies identificadas, presentaron resistencia a 2 o más familias de antibióticos, principalmente a la familia Beta-lactámicos (ampicilina). Esto es alarmante debido a que el uso indiscriminado de antibióticos provoca la aparición alarmante de cepas multi resistentes, mismas que representan una amenaza creciente en el mundo, tanto para humanos como para animales. Por otra parte, los metales tóxicos As y Pb, no representan un riesgo para la salud de las tortugas golfinas muestreadas en la playa de Ceuta, ya que los niveles de estos metales resultaron bajos. La concentración de Hg estuvo por debajo del límite detectable, lo que corrobora estudios previos que encontraron este elemento en niveles bajos en tortugas marinas del Pacífico mexicano. Sin embargo, es importante considerar que la especiación de metales juega un papel importante en la toxicidad de los metales, particularmente el metilmercurio, que incluso en niveles bajos, puede ser dañino para los organismos. A pesar de ser ilegal el consumo de tortugas marinas, este estudio también destaca la importancia de evitar el consumo de estos organismos particularmente en las zonas costeras del noroeste de México.



XI. PERSPECTIVAS

La determinación bacteriana y de metales pesados en tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*). Nos permite conocer y evaluar la salud de las tortugas marinas, así como la salud de los ecosistemas. Este proyecto de investigación, busca concientizar sobre la importancia de la conservación de estos organismos y la importancia de evitar su consumo. Sería de gran importancia que estudios similares se repliquen en otros estados costeros como Nayarit, Jalisco, Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Chiapas (zona costera del Océano Pacífico). Con el fin de visualizar de manera más precisa la salud de las tortugas marinas como portadoras de microorganismos patógenos y metales pesados; que en cierta forma determinan la salud de los ecosistemas de las zonas costeras de México.



XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aduriz G. y Campos A. 2006. Manual del Tortuguero. España. 8 p. www.amoayo.org.
- Aguirre, A. A. y Starkey E. E. (1994). "Wildlife Disease in U.S. National Parks: Historical and Coevolutionary Perspectives." *Conservation Biology* 8(3): 654-661.
- Aguirre, A. A. y Lutz P. (2004). "Marine turtles as sentinels of ecosystem health: Is Fibropapillomatosis an indicator?" *EcoHealth* 1: 275–283.
- Aguirre, A. A., Gardner S. C., Marsh J. C., Delgado S. G., Limpus C. J. y Nichols W. J. (2006). "Hazards Associated with the Consumption of Sea Turtle Meat and Eggs: A Review for Health Care Workers and the General Public." *EcoHealth* 10: 64-69.
- ATSDR (2005) Resumen de salud pública: Zinc. 9
- ATSDR (2004) Resumen de Salud Pública: Cobre. 7440-50-8:8
- Alvarado, D. J. y Delgado T. C. (2005). "Tortugas marinas de Michoacán, historia natural y conservación". Morelia, Mich., México, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Aranda-Cirerol, N. (2001). "Alimentando al mundo, envenenando al planeta: eutrofización y calidad del agua." *Avance y Perspectiva* vol. 20: 293-303.
- Arena, P., Warwick, C., and Steedman, C. (2014). Welfare and Environmental implications of farmed sea turtles. *J. Agri. Environ. Ethics* 27, 309–330. doi: 10.1007/s10806-013-9465-8
- Botello AV, Páez-Osuna F, Mendez-Rodríguez L, et al (2014) *Pacífico Mexicano. Contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias*
- Briseño-Dueñas, R. (2002). Tortugas marinas. Atlas de la biodiversidad de Sinaloa. México, El Colegio de Sinaloa: 353-365.



- Briseño Dueñas, R. (2006). Tortugas Marinas: de Recurso Natural a especies en riesgo. En Atlas del Manejo y Conservación de la Biodiversidad y Ecosistemas de Sinaloa .121 p.
- Bucchia M, Camacho M, Santos MRD, et al (2015) Plasma levels of pollutants are much higher in loggerhead turtle populations from the Adriatic Sea than in those from open waters (Eastern Atlantic Ocean). *Sci Total Environ* 523:161–169. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.03.047>
- Camacho M, Orós J, Boada LD, et al (2013a) Potential adverse effects of inorganic pollutants on clinical parameters of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*): Results from a nesting colony from Cape Verde, West Africa. *Mar Environ Res* 92:15–22. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2013.08.002>
- Camacho M, Orós J, Boada LD, et al (2013b) Potential adverse effects of inorganic pollutants on clinical parameters of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*): Results from a nesting colony from Cape Verde, West Africa. *Mar Environ Res* 92:15–22. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2013.08.002>
- CCC. (2009,03-05-09). “Caribbean Conservation Corporation. “Retrieved 18-05,2009. Web page <http://ccturtle.org/>.
- Chacón D. y Araúz R. (2001). Diagnóstico Regional y Planificación Estratégica para la Conservación de las Tortugas marinas en Centroamérica. 8 p.
- Cifuentes (2006). Atlas de manejo y conservación de la biodiversidad de Sinaloa. El Colegio de Sinaloa. 360 pp.
- Chuen-Im, T., Areekijserree, M., Chongthammakun, S., and Graham, S. V. (2010). Aerobic bacterial infections in captive juvenile green turtles (*Chelonia mydas*) and hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) from Thailand. *Chelonian Conserv. Biol.* 9, 135–142. doi: 10.2744/CCB-0808.1
- Clark, R. B. (2001). *Marine Pollution*. Ed. Oxford sexta edición 224 pp.



