



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

“DETECCIÓN DE CONTAMINANTES ORGANOCOLORADOS EN HUEVOS DE TORTUGA
GOLFINA (*Lepidochelys olivacea*) DEL GOLFO DE CALIFORNIA MÉXICO”.

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS
(QUÍMICA ACUÁTICA)

PRESENTA:
LILIANA GARCIA SOLORIO

TUTOR:
M en C. SANTIAGO CAPELLA VIZCAINO
UNIDAD MULTIDISCIPLINARIA DE DOCENCIA E INVESTIGACION DE LA FAC. DE
CIECIAS (SISAL, YUCATÁN)

COMITÉ TUTOR:
Dr. ALFONSO VÁZQUEZ BOTELLO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA
Dra. GABRIELA RODRÍGUEZ FUENTES
UNIDAD MULTIDISCIPLINARIA DE DOCENCIA E INVESTIGACION DE LA FAC. DE
CIECIAS (SISAL, YUCATÁN)
Dr. MIGUEL BETANCOURT LOZANO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA
Dr. GERARDO GOLD BOUCHOT
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

MÉXICO, D. F. FEBRERO 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología

Universidad Nacional Autónoma de México



**DETECCIÓN DE CONTAMINANTES ORGANOCOLORADOS EN
HUEVOS DE TORTUGA GOLFINA (*Lepidochelys olivacea*) DEL
GOLFO DE CALIFORNIA, MÉXICO.**

T E S I S

Que para obtener el grado académico de Maestro en Ciencias

(Química Acuática)

P r e s e n t a

LILIANA GARCÍA SOLORIO

Director de Tesis

M en C. Santiago Capella Vizcaíno

Comité Tutorial:

**Dr. Alfonso Vázquez Botello
Dra. Gabriela Rodríguez Fuentes
Dr. Miguel Betancourt Lozano
Dr. Gerardo Gold Bouchot**

México

2013

DEDICATORIA

A mis padres, hermanos, sobrinos y amigos.

Para mí son siempre la representación de una sonrisa plena.

Dedico el siguiente escrito, un pensamiento que rueda poco a poco:

Al despertar

Quiero vivir en un mundo donde no existan las pasiones muertas, donde el amor se desprenda plenamente, donde existe el todo y la nada, donde no existe el principio ni el fin.

Quiero vivir donde la paz reine en todos los lugares, donde la amistad no sea mito, donde todos seamos libres de actos y sentimientos propios, donde no haya juicio por algún pensamiento no acorde a los demás.

Quiero vivir donde no existen clases, donde los ricos y pobres pueden convivir en armonía, sin envidias, ni rencores, donde todos se respeten mutuamente cada cual, donde todos puedan perdonar y reír de los acontecimientos, donde todos sepan amar al prójimo como un espejo que define su propia alma como raza humana.

Quiero morir en un lugar tranquilo, donde sé que mis hijos producto del amor, crecerán y vivirán todo lo bello y hermoso que es la vida misma, donde muere la preocupación y nace la esperanza, donde toda aquella esperanza sea el bien común de nuestra raza, donde nace la razón y el pensamiento, y muere la ignorancia y la costumbre; basada en la pobre opinión de las masas ante nuestra evolución.

De todo esto, solo queda decir que la vida es un reloj de cuerda, se acaba cuando dan la primera vuelta. La vida en conclusión, se va sin entender tantas cosas que quizá el triunfo y fortuna no hayan lugar en nuestra misión de vida: la felicidad.

La vida está llena de oportunidades y de sueños hay que luchar y aprovechar...

“Hay que gozar de nuestra estrella y no dejar de mirarle. Al final se logra conocer poco a poco aquello que somos”.

Con cariño, Liliana G.S.

A las tortugas marinas

Diosas del Mar

Autor: Anónimo

El llamado cambio climático,
afecta tus nidos
El hombre con su sed de ganar dinero,
limita tus territorios,
Saquea tus nidos, y aniquila tu respirar para alimentar su ego
sus carros aplastan
cruelmente la esperanza de una nueva vida
Y las redes, atrapan tus sueños de libertad, de eternidad

Bella diosa del mar,
que por el mundo vas,
en búsqueda de paz y de tranquilidad,
Vas indagando, vas nostálgica
Vas anhelando las playas solitarias,
Vas añorando aquellos días
donde tus partos eran naturales

Ahora, tu única realidad
es el turista alcoholizado
que dispara su flash enceguedor directamente a tu cara,
Ahora, lo único que te espera,
es una playa, que en vez de arena,
esta arropada de latas de aluminio, plásticos, y vidrio.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el apoyo brindado para la realización de la presente tesis de maestría (CVU/Becario: 351532/240536).

A la constancia y eficiencia de la maestra Elsa Noreña Barrosa y Korinthia López Aguiar, quienes contribuyeron de manera conjunta con su atención e interés en mi tema de investigación. A los compañeros (as) de los laboratorios A y B de la Unidad de Química de la UMDI-Sisal UNAM; a los chicos de licenciatura, maestría y doctorado anexos a la unidad; a los compañeros de la Universidad Autónoma de Sinaloa, quienes ayudaron con la colecta de las muestras en campo.

Igualmente agradezco sinceramente a la Dra. Gabriela Rodríguez Fuentes, el Dr. Sergio Rodríguez Morales y la Dra. Maite Mascaró por su valioso apoyo y asesoría; al M en C. Santiago Capella Vizcaíno cuya dirección y observaciones críticas fueron aportaciones fundamentales en el trabajo de tesis; al M en C. Alan Zavala Norzagay e Ingmar Sosa Cornejo, por su asesoría y apoyo incondicional para efectuar la colecta científica de los huevos de tortuga golfina en Playa Ceuta, Sinaloa (Oficio. SGPA/DGVS/04990/10); al Dr. Fernando González Farías, por su aportación al inicio del proyecto.

Agradezco a las autoridades del Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología, por las facilidades concedidas para la presentación de este estudio para la obtención del título de Maestra en Ciencias. A mi jurado asignado, por su valioso consejo para la culminación del presente trabajo.

A mi padre y madre, los cuales son, los mejores humanos que haya conocido; por su buen corazón, por su fuerza de voluntad para hacer las cosas y por su pensar, puesto que al mirarlos reconozco sus enseñanzas, su nobleza, su honestidad y su sencillez. Por su buena voluntad y confianza les dedico muy atentamente mis logros.

A mis colegas de trabajo arduo Leobardo y Luis Rubén, por escucharme y amarme de tal forma que me han enseñado a ser amiga y hermana. A mis sobrinos (as) Valeria, Francisco, Yamileth, Paulina y Julieta.

Especialmente agradezco, a todas aquellas personas que me alentaron y escucharon en mi sueño. A mis amigos Diego y María del pueblo en Sisal, Yucatán, por brindarme su hogar y cariño; a Pamela y José Hoil mis compañeros de maestría por su valiosa amistad perenne; a mis amigos del Laboratorio de Costas y Puertos del Instituto de Ingeniería y a los del Laboratorio de Química Acuática del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología por su consejo de seguir y nunca desistir; a mis compañeros de la licenciatura por no olvidar recuerdos gratos; a mi tío Raúl por brindarme su tiempo y su morada cuando lo necesite; a mi abuelita Chela y Sandra Solorio a quien dedico parte de mis logros; a mis tíos y tías, primos y primas; a mis cuñadas Gabriela y Rocío; y a tanta gente linda que en algún momento me compartieron una lección de vida, cariño y amistad sincera (Alan García, Alan Arce, Claudia, Claudio, David Vences y Catí, Elvia Alejandre, José Rojas y Geovanny, por mencionar algunos).

Al Instituto Nacional de Pesca por brindarme la oportunidad de laborar oficialmente como apoyo en el departamento de camarón junto con gente muy valiosa y armoniosa, entre ellos, al Ing. Alejandro González Cruz; Lic. María Luisa Ayala Pérez y nuevamente a mi hermano Biol. Leobardo García Solorio, por brindarme la mano en momentos de crecimiento laboral, por su confianza y apoyo, gracias. A mis compañeros del Centro Regional de Investigación Pesquera en Tampico, Tamaulipas, México (Guillermo, María Luisa, Gladis, Doña Rosa, Chavita, Salomón y Don Pedro).

RESUMEN

Para evaluar el esfuerzo de conservación de tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*) en el campamento de Playa Ceuta, localizado al noroeste de la planicie costera de Sinaloa, se realizaron muestreos durante las épocas de lluvias y poslluvias (junio a diciembre de 2010). Se determinó el tamaño de la nidada y el éxito de eclosión en tres diferentes tipos de nidos: 9 *in situ*, 61 incubados en cajas de unicel y 382 protegidos en corral. Los datos de anidación fueron obtenidos con la ayuda de investigadores y estudiantes de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Se registraron variables de éxito reproductivo. El éxito de eclosión se determinó con la proporción de crías liberadas y vivas con relación al total de huevos depositados por nido. El éxito de eclosión medio de la muestra estudiada fue de 70 %. Se evaluó el efecto del tipo de manejo de los nidos empleados en el campamento como estrategia de conservación y la época en la que se realizó el muestreo por medio de un análisis de varianza. Los nidos *in situ* presentaron un mayor éxito en la eclosión que los nidos en corral y unicel. Por lo que las estrategias de manejo de los nidos con fines de protección y conservación deben evaluarse cuidadosamente pues podrían tener efectos contrarios a los que se pretenden. El éxito de eclosión al inicio de la temporada es bajo pero se incrementa y tiene los valores más altos en noviembre y diciembre (poslluvias), que alcanza porcentajes mayores de 90 % en los nidos de incubación *in situ*. Los porcentajes medios de eclosión no son distintos de los reportados para otras regiones de la zona costera mexicana del Pacífico, por lo que no existe un factor específico de la zona que afecte la reproducción de la tortuga golfina.

Se realizó un muestreo de huevos inviables en 8 nidos *in situ* para medir la concentración de plaguicidas organoclorados (OCs). La extracción de los OCs de las muestras liofilizadas, combinadas clara y yema, se hizo con hexano y agitación con ultrasonido, los lípidos se precipitaron del extracto con acetonitrilo y congelación a -24°C . El extracto sobrenadante se limpió en columnas de florisil con el método descrito por Jongki Hong *et. al.* (2004). El análisis fue mediante un cromatógrafo de gases acoplado a un detector selectivo de masas. Las condiciones se establecieron de acuerdo al método EPA 1699, 2007. Se detectaron 12 OCs en yema y clara: α -HCH y β -HCH (lindano), en 100% de las muestras, 4,4'-DDE, 31%; endrín, 19%; endrín cetona, 17%; α -endosulfán, 11%; 4,4'-DDD, 11%; endrín aldehído, 8%; δ -HCH, 6%; heptacloro, 6%; trans-clordano, 3% y metoxicloro, 3%. Los plaguicidas en mayor concentración fueron α -HCH y β -HCH (lindano) en concentraciones promedio de 1.5 y 1 $\mu\text{g g}^{-1}$ (en base húmeda) y se registró un valor máximo de 6 $\mu\text{g g}^{-1}$. También se detectaron en algunas muestras (frecuencia $\leq 17\%$) endrín y sus metabolitos, endosulfán y clordano en concentraciones promedio menores a 0.2 $\mu\text{g g}^{-1}$. No se detectó DDT y de sus análogos el que se encontró con mayor frecuencia (31%) fue el DDE con una concentración promedio de 0.03 $\mu\text{g g}^{-1}$ y un valor máximo de 0.2 $\mu\text{g g}^{-1}$. En general las concentraciones no son particularmente mucho más altas que los valores reportados en otros estudios. No parece que estos compuestos sean un factor que incida en forma determinante en el éxito de eclosión de la tortuga golfina que anida en la zona de estudio. A partir de un análisis de varianza de los resultados categorizados por el nido de origen y el grado de desarrollo embrionario se pudo concluir que los plaguicidas presentes se transfirieron por vía materna y no fueron adquiridos del medio en el lugar de anidación.

ÍNDICE

DEDICATORIA	3
AGRADECIMIENTOS	5
RESUMEN.....	6
ÍNDICE DE TABLAS	9
ÍNDICE DE FIGURAS.....	10
1.- INTRODUCCIÓN.....	11
2.- ANTECEDENTES	14
2.1. Tortugas marinas	14
2.2. Generalidades de la tortuga golfina	15
2.3. Huevo de tortuga marina	17
2.4. Alimentación	19
2.5. Ciclo de vida	20
2.6. Distribución global de la tortuga golfina	22
2.7. Éxito de eclosión de la tortuga golfina	23
2.7.1. Manejo de los nidos	23
2.8. Zonas de anidación de la tortuga golfina en México.....	24
2.9. Conservación de tortugas marinas en México	25
2.10. Organoclorados como compuestos orgánicos persistentes	25
2.10.1 Tipos de plaguicidas	26
2.10.2. Características fisicoquímicas de los plaguicidas.....	28
2.10.3. Degradación biótica y abiótica	29
2.11. Contaminantes organoclorados en reptiles y otros seres vivos.....	30
2.11.1. Reptiles	31
2.11.2. Aves	32
2.11.3. Otras especies	32
2.12. Uso de plaguicidas en Sinaloa, México	33
2.13. Análisis de los plaguicidas organoclorados en matrices biológicas.....	34
3.- JUSTIFICACIÓN	36
4.- OBJETIVOS	36
4.1. General	36
4.2. Particulares.....	36
5.- HIPÓTESIS	37
6.- ÁREA DE ESTUDIO	37
7.- METODOLOGÍA.....	40
7.1. Materiales, reactivos y equipo	40
7.2. Colecta de muestras	42
7.3. Estudio del éxito de eclosión en nidos.....	42
7.4. Análisis químico de plaguicidas presentes en muestras de huevos.....	44
7.5. Preparación y Conservación de la muestra	44
7.6. Procedimiento de análisis químico	45
7.7. Extracción de la fracción lipídica del huevo	45
7.8. Precipitación de los lípidos	46
7.9. Limpieza en cartuchos florisil.....	47
7.10. Condiciones instrumentales para el análisis de plaguicidas organoclorados.....	48
7.11. Evaluación de la respuesta instrumental	49
7.12. Evaluación y calibración del procedimiento de análisis de plaguicidas en huevo	50
7.13. Preparación de las muestras de plaguicidas en huevo de gallina	50
8.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	51
8.1. Éxito de eclosión.....	51

8.1.1. Exploración inicial de datos	51
8.1.2. Análisis de varianza del efecto de los factores temporada de anidación y tipo de manejo del nido sobre el éxito de eclosión	55
8.2. Malformaciones en las crías	59
8.3. Plaguicidas organoclorados	60
8.3.1. Evaluación de la respuesta instrumental	60
8.3.2. Evaluación del procedimiento de análisis	64
8.4. Análisis de las muestras	67
8.4.1. Contenido de agua en las muestras recolectadas	67
8.4.2. Concentración de plaguicidas organoclorados	70
9.- CONCLUSIONES	73
10.- BIBLIOGRAFÍA	74
11.- ANEXOS	81
I. Permiso de colecta	81
II. Formato de colecta	82
III. Datos de eclosión	83
IV. Resultados del análisis de plaguicidas en las muestras de huevos no eclosionados de tortuga	94