- Cornish AS, Ng WC, Ho VCM, et al (2007) Trace metals and organochlorines in the bamboo shark *Chiloscyllium plagiosum* from the southern waters of Hong Kong, China. *Sci Total Env* 376:335–345. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.01.070>
- Cortés-Gómez AA, Fuentes-Mascorro G, Romero D (2014) Metals and metalloids in whole blood and tissues of Olive Ridley turtles (*Lepidochelys olivacea*) from La Escobilla Beach (Oaxaca, Mexico). *Mar Pollut Bull* 89:367–375. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.09.035>
- Cortés-Gómez AA, Romero D, Girondot M (2017a) The current situation of inorganic elements in marine turtles: A general review and meta-analysis. *Environ Pollut* 229:567–585. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.06.077>
- Cortés-Gómez AA, Romero D, Girondot M (2018) Carapace asymmetry: A possible biomarker for metal accumulation in adult olive Ridleys marine turtles? *Mar Pollut Bull* 129:92–101. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.02.020>
- Cortés-Gómez AA, Romero D, Girondot M (2017b) The current situation of inorganic elements in marine turtles: A general review and meta-analysis. *Environ Pollut* 229:567–585. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2017.06.077>
- da Silva CC, Varela Jr. AS, Barcarolli IF, Bianchini A (2014) Concentrations and distributions of metals in tissues of stranded green sea turtles (*Chelonia mydas*) from the southern Atlantic coast of Brazil. *Sci Total Env* 466–467:109–118. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.06.094>
- Day RD, Christopher SJ, Becker PR, Whitaker DW (2005) Monitoring mercury in the loggerhead sea turtle, *Caretta caretta*. *Env Sci Technol* 39:437–446
- Deem SL, Norton TM, Mitchell M, et al (2009) Comparison of blood values in foraging, nesting, and stranded loggerhead turtles (*Caretta caretta*) along the coast of Georgia, USA. *J Wildl Dis* 45:41–56. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-45.1.41>



- Delgado-Alvarez CG, Ruelas-Inzunza J, Osuna-López JI, et al (2015) Mercury content and their risk assessment in farmed shrimp *Litopenaeus vannamei* from NW Mexico. *Chemosphere*. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.08.079>
- Delgado-Álvarez CG, Ruelas-Inzunza J, Osuna-López JI, et al (2015) Total mercury content in cultured oysters from NW Mexico: Health risk assessment. *Bull Environ Contam Toxicol*. <https://doi.org/10.1007/s00128-014-1430-3>
- Eckert, K.L,K.A. Bjorndal, F.A. Abreu-Grobois y M. Donnelly (2000). “Técnicas de investigación y manejo para la conservación de las tortugas marinas”. Grupo especialista de tortugas marinas UICN (CSE Publicación No. 4).
- Eckert K. (2001). Estado de Conservación y Distribución de la tortuga Laúd, (*Dermochelys coriacea*), en la región del Gran Caribe. En: Conservación de tortugas marinas en la región del Gran Caribe- un diálogo para el manejo regional efectivo. 29 p.
- Elorriaga-Verplancken F, Auriolles-Gamboa D (2008) Trace Metal Concentrations in the Hair of *Zalophus californianus* Pups and their Relation to Feeding Habits. *Biol Trace Elem Res* 126:148–164. <https://doi.org/10.1007/s12011-008-8186-8>
- Espinoza-Romo BA, Sainz-Hernández JC, Ley-Quiñónez CP, et al (2018) Blood biochemistry of olive ridley (*Lepidochelys olivacea*) sea turtles foraging in northern Sinaloa, Mexico. *PLoS One* 13:1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199825>
- F. C-CM, R. R-IJ, Paez-Osuna F, et al (2010) Trace metals (Cd, Cu, Ni, and Zn) in blood and eggs of the sea turtle *Lepidochelys olivacea* from a nesting colony of Oaxaca, Mexico. *Arch Env Contam Toxicol* 59:632–641. <https://doi.org/10.1007/s00244-010-9516-3>
- Falchuk KH, Montorzi M (2001) Zinc physiology and biochemistry in oocytes and



embryos. *BioMetals* 14:385–395. <https://doi.org/10.1023/A:1012994427351>

Fitzgerald, S.L. (2004). “Los metales pesados en cuatro especies de tortugas marinas de baja california, México”. *Biología Marinas*, CIBNOR.109p.

Frías-Espericueta MG, Osuna-López JI, Ruiz-Telles A, et al (2006) Heavy metals in the tissues of the sea turtle *Lepidochelys olivacea* from a nesting site of the northwest coast of Mexico. *Bull Environ Contam Toxicol* 77:179–185. <https://doi.org/10.1007/s00128-006-1048-1>

Gambino-Shirley K, Stevenson L, Concepción-Acevedo J, et al. Flea market finds and global exports: Four multistate outbreaks of human *Salmonella* infections linked to small turtles, United States—2015. *Zoonoses Public Health*. 2018;00:19. <https://doi.org/10.1111/zph.12466>

Gardner, S. C. y Nichols W. J. (2001). "Assessment of sea turtle mortality rates in the Bahía Magdalena Region, Baja California Sur, México." *Chelonian Conservation and Biology* 4(1): 197-199.