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía de la tortuga golfina <i>Lepidochelys olivacea</i>	15
Tabla 2. Características Biológicas de la tortuga golfina <i>Lepidochelys olivacea</i>	15
Tabla 3. Características Morfológicas de la tortuga golfina <i>Lepidochelys olivacea</i>	16
Tabla 4. Grupos alimenticios en la dieta de la tortuga golfina <i>Lepidochelys olivacea</i>	20
Tabla 5. Solubilidad del agua y presión de vapor de los principales componentes organoclorados.....	28
Tabla 6. Métodos utilizados para la determinación de POPs en huevos de tortugas marinas.....	35
Tabla 7. Posición geográfica de los nidos colectados azarosamente en Playa Ceuta, Sinaloa.....	39
Tabla 8. Material de campo utilizado durante la colecta de las muestras.....	40
Tabla 9. Materiales instrumentales utilizados en el laboratorio para el procesamiento y preparación de las muestras biológicas.....	40
Tabla 10. Equipo utilizado en el laboratorio para el procesamiento y conservación de las muestras biológicas.....	41
Tabla 11. Reactivos utilizados para el análisis de las muestras biológicas en el laboratorio.....	42
Tabla 12. Condiciones cromatográficas empleadas en el CG-EM.....	48
Tabla 13. Condiciones de análisis por Espectrometría de Masas.....	48
Tabla 14. Preparación de la serie de soluciones de los estándares de plaguicidas.....	49
Tabla 15. Variables de éxito reproductivo <i>Lepidochelys olivacea</i> , durante la temporada de anidación 2010. Datos desgregados por mes.....	51
Tabla 16. Variables de éxito reproductivo <i>Lepidochelys olivacea</i> , durante la temporada de anidación 2010. Datos desgregados por el tipo de manejo de nidos.....	52
Tabla 17. Variables de éxito reproductivo <i>Lepidochelys olivacea</i> , durante la temporada de anidación 2010. Datos desgregados por el tipo de manejo de nidos y el mes de registro.....	53
Tabla 18. Variables de éxito reproductivo <i>Lepidochelys olivacea</i> , durante la temporada de anidación 2010. Datos desgregados por el tipo de manejo de nidos y temporada de lluvias de registro.....	54
Tabla 19. Resultados del ANOVA univariado.....	57
Tabla 20. Valores medios de los datos de éxito de eclosión expresados en porcentaje de eclosión respecto al número de huevos en la categoría.....	58
Tabla 21. Tiempos de retención de los plaguicidas organoclorados analizados.....	61
Tabla 22. Parámetros de calidad de la respuesta instrumental de los POCs estudiados.....	63
Tabla 23. Coeficientes de variación (%) de las áreas cromatográficas de los picos de los compuestos añadidos a las muestras como estándar interno.....	65
Tabla 24. Parámetros de calidad del procedimiento de análisis de los POCs estudiados.....	66
Tabla 25. Grado de desarrollo y humedad de las muestras recolectadas para el análisis de plaguicidas organoclorados.....	67
Tabla 26. Resultados del ANOVA univariado sobre el contenido de agua de las muestras de los nidos N1 a N5.....	69
Tabla 27. Resultados del ANOVA univariado sobre el contenido de agua de las muestras de los nidos N2 a N5.....	69
Tabla 28. Estadística descriptiva de los plaguicidas detectados, considerando el total de muestras (n=36).....	71
Tabla 29. Resultados de diversos estudios de plaguicidas organoclorados en las muestras de huevo de tortugas marinas.....	71
Tabla 30. Resultados del ANOVA univariado sobre la concentración total de plaguicidas organoclorados en las muestras de los nidos N1 a N5.....	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Características morfológicas de la tortuga golfina <i>Lepidochelys olivacea</i>	16
Figura 2. Adulto, <i>Lepidochelys olivacea</i>	17
Figura 3. Huevo de tortuga marina.....	17
Figura 4. Biología interna del huevo de tortuga.....	18
Figura 5. Ciclo reproductivo de la tortuga golfina <i>Lepidochelys olivacea</i>	21
Figura 6. Distribución global de la tortuga golfina <i>Lepidochelys olivacea</i>	22
Figura 7. Distribución conocida para <i>Lepidochelys olivacea</i>	24
Figura 8. Estructura molecular del DDT y compuestos análogos.....	26
Figura 9. Estructura molecular de los Cicloalcanos clorados.....	26
Figura 10. Estructura molecular de los Ciclodienos.....	27
Figura 11. Estructura molecular de los Policloroterpenos.....	27
Figura 12. Mecanismos de degradación y transporte de los plaguicidas en la zona costera.....	30
Figura 13. Pasos en la extracción en fase sólida (SPE).....	34
Figura 14. Área de colecta de las muestras biológicas (huevos no viables de <i>Lepidochelys olivacea</i>).....	38
Figura 15. Posición geográfica de las principales presas y/o distritos de riego cercanos al campamento tortuguero.....	39
Figura 16. Corral de incubación.....	43
Figura 17. Caja unisel.....	43
Figura 18. Nido <i>in situ</i>	43
Figura 19. Preparación y conservación de la muestra.....	45
Figura 20. Proceso de extracción: Fracción lipídica del huevo.....	46
Figura 21. Extracción en Fase Sólida.....	47
Figura 22. Variación mensual del promedio de huevos registrados por nido (NH/NN), promedio de huevos eclosionados por nido (NE/NN) y porcentaje de éxito de eclosión (EE).....	52
Figura 23. Variación por tipo de manejo del promedio de huevos registrados por nido (NHT/NNT), promedio de huevos eclosionados por nido (NET/NNT) y porcentaje de éxito de eclosión (EET).....	53
Figura 24. Variación por tipo de manejo y temporada de registro del promedio de huevos registrados por nido (NHT/NNTL), promedio de huevos eclosionados por nido (NETL/NNTL) y porcentaje de éxito de eclosión (EETL).....	55
Figura 25. Gráficos de probabilidad normal de los datos transformados con la relación $P' = \arcsen \sqrt{P}$	56
Figura 26. Gráficos de distribución de los residuales.....	56
Figura 27. Relación de la varianza y la media de los datos de cada grupo transformados con la relación $P' = \arcsen \sqrt{P}$	57
Figura 28. Gráficos del efecto de los factores sobre el éxito de eclosión.....	58
Figura 29. Malformaciones en cría de tortuga golfina <i>Lepidochelys olivacea</i>	59
Figura 30. Cromatograma de la mezcla de estándares de plaguicidas organoclorados en concentración de 5 mg mL ⁻¹	59
Figura 31. Relación área vs masa inyectada de los estándares de plaguicidas organoclorados.....	62
Figura 32. Cromatograma de una muestra de calibración (inferior) preparada por precipitación criogénica y fraccionamiento por extracción en fase sólida.....	64
Figura 33. Verificación de los supuestos de normalidad de la distribución y homocedasticidad para el ANOVA de la humedad de las muestras en los nidos N1 a N5.....	68
Figura 34. Comparación del efecto del nido y entre fases de desarrollo del contenido de agua en las muestras de los nidos N1 a N5.....	69
Figura 35. Interacción de los efectos del nido y entre fases del desarrollo en el contenido de agua en las muestras de los nidos N2 a N5.....	70
Figura 36. Comparación del efecto del nido y entre fases de desarrollo de la concentración total de plaguicidas detectados en las muestras de los nidos N1 a N5.....	72

1. INTRODUCCIÓN

Es conocido que los reptiles están disminuyendo a un ritmo alto y la contaminación ambiental se ha identificado como una de las principales amenazas a las poblaciones de reptiles a nivel mundial (Phillip & Smith, 2007). La sociedad actual resulta del enorme desarrollo de la práctica industrial y agrícola, lo que supone un aumento en el uso de una gran variedad de productos químicos. Estos compuestos, y los generados durante el proceso de degradación tanto biótica como abiótica suelen acabar en el mar, lo que afecta a las diferentes clases de animales que viven en el medio acuático (Hermida, 2009).

En México la aplicación intensiva de plaguicidas comenzó en la década de 1940- 1950, donde estos compuestos fueron utilizados en gran medida para incrementar la calidad en la producción de frutos y productos hortícolas para la exportación, tales como, maíz, frijol, arroz, trigo, chile, sorgo, algodón, caña de azúcar, etc (González-Farias, 2003). La parte central de Sinaloa puede considerarse como una zona importante para la dispersión de contaminantes organoclorados (OCs) en el ambiente, debido a que se encuentra entre los estados de mayor actividad agrícola en la República Mexicana (Phillip & Smith, 2007).

En 1970 la mayoría de los OCs fueron prohibidos en casi la totalidad de los países desarrollados a causa de los efectos adversos observados en organismos de vida libre y la potencial amenaza que representan para la salud humana (Manzano P.M., 2007). Sin embargo, aún pueden detectarse en diferentes muestras ambientales y en los tejidos animales debido a su persistencia, su bioacumulación, su presencia global en los diferentes ecosistemas y su continua utilización en algunos países en vía de desarrollo (Iwata *et al.*, 1994).

Los estudios realizados en cadenas tróficas marinas demuestran que los insecticidas y sus metabolitos estables pueden experimentar bioacumulación y biomagnificación (Manzano y Philip & Smith, 2007). En consecuencia, los contaminantes OCs se pueden encontrar a concentraciones relativamente altas en diferentes tejidos de las especies animales, adquiridos mediante la exposición por ingestión, contacto dérmico, inhalación y a través de la transferencia materna por medio de los sistemas de nutrición del organismo, como por ejemplo el cordón umbilical, la leche materna o el vitelo (Phillip & Smith, 2007).

Poco se sabe acerca de la capacidad que tienen las tortugas marinas para degradar y excretar los OCs (Addison, 1982). Debido a las grandes concentraciones de dichos compuestos en huevos de *Chelydra serpentina* los huevos del reptil han sido recomendados como monitores de contaminantes organoclorados en las zonas húmedas (Addison R., 1982; McKenzie *et al.*, 1999). Estudios realizados en tortuga blanca, tortuga carey, tortuga caguama y tortuga golfina (*Chelonia mydas*, *Eretmochelys imbricata*, *Caretta caretta* y *Lepidochelys olivacea*, respectivamente) evalúan la concentración de estos contaminantes organoclorados (OCs) en tejidos con mayor contenido lipídico tal como, huevo, cerebro, hígado, músculo y riñón (González-Farias, 2003). En huevo de *Chelonia mydas*, reportan concentraciones de los siguientes: Σ de Contaminantes Organoclorados Persistentes (OCPs) (394.9 ± 43.1 pg/g peso húmedo); Σ de Clordanos (57.5 ± 9.4 pg/g peso húmedo); Σ de Hexaclorociclo Hexanos (HCHs) (68.8 ± 8.7 pg/g peso húmedo); Σ de Diclorodifenil Tricloroetano (DDTs) (83.5 ± 18.3 pg/g peso húmedo); Bifenilos Policlorados (PCBs) (470.5 ± 83.3 pg/g peso húmedo); Σ de PBDEs (21.4 ± 6.6 pg/g peso húmedo); Σ de Contaminantes Orgánicos Persistentes (POPs) (1096.6 ± 432.8 pg/g peso húmedo). De la misma forma Alava 2006 reporta en su estudio concentraciones de contaminantes ambientales tales como: Σ PCBs, Σ DDTs, Σ clordanos y Dieldrin en yema de huevo de tortuga marina *Caretta caretta* del Suroeste de Florida, los cuales fueron respectivamente: 65.0 ng/g de lípidos (7.11 a 3930 ng/g), 67.1 (7.88 a 1340 ng/g), 37.0 (4.04 a 685 ng/g) y 11.1 (1.69 a 44.0 ng/g).

Lepidochelys olivacea es una tortuga marina que puede llegar a concentrar significativamente dichos agroquímicos debido a su larga vida y a su tránsito por diversas fuentes potenciales de contaminantes a lo largo de sus migraciones. Dicha especie se encuentra catalogada en peligro de extinción, por ello es importante medir las concentraciones de OCs en sus tejidos para entender como los contaminantes ambientales pueden impactar en sus habilidades reproductivas y de supervivencia.

En México, durante las décadas de 1950 a 1980, la captura y sacrificio de millones de tortugas y el comercio de sus productos de forma ilegal fue el principal factor que influyó en la disminución de las poblaciones tortugueras. A partir de entonces el Instituto Nacional de Investigaciones Biológicas Pesqueras de la Dirección General de Pesca dio inicio al Programa de Conservación de las cinco especies de tortugas marinas en el Pacífico Mexicano (*Dermochelys coriacea*, *Caretta caretta*, *Chelonia mydas*, *Eretmochelys imbricata* y *Lepidochelys olivacea*), teniendo como objetivo primario la protección sistemática de nidos, crías y adultos, además del marcaje de adultos (Gonzalez-Farias, 2003) En la actualidad, México lleva a cabo proyectos para la protección y conservación de las tortugas marinas en campos tortugueros de las zonas costeras del país. De esta forma, la determinación del tamaño de la nidada y el éxito de eclosión provee información fundamental para la conservación y manejo de las tortugas marinas (Hermida, 2009).

La tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*), es considerada la más abundante de las tortugas marinas en el ámbito mundial (Limpus C 1995) Esta afirmación se sustenta en gran parte, por su distribución pantropical y al hecho que anida en concentraciones mayores que cualquier otra especie de tortuga marina. Las densidades de anidación más grandes pueden observarse en el Pacífico Oriental (de Baja California Sur y Sinaloa, México a Colombia), Atlántico del Sur (Guyana a Brasil y África Occidental), norte del Océano Índico (particularmente en Orissa, India) y Pacífico occidental (Malasia y Tailandia) (Eckert, K *et al.*, 2000).

Los esfuerzos de conservación a largo plazo en México orientados a la población de tortuga golfina, se encuentran en los estados de Baja California Norte, Baja California Sur, Sonora, Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Chiapas. En total, México cuenta con aproximadamente 161,502 anidaciones de tortugas por año de las cuales (3) pertenecen a B.C. Norte y (71) para B.C. Sur; Sinaloa (612); Nayarit (100); Jalisco (830); Michoacán (500); Guerrero (1415); Oaxaca (157,500); Chiapas (430) (Márquez, R., 1990).

Algunos registros históricos del éxito reproductivo de la tortuga golfina en los principales campamentos del Pacífico Mexicano, se señalan a continuación: Sinaloa (Playa Ceuta 88.32%, Septiembre 2010 (Enciso-Saracho *et al.*, 2010) y Jalisco (Boca Negra) (Cupul-Magaña *et al.*, 2005) y Puerto Vallarta (Díaz & Aranda, 2001-2002) con 77.80% y 72.4%, Mayo 2001 a Diciembre 2004 y de 1987 al 2000 respectivamente) por mencionar algunos. Asimismo, se reportan otros sitios de anidación masiva en otros países, tales como: India (Orissa) con 600,000 tortugas anualmente (registro de 1991) (Díaz & Aranda, 2001-2002); Costa Rica (playa Nancite y Ostional), con 25,000 a 50,000 tortugas en los meses de Agosto y Octubre; y 450,000 a 600,000 tortugas por año respectivamente (Cornelius S.E., 1982). El éxito de eclosión promedio anual en estas playas es de 3.0 al 22% (NOAA, 1998); Panamá (Isla de Cañas), con 20,000 tortugas en los meses de Agosto y Diciembre (Yolani A. *et al.*, 2002) El éxito promedio anual en esta playa es del 51 al 70% (Yolani A. *et al.*, 2002); Nicaragua (playa Acayo-Mogote, Chacocente y la playa La Flor), con 4671 tortugas en el mes de Octubre hasta Marzo. El éxito promedio histórico anual en esta playa desde el 2002 al 2009, es del 60% (Torres G.P., 2009)

Las estrategias de manejo que se emplean actualmente en los campamentos tortugeros con la finalidad de proteger las nidadas de tortugas marinas incluyen las siguientes técnicas: ***in situ***, se incuban las nidadas con condiciones naturales hasta concluir su periodo de incubación, por lo cual cada nido es marcado para su monitoreo durante la emergencia de las crías; ***corral***, las nidadas en peligro de perderse, ya sea por depredación o causas naturales como la pérdida de playa por erosión o eventos climatológicos, se recolectan y se siembran para su incubación en un espacio protegido y ***cajas de unisel***, las nidadas se recolectan y depositan en forma piramidal en las cajas perforadas sobre una cama de arena húmeda y se cubren con la misma arena, este tipo de preparación permite tener un intercambio gaseoso adecuado, sin pérdida de humedad durante el período de incubación (CONANP, 2010).

El presente trabajo presenta los resultados del estudio de dos aspectos del desove de *Lepidochelys olivacea* en la costa del Estado de Sinaloa. Por una parte, el éxito de eclosión bajo tres formas diferentes de manejo de los nidos (tratamientos) y por la otra, el análisis de plaguicidas OCs en huevos que no fueron viables. Son en principio dos estudios independientes, pero que eventualmente pudieran mostrar indicios de una posible influencia de los OCs en el éxito de eclosión. Los datos de éxito de eclosión se registraron en dos épocas del año: lluvias (junio-octubre) y poslluvias (noviembre-diciembre), en donde, los nidos se manejaron *insitu*, en cajas de unisel y en corral. En cada caso se determinó el éxito de eclosión medio para cada época y para cada uno de los tratamientos empleados en el campamento Ceuta, Sinaloa, midiendo la proporción de crías liberadas vivas con relación al total de huevos depositados por nido. Para el análisis de los plaguicidas OCs se utilizaron la yema y la clara, la fracción lipídica, que es donde preferentemente se concentran los plaguicidas, se obtuvo por extracción asistida por ultrasonido con hexano como disolvente extractante. Una fracción importante de los lípidos se precipito por congelación con el fin de obtener un extracto de los plaguicidas más limpio. Se realizó también una extracción en fase sólida para una limpieza más fina. El análisis del extracto se hizo por cromatografía de gases con detección por espectrometría de masas en modo de monitoreo selectivo de iones.

2. ANTECEDENTES

2.1. TORTUGAS MARINAS

Las tortugas marinas surgieron hace más de 200 millones de años, a finales del Triásico, lo que las convierte en uno de los grupos de seres vivos más primitivos que existen en la actualidad. Pertenecen al grupo de los reptiles, primeros vertebrados que adquirieron una total independencia del agua. Colonizaron el medio marino junto a otra gran variedad de reptiles tal como el *Ictiosaurus* y el *Plesiosaurus*. Actualmente, el orden Testudinata, familia *Chelonidae*, al que pertenecen estos animales, es sin duda uno de los grupos animales más adaptados a su medio, hasta el hecho de conservar casi sin modificaciones la singular y característica arquitectura corporal que los define desde hace 200 millones de años (Manzano P.M., 2007)

Hay ocho especies de tortugas marinas en el mundo representadas en dos familias y seis géneros: a) Familia Dermochelyidae: *Dermochelys coriacea*; b) Familia Cheloniidae: *Chelonia mydas*, *Chelonia agassizi*, *Caretta caretta*, *Natator depressus*, *Eretmochelys imbricata*, *Lepidochelys kempi*, *Lepidochelys olivacea*. De estas especies, solamente la tortuga kikila, *Natator depressus*, está ausente en aguas mexicanas. Es endémica de la plataforma continental de Australia y su área de anidación se restringe a la porción norte del continente Australiano.

De las siete especies de tortugas marinas reconocidas en aguas mexicanas, cinco de ellas se pueden encontrar en las costas del Noroeste de México: tortuga laúd (*Dermochelys coriacea*), tortuga golfin (*Lepidochelys olivacea*), tortuga caguama o amarilla (*Caretta caretta*), tortuga carey (*Eretmochelys imbricata*) y la tortuga negra o prieta (*Chelonia mydas agassizi*) (Kenneth, 1993). Todas estas especies se encuentran en peligro crítico de extinción, de acuerdo con la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (Jeffrey A. *et al.*, 2012) y la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES, 2008). Conforme a la Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001, la tortuga golfin se encuentra catalogada como especie en peligro de extinción y se encuentra en veda indefinida en México desde 1990.

Entre las amenazas naturales y antropogénicas que enfrentan dichas poblaciones de reptiles destacan: la depredación por animales silvestres y domésticos como cangrejos, aves, mapaches, coyotes, peces, perros, cerdos, entre otros; la captura para consumo humano de carne y huevos y la comercialización de su caparazón; la extracción ilegal de huevos en playas de anidación; la pesca por captura incidental ocasionada por pesca de palangre y agallera; el desarrollo urbano costero que afecta el acceso a las hembras a la playa de anidación; y la contaminación marina por químicos, desechos sólidos y líquidos, tanto urbanos como industriales. Además, son amenazadas por factores ambientales como los huracanes o la erosión de playas, entre otros, que influyen negativamente en la eclosión de los huevos.

En México, existen numerosas entidades gubernamentales y no gubernamentales (ONG), que trabajan en la protección y preservación de las tortugas marinas y su hábitat. Entre las entidades gubernamentales se encuentran: La Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) a través de la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP); el Instituto Nacional de Ecología (INE), la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA); la Dirección General Vida Silvestre (DGVS); y el sector ambiental de gobiernos estatales y municipales. Algunas entidades no gubernamentales son: Kutzari, Asociación para el Estudio y Conservación de las Tortugas Marinas, A.C.; Pronatura A.C.; Selva Negra A.C.; Red de Humedales de la Costa de Oaxaca; Grupo Tortuguero de las Californias A.C.; ASUPMATOMA A.C., entre otras.

2.2. GENERALIDADES DE LA TORTUGA GOLFINA

Lepidochelys olivacea, es considerada la especie de tortuga marina más abundante y pequeña en el mundo, siendo el Noroeste de México una importante área de alimentación y anidación. En 1829, Eschscholtz la describió bajo el nombre de *Chelonia olivacea*. Posteriormente fue ubicada en el género *Lepidochelys* por Fitzinger en 1843. Comúnmente es conocida como tortuga golfina, pinta, garapacho, frijolilla y caguama (Dueñas, R. 1996). Deposita en promedio 105-120 huevos en nidos excavados en el sedimento de las playas con una profundidad de 30 a 45 cm. Los huevos, una vez depositados, requieren de aproximadamente 60 días de incubación para su eclosión. Crecen lentamente en el medio natural, pasando entre ocho y cincuenta años hasta que alcanzan la maduración sexual y, a partir de ahí, desovan dos veces por año (García R., 2007).

La temporada de anidación para la especie es de julio a diciembre. En México, el índice de supervivencia de huevos promedio es por lo general más del 30% (Márquez R., 1990). El éxito de eclosión promedio en condiciones naturales en Playa Ceuta, Sinaloa fue del 80 % (datos reportados para el mes de Junio a Enero, 2007-2008), donde el mes de Septiembre tuvo un mayor éxito en la eclosión (Enciso-Saracho *et.al.*, 2010).

En las **Tablas 1, 2 y 3** se muestran los datos taxonómicos y las características biológicas y morfológicas de *Lepidochelys olivacea*.

Tabla 1. Taxonomía de la tortuga golfina *Lepidochelys olivacea*.
Clasificación según Márquez, 1990.

TAXONOMÍA			
Reino	Animalia	Orden	Testudines
Subreino	Metazoa	Suborden	Cryptodira
Phylum	Chordata	Superfamilia	Chelonia
Subphylum	Vertebrata	Familia	Cheloniidae
Superclase	Tetrapoda	Género	<i>Lepidochelys</i>
Clase	Reptilia	Especie	<i>Olivacea</i>
Subclase	Anapsida		

Tabla 2. Características Biológicas de la tortuga golfina *Lepidochelys olivacea*.
Según Márquez, 1990; CONANP, 2010 y Mora, 1995.

CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS	
Peso	30 a 50 kg
Largo curvo del carapacho (LLC)	55 a 75 cm
Largo curvo del carapacho de la cría	5 cm
Ancho curvo del carapacho	90% de (LLC)
Ancho de cabeza	13 cm
Diámetro del huevo	3.2 a 4.7 cm
Peso del huevo	30 a 37 gr
Color del adulto	verde olivo
Color de la cría	gris oscuro

Tabla 3. Características Morfológicas de la tortuga golfina *Lepidochelys olivacea* Según Márquez, 1990.

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS	
Cabeza	De 13 cm de ancho; relativamente estrecha y pequeña, con dos pares de escudos prefrontales (E.pr). La mandíbula inferior, encaja en una hendidura alveolar de la mandíbula superior. Tiene un poco no aserrado con reborde alveolar.
Carapacho	Elevado y aplanado en la porción dorsal, con escudos marginales convexos dirigidos ligeramente hacia arriba, sin fontanelas laterales ¹ . Tiene cinco escudos dorsales y frecuentemente más de cinco pares de escudos laterales (E.lat), el par lateral anterior está en contacto con el escudo precentral (E.pc)..
Plastrón	Tiene cuatro escudos inframarginales (E.inf) y cada uno presenta un poro.
Aletas	En el anterior de cada aleta hay una o dos uñas.

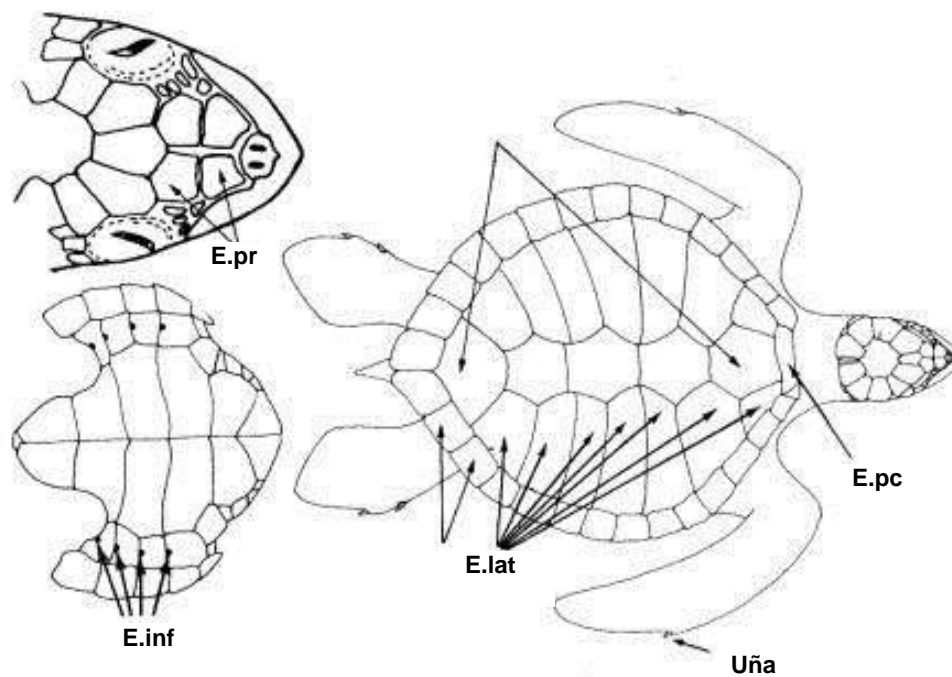


Figura 1. Características morfológicas de la tortuga golfina *Lepidochelys olivacea*. Imagen tomada de www.fao.org

Lepidochelys olivacea, Eschscholtz 1829.

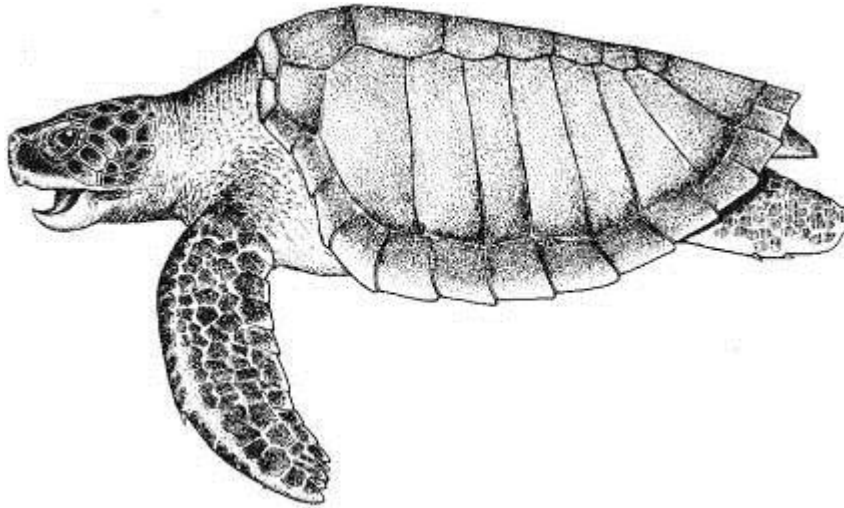


Figura 2. Adulto, *Lepidochelys olivacea*.
Imagen tomada de www.fao.org

2.3. HUEVO DE TORTUGA MARINA

Biología



Figura 3. Huevo de tortuga marina.

Las tortugas marinas ovopositan dos clases de huevos: normales (**Figura 3**) y de forma irregular. Los huevos normales son esféricos, blancos y constan de un cáscaron flexible (aprox. 3% del total de su peso), una cápsula de albúmina (aprox. 48.5% el peso total) y una yema (aprox. 48.5% del peso total) (Miller J., 1997). La media del diámetro de huevo normal varía entre especies. En la tortuga golfina se reporta un diámetro que va de 3,2 a 4,7 cm (Marquez R., 1990). Los huevos de forma irregular pueden ser muy grandes, con múltiples yemas (doble en forma de cadena) o muy pequeños cuando se comparan a otros huevos de la nidada.

Los huevos con diámetro extragrande son usualmente $\frac{1}{4}$ (o más) mayores en diámetro que los huevos normales de esa especie. Constan de doble yema rodeadas por una sola cobertura de albúmina y el cascarón; éstos rara vez producen cría (Eckert K. *et al.*, 2000). Como regla general, los huevos están constituidos de un cascarón, debajo del cual está el corion, el alantoides y, por último, la membrana amniótica. El corion se fusiona con el alantoides, que almacena los productos del embrión de desecho como ácido úrico. La fusión de las membranas corioalantoideas se desarrolla en vasos sanguíneos, lo que facilita el intercambio de gases (dióxido de carbono y oxígeno), agua y adsorción de minerales con el medio ambiente externo. Esta membrana corioalantoidea se convierte en la placenta en los reptiles vivíparos. El amnios encierra al embrión en el líquido y lo separa y la membrana corioalantoidea. El saco vitelino está conectado al embrión a través de la yema. La yema es considerada un medio rico porque en ella se concentra la mayoría de nutrientes necesarios para el desarrollo del embrión. A medida que el embrión se desarrolla, una porción

de la yema se fusiona con el intestino embrionario. De esta manera, el embrión se apoya en la superficie dorsal de la yema, que es su fuente de alimento. Posteriormente, un espacio de aire se desarrolla en la cara dorsal de la cáscara externa del huevo (Raiti S., 2004).

En la **Figura 4**, se observa la anatomía interna de un huevo de reptil.

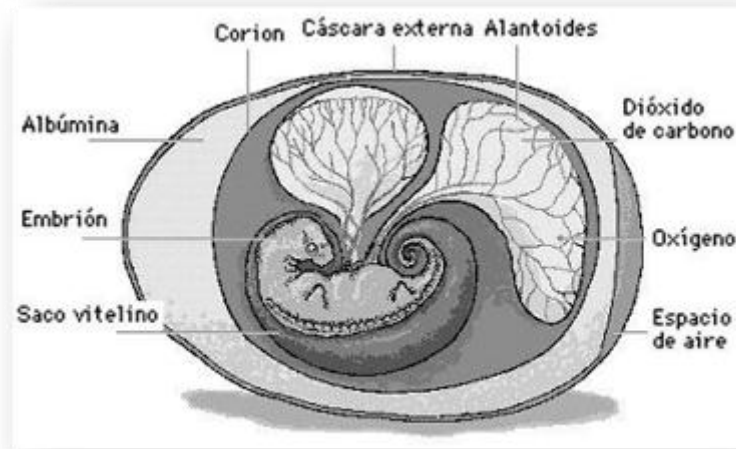


Figura 4. Biología Interna del huevo de tortuga.

Imagen tomada de www.galeon.com

Composición

Diversos factores fisiológicos permiten comparar los huevos de reptiles con los de las aves, por lo que se han realizado comparaciones con éste en estudios sobre huevos de tortuga (Acuña, R. 1980). En el huevo de tortuga lora el *casarón* representa un 4% de su peso, la *clara* un 38% y la *yema* un 58%. Con respecto a estos valores se puede afirmar que la yema representa más de la mitad de la masa del huevo de tortuga, mientras que en el huevo de gallina la clara es el componente mayoritario (57%) (Mora, R. 1995). De acuerdo con Mora (1995), el huevo de tortuga tiene una mayor *humedad*, en todos sus componentes, que el huevo de gallina. En las tortugas *Chelydra serpentina* y *Emydura macquarii*, se ha encontrado que el porcentaje de agua contenida en huevo es de 82,4 %respectivamente (Thompson M. *et al.*, 2004). Por lo general, los huevos de especies ovíparas contienen mayor cantidad de agua que los embriones de especies vivíparas, probablemente a que los embriones vivíparos tienen acceso al agua por vía placenta y los embriones ovíparos dependen del agua que es tomada del medio externo (humedad relativa del aire), para su adecuado desarrollo durante la incubación (Yolani A. *et al.*, 2002). En el caso de la tortuga golfina los huevos al ser depositados en la arena húmeda del nido, absorben agua, con lo cual se ponen turgentes y aumentan ligeramente de peso. Conforme la *incubación* avanza existe un consumo de nutrientes y producción de calor metabólico, por lo que se genera un continuo intercambio de gases (disponibilidad de oxígeno), agua y minerales con el medio externo. Cerca del momento de la eclosión se incrementa la temperatura y la pérdida de humedad por la transpiración; al romperse el cascarón se libera el agua restante (Márquez, R. 1996).

Los cascarones de los huevos de las tortugas marinas constituyen una clase de huevo flexible (Acuña-Mesen, 1989). Estructuralmente, el *casarón* del huevo de la tortuga golfina, se compone de una capa externa calcárea inorgánica, una capa fibrosa interna orgánica y una capa límite delgada, adjunta al contenido del huevo. El casarón de un huevo fresco de tortuga posee espacios estrechamente unidos y organizados en unidades nodulares, espículas desorientadas y una densa capa de fibras de la membrana (Gunanidhi B., 2009). La capa externa calcárea, es de apariencia apergamizada y dura, que permite la protección contra daños físicos, particularmente la deshidratación. Esta formada por depósitos de cristales de calcita y de aragonita (carbonato de calcio, de cristalización hexagonal y romboédrica, respectivamente) (Frazier, W. *et al.*, 1993).

Según Frazier (1993) y Pereira (2008), la *clara* del huevo es un medio inapropiado para el desarrollo de muchos microorganismos por el elevado *pH* que alcanza durante el almacenamiento y otros diversos factores entre los que se encuentran: la apoproteína, la avidina, factores antiproteolíticos e inhibidores enzimáticos, la albúmina, la lisozima. Todos los factores mencionados son proteínas (Belitz, H. *et al.*, 1988) que representan un 10,6% de la clara del huevo de gallina, mientras que en la clara de huevo de tortuga el contenido de proteína representa un 1,27% (Mora R., 1995). Con respecto al *pH*, según Mora (1995), el valor más alto reportado para la clara de huevo de tortuga es de un 8,20 comparado con valores hasta 9,40 para el huevo de gallina.

Estudios recientes reportados por Thompson & Speake (2004), mencionan la composición global de *lípidos y proteínas en la yema* de huevo en dos especies de tortugas: *Chelydra serpentina* y *Emydura macquarii* (lípidos: 33,8 y 54,9; proteínas 31,4 y 62 % en peso seco, respectivamente) y solo el 11,3 % y 5,2 % (*C. serpentina* y *E. macquarii*), corresponden a otros nutrientes como vitaminas, minerales y carbohidratos.