Gardner S, Fitzgerald S, Vargas B, Rodríguez L (2006) Heavy Metal Accumulation in Four Species of Sea Turtles from the Baja California Peninsula, Mexico. *Biometals* 19:91–99. <https://doi.org/10.1007/s10534-005-8660-0>

Glazebrook, J., and Campbell, R. (1990). A survey of the diseases of marine turtles in northern Australia. I. Farmed turtles. *Dis. Aquat. Org.* 9, 83–95. doi: 10.3354/dao009083

Glazebrook, J., Campbell, R., and Thomas, A. (1993). Studies on an ulcerative stomatitis, obstructive rhinitis pneumonia disease complex in hatchling and juvenile sea turtles *Chelonia mydas* and *Caretta caretta*. *Dis. Aquat. Org.* 16, 133–147. doi: 10.3354/dao016133

Godley BJ, Thomson DR, Furness RW (1999) Do heavy metal concentrations pose threat



to marine turtle from Mediterranean Sea? *Mar Pollut Bull* 38:497–502

- Griesel S, Kakuschke A, Siebert U, Prange A (2008) Trace element concentrations in blood of harbor seals (*Phoca vitulina*) from the Wadden Sea. *Sci Total Env* 392:313–323. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.10.062>
- Guirlet E, Das K, Girondot M (2008) Maternal transfer of trace elements in leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*) of French Guiana. *Aquat Toxicol* 88:267–276
- Hart CE, Ley-Quíñonez C, Maldonado-Gasca A, et al (2014) Nesting characteristics of Oliver Ridley turtles (*Lepidochelys olivacea*) on El Naranjo beach, Nayarit, México. *Herpetol Conserv Biol* 9:524–534
- Ho TY, Quigg A, Finkel Z V., et al (2003) The elemental composition of some marine phytoplankton. *J Phycol* 39:1145–1159. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.2003.03-090.x>
- House C, Aguirre A.A., House J.A. (2002). Emergence of infectious diseases in marine mammals. In: *Conservation Medicine: Ecological Health in Practice*, Aguirre A.A., Ostfield R., Tabor G., House C., Pearl M. (editors). New York: Oxford University Press, pp 104–117. INEGI
- Jara Marini ME, García Rico L, García Hernández J, Páez Osuna F (2014) Transferencia de Cd, Cu, Hg, Pb y Zn en la trama trófica de un ecosistema lagunar subtropical de la región centro-este del Golfo de California. In: Alfonso V. Botello, Federico Páez-Osuna, Lia Mendez-Rodríguez y Miguel Betancourt-Lozano SÁ-B y RL (ed) *Pacífico Mexicano. Contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias*. Mexico, pp 241–266
- Kenyon LO, Landry AM, Gill GA (2001) Trace metal concentrations in blood of Kemp's ridley sea turtles (*Lepidochelys kempii*). *Chelonian Conserv Biol* 4:129–135.



- Koch V., Reuter A. y Laudito J. (2004). Diagnóstico de la captura ilegal y el comercio de tortugas marinas en el Noroeste Mexicano. WORLD WILDLIFE FUND-MÉXICO. Reporte talleres. 19 p.
- Labrada-Martagón V, Méndez-Rodríguez LC, Gardner SC, et al (2010) Health Indices of the Green Turtle (*Chelonia mydas*) Along the Pacific Coast of Baja California Sur, Mexico. I. Blood Biochemistry Values. *Chelonian Conserv Biol* 9:162–172. <https://doi.org/10.2744/ccb-0806.1>
- Labrada-Martagón V, Tenorio-Rodríguez PA, Méndez-Rodríguez LC, 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. *Comp Biochem Physiol* 154:65–75
- Lagueux, C. J., C. L. Campbell y E. W. Lauck (2005). Estrategia de manejo para la conservación de tortugas marinas en la costa Caribe de Nicaragua, Wildlife Conservation Society.
- Ley-Quinonez C, Zavala-Norzagaray AA, Espinosa-Carreón TL, et al (2011) Baseline heavy metals and metalloid values in blood of loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from Baja California Sur, Mexico. *Mar Pollut Bull* 62:1979–1983. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.06.022>
- Ley-Quinónez C, Zavala-Norzagaray AA, Espinosa-Carreón TL, et al (2011) Baseline heavy metals and metalloid values in blood of loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from Baja California Sur, Mexico. *Mar. Pollut. Bull.* 62:1979–1983
- Ley-Quinonez CP, Rossi-Lafferriere NA, Espinoza-Carreón TL, et al (2017) Associations between trace elements and clinical health parameters in the North Pacific loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*) from Baja California Sur, Mexico. *Env Sci Pollut Res Int* 24:9530–9537. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8556-x>
- Ley-Quinonez CP, Zavala-Norzagaray AA, Rendon-Maldonado JG, et al (2013) Selected heavy metals and selenium in the blood of black sea turtle (*Chelonia mydas*)



- agasiizzi) from Sonora, Mexico. *Bull Environ Contam Toxicol* 91:645–651.
<https://doi.org/10.1007/s00128-013-1114-4>
- Ley-Quiñónez CP, Zavala-Norzagaray AA, Réndon-Maldonado JG, et al (2013) Selected heavy metals and selenium in the blood of black sea turtle (*Chelonia mydas agasiizzi*) from Sonora, Mexico. *Bull Environ Contam Toxicol* 91:645–651.
<https://doi.org/10.1007/s00128-013-1114-4>
- Lindtner-Knific, Renata et al. “Prevalence of Antibodies against *Leptospira* Sp. in Snakes, Lizards and Turtles in Slovenia.” *Acta Veterinaria Scandinavica* 55.1 (2013): 65. *PMC*. Web. 28 May 2018.
- Lu, H. K., Chen, E. F., Xie, S. Y., Chai, C. L., Wei, Y. D., Mo, S. T., et al. (2006). [Investigation on vibrio cholera carried in aquatic products of littoral areas, Zhejiang Province]. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi* 40, 336–338.
- Mancini A, Koch V (2009) Sea turtle consumption and black market trade in Baja California Sur, Mexico. *Endanger Species Res* 7:1–10.
<https://doi.org/10.3354/esr00165>
- Mancini A, Senko J, Bojorquez-Reyes R, et al (2011) To poach or not to poach an endangered species: Elucidating the economic and social drivers behind illegal sea turtle hunting in Baja California Sur, México. *Hum Ecol* 39:743–756
- Meylan A., y Meylan P. (2000). Introducción a la Evaluación, Historias de Vida y Biología de las Tortugas Marinas. En: K. Eckert; K. Bjorndal; F. AbreuGrobis y M. Donnelly (Eds.). Técnicas de investigación y manejo para la conservación de las tortugas marinas (traducción en español). Grupo especialistas en tortugas marinas UICN/SCE. Publicación No 4. Pennsylvania, Estados Unidos. 3 y 4 p.
- Mitura, Agata et al. “Free-Living and Captive Turtles and Tortoises as Carriers of New *Chlamydia* Spp.” Ed. Baochuan Lin. *PLoS ONE* 12.9 (2017): e0185407. *PMC*. Web. 28 May 2018.



- Nichols, W. J. (2003). "Biology and conservation of sea turtles in Baja California, México". The University of Arizona. 488 p.
- Norma oficial Mexicana (2001). "Protección ambiental". NOM-059-SEMARNAT-2001.
- O'Grady, K. A., and Krause, V. (1999). An outbreak of salmonellosis linked to a marine turtle. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health* 30, 324–327.
- Owens DW (1999) Reproductive Cycles and Endocrinology. In: Eckert KL, Bjorndal KA, Abreu-Grobois FA, Donnelly M (eds) Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles. IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication No. 4
- Páez-Osuna F (2014) Metales y metaloides: origen, movilidad y ciclos biogeoquímicos. In: Botello AV, Páez-Osuna F, Méndez-Rodríguez L, et al. (eds) Pacífico Mexicano. Contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias. uac, unam-icmyl, ciad-Mazatlán, cibnor, cicese, pp 225–240
- Páez-Osuna F, Álvarez-Borrego S, Ruiz-Fernández AC, et al (2017) Environmental status of the Gulf of California: A pollution review. *Earth-Science Rev* 166:181–205. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2017.01.014>
- Páez-Osuna F, Calderón-Campuzano MF, Soto-Jiménez MF, Ruelas-Inzunza J (2011) Mercury in blood and eggs of the sea turtle *Lepidochelys olivacea* from a nesting colony in Oaxaca, Mexico. *Mar Pollut Bull* 62:1320–1323. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.04.004>
- Páez-Osuna F, Calderón-Campuzano MF, Soto-Jiménez MF, Ruelas-Inzunza JR (2010) Lead in blood and eggs of the sea turtle, *Lepidochelys olivacea*, from the Eastern Pacific: concentration, isotopic composition and maternal transfer. *Mar Pollut Bull* 60:433–439. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.10.004>
- Páez-Osuna F, Calderón-Campuzano MF, Soto-Jiménez MF, Ruelas-Inzunza JR (2010a) Lead in blood and eggs of the sea turtle, *Lepidochelys olivacea*, from the Eastern Pacific: Concentration, isotopic composition and maternal transfer. *Mar Pollut*