2.4. ALIMENTACIÓN

De acuerdo con estudios realizados por Silva (1986), la tortuga golfina no es selectiva en cuanto al tipo de alimento que va ingerir, sino que se alimenta de todo lo que se encuentra en el lugar donde se localiza. En dicho estudio se analizó el contenido estomacal de 139 ejemplares de tortugas golfinas, frente a la playa "La Escobilla" en el estado de Oaxaca, México. Los resultados muestran que el tipo de dieta es omnívora con tendencia a carnívora. Sin embargo, hay autores que difieren de estas observaciones como Carr (1952); Smith & Taylor (1950), quienes mencionan que *Lepidochelys olivacea* es principalmente herbívora. Márquez (1990) menciona conjuntamente con Silva (1986), la amplia variedad de alimento que consumen tanto de la comunidad de bentos como del necton, destacando los peces, crustáceos y moluscos. Así, los estudios indican que la tortuga golfina es un carnívoro facultativo, capaz de comer un solo tipo de alimento por largos períodos según la disponibilidad de alimento en la zona geográfica en donde se encuentre. Por ejemplo, Márquez (1990) menciona que las poblaciones que se localizan en la costa occidental de Baja California, se alimentan exclusivamente de langostilla roja *Pleuroncodes planipes*. Los principales grupos alimenticios en la dieta de la tortuga golfina frente a las costas del Pacífico Mexicano, conforme a los trabajos de Márquez (1990) y Silva (1986), son los siguientes:

Tabla 4. Grupos alimenticios en la dieta de la tortuga golfina *Lepidochelys olivacea*. Según Márquez, 1990 y Silva, 1986.

ALIMENTACIÓN DE LA TORTUGA GOLFINA (<i>L. olivacea</i> , Eschscholtz, 1829)	
GRUPOS TAXONÓMICOS	ESPECIES
Mollusca	<i>Turritela sp</i> (Clase Gastrópoda)
	<i>Persicula sp</i> (Clase Gastrópoda)
	<i>Polystira oxytropis</i> (Clase Gastrópoda)
	<i>Pitar sp</i> (Clase Bivalvia)
	<i>Nuculana sp</i> (Clase Bivalvia)
Artrópoda	<i>Pleurocondes planipes</i> (Clase crustácea)
Chordata	<i>Spherooides furti</i> (Clase Teleostei)
	Fragmentos de peces no identificados por el grado de digestión
Otros	Salpas (pez perciforme), algas, briozoarios, sipuncúlidos, ascidias y huevos de peces

2.5. CICLO DE VIDA

El ciclo de vida de las tortugas marinas comienza con el *apareamiento*. Esto ocurre durante la migración a las áreas de reproducción, pero generalmente se ha observado frente a las playas, antes y durante la temporada de anidación (verano – otoño). Se cree que el cortejo de las tortugas marinas comienza cuando el macho nada delante de la hembra moviendo las aletas traseras muy cerca de la cabeza, para posteriormente propinarle golpes, mordiscos y caricias con las uñas delanteras de las aletas. Cuando el macho penetra a la hembra, después de varios intentos, las sostiene con firmeza con las uñas de las aletas delanteras, introduciéndolas bajo el borde lateral del caparazón “mancuerna”. El órgano copulador del macho se mantiene replegado en la base de la cola, surgiendo por la abertura de la cloaca durante el apareamiento. La cópula generalmente es de 48 horas, e incluso hay quienes afirman que este proceso puede durar varias semanas (Kenneth A., 1993)

Una vez ejecutada la fecundación, las hembras se preparan para *arribar* y *ovopositar* en su playa de anidación, durante un período de una a dos semanas. Es común que la hembra realice incursiones exploratorias “arqueos”, buscando el sitio más indicado para depositar sus huevos. De esta manera una vez localizado el sitio ideal, comienza a cavar con las aletas anteriores, construyendo un nido de 30 a 45 cm. Posteriormente, se acomoda sobre él, depositando los huevos en grupos de dos acompañados de un líquido mucoso lubricante, en intervalos de tres a cuatro segundos (Kenneth A., 1993). La tortuga golfina deposita por nidada en promedio 105 huevos (García, 2007).

Terminada la ovoposición cubre el nido de arena con las aletas delanteras. Coloca el pecho sobre el nido comprimiendo la arena, constituyendo una "cama" con el propósito de engañar a los depredadores y ocultar el sitio exacto del nido. Una vez realizado esto, inicia el *regreso al mar*; comúnmente, una hembra sexualmente madura puede ovopositar de 1 a 8 veces por temporada (García *et al.*, 2003). La temperatura prevaleciente en el nido durante el segundo tercio de la incubación, determina el sexo del embrión (CONANP, 2009).

Al finalizar el período de *incubación*, 45 días aproximadamente en (*L.olivacea*), las *crías emergen del nido* (eclosión) y se *dirigen directamente al mar* con "frenesí de cría", mecanismo que les permite moverse de la playa hacia al mar en el menor tiempo posible, reduciendo de esta manera, la oportunidad de ser depredados en áreas relativamente densas de depredadores. La hiperactividad comienza cuando las crías ascienden del interior del nido hacia la superficie y continúa al menos un día (Pereira, M. *et al.*, 2008). Los juveniles que migran desde su playa de anidación permanecen congregados en los *sitios de alimentación* (forraje) durante un período que puede abarcar de 8 a 20 años, mientras transcurre su *proceso de maduración*. Después de alcanzar la fase de madurez sexual, *los adultos migran de sus áreas de alimentación a las áreas de anidación y apareamiento*. Las tortugas pasan la mayor parte de su vida en el mar. Los machos también emergen a la playa esporádicamente para regular su temperatura o evitar encuentros con depredadores (Frazier, G. *et al.*, 1999). En la siguiente figura se observa el ciclo reproductivo de la tortuga golfina:

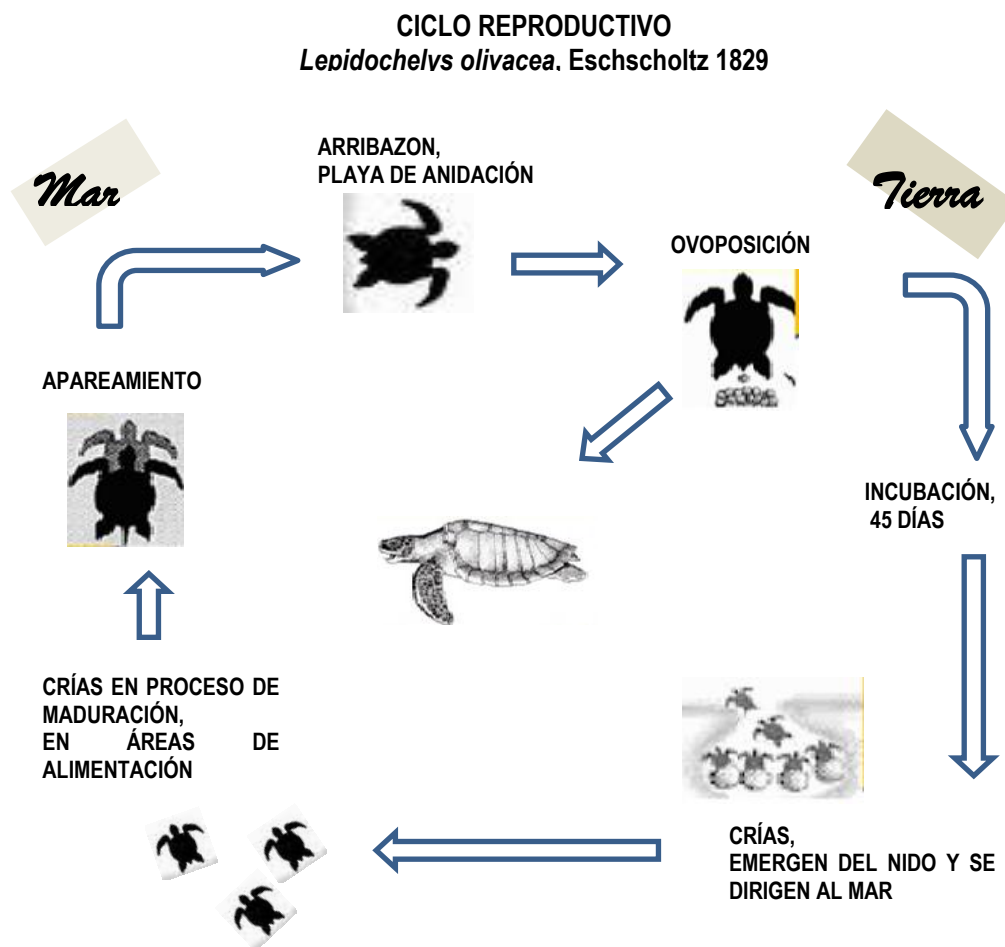


Figura 5. Ciclo reproductivo de la tortuga golfina *Lepidochelvs olivacea*, Eschscholtz 1829.

2.6. DISTRIBUCIÓN GLOBAL DE LA TORTUGA GOLFINA

Se han realizado estudios mediante telemetría por satélite, en donde se demuestra que después de anidar, la tortuga golfina no tiene ruta de migración definida. Esto sugiere que en vez de migrar hacia una zona de alimentación específica después de anidar, la tortuga explota múltiples zonas de alimentación. *Lepidochelys olivacea*, es una especie pantropical, viviendo principalmente en el hemisferio norte, en donde, la isoterma de 20°C marca límite de distribución (**Figura 6**)

En una escala global, el litoral del Pacífico oriental es el más importante para la reproducción de esta especie. Existen grandes poblaciones desde México hasta Ecuador, Filipinas, Malasia, Norte de Australia y Gran Bretaña. En el océano Índico, las poblaciones más grandes se encuentran especialmente en Orissa en la Bahía de Bengala (Didiher *et al.*, 2001).

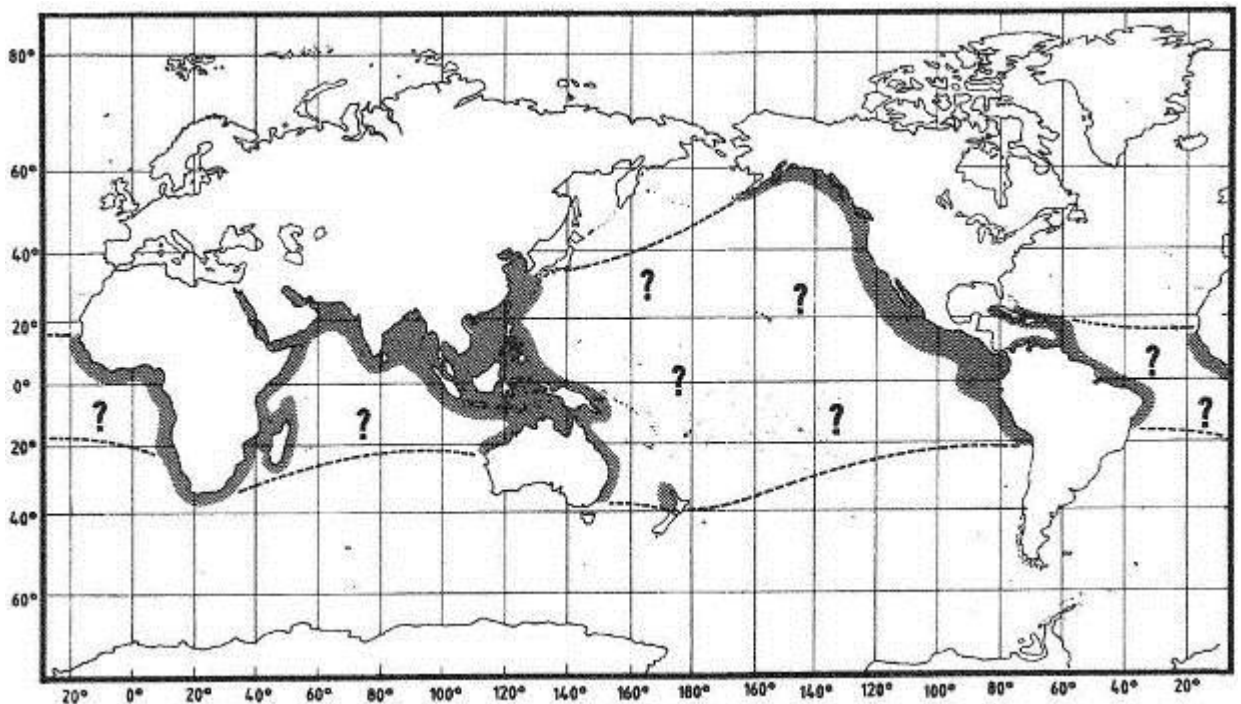


Figura 6. Distribución global de la tortuga golfina *Lepidochelys olivacea*, Eschscholtz 1829.
Imagen tomada de www.fao.org

2.7. ÉXITO DE ECLOSIÓN DE LA TORTUGA GOLFINA.

La determinación del tamaño de la nidada y el éxito de eclosión provee información fundamental para la conservación y manejo de las tortugas marinas. Estos datos son esenciales porque ayudan a comprender la adecuación de la playa (o vivero) para actuar como sistema de incubación y la salud general de la población anidadora. Para comprender el éxito del esfuerzo reproductivo de las tortugas marinas, es necesario determinar el número de huevos desovados, el diámetro y peso de los huevos, el número que se incuban exitosamente, y el número de crías que emergen de los nidos. Cualquier cambio significativo (basado sobre la media y la desviación estándar derivadas de la población estudiada) en estos números a través del tiempo indica que podrían estar ocurriendo algunos problemas. En programas de monitoreo a largo plazo, la cuantificación de los cambios provee los fundamentos para las decisiones de manejo. Si los cambios son grandes, las acciones de manejo deberán ajustarse para resolver amenazas específicas. De esta manera, las decisiones críticas concernientes al manejo de hábitats *in situ* o viveros deberán de estar basadas sobre datos precisos. Este esfuerzo debe continuar a través de varios años (Eckert, K. *et al.*, 2000).

2.7.1. Manejo de los nidos

Algunos datos publicados basados en la colecta de huevos de tortuga golfina en diferentes formas de manejo son:

- Panamá: Yolani *et.al.* (2002), determinó el porcentaje de emersión en neonatos en Islas Cañas en el Pacífico Panameño. Los resultados en tres tratamientos (arribada, no arribada, vivero) en los meses de Agosto y Octubre del 2002, señalan mayores valores de porcentaje en tratamiento de no arribada en playa descubierta y en vivero con 70% y 60.4% respectivamente; seguido del tratamiento de arribada al borde de vegetación con 51% y dentro de la vegetación con 23%. Para la temperatura y humedad se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, a causa de la temperatura y la humedad registradas entre tratamientos a los 10 y 40 cm de profundidad, lo cual influyó sobre el porcentaje de emergencia de neonatos, el tiempo de eclosión de los huevos (entre 54 y 65 días), las tallas y pesos de los neonatos.
- Nicaragua: Torres, G.P. (2009), determinó el porcentaje de emersión en nidos de Playa Acayo-Mogote, Chacocente en el Pacífico de Nicaragua. Los resultados en los tres tratamientos empleados (trasladados a vivero; relocalizados fuera del vivero y nidos *in situ*), indican que el éxito de emersión fue del 34.4%, 68.1% y 69.1% respectivamente. El incremento en la eclosión en los nidos *in situ* en dicho estudio, pudo deberse a que la mayoría de ellos se incubaron en los meses de la época lluviosa (octubre de 2008 a enero de 2009), en donde los niveles de temperatura se mantuvieron en el rango óptimo para el desarrollo de los embriones.

2.8. ZONAS DE ANIDACIÓN DE LA TORTUGA GOLFINA EN MÉXICO

La tortuga golfina es la especie más abundante en la actualidad. Las zonas de anidación documentadas en el Océano Pacífico Este se encuentran desde el Norte de California y el Golfo de California hasta Chile, con áreas de concentración en México, Centroamérica y, más al sur, hasta la zona entre Panamá y Colombia (Marquez, 1996). En México las principales áreas de anidación masiva para *Lepidochelys olivacea*, están localizadas en los estados de Oaxaca (La Escobilla, Morro Ayuta y Chacahua), Michoacán (Ixtapilla), Jalisco y Sinaloa (Dueñas, 1996 y CONANP, 2009) (Figura 7).