Bull 60:433–439. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.10.004>

- Páez-Osuna F, Calderón-Campuzano MF, Soto-Jiménez MF, Ruelas-Inzunza JR (2010b) Trace Metals (Cd, Cu, Ni, and Zn) in Blood and Eggs of the Sea Turtle *Lepidochelys olivacea* from a Nesting Colony of Oaxaca, Mexico. *Arch Environ Contam Toxicol* 59:632–641. <https://doi.org/10.1007/s00244-010-9516-3>
- Paul, J., C. Baigrie, and D. V. Parums. “Fatal Case of Disseminated Infection with the Turtle *Bacillus Mycobacterium Chelonae*.” *Journal of Clinical Pathology* 45.6 (1992): 528–530. Print.
- Paullier, J. (CID Naturaleza y Desarrollo) 2004. Generalidades sobre las tortugas marinas, Montevideo Uruguay.
- Quintero-Alvarez JM, Soto-Jiménez MF, Amezcua F, et al (2012) Cadmium and lead concentrations in the fish tissues of a coastal lagoon system of the SE Gulf of California. *Bull Environ Contam Toxicol*. <https://doi.org/10.1007/s00128-012-0730-8>
- Reuter A. (2004). TRAFFIC: Estudios recientes sobre la gestión, uso y comercio de las tortugas marinas. WORLD WILDLIFE FUND-MÉXICO. Reporte talleres. 26 p.
- Rincón- Díaz M. y Rodríguez- Zárata C. (2004). Caracterización de playas de anidación y zonas de alimentación de tortugas marinas en el Archipiélago de San Bernardo, Caribe Colombiano. *Investigaciones Marinas y Costeras*. 33. 137- 158 p.
- Ross DAN, Guzmán HM, Potvin C, van Hinsberg VJ (2017) A review of toxic metal contamination in marine turtle tissues and its implications for human health. *Reg Stud Mar Sci* 15:1–9. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2017.06.003>
- Ruelas-Inzunza J, Paez-Osuna F, Soto LA (2005) Bioaccumulation of Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb and Zn in trophosome and vestimentum of the tube worm *Riftia pachyptila* from Guaymas basin, Gulf of California. *Deep Sea Res Part 1 Ocean Res Pap* 52:1319–1323



- Sakai H, Saeki K, Ichihashi H, et al (2000) Species-specific distribution of heavy metals in tissues and organs of loggerhead turtle (*Caretta caretta*) and green turtle (*Chelonia mydas*) from Japanese coastal waters. *Mar Pollut Bull* 40:701–709
- SEMARNAT (2010) Protección ambiental - Especies nativas de México de flora y fauna silvestres - Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio - Lista de especies en riesgo
- Senko J, Nichols WJ, Ross JP, Willcox AS (2009) To eat or not to eat an endangered species: Views of local residents and physicians on the safety of sea turtle consumption in northwestern Mexico. *Ecohealth* 6:584–595. <https://doi.org/10.1007/s10393-010-0280-7>
- Sinaei M, Bolouki M (2017) Metals in Blood and Eggs of Green Sea Turtles (*Chelonia mydas*) from Nesting Colonies of the Northern Coast of the Sea of Oman. *Arch Environ Contam Toxicol* 73:552–561. <https://doi.org/10.1007/s00244-017-0421-x>
- Sinaei M, Zare R (2019) Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and some biomarkers in the green sea turtles (*Chelonia mydas*). *Mar Pollut Bull* 146:. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.06.024>
- Soto-Jimenez M, Paez-Osuna F, Ruiz-Fernandez AC (2003) Geochemical evidences of the anthropogenic alteration of trace metal composition of the sediments of Chiricahueto marsh (SE Gulf of California). *Env Pollut* 125:423–432
- Soto-Jimenez MF, Arellano-Fiore C, Rocha-Velarde R, et al (2011) Trophic transfer of lead through a model marine four-level food chain: *Tetraselmis suecica*, *Artemia franciscana*, *Litopenaeus vannamei*, and *Haemulon scudderi*. *Arch Env Contam Toxicol* 61:280–291. <https://doi.org/10.1007/s00244-010-9620-4>
- Soto-Jiménez MF, Páez-Osuna F, Scelfo G, et al (2008) Lead pollution in subtropical ecosystems on the SE Gulf of California Coast: A study of concentrations and isotopic composition. *Mar Environ Res* 66:451–458. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2008.07.009>



- Spotila, J. R. (2004). *Sea Turtles: A Complete Guide to Their Biology, Behavior, and Conservation.*, The Johns Hopkins University Press.
- Storelli MM, Barone G, Storelli A, Marcotrigiano GO (2008) Total and subcellular distribution of trace elements (Cd, Cu and Zn) in the liver and kidney of green turtles (*Chelonia mydas*) from the Mediterranean Sea. *Chemosphere* 70:908–913
- Storelli MM, Ceci E, Marcotrigiano GO (1998) Distribution of heavy metal residues in some tissues of *Caretta caretta* (Linnaeus) specimen beached along the Adriatic Sea (Italy). *Bull Env Contam Toxicol* 60:546–552
- Storelli MM, Marcotrigiano GO (2000) Total organic and inorganic arsenic from marine turtles (*Caretta caretta*) beached along the Italian coast (South Adriatic Sea). *Bull Environ Contam Toxicol* 65:732–739
- Storelli MM, Marcotrigiano GO (2003) Heavy metal residues in tissues of marine turtles. *Mar Pollut Bull* 46:397–400. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(02\)00230-8](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00230-8)
- Storelli MM, Storelli A, D'Addabbo R, et al (2005) Trace elements in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from the eastern Mediterranean Sea: overview and evaluation. *Env Pollut* 135:163–170. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.09.005>
- Tabor, G. M. y Aguirre A. A. (2004). "Ecosystem health and sentinel species: adding an ecological element to the Proverbial "Canary in the Mineshaft." *EcoHealth* 1: 226-228.
- Theissinger K., FitzSimmons N., Limpus C., Parmenter C. y Phillott A. (2009). Mating system, multiple paternity and effective population size in the endemic Flatback turtle (*Natator depressus*) in Australia. *Conserv Genet* 10: 329 – 346 p.
- Thorbjarnarson, J., Lagueux C. J., Bolze D., Klemens M. W. y Meylan A. B. (2000). *Human use turtles: A worldwide perspective.* M.W. klemen's Turtle Conservation. Smithsonian Institution Press Washington D.C. 334 pp. 1: 33-84.
- Trocini S (2013) Health assessment and hatching success of two Western Australian