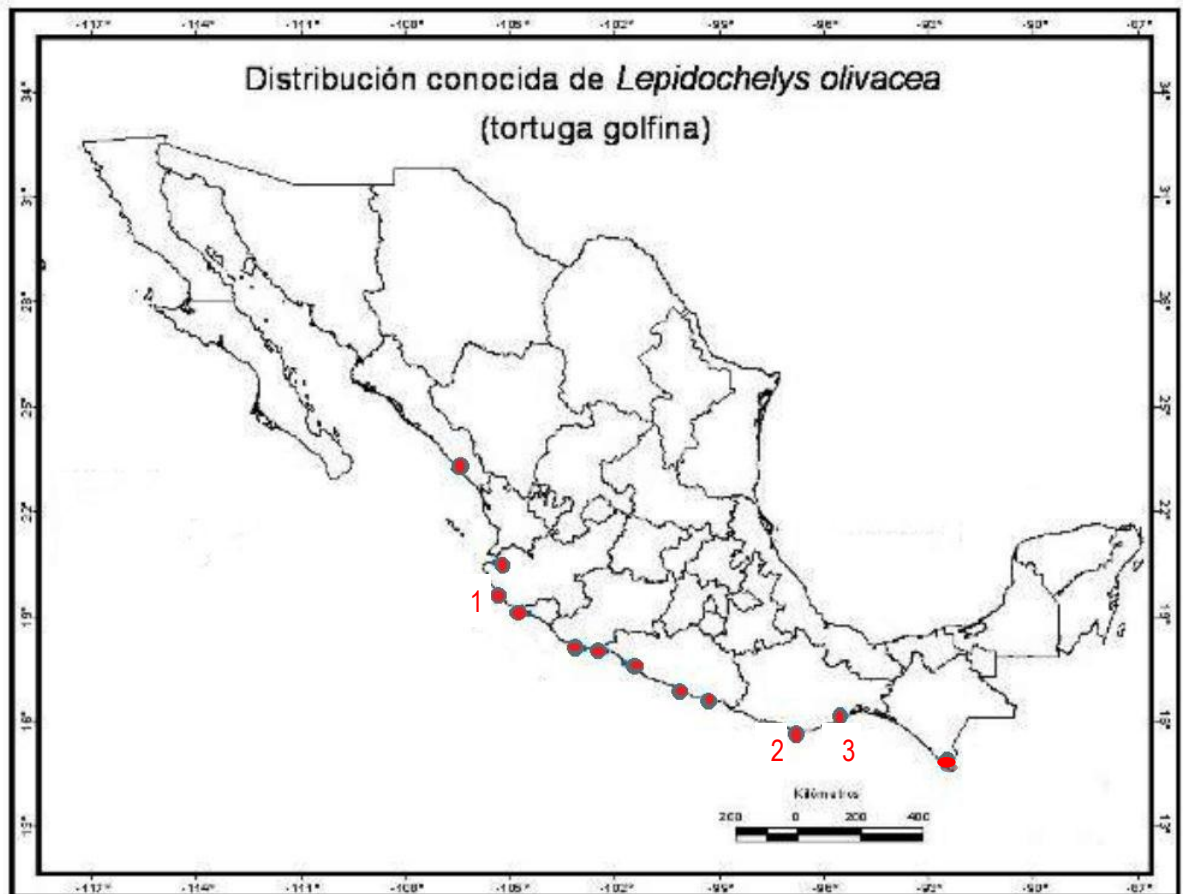


Figura 7. Distribución conocida para *Lepidochelys olivacea*, Eschscholtz 1829.
Los puntos rojos indican la distribución actual.
1.- Playa Ixtapilla, Michoacán; 2.- Playa la Escobilla, Oaxaca; 3.- Playa Morro Ayuta, Oaxaca.
CONABIO, 2010.

2.9. CONSERVACIÓN DE TORTUGAS MARINAS EN MÉXICO

Se han firmado numerosos convenios relacionados con la protección de las tortugas marinas, como la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES), la cual prohíbe el comercio internacional de todos los productos derivados de ellas. En el continente americano, en mayo del 2001, entró en vigencia la Convención Interamericana para la Protección y Conservación de las tortugas marinas (CIT). En la actualidad, once países forman parte de esta convención y su rango de acción abarca todo el continente, incluidas áreas terrestres y marinas. Su objetivo es promover la protección, conservación y recuperación de las poblaciones de tortugas marinas y de los hábitats de los cuales dependen, implementando medidas solidarias entre las naciones.

Actualmente están desarrollando nuevas técnicas en la pesca para minimizar la captura incidental, desde los DETs (Dispositivo Excluidor de Tortugas) en redes camarónicas de arrastre, hasta la creación de nuevos anzuelos en la pesquería de palangre. También se han promulgado leyes que protegen a las tortugas marinas y se han propuesto modelos de manejo racional donde comunidades costeras se han integrado a la protección e investigación de estas especies, beneficiándose con la creación de nuevos empleos. Hasta la fecha se reconocen muchos esfuerzos hacia la protección y conservación de las tortugas marinas y su hábitat. En México, se han obtenido informes de anidaciones para la conservación de la especie (*L. olivacea*) de 1993 a 1994, desde Sinaloa hasta Chiapas. Sin embargo, a pesar de los esfuerzos realizados actualmente, las tortugas marinas se encuentran aún amenazadas y en peligro de extinción, lo cual nos indica que todavía hay mucho trabajo por hacer en la lucha por su conservación (Dueñas, 1996).

2.10. ORGANOCORADOS COMO COMPUESTOS ORGÁNICOS PERSISTENTES

Las plagas pueden afectar adversamente a la salud pública, los alimentos y otros materiales esenciales para los seres humanos (Duffus, 1983). Los plaguicidas son sustancias o mezclas de sustancias químicas destinadas a prevenir, destruir o controlar las plagas de animales (insectos, ratones, etc.); plantas (mala hierba, maleza) y microorganismos (hongos, bacterias y virus de plantas). En su estructura química los plaguicidas organoclorados contienen fundamentalmente carbono, hidrógeno y cloro. Se les conoce como *hidrocarburos clorados*, *orgánicos clorados*, *insecticidas clorados*, y *sintéticos clorados* (Wave & Whitacre, 2004).

El Convenio de Estocolmo realizado por el Programa para el Ambiente de las Naciones Unidas (UNEP), define a los contaminantes orgánicos persistentes (COPs) como aquellos compuestos que tienen propiedades tóxicas, son resistentes a la degradación, se bioacumulan y son transportadas por el medio ambiente ya que generalmente son semivolátiles y, por tanto las corrientes de aire pueden arrastrarlos, depositarlos en el suelo y volver a volatilizarse. Debido a lo anterior, estos compuestos han sido prohibidos en diversos países (EPA, 2009).

En México la aplicación de plaguicidas sintéticos, también llamados xenobióticos (xenos: extraño y bios: vida); iniciaron en la década de los 50s. El DDT (sintetizado por Zeidler en 1874) comenzó su producción y comercialización después de la segunda guerra mundial. La contaminación por compuestos organoclorados

ha sido documentada desde finales de los años sesenta, en donde se importaban cerca de 9,000 toneladas/año de plaguicidas y para 1995 se estima que se usaron cerca de 115,000 toneladas/año (Tadeo *et al.*, 2008). A partir de los años 80 y 90, se han implementado alternativas no químicas para el control de plagas como el uso de organismos de control biológico (depredadores y parasitoides), uso de trampas, insecticidas de origen vegetal y distintas estrategias de manejo agroecológico. La finalidad consiste en reducir los riesgos económicos, ambientales y de salud (INE, 2011).

2.10.1. Tipos de plaguicidas organoclorados

Dentro del grupo de organoclorados pueden distinguirse cuatro subgrupos:

- 1) DDT y compuestos análogos:** DDT, DDD, el dicofol, etilán, metoxicloro y clorobenzilato, cuya estructura molecular es:

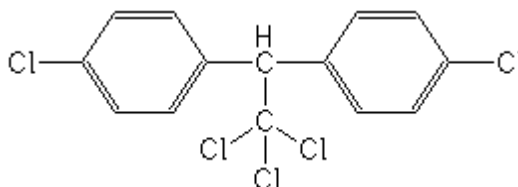


Figura 8. Estructura molecular del DDT y compuestos análogos.

Modo de acción: destruyen el balance de los iones de sodio y potasio de los axones de las neuronas de una manera tal que impide la transmisión normal de los impulsos nerviosos, tanto en insectos como en mamíferos.

- 2) Cicloalcanos clorados:** como los isómeros del hexaclorociclohexano HCH, también erróneamente conocido como hexacloruro de benceno BHC. Hay cinco isómeros, *alpha*, *beta*, *gamma*, *delta* y *epsilon*, dentro de los cuales el más conocido por sus propiedades insecticidas es el isómero *gamma* (lindano). La estructura molecular es la siguiente:

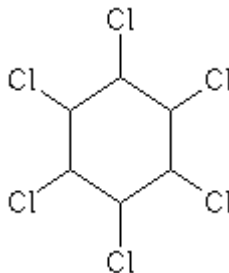


Figura 9. Estructura molecular de los Cicloalcanos clorados.

Modo de acción: los efectos del HCH se parecen a los compuestos del DDT, pero ocurren más rápido. El isómero *gamma* es neurotóxico cuyos efectos ocurren normalmente en pocas horas (temblores y convulsiones).

- 3) Ciclodienos:** aldrín, dieldrín, heptacloro, endrín, mirex, endosulfán y clordano, cuya estructura molecular es:

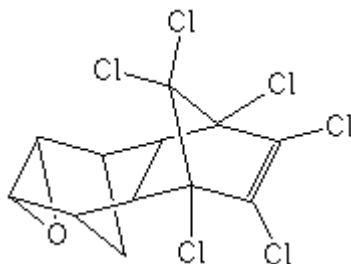


Figura 10. Estructura molecular de los Ciclodienos.

Modo de acción: su toxicidad aumenta al incrementar la temperatura del ambiente. Los ciclodienos actúan sobre el mecanismo inhibitor del receptor GABA (ácido γ -aminobutírico). Este receptor opera incrementando la permeabilidad de los iones cloro de las neuronas, de esta manera se impide que los iones entren en las neuronas, y por tanto antagonizan los efectos "calmantes" del GABA. Afectan a los animales en la actividad del sistema nervioso con temblores y convulsiones.

- 4) Policloroterpenos:** toxafeno, estrobano, cuya estructura molecular es:

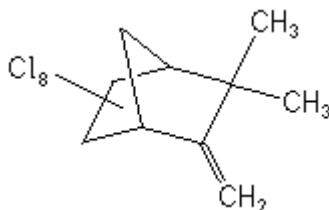


Figura 11. Estructura molecular de los Policloroterpenos.

Modo de acción: el principal sitio de acción de los policloroterpenos es idéntico al del ciclodieno antagonista de la puerta- GABA de los canales de cloruro.

2.10.2. Características fisicoquímicas

Como todos los contaminantes, cada plaguicida tiene propiedades que lo distinguen de los demás, ello determina su comportamiento en el medio ambiente y sus efectos sobre los organismos. Según Addison (1982), el comportamiento de los compuestos organoclorados es gobernado en gran medida por tres de sus propiedades: 1) son poco solubles en agua y muy solubles en lípidos; 2) tiene apreciable presión de vapor a temperatura ambiente (20°C); 3) Son químicamente estables y resistentes a la degradación biológica y abiótica. La solubilidad del agua y presión de vapor de los principales componentes organoclorados, son los siguientes:

Tabla 3. Solubilidad del agua y presión de vapor de los principales componentes organoclorados. Según Addison, 1982.

Compuesto	Solubilidad del agua (g.mL ⁻¹)	Presión de vapor (mm.Hg a 20°C)
<i>p-p'</i> -DDT	10 ⁻⁹ a 4 x 10 ⁻⁸ (60)	1.97 x 10 ⁻⁷ (60)
Dieldrín	10 ⁻⁷ a 2.5 x 10 ⁻⁷ (60)	1.8 x 10 ⁻⁷ (60)
PCBs*	<10 ⁻⁸ (31)	<10 ⁻⁵ (31)

* Las propiedades físicas de las mezclas varían con su composición en mezcla.

La *solubilidad* de un contaminante en el medio ambiente depende, en parte, de la polaridad o de las características eléctricas del mismo. De esta forma, la solubilidad en agua de un compuesto polar y/o ionizable tiende a ser mayor que la de uno menos polar y/o no ionizable. Por lo general, los compuestos de baja polaridad (como es el caso de la mayor parte de los plaguicidas orgánicos), tienden a concentrarse tanto en la interfase aire-agua como en la superficie de las partículas coloidales de esta última. Según Albert (2005), esta característica marca la tendencia de algunos plaguicidas para escapar del agua hacia otro medio inmisible, como un disolvente no polar o hacia los organismos acuáticos. Madhun & Freed (1990), señalan que la *presión de vapor* de un plaguicida determina su grado de vaporización, por lo que esta se relaciona con la movilidad atmosférica del compuesto. Por ejemplo, un plaguicida líquido con una alta presión de vapor tiende a volatilizarse rápidamente.

2.10.3. Degradación biótica y abiótica

La transformación biótica y abiótica de los contaminantes ambientales ocurre mediante varias reacciones químicas, físicas y biológicas que los transforman en otros compuestos (Albert *et al.*, 2005). Generalmente, es difícil determinar cuándo un plaguicida se encuentra bajo una transformación biótica o abiótica, ya que en muchos casos ambos procesos ocurren de manera simultánea. En la **Figura 12**, se describe la ruta de los plaguicidas una vez que estos han sido liberados en el medio ambiente.

Dentro de las transformaciones bióticas, se encuentran procesos que implican la conversión de material soluble en lípidos, a partir de un producto soluble en agua o un producto conjugable que puede ser más fácilmente excretado (Addison, 1982). Particularmente, la degradación biótica se lleva a cabo por gran cantidad de organismos del suelo y del agua. Según Schnoor (1992), las transformaciones biológicas comunes en los ambientes acuático y terrestres son: oxidación; desalquilación oxidativa; descarboxilación; hidroxilación de anillos aromáticos; ruptura de anillos; β -oxidación; epoxidación; oxidación de azufre; oxidación de aminas; deshalogenación hidrolítica; deshalogenación reductiva y deshidrohalogenación. Dichos mecanismos tienden a reducir la persistencia y toxicidad de los plaguicidas y, al igual que las reacciones abióticas, el resultado de tal degradación es un compuesto de estructura diferente, que no siempre es menos tóxico ni menos estable que el que le dio origen (Albert *et al.*, 2005). Con respecto a las transformaciones abióticas, se encuentra la degradación por procesos como la fotólisis, es decir, la degradación de los plaguicidas tanto en suelo como en agua, por medio de la luz solar (luz visible o ultravioleta), que causa la transformación de estos contaminantes a otras sustancias, e iniciándose posteriormente la ruta hacia la mineralización. Madhun y Freed (1990), mencionan que otras de las reacciones abióticas que ocurren en los plaguicidas en agua y sedimentos son la hidrólisis y las reacciones de oxidación y reducción. Los parámetros fisicoquímicos que condicionan la reactividad de los plaguicidas en estos sustratos son el pH, la temperatura, las sustancias orgánicas disueltas y particuladas, la presencia de ciertos iones metálicos y el estado de reducción de la columna de agua. Asimismo, asevera que los productos de ciertas transformaciones pueden ser más tóxicos que el plaguicida original.

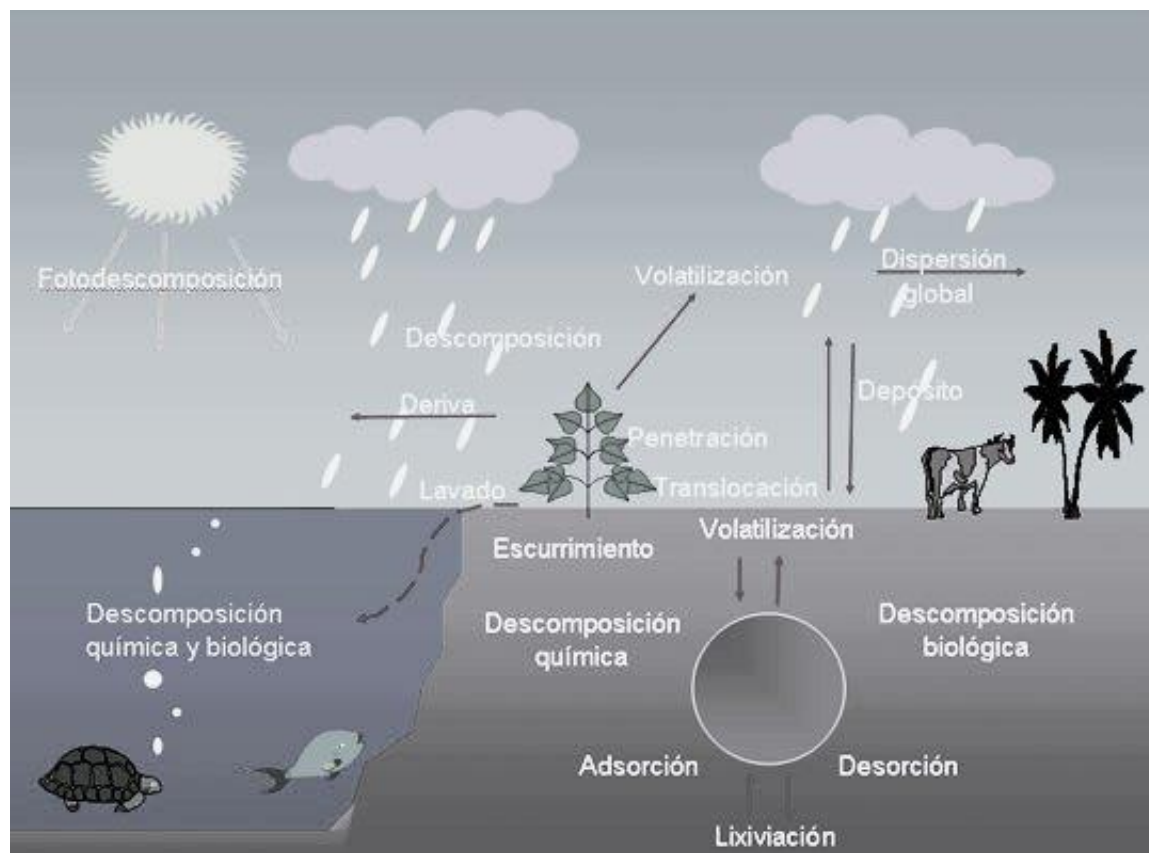


Figura 12. Mecanismos de Degradación y Transporte de los plaguicidas en la zona costera. Las flechas sencillas indican el sentido del transporte; las flechas dobles indican mecanismos de equilibrio directo.