- loggerhead turtle (*Caretta caretta*) populations. Murdoch University
- van de Merwe JP, Hodge M, Olszowy HA, et al (2010) Using blood samples to estimate persistent organic pollutants and metals in green sea turtles (*Chelonia mydas*). *Mar Pollut Bull* 60:579–588. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.11.006>
- van de Merwe JP, Hodge M, Olszowy HA, et al (2009a) Chemical contamination of green turtle (*Chelonia mydas*) eggs in Peninsular Malaysia: Implications for conservation and public health. *Environ Health Perspect* 117:1397–1401. <https://doi.org/10.1289/ehp.0900813>
- van de Merwe JP, Hodge M, Whittier JM, Lee SY (2009b) Analysing persistent organic pollutants in eggs, blood and tissue of the green sea turtle (*Chelonia mydas*) using gas chromatography with tandem mass spectrometry (GC-MS / MS). *Anal Bioanal Chem* 393:1719–1731
- Warwick, C., Arena, P.C. and Steedman, C. (2013). Health implications associated with exposure to farmed and wild sea turtles. *JRSM Short Rep.* 4:8. doi: 10.1177/2042533313475574
- Wilcox BA, Aguirre AAA (2004) One Ocean, One Health. *Ecohealth* 1:211–212. <https://doi.org/10.1007/s10393-004-0122-6>
- Xu P, Akhadov E, Wang L, Wang H-L (2011) Sequential chemical deposition of metal alloy jellyfish using polyaniline: redox chemistry at the metal-polymer interface. *Chem Comm* 47:10764–10766
- Zavala-Norzagaray A., Escobedo-Urías D., Díaz J., Sánchez-Bon G., Ramos Salazar M. y Vargas-Ramírez C. (2005). Monitoreo y Evaluación de los Recursos Naturales del Complejo Insular Macapule, San Ignacio, Vinorama y Pájaros, Guasave, Sinaloa. Informe Final. Centro Interdisciplinario de Investigación y Desarrollo Integral Regional Unidad Sinaloa- Instituto Politécnico Nacional. 47 p.
- Zavala-Norzagaray A, Briseño-Dueñas R, Ramos-Salazar M, Aguirre-Alvarez A (2007)



- First Record of Juvenile Olive Ridley Turtles (*Lepidochelys Olivacea*) in Northern Sinaloa, Gulf Of California, Mexico. In: 27th Annual Symposium on Sea Turtle Conservation and Biology. Myrtle Beach, S.C., U.S.A., pp 22–28
- Zavala-Norzagaray AA, Ley-Quiñónez CP, Espinosa-Carreón TL, et al (2014a) Trace elements in blood of sea turtles *lepidochelys olivacea* in the gulf of California, Mexico. Bull Environ Contam Toxicol 93:536–541. <https://doi.org/10.1007/s00128-014-1320-8>
- Zavala-Norzagaray AA, Ley-Quiñónez CP, Espinosa-Carreón TL, et al (2014b) Trace elements in blood of sea turtles *lepidochelys olivacea* in the gulf of California, Mexico. Bull Environ Contam Toxicol 93:536–541. <https://doi.org/10.1007/s00128-014-1320-8>
- Zavala-Norzagaray AA, Ley-Quiñónez CP, Hart CE, et al (2017) First Record of Loggerhead Sea Turtles (*Caretta caretta*) in the Southern Gulf of California, Sinaloa, Mexico . Chelonian Conserv Biol 16:106–109. <https://doi.org/10.2744/ccb-1238.1>
- Zavala-Norzagaray, Alan A. et al. “Isolation, Characterization, and Antibiotic Resistance of *Vibrio* Spp. in Sea Turtles from Northwestern Mexico.” *Frontiers in Microbiology* 6 (2015): 635. PMC. Web. 28 May 2018.



XIII. ANEXOS

SEMARNAT
SECRETARÍA DE
MEDIO AMBIENTE
Y RECURSOS NATURALES



SUBSECRETARÍA DE GESTIÓN PARA LA PROTECCIÓN
AMBIENTAL

DIRECCIÓN GENERAL DE VIDA SILVESTRE

Oficio N° SGPA/DGVS/ 08562 /17

Ciudad de México, a 04 de octubre de 2017

"2017, AÑO DEL CENTENARIO DE LA PROMULGACIÓN DE LA
CONSTITUCIÓN POLÍTICA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS"

M. EN C. DELIA KAREN ESPERANZA OCEGUERA CAMACHO

DIRECTORA EJECUTIVA DEL GRUPO TORTUGUERO DE LAS CALIFORNIAS, A.C.
CALLE SEIS No. 141
COLONIA AZALEAS
LA PAZ, BAJA CALIFORNIA SUR.
C.P. 23098 - MÉXICO
TEL. 01 (612) 146 3553. chuy@grupotortugero.org

En atención a la solicitud de licencia de colecta científica o con propósitos de enseñanza en materia de vida silvestre, recibida en esta Dirección General el 30 de agosto de 2017, a la cual se le asignó la bitácora 09/K5-1914/08/17 y considerando que ha dado cumplimiento a los requisitos establecidos para efectuar investigación y colecta científica de flora y fauna silvestres en territorio mexicano y con fundamento en el Artículo 32 Bis fracciones I, III, XXII, XXXIX de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; Artículo 19 fracción XXV y 32 fracción VI, XVIII, XXI, XXIV del Reglamento Interior de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, publicado en el Diario Oficial de la Federación el 26 de noviembre de 2012; 79, 80 fracción I, 82, 83 y 87 párrafo cuarto de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente; Artículos 9º, Fracción XII, 97 y 98 de la Ley General de Vida Silvestre; 12, 123 Fracción IV y 126 del Reglamento de la Ley General de Vida Silvestre; Artículo 85, Artículo 88, fracciones I y II, Artículo 105, fracciones II y III del Reglamento de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente en Materia de Áreas Naturales Protegidas (ANP's); las disposiciones relativas de la Norma Oficial Mexicana NOM-126-SEMARNAT-2000, por la que se establecen las especificaciones para la realización de actividades de colecta científica de material biológico de especies de flora y fauna silvestres y otros recursos biológicos en el territorio nacional; la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestres-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-lista de especies en riesgo, y al oficio No. F00/DGOR/1207/2017 de fecha 29 de septiembre de 2017, emitido por la Dirección Regional de Operación Regional de la CONANP la Dirección General de Vida Silvestre **autoriza** la licencia de colecta científica o con propósitos de enseñanza en materia de vida silvestre por proyecto sobre especies o poblaciones en riesgo o sobre hábitat crítico, para desarrollar las siguientes **actividades inherentes** al proyecto de investigación denominado **"Ecología de las tortugas amarilla (*Caretta caretta*), golfinia (*Lepidochelys olivacea*), carey (*Eretmochelys imbricata*), prieta (*Chelonia mydas agassizi*) y laúd (*Dermochelys coriacea*), en Áreas de Forrajeo de la Península de Baja California, Golfo de California y el Pacífico Norte de México"**:

- Colecta de cráneos y muestras de piel, caparazón, hígado, estómagos y huesos (humeros y cráneos), para análisis toxicológicos, metabólicos y genéticos de tortugas encontradas muertas en el área de estudio (hasta cien (100) ejemplares de "tortuga amarilla" **Caretta**



Essential and trace metals in a post-nesting olive ridley turtles (*Lepidochelys olivacea*) in Ceuta beach, Sinaloa, Mexico

Vicente Olimón-Andalón¹ · Jorge Valdés-Flores¹ · Cesar Paul Ley-Quinonez^{2,3} · Alan A. Zavala-Norzagaray^{2,3} · A. Alonso Aguirre⁴ · Nidia León-Sicairo⁵ · Jorge Velázquez-Román⁵ · Hector Flores-Villaseñor^{5,6} · Erika Acosta-Smith⁵ · Igmarr Sosa-Cornejo¹ · Marco Valdez-Flores⁵ · Catherine Edwina Hart³ · Adrian Canizalez-Román^{5,7}

Received: 10 July 2020 / Accepted: 1 February 2021
© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH, DE part of Springer Nature 2021

Abstract

Trace metals have been found in sea turtle blood and tissues and may represent a threat to these endangered species. Essential trace metal (Cu, Zn, Cd, Pb, As, and Hg) concentrations were determined in blood of adult female, post-nesting olive ridley turtles *Lepidochelys olivacea* ($n = 35$) on Ceuta beach, Sinaloa, Mexico. Essential metals (Zn and Cu) analyzed were found in higher concentrations than toxic metals (Cd and Pb), while As and Hg concentrations were below the limits of detection ($0.01 \mu\text{g g}^{-1}$). Low Pb concentrations ($0.09 \mu\text{g g}^{-1}$) were previously observed in sea turtles in the Gulf of California. There were no significant correlations found between curved carapace length ($61.00\text{--}71.00 \pm 2.29$) vs metal concentrations ($p > 0.05$). Cd levels were relatively high when compared to other species and populations of sea turtles worldwide and Cd may represent the greatest risk for sea turtles in the Mexican Pacific. Such concentrations of Cd may pose a further risk to sea turtles through bioaccumulation from the nesting female to offspring which may affect embryo development.