Imagen tomada de www2.ine.gob.mx/sistemas/plaguicidas/

2.11. CONTAMINANTES ORGANOCOLORADOS EN SERES VIVOS

La exposición de los organismos a contaminantes medioambientales se encuentran regulada por varios factores como: las propiedades fisicoquímicas de los contaminantes individuales y sus mezclas; las propiedades fisicoquímicas del hábitat contaminado y las características de la historia de vida de las especies, por ejemplo: edad, género, talla, dieta, longevidad, genética, etc. (Philip & Smith, 2007).

En el caso particular de los dos principales grupos de organoclorados (DDT y PCBs), los trabajos de investigación realizados por Addison (1982), señalan que estos productos químicos se pueden encontrar en la biota marina de casi todos los lugares, debido a su transporte atmosférico y su estabilidad una vez que entran en la red trófica, pues su incorporación lleva consigo la magnificación del contaminante a todos los niveles tróficos. De la misma forma, sugiere que las concentraciones de contaminantes en los seres vivos varían en gran medida con la presencia de factores como la ubicación y el estado fisiológico del organismo. Por lo general, el rango de concentración es de 0.1 (o menos) a 100 (o más) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

A continuación se describen algunas conclusiones de los estudios realizados en diferentes clases de animales (reptiles, aves y mamíferos marinos), en cuanto a la concentración de plaguicidas organoclorados en tejido.

2.11.1. Reptiles

La ingestión y el contacto dérmico son consideradas las dos principales rutas de exposición en reptiles. La inhalación resulta ser un mecanismo de acumulación importante para algunas especies; sin embargo, no se sabe nada con respecto a esta vía. En el caso particular de la transferencia materna, Hopkins, W.A. *et al.* (2006), mencionan que el desarrollo del embrión reptiliano puede ser expuesto a los contaminantes a través de la transferencia materna y la acumulación de productos químicos en los huevos contaminados durante la anidación con su medio externo.

Otros investigadores han efectuado trabajos tomando en cuenta las observaciones hechas en ovíparos y vivíparos, en lo referente al mismo proceso de transferencia materna y el desarrollo de embriones. Platt *et al.* (2007 y 2006) y Hopkins, W.A. *et al.* (2006) sugieren que la transferencia materna en ovíparos implica el paso de los contaminantes que han sido biológicamente incorporados en los tejidos de las hembras grávidas (compuestos organoclorados, PCBs, etc.) a los folículos en desarrollo y a los embriones. No obstante, Kern *et al.* (1997) indican que la capacidad y la velocidad de transferencia de los contaminantes en huevos de reptil varían de acuerdo a las condiciones ambientales; las características de los huevos (estructura de la cáscara y la porosidad) y las propiedades físico-químicas de los medios de comunicación existentes entre el nido y los contaminantes.

En México, la mayor parte de los estudios que hablan de la detección de contaminantes organoclorados en huevos de tortugas marinas: tortuga Carey (*Eretmochelys imbricata*) y tortuga blanca (*Chelonia mydas*) se han realizado en las playas de las costas de los estados de Campeche y Yucatán en el Golfo de México. El objetivo principal de dichos trabajos es describir el efecto causado por los plaguicidas organoclorados en el éxito reproductivo de las poblaciones de tortugas marinas. A continuación se enuncian algunas conclusiones de estos trabajos:

En las costas del estado de Campeche (campamentos: Isla Aguada, Checan e Isla del Carmen), Morales *et al.* (2005), se encontró que las concentraciones de DDT y DDE fueron bajas: 0.4 a 5.6 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ y 0.8 a 2.9 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ respectivamente. Dicho estudio no detectó niveles de concentración significativas que afectaran el éxito reproductivo de la especie (*Eretmochelys imbricata*), pues no hubo relación entre las concentraciones observadas de OCs y el número de huevos eclosionados, así como también entre el número de crías con malformaciones. Por lo cual, el autor sugiere que el uso de estos compuestos se ha eliminado en algunos lugares muy específicos a la costa.

La determinación de DDT y DDE en huevos de tortuga blanca (*Chelonia mydas*) y de tortuga Carey (*Eretmochelys imbricata*) en la costa de Yucatán ha sido realizada por Cuevas *et al.* (2003) en muestras colectadas en los campamentos tortugueros de Celestún y El Cuyo. Dicho estudio no detectó concentraciones de residuos en huevos de los diferentes nidos muestreados, solo en dos huevos de la especie (*Chelonia mydas*): 0.059 y 0.050 $\mu\text{g}\cdot\text{g}$ DDT, esto debido a la nula actividad agrícola observada en la zona.

En lo referente al Golfo de California, se han registrado concentraciones elevadas de OCs en tres especies de tortugas marinas: tortuga prieta, tortuga caguama y tortuga golfina (*Chelonia mydas agassizii*, *Caretta caretta* y *Lepidochelys olivacea*, respectivamente), debido posiblemente a sus hábitos alimenticios (Gardner *et al.*, 2003).

Otros trabajos enfocados al estudio de reptiles son los efectuados por Gómara *et al.* (2007), que estudia los efectos de contaminantes ambientales como PCBs y DDT en huevos del camaleón común (*Chamaeleo chamaeleon*), de nueve nidos diferentes del Suroeste de España. Los resultados indican niveles de concentración para los PCBs (concentración total), variaron desde 32 a 52 ng.g⁻¹ (w.w) peso húmedo y para DDT (concentración total: calculado como la suma de *p p'*-DDT, *p p'*-DDE y *p p'*-DDD), variaron desde 0.67 a 1.9 ng.g⁻¹ (w.w) peso húmedo.

2.11.2. Aves

Las aves están expuestas a contaminantes medioambientales por medio de cuatro principales vías: ingestión, contacto dérmico, inhalación y transferencia materna (Philip & Smith, 2007). Muchos trabajos se han realizado con respecto a la exposición directa de contaminantes en las aves, como por ejemplo la ingestión de formulaciones líquidas de plaguicidas y otros químicos o el consumo de alimento contaminado, y su posterior acumulación en sus tejidos. Se han documentado mortalidades masivas de las especies como resultado de exposiciones a gran escala. Golden *et al.* (2003) ha publicado mortalidades masivas de más de 4000 gavilanes de Swainson (*Buteo swainsoni*) en campos agrícolas de Argentina después de trabajar con insecticidas organofosforados. Más recientemente, buitres dorsiblancos (*Gyps bengalensis*) en Pakistán, Asia, han experimentado mortalidades masivas, declinando su población rápidamente (Warnock *et al.*, 1995). Así, numerosos estudios han documentado la exposición y mortalidad de las aves frente a los plaguicidas a través de su consumo en los campos agrícolas.

Un estudio realizado por Harper *et al.* (1999), menciona los efectos potenciales de compuestos organoclorados en huevos de la especie (*Himantopus mexicanus*), en refugios de vida silvestre nacional de Estados Unidos. Los resultados indican que los niveles de concentración de algunos contaminantes en huevos son: *p p'*-DDE de 0.05 a 34.96 µg.g⁻¹, *p p'*-DDD de 0.045 a 0.048 µg.g; *p p'*-DDT de 0.09 a 0.26 µg.g, endrín de 0.05 a 0.14 µg.g, dieldrín de 0.07 a 0.16 µg.g, aldrín 0.007 µg.g, heptacloro 0.016 µg.g y clordano 0.036 µg.g como (concentración única detectable). Estudios previos mostraron que *p p'*-DDE, es la principal causa de adelgazamiento de cascarón en los huevos debido a que en otros estudios han encontrado que concentraciones mayores a 3.7 µg.g causan adelgazamiento de cascarón y por lo tanto efectos negativos con respecto al éxito reproductivo de las poblaciones.

2.11.3. Otras especies

Weisbrod *et al.* (2001) menciona que se han detectado concentraciones elevadas de compuestos organoclorados en otras clases de animales como delfines banda-blanca (*Lagenorhynchus acutus*) y en ballenas piloto (*Globicephala melas*), debido a que estos bioacumulan y biomagnifican los OCs dado que se alimentan de peces contaminados. Philip & Smith(2007) y Addison (1982), señalan que la exposición de la biota marina a los compuestos organoclorados se da por vías como la adsorción, la absorción, la ingestión y la inhalación. Por lo general, la naturaleza lipofílica de los organoclorados asegurará su rápido transporte a los tejidos lipoides, donde, por ejemplo, el DDT puede ser transformado fácilmente en *p-p'* DDE y *p-p* DDD'.

2.12. USO DE PLAGUICIDAS EN SINALOA, MÉXICO

El estado de Sinaloa se encuentra entre los estados de mayor actividad agrícola en la República Mexicana, con una superficie agrícola de 1,469,433 hectáreas, contabilizando tanto la agricultura de bajo riego como la de temporal (Morales, 2008). Entre las principales regiones en las que los plaguicidas se aplican se encuentra el estado de Sinaloa (sobre algodón, garbanzo, frijol, maíz, arroz, trigo, caña de azúcar, productos hortícolas para la exportación como tomate, chile, pepino, calabaza y berenjena), seguidos de otros estados como Chiapas, Veracruz, Jalisco, Nayarit, Colima, Sonora, Baja California, Tamaulipas, Michoacán, Tabasco, Estado de México, Puebla y Oaxaca. Se calcula que en ellos se aplica el 80% del total de plaguicidas utilizados en el país (Albert & Benítez, 2005). Los principales plaguicidas utilizados en la región, de acuerdo a los productores del estado, son los insecticidas con el 45.9%, seguidos de los herbicidas 30.5%, fungicidas 20.1%. En cuanto a los grupos químicos los organofosforados son los más vendidos con el 52%, seguido de los piretroides con el 26.4%, los carbamatos con el 13.2% y los organoclorados con 8.4%. Algunos de los compuestos químicos utilizados mayormente como insecticidas para combatir plagas son: 1) organofosforados: clorpirifos, metamidofos, paratión metílico y dimetoato; 2) piretroides: cipermetrina y permetrina; 3) Carbamatos: metomilo y 4) organoclorados endosulfán, pentaclorofenol y dicofol (González Arias *et al.* 2010).

Los principales plagas que afectan a la región son: gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*), gusano trozador (*Agrotis ipsilon*), gusano soldado (*Spodoptera exigua*), gusano falso medidor (*Pseudoplusia includens*), gallina ciega (*Phyllophaga sp.*), pulgón verde (*Myzus persicae*), trips (*Frankliniella sp.*), mosca blanca (*Trialeurodes vaporarum* y *Bemissia sp.*), midge (*Contarinia sorghicola*) y minador de la hoja (*Liriomyza sp.*) (Islas, 2008).

En general, los plaguicidas organoclorados están prohibidos o restringidos para el uso agrícola, excepto el dienoclor cuyo uso está permitido por la CICOPALFEST (2004), para los cultivos de flores ornamentales como azalea, clavel, crisantemo, gardenia, gladiola y rosal. El endosulfán cuyo uso estaba permitido por la CICOPALFEST (2004) para los cultivos de caña de azúcar, tabaco, tomate de cáscara, trigo, sandía, entre otros, actualmente se encuentra restringido de acuerdo a lo establecido por el Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente (CINU, 2011). El DDT, por su alto riesgo para la salud humana, su elevada persistencia y sus propiedades de bioacumulación, podrá ser utilizado exclusivamente por la Secretaría de Salud en campañas sanitarias.

El control de la producción, importación, formulación, transporte, comercialización y aplicación de plaguicidas se logra a través de la Ley Orgánica de la Administración Federal, dentro de la jurisdicción de la Agricultura (Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural), Salud (Secretaría de Salud), Comercio (Secretaría de Comercio y Fomento Industrial) y el Medio Ambiente (Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca) como ministros (González Farias, 2003). A nivel global los contaminantes orgánicos persistentes (POPs) de acuerdo a la UNEP (Programa de las Naciones para el Medio Ambiente) son: aldrín, clordano, diclorodifeniltricloroetano (DDT), dieldrín, endrín, heptacloro, hexaclorobenceno (HCB), mirex, toxafeno, y bifenilos policlorados (BPCs o PCBs). Todos estos compuestos, excepto los PCBs, son plaguicidas organoclorados (Madhun & Freed, 1990).

2.13. ANÁLISIS DE LOS PLAGUICIDAS ORGANOCOLORADOS EN MATRICES BIOLÓGICAS.

En la actualidad, se han desarrollado procedimientos químicos que permiten la determinación y cuantificación de OCs en distintas matrices biológicas de manera fácil y sin costos de operación excesivos. La baja concentración de estos contaminantes en matrices biológicas y la complejidad de la fracción lipídica, que es donde se encuentran, ha representado una dificultad en su estudio. Así, los procedimientos para su análisis químico incluyen tres fases: 1) La extracción de los lípidos, 2) La separación de los contaminantes del resto de la fracción extraída y 3) Análisis químico de los compuestos de interés. La extracción de la fracción lipídica, se realiza con disolventes o mezclas de disolventes apolares. Se han utilizado diferentes métodos y arreglos experimentales, desde la más tradicional extracción en Soxhlet hasta técnicas más recientes utilizando otras fuentes de energía como la presión y la temperatura en la extracción acelerada con disolventes (ASE), o el ultrasonido o las microondas. Una vez extraída la fracción apolar de la muestra se debe realizar una limpieza y preconcentración de los analitos de interés con el fin de obtener una fracción libre de interferencias para el análisis químico posterior. Para esta etapa del procedimiento se ha utilizado la cromatografía líquida, tanto en su versión clásica como de alta resolución (HPLC). Con el fin de bajar los costos, reducir el uso de disolventes y mejorar la repetibilidad se utiliza la técnica conocida como extracción en fase sólida (SPE, por sus siglas en inglés).

En la **Figura 13**, se observan los pasos de la SPE. Primeramente, el adsorbente (florisil) necesita prepararse con uno o varios disolventes (*acondicionamiento*) para recibir la muestra. Después el extracto obtenido en la primera extracción se añade dentro del cartucho (*adición de la muestra*) en donde, usualmente los analitos de interés son retenidos junto con algunos otros componentes de la matriz de la muestra, que suelen ser removidos mediante la aplicación de un (*lavado*) con un disolvente adecuado. Finalmente los analitos de interés son eluidos en un volumen pequeño de disolvente (Turiel & Martín, 2008).

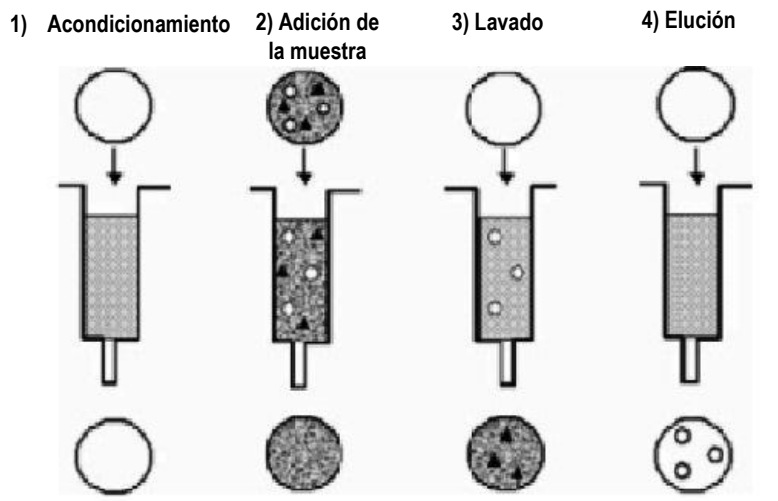


Figura 13. Pasos en la extracción en fase sólida (SPE).
Según Turiel & Martín, 2008

Una vez que se ha obtenido limpia la fracción que contiene los plaguicidas se requiere de procedimientos de análisis químicos que permitan lidiar adecuadamente con mezclas complejas y analitos en baja concentración. La cromatografía de gases es la técnica más utilizada que permite la separación de compuestos individuales en mezclas multicomponentes, especialmente con el uso de sistemas con columnas capilares. Por la alta eficiencia de estas columnas la mayoría de los análisis se han hecho con columnas de fases de uso general, (poco polares, típicamente metil silicones con 5% de grupos fenilo, OV-5, DB-5, SP-5, entre otros nombres comerciales de la fase). Por la complejidad de este tipo de muestras generalmente el análisis cromatográfico se realiza mediante la programación de temperatura en horno (Turiel & Martín, 2008).

Contar con un método de detección apropiado acoplado al cromatógrafo de gases es esencial para realizar con éxito el análisis. Para ello, la cromatografía de gases cuenta con una amplia gama de detectores, como el de captura de electrones que fue durante mucho tiempo el de elección en el caso particular de los plaguicidas OCs. Actualmente, salvo en el caso de requerirse la detección de concentraciones extremadamente bajas, este detector se ha sustituido por la detección con un espectrómetro de masas acoplado en línea al cromatógrafo y operado en modo selectivo de iones, con lo que se obtiene una detección específica y se reducen las interferencias por la presencia de otros compuestos (Turiel & Martín, 2008).

En la **Tabla 6**, se presentan algunos métodos utilizados para la extracción y preparación de la muestra en la determinación de contaminantes orgánicos persistentes en huevos de tortugas marinas.