Keywords Cadmium, · Ecotoxicology, · Blood, · Sea turtle, · Bioaccumulation, · Toxicity

Responsible Editor: Philippe Garrigues

✉ Adrian Canizalez-Román
canizalez@uas.edu.mx

¹ Programa Doctorado en Ciencias Biológicas, Facultad de Biología, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa, Mexico

² Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR-SINALOA, Guasave, Sinaloa, Mexico

³ Investigación, Capacitación y Soluciones Ambientales y Sociales A.C. (ICSAS), 63160 Tepic, Mexico

⁴ Department of Environmental Science and Policy, George Mason University, Fairfax, VA, USA

⁵ CIASaP, School of Medicine, Autonomous University of Sinaloa, 80246 Culiacan, Sinaloa, Mexico

⁶ Secretariat of Health, The Sinaloa State Public Health Laboratory, 80020 Culiacan, Sinaloa, Mexico

⁷ Secretariat of Health, The Women's Hospital, 80127 Culiacan, Mexico

Introduction

Ocean pollution is a global problem (Wilcox and Aguirre 2004). One major group of environmental contaminants are metals and metalloids; both documented to be a threat to humans, domestic animals, wildlife, and ecosystems (Ross et al. 2017). Multiple studies have detected trace metals in marine sediments (Páez-Osuna et al. 2017), aquaculture products (Delgado-Alvarez et al. 2015a, 2015b), and fish (Soto-Jimenez et al. 2003, 2011; Quintero-Alvarez et al. 2012) in the Gulf of California.

The trace metals most commonly studied in ecotoxicology are Hg, Pb, As, and Cd, which are considered toxic and a threat to marine vertebrates (Godley et al. 1999a; Yokel et al. 2006; Eisler 2010; Jerez et al. 2010). Studies also focus on Zn and Cu which are essential for the development and functioning of physiological processes and are two of the most abundant elements in organisms (Ley-Quinonez et al. 2013; da Silva et al. 2014; Ley-Quinonez et al. 2017); however, at high concentrations, both have toxic effects (ATSDR 2004, 2005). Such pollutants are transferred along the food chain resulting in bioconcentration and bioaccumulation,



Leucism: the prevalent congenital malformation in the olive ridley sea turtle of northwestern Mexico

Ingmar Sosa-Cornejo^{1,2}, Rodolfo Martín-del-Campo³, Juan A. González-Flores⁴,
Zuleika B. González-Camacho², Blanca A. Cabrera-Cuellar⁵, Alessandra Bielli⁶,
Jorge E. Valdes-Flores¹, Vicente Olimón-Andalón^{7,*}

¹Doctorado en Ciencias Biológicas, Facultad de Biología, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa 80040, Mexico

²Programa de Tortugas Marinas de la Facultad de Biología, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa 80040, Mexico

³Department of Oral Health Sciences, Faculty of Dentistry, Life Sciences Institute, University of British Columbia, Vancouver, BC V6T 1Z3, Canada

⁴División de Ciencias Naturales y Exactas, Departamento de Biología, Universidad de Guanajuato, Guanajuato 36050, Mexico

⁵Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez del Estado de Durango, Gómez Palacio, Durango 35010, Mexico

⁶Pro Delphinus, Lima 15074, Peru

⁷Laboratorio de Inmunogenética, Facultad de Biología, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa 80040, Mexico

ABSTRACT: Despite being the most abundant sea turtle in the world, the olive ridley turtle *Lepidochelys olivacea* is classified as Vulnerable by the IUCN. There is evidence of congenital malformations in hatchlings, and the associated causes are multifactorial, with both genetic and environmental sources. Santuario Playa Ceuta (SPC) is a sanctuary for the olive ridley, located at the northernmost region of its nesting range in the Mexican Pacific. The objective of this study was to identify and quantify the prevalence and severity of congenital malformations in olive ridley embryos/hatchlings in SPC during the 2017 nesting season. We collected 62 907 eggs from 643 relocated nests that were moved to a hatchery, of which 4242 eggs with obvious development did not hatch and were analyzed for this study. Hatching success was 53.9%, with 22.5% of nests (n = 145) and 0.54% of eggs (n = 344) showing embryos or hatchlings with malformations. The nest severity index was 2.4 (range: 1–10) malformed embryos or hatchlings per nest, and the organism severity index was 1.4 (range: 1–7) malformations per malformed embryo or hatchling. Leucism was the most prevalent malformation (34.4%; 170/494 total observed), with the craniofacial region showing the greatest diversity of malformations (17/35 types). Given the geographical position of SPC, extreme environmental conditions (e.g. cold, heat, and dryness) could be one of the main causes of teratogenesis in this species. However, more studies are needed regarding the presence of contaminants, genetic factors, health assessments of nesting females, and malformation rates of nests that remain *in situ* versus those that are relocated.

KEY WORDS: Wildlife diseases · Hypopigmentation · Albinism · Teratogenic agents · Marine turtles

Resale or republication not permitted without written consent of the publisher

1. INTRODUCTION

The field of teratology explores abnormal development and congenital malformations, which are defined as structural defects that are present at birth

and involve the intrinsic alteration of the affected tissue (Smith 1975, Trigos et al. 2000). Research on teratogenesis has primarily been carried out in humans and model organisms (Guest et al. 1994, Ujházy et al. 2012, Kameoka et al. 2014). Wild, cap-

*Corresponding author: vicente.olimon.uas@gmail.com