Tabla 6. Métodos utilizados para la determinación de POPs en huevos de tortugas marinas. Según Van de Merwe, 2009

Proceso de extracción	Limpieza del extracto	Tejido	Especie	Estudio
Soxhlet	Columna de Florisil (o alumina)	Huevo	<i>Chelonia mydas</i>	Thompson N. P., et al (1974)
Soxhlet	Columna de Florisil (o alumina)	Huevo	<i>Chelonia mydas</i> y <i>Caretta caretta</i>	Clark D.R., et al (1980) Clark D.R., et al (1985)
Soxhlet	Columna de Florisil (o alumina)	huevo, membrana corialantoica	<i>Caretta caretta</i>	Cobb & Wood (1997)
Soxhlet	Columna de Florisil (o alumina)	hígado, tejido adiposo, huevo	<i>C. mydas</i> , <i>C. caretta</i> , <i>Dermochelys coriacea</i>	McKenzie C.G., et al (1999)
Soxhlet	Columna de Florisil (o alumina)	hígado, grasa, músculo y riñón	<i>C. caretta</i> , <i>Lepidochelys kempii</i>	Rybitski M.J., et al (1995)
Extracción líquida con acetónitrilo	Columna de Florisil y C18	Huevo	<i>Chelonia mydas</i>	Podreka S., et al (1998)
Extracción de Fluidos Supercríticos	Ácido sulfúrico	hígado, tejido adiposo	<i>Chelonia mydas</i>	Mioia X.B., et al (2001)
1 N KOH Digestión con etanol y hexano	Columna silica y ácido sulfúrico al 10%	hígado, músculo, grasa	<i>Caretta caretta</i>	Corsolini S.A., et al (2000)
Elución de hexano en florisil	Columna celite	hígado, músculo	<i>C. mydas</i> , <i>C. caretta</i>	McKim J.M., et al (1983)
Extracción Acelerada con Disolventes	No hay limpieza	músculo, hígado, tejido adiposo, riñón	<i>C. agassizii</i> , <i>Lepidochelys olivacea</i> , <i>C. caretta</i>	Gardner S.C., et al (2003)
Brinkman polytron (acetónitrilo + pentano)	Columna Silica Gel	hígado, grasa	<i>L. kempii</i>	Lake J.L., et al (1994)
Tissumizer (diclorometano)	Columna de silica gel y alumina		<i>Caretta caretta</i>	Alam & Brim (2000)
Mezcla en éter petróleo	Columna florisil	Hígado, riñón, corazón, músculo, pulmón	<i>Caretta caretta</i>	Storelli M.M., et al (2000)
Extracción con fluidos presurizados (PFE)	SPE, en columna de florisil 1g		<i>Caretta caretta</i>	Alava et al., (2006)

3. JUSTIFICACIÓN

Por su toxicidad, resistencia a la degradación, bioacumulación y dispersión en ecosistemas terrestres y acuáticos, los plaguicidas organoclorados son de atención prioritaria por sus efectos nocivos en la vida silvestre. La exposición crónica a estos residuos tóxicos podría generar efectos negativos en el éxito reproductivo de las tortugas marinas. El noroeste de México es un área importante de anidación y alimentación para la tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*) y a la par una zona de intensa actividad agrícola, donde por décadas se han utilizado diversos plaguicidas. Entre los esfuerzos de conservación se consideran distintas estrategias de manejo de los huevos de tortuga que pueden incidir en el éxito de eclosión. Así, en el presente trabajo, se estudia el estado actual de la población de esta tortuga en playa Ceuta, Sinaloa en el Noroeste de México con la finalidad de conocer el esfuerzo de conservación en la región y se aborda también el estudio cualitativo y cuantitativo de los plaguicidas OCs presentes en el huevo del reptil.

4. OBJETIVOS

4.1. GENERAL

- Evaluar el efecto del manejo de los nidos y de la exposición a los residuos de plaguicidas organoclorados en el éxito de eclosión de los huevos de tortuga golfina, *Lepidochelys olivacea* en Playa Ceuta, Sinaloa.

4.2. PARTICULARES

- Determinar el tamaño de la nidada y el éxito de eclosión, como porcentaje, de la especie en la región durante el período de anidación 2010 en época de lluvias (junio-octubre) y en poslluvias (noviembre-diciembre) y con tres formas de manejo de los nidos: *insitu*, incubación en cajas de unicel y en corral.
- Evaluar estadísticamente si existen diferencias significativas en el éxito de eclosión respecto al periodo de anidación.
- Contrastar estadísticamente el porcentaje de éxito de eclosión para evaluar el efecto de la forma de manejo de los nidos.
- Implantar en el laboratorio un procedimiento de extracción de plaguicidas organoclorados en huevo de tortuga utilizando extracción asistida con microondas, precipitación criogénica de lípidos y limpieza por extracción en fase sólida.
- Identificar y cuantificar por cromatografía de gases acoplada a detección por espectrometría de masas los plaguicidas organoclorados presentes en huevo de tortuga golfina.

- Evaluar estadísticamente si existen diferencias significativas entre nidos de la presencia y concentración de los plaguicidas organoclorados.

5. HIPÓTESIS

En el campamento tortuguero de Playa Ceuta en el Golfo de California hay diferencias significativas en el éxito de eclosión entre el periodo de anidación que ocurre en lluvias (junio-octubre) y el que se presenta en poslluvias (noviembre-diciembre).

La forma de manejo de los nidos en el campamento tortuguero de Playa Ceuta en el Golfo de California influye significativamente en el éxito de eclosión.

Hay cantidades detectables de plaguicidas organoclorados en los huevos de la tortuga golfina en el campamento tortuguero de Playa Ceuta en el Golfo de California.

La acumulación de contaminantes organoclorados en huevos de tortuga golfina representa un factor de influencia en el éxito reproductivo de la especie en el campamento tortuguero de Playa Ceuta en el Golfo de California.

6. ÁREA DE ESTUDIO

La playa de Ceuta se encuentra en la región central del estado de Sinaloa dentro del municipio de Elota ubicada entre la boca de Cospita al norte (24° 10' latitud N y 107° 20' longitud W) y la desembocadura del río Elota al sur (23° 52' latitud N y 106° 57' longitud W). Con un clima BS0 (h) hw(e) (clima seco semicálido extremo con lluvias en verano), según el sistema de clasificación de Koppen modificado por García (1988). La zona de la playa forma parte de la península de Quevedo, cuya longitud encierra el sistema lagunar Ceuta-Tempehuaya, que abarca aproximadamente 35 km. El tipo de vegetación que presenta esta zona es vegetación halófila, pastizal donde sobresale la especie *Uniola pittieri* "Pasto", vegetación de manglar con *Conocarpus erectus* "mangle botoncillo", dunas costeras donde se encuentran especies como *Sesuvium portulacastrum* "verdolaga de la costa", *Ipomoea pres-caprae* "riñonina" y la vegetación de bosque espinoso (Rzedowski, 1983).

Playa Ceuta es un área de anidación importante de la especie *Lepidochelys olivacea*, decretada el 29 de Octubre de 1986, como Zona de Reserva Natural para la Protección, Conservación, Fomento e Investigación de Tortugas Marinas del Pacífico Mexicano, de acuerdo al decreto presidencial publicado en el Diario Oficial de los Estados Unidos Mexicanos². El primer campamento en playa Ceuta inicio en 1976, con la colaboración de jóvenes estudiantes de la Universidad Autónoma de Sinaloa, quienes fueron impulsados por la desmedida pesquería de la tortuga golfina frente a las costas sinaloenses de 1965 y 1968. Actualmente el campamento Playa Ceuta se encuentra bajo la responsabilidad de diferentes instituciones como la Universidad Autónoma de Sinaloa (Saracho, 2009).

² INEGI, Instituto Nacional de Estadística y Geografía. 1990. Monografía del Municipio de Elota, Sinaloa. www.e-local.gob.mx.

Playa Ceuta, consta de 45 kilómetros de costa sobre el Golfo de California, México. En la **Figura 14**, se observan las áreas de colecta de los huevos no viables que fueron colectados directamente de ocho nidos *in situ* seleccionadas al azar y localizadas en distintas coordenadas geográficas a lo largo de la playa de anidación. Los nidos muestreados fueron los siguientes (**Figura 14; Tabla 7**).

Ubicación de los Nidos colectados en la playa Ceuta, Sinaloa, México.

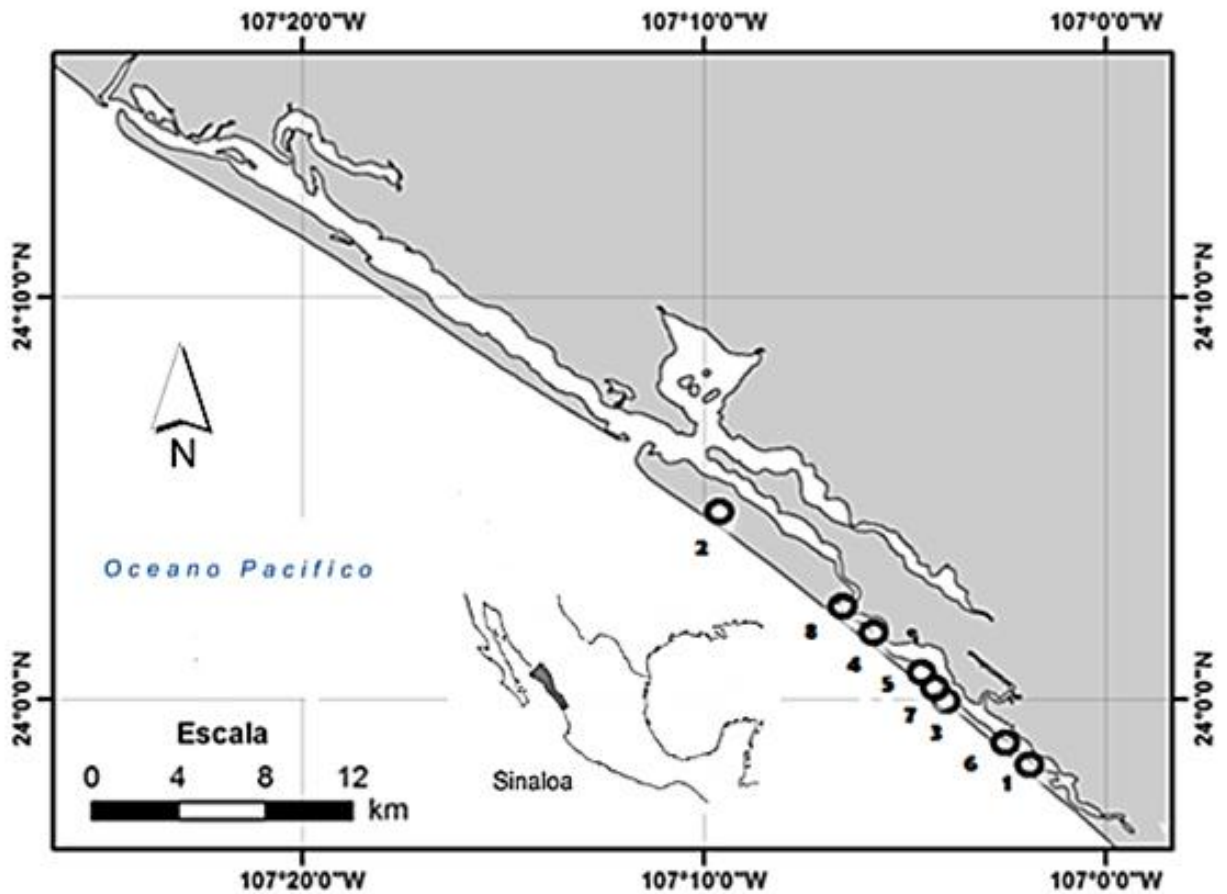
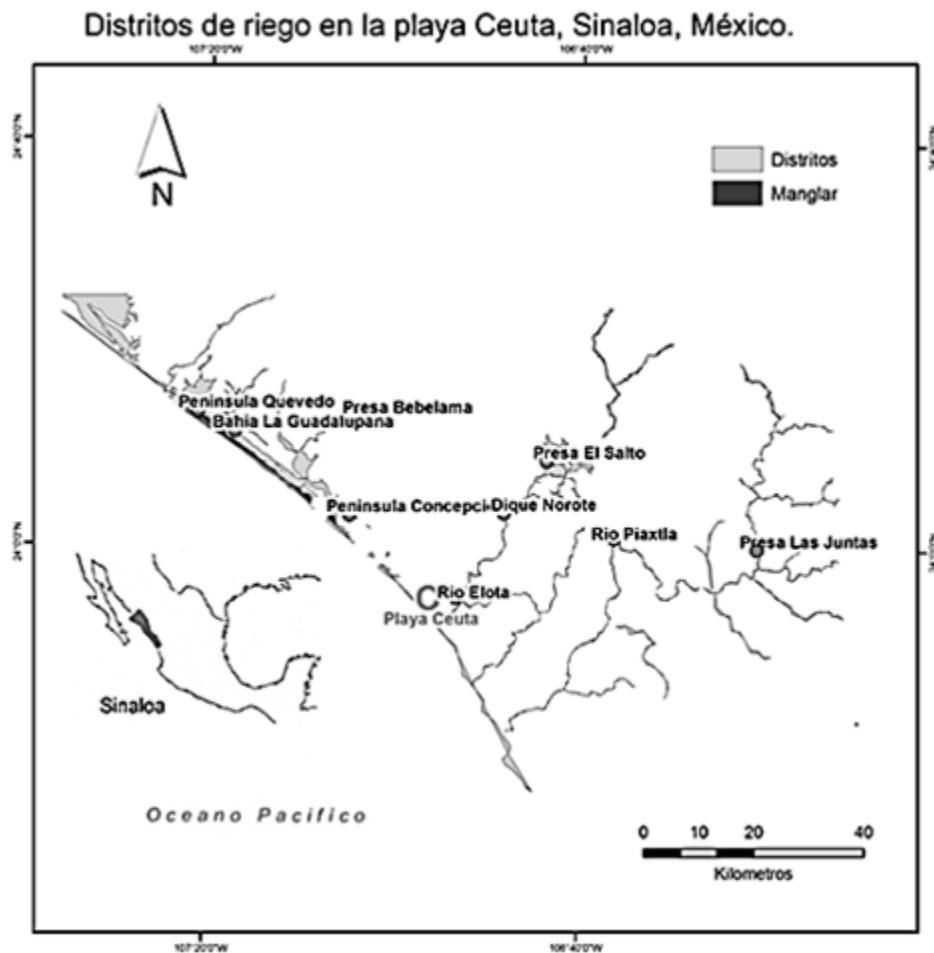


Figura 14. Áreas de Colecta de las muestras biológicas (huevos no viables de *Lepidochelys olivacea*).

Tabla 7. Posición geográfica de los nidos colectados aleatoriamente en Playa Ceuta, Sinaloa.

Posición geográfica de los nidos colectados en grados, minutos decimales		
Nido <i>In situ</i>	Latitud Norte	Longitud Oeste
1	23° 56,339'	106° 58,873'
2	24° 03,991'	107° 08,103'
3	23° 58,444'	107° 02,213'
4	24° 00,431'	107° 03,464'
5	23° 58,242'	107° 01,768'
6	23° 56,866'	106° 59,364'
7	23° 58,322'	107° 01,990'
8	24° 00,956'	107° 04,533'

Las principales presas cercanas a la playa de anidación Ceuta, Sinaloa, se encuentran representadas en la siguiente figura:

**Figura 15.** Posición geográfica de las principales presas y/o distritos de riego cercanos al campamento tortuguero.

7. METODOLOGÍA

7.1. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPO

Tabla 8. Material de campo utilizado durante la colecta de las muestras.

	Marca	Observaciones
Bolsas con cierre	Ziploc	
Cinta masking tape	Reynolds	
Espátula		
Frascos de vidrio de boca ancha con tapa de rosca		Diferentes tamaños
Formato de colecta		Ver anexo I
GPS	Scotch	
Hielera		
Lápiz		
Lámpara de mano		
Papel aluminio		
Plumón permanente de punto fino	Sharpie	

Tabla 9. Materiales instrumentales utilizados en el laboratorio para el procesamiento y preparación de las muestras biológicas.

	Marca	Observaciones
Adaptador de vidrio para matraz de liofilización	LABCONCO	
Agitador magnético		Imán cilíndrico (mosca)
Bitácora de Laboratorio		
Cartucho florisil	SUPELCO	ENVI-FLORISIL 1,0 g; cartucho de vidrio de 6mL
Cinta de sellado		16mm de ancho
Columna capilar CG	Zebtron, ZB-5	Columna capilar CG Zebtron, ZB-5. Diámetro interno 0.25mm., Longitud 30 m. Grosor de la fase estacionaria 0.25 μm . (5% difenil, 95% dimetilpolisiloxano). Temperatura máxima de trabajo: 360/370 °C
Embudo sencillo	PIREX	250mL
Escobillón		Diferentes tamaños para la limpieza de cristalería
Frasco de vidrio con tapón esmerilado	PIREX	
Gradilla de plástico rectangular para tubo de ensaye		
Jeringa para cromatografía	Hamilton	10 μL
Matraz aforado con tapón esmerilado	PIREX	10, 20, 50 y 100mL
Matraz cilíndrico de borosilicato para liofilizadora	LABCONCO	600, 250, 80 y 25mL
Mortero de porcelana con pistilo		

Micropipeta	Eppendorf Research	20, 200 y 1000 µL
Pipetas Pasteur con bulbo de poliuretano		
Piseta de polietileno		
Plancha de calentamiento con agitador magnético	Thermo Scientific, Cimarec	
Puntas para pipetas automáticas, color azul		Para volumen de 100 a 1000µL
Puntas para pipetas automáticas, color amarillo		Para volumen de 5 a 200µL
Septas de silicón	Hamilton	
Soporte universal		
Tijeras		
Tubo de centrifuga cónico con tapa de rosca "Plug-seal", color azul		50mL
Tubo de ensaye con fondo cilíndrico y tapa de rosca	PIREX	3, 6 y 10mL
Varilla de vidrio		
Vasos de precipitados	PIREX	10,150, 500, 1000mL
Viales de vidrio ámbar	SUPELCO	tapa horadada y septa de silicona/PTFE (2mL)
Viales	SUPELCO	tapa sólida con sello PTFE (15 mL)

Tabla 10. Equipo utilizado en el laboratorio para el procesamiento y conservación de las muestras biológicas.

	Marca	Modelo	Observaciones
Agitador vortex	Barnstead-Thermoline	M37615 Series	
Balanza analítica	Explorer Pro OHAUS	EP214C Series	
Bloque de calentamiento	Thermo Scientific	2050 Series	
Centrifuga Hettich	Universal 320		
Congelador vertical	Thermo Scientific REVCO	ULT-1340-3V	Rango de temperatura de -10°C a -86°C
Cromatógrafo de Gases	Agilent Technologies	6850 Series II	CG System
Detector de Masas	Agilent Technologies	5975B Series MSD	CG System
Inyector Automático	Agilent Technologies	7683B Series	CG System
Cámara múltiple para extracción en fase sólida	SUPELCO	57330U	12 puertos (vacuum manifold)
Horno	BINDER	FD-53UL	
Liofilizadora	LABCONCO	Freezone 2.5	
Mufla digital	FELISA	FE-0360	
Refrigerador de Laboratorio			Conservación de muestras
Sonicador	Branson	2510 Series	

Tabla 11. Reactivos utilizados para el análisis de las muestras biológicas en el laboratorio.

	Marca	Observaciones
Acetona (C ₃ H ₆ O)	J.T. Baker	Grado HPLC
Acetonitrilo (CH ₃ CN)	J.T. Baker	Grado HPLC
Criseno-d12	SUPELCO	2000µg/mL en cloruro de metileno
Helio (He)	INFRA del Sur, S.A de C.V.	Grado UAP
Hexano (C ₆ H ₁₄)	J.T. Baker	Grado HPLC
Nitrógeno líquido (N ₂)	INFRA del Sur, S.A de C.V.	Grado AP
Fenantreno-d10	SUPELCO	2000µg/mL en cloruro de metileno
Mezcla de estándares de plaguicidas clorados (α-HCH, β-HCH, γ-HCH (Lindano), δ-HCH, Heptacloro, Aldrín, Heptacloro epóxido (isómero B), Trans-clordano, α-Endosulfán (Endosulfán I), Cis-clordano, Dieldrín, 4,4'-DDE, Endrín, β-Endosulfán (Endosulfán II), 4,4'-DDD, Endrín aldehído, Endosulfán sulfato, 4,4'-DDT, Endrín cetona y Metoxicloro)	Sigma-Aldrich	1000µg/mL en iso-octano c/u
Estándar Toxafeno	Sigma-Aldrich	1000µg/mL en iso-octano

7.2. COLECTA DE MUESTRAS

El Permiso de colecta fue emitido por la SEMARNAT, con fundamento en los artículos 97 de la Ley General de Vida Silvestre y 123 Fracción IV del Reglamento de la Ley General de Vida Silvestre, mediante el trámite "Colecta científica por proyecto sobre especies o poblaciones en riesgo o sobre hábitat crítico" (**Anexo I**).

7.3. ESTUDIO DEL ÉXITO DE ECLOSIÓN EN NIDOS

Se evaluó el éxito de eclosión en tres tipos de nidos empleados en el campamento tortuguero (*in situ*, corral y unice) en los meses de junio a diciembre de 2010. Se realizó durante la noche la búsqueda visual a lo largo de la playa en una extensión de 35 km con la finalidad de detectar la presencia de nidos de tortuga golfina. Los huevos de los nidos que se incubaron en cajas de unice y en corral se colectaron en bolsas de plástico marcadas con un número para su identificación. Se trasladaron al campamento tortuguero, donde se depositaron en los corrales de incubación y cajas de unice (**Figura 16 y 17**). Los huevos permanecieron resguardados en el campamento hasta su eclosión, aproximadamente 45 días, dependiendo del sitio y de la temperatura. En el caso de los nidos *insitu* encontrados a lo largo de la playa, se dejó una marca para su identificación posterior (estaca con pintura roja) y revisarlos después de transcurrido el tiempo de incubación (**Figura 18**).

El corral de incubación se construyó en un sitio resguardado dentro del campamento a una profundidad de 35 cm (similar al nido de origen), se colocaron los huevos recolectados con anterioridad y tapados con arena del nido origen. Dichos corrales se cercaron con una caja de madera y malla para evitar la depredación por perros, coyotes y otros animales.

Los nidos artificiales se construyeron con hieleras de unicel con orificios en la parte inferior con la finalidad de asegurar una ventilación adecuada y se rellenaron con arena del nido de origen. En cada caja los huevos recolectados se colocaron sobre una cama de arena y luego se cubrieron totalmente. La temperatura del cuarto en donde permanecieron hasta su eclosión fue de 30 °C.

Finalmente se efectuó el conteo de crías vivas, crías muertas y huevos que no eclosionaron . La liberación de crías vivas se realizó a partir de los huevos que tuvieron éxito durante su desarrollo embrionario. Los datos de anidación fueron proporcionados con la ayuda de estudiantes y maestros de la Universidad Autónoma de Sinaloa y del personal del campamento tortuguero.



Figura 16. Corral de Incubación



Figura 17. Caja de Unicel



Figura 18. Nido *in situ*

7.4. ANÁLISIS QUÍMICO DE PLAGUICIDAS PRESENTES EN MUESTRAS DE HUEVOS

Para el análisis de compuestos organoclorados se colectaron de ocho nidos *in situ* escogidos al azar un total de 36 huevos no viables de tortuga golfina. Se etiquetaron registrando lugar y fecha de colecta, especie, número de nido y muestra. Por ejemplo: PC-100110-Lo-NV-N1M1 indica Playa Ceuta-mes,día,año-L. *olivacea*-no viable-nido uno-huevo uno. Se registraron en un formato de colecta (**Anexo II**) las coordenadas de los nidos *in situ* estudiados. Cada muestra se colocó en frascos de vidrio de boca ancha con tapa de rosca de 250 mL directamente del sitio de colecta, se cubrió la boca del frasco con papel aluminio y se mantuvo en hielo hasta su traslado al laboratorio.

Los frascos utilizados en la colecta previamente fueron lavados con agua y detergente libre de fósforo, enjuagados cinco veces con agua corriente, dos veces con agua destilada, una vez con acetona, metanol y finalmente con hexano. Los disolventes fueron grado HPLC. Se dejaron secar por evaporación a temperatura ambiente en la campana de extracción. Posteriormente se cubrió la boca de los frascos con papel aluminio y se hornearon a 350 °C durante tres horas con el fin de eliminar completamente las sustancias orgánicas. Por último se dejaron enfriar a temperatura ambiente tapadas con el papel aluminio y se cerraron con su tapa para almacenarlos hasta su uso.

7.5. PREPARACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

Los huevos de tortuga no viables fueron remitidos a los Laboratorios de la Unidad de Química en la Unidad Académica de la UNAM, en Sisal, Yucatán, en agosto de 2010. Las muestras se mantuvieron en refrigeración a -20 °C hasta que se inició el procesamiento. Se pesaron juntas la yema y la clara (peso húmedo) y se congelaron a -40 °C para someterlas a liofilización por 48 horas a 0.110 mbar a -50 °C. Transcurrido el tiempo de liofilización la muestra resultante se trituró en mortero hasta la obtención de un polvo fino y homogéneo. Se pesó la muestra liofilizada con la finalidad de conocer el peso seco de la muestra y calcular el porcentaje de humedad ($\%H = [1 - (\text{peso seco}/\text{peso húmedo})] \times 100$). Las muestras pulverizadas se envolvieron en papel aluminio y guardadas hasta su análisis en bolsas de cierre ziplock en refrigeración a -20 °C.



Figura 19. Preparación y Conservación de la muestra.

7.6. PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS QUÍMICO

Los compuestos organoclorados fueron analizados según el método descrito por Jongki Hong *et al.* (2004). El procedimiento de análisis seleccionado para este estudio es relativamente simple, rápido y de bajo consumo de disolventes. Se evaluaron las características básicas de calidad del procedimiento como se describe en la sección de resultados.

7.7. EXTRACCIÓN DE LA FRACCIÓN LIPÍDICA DEL HUEVO

Todos los reactivos utilizados en el análisis químico fueron con grado de pureza HPLC. La extracción de la fracción lipídica en el huevo de tortuga se realizó de la siguiente manera:

1. Se pesaron 200 mg de la muestra liofilizada y pulverizada (yema y clara).
2. Se colocó la alícuota de la muestra en un tubo de ensayo de 10 mL con 3 mL de hexano y se agitó vigorosamente en vortex durante un minuto.
3. El tubo con la muestra ya dispersa en el disolvente se sometió a ultrasonido durante 30 minutos en un baño de agua a 60°C.
4. El extracto se dejó enfriar a temperatura ambiente.
5. Se centrifugó el extracto a 3000 rpm durante tres minutos con la finalidad de sedimentar el residuo sólido y separarlo del extracto sobrenadante.
6. Se tomó la fase hexánica con pipeta Pasteur y se colocó en un vial de fondo plano de 15 mL previamente lavado y horneado. Se lavó tres veces el sólido residual con 3 mL de hexano agitando y centrifugando en cada adición y se reunieron todos los extractos en el mismo vial.

7. El extracto combinado obtenido se concentró con calentamiento a 45 ° C y arrastre con un gas inerte (nitrógeno) hasta un volumen aproximado de 0.5 mL. Posteriormente, se dejó enfriar a temperatura ambiente para continuar con el proceso de pre-limpieza (precipitación de los lípidos).



Figura 20. Proceso de extracción: Fracción lipídica del huevo.

7.8. PRECIPITACIÓN DE LOS LÍPIDOS

Este proceso es necesario por la cantidad de grasa en el extracto hexánico, los lípidos se precipitan por congelación a -24 ° C, mientras que los compuestos clorados permanecen disueltos en acetonitrilo. El proceso en detalle fue el siguiente:

1. Al extracto hexánico concentrado se le añadieron 3 mL de acetonitrilo, se agitó vigorosamente durante un minuto en vortex y se refrigeró a -24 ° C durante al menos media hora para precipitar los lípidos de la solución.
2. Se separó el extracto sobrenadante con una pipeta Pasteur y se transfirió a un vial de fondo plano de 15 mL previamente lavado y horneado.
3. El extracto se concentró con calentamiento a 45 ° C y corriente de nitrógeno hasta un volumen aproximado de 0.5 mL.
4. El concentrado se transvasó a viales de vidrio de 2 mL debidamente etiquetados y herméticamente cerrados y se mantuvo refrigerado a 4 ° C hasta que fue sometido a la limpieza en cartuchos de Florisil.

7.9. LIMPIEZA EN CARTUCHOS FLORISIL

Se empleó la extracción en fase sólida (SPE, por sus siglas en inglés) para la limpieza final del extracto de los compuestos organoclorados, utilizando una cámara colectora múltiple (manifold) para procesar varias muestras simultáneamente. El extracto concentrado después de la precipitación criogénica de los lípidos se trató de la siguiente manera:

1. Lavado inicial del cartucho: 6 mL de n-hexano ajustando el flujo para que el proceso ocurra en alrededor de un minuto.
2. Acondicionamiento del cartucho: añadir otros 3 mL de n-hexano, con un flujo de alrededor de 1 mL min⁻¹ y suspender al momento que el disolvente alcanza la superficie del relleno de la columna para evitar que se seque el Florisil.
3. Aplicación de la muestra: transferir la totalidad del extracto (0.5 mL en acetonitrilo) al cartucho con la ayuda de una pipeta Pasteur y con un flujo constante de 1 mL min⁻¹ hasta que toda la muestra está en contacto con el relleno de la columna evitando que entre aire.
4. Lavado: 3 mL de hexano (1 mL min⁻¹) para desplazar los lípidos no polares que pudieran encontrarse en el extracto de la muestra y se deja secar manteniendo el vacío de la cámara (12 kPa) durante aproximadamente 10 min.
5. Elución de OCs: 6 mL de una mezcla hexano:acetona (9:1 v/v). El eluato se colectó en un vial de fondo plano de 15 mL previamente lavado y horneado y se concentró con calentamiento a 45 ° C y arrastre con nitrógeno, hasta reducir el volumen a menos de 0.5 mL.

La muestra concentrada se transfirió a un vial ámbar de 2 mL, se añadió 0.5 mL de una solución de los estándares internos (2 µg mL⁻¹) y se ajustó el volumen final a 1 mL con la mezcla hexano:acetona (9:1 v/v). Las muestras debidamente etiquetadas y herméticamente cerradas se mantuvieron refrigeradas a 4 °C hasta el momento de analizarlas por CG-EM.

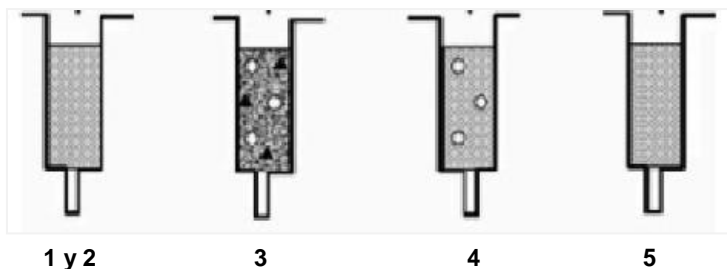


Figura 21. Extracción en Fase Sólida. 1 y 2: Limpieza y acondicionamiento del cartucho, 3: Aplicación de la muestra, 4: Desorción y Lavado de interferencias, 5: Elución.

7.10. CONDICIONES INSTRUMENTALES PARA EL ANÁLISIS DE PLAGUICIDAS ORGANOCORADOS

Para el análisis de los plaguicidas organoclorados en los extractos de las muestras se utilizó un cromatógrafo de gases acoplado a un detector selectivo de masas (CG-EM). Las condiciones cromatográficas y el sistema de inyección empleados se establecieron de acuerdo al método EPA 1699, (2007) (**Tabla 12**).

Tabla 12. Condiciones cromatográficas empleadas en el CG-EM

Sistema de Inyección	Split/splitless	Con inyección automática
Inyector	Volumen	1 μ L
	Modo	Sin división de flujo ("split-less")
	Temperatura	280°C
Columna	Programa de temperatura	50°C (1min), 10°C/min hasta alcanzar 50-180°C, 180°C (0min), 1.5°C/min hasta alcanzar 180-200°C (2min), 6°C/min hasta alcanzar 200-295°C, 295°C (1min).
	Gas transportador	He, 1mL/min, flujo constante
	Línea de transmisión (°C Detector)	300°C
Tiempo total del programa	45 minutos	

Para el análisis por Espectrometría de Masas en modo SIM (monitoreo selectivo de iones) se utilizaron las condiciones que se señalan en la **Tabla 13**.

Tabla 13. Condiciones de análisis por Espectrometría de Masas

SIM	Iones (Primario, Secundario)	m/z
	α -HCH, β -HCH, γ -HCH y δ -HCH	219 y 221
	Heptacloro	272 y 274
	Aldrín, heptacloro epóxido, trans-clordano, α -endosulfán, cis-clordano, dieldrín, endrín, β -endosulfán, endrín aldehído, endosulfán sulfato	263 y 265
	4,4'-DDE	246 y 248
	4,4'-DDD, 4,4'-DDT	235 y 237
	Endrín cetona	248 y 250
	Metoxicloro	227 y 228
	Fenantreno-d10 (estándar interno)	188
	Criseno-d12 (estándar interno)	240

7.11. EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA INSTRUMENTAL

Para determinar los tiempos de retención de los plaguicidas de la mezcla de estándares, asignar la identidad a cada pico y evaluar la respuesta instrumental se prepararon las soluciones de los estándares que se describen a continuación.

A partir de la mezcla de plaguicidas ($1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ en iso-octano c/u) y las soluciones de los estándares internos ($2000 \mu\text{g mL}^{-1}$ en isooctano c/u) se prepararon, como se describe en la **Tabla 14**, las siguientes soluciones:

Solución intermedia de estándares internos (EI) (fenantreno y criseno) en concentración $2 \mu\text{g mL}^{-1}$ c/u.

Solución intermedia de plaguicidas organoclorados en concentración $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ c/u.

Con estas soluciones intermedias se preparó una serie de soluciones de forma que se tuviera en todas una concentración de los EI de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ y las siguientes concentraciones de los plaguicidas:

- Punto 1, $0.10 \mu\text{g mL}^{-1}$
- Punto 2, $0.25 \mu\text{g mL}^{-1}$
- Punto 3, $0.50 \mu\text{g mL}^{-1}$
- Punto 4, $0.75 \mu\text{g mL}^{-1}$
- Punto 5, $1.00 \mu\text{g mL}^{-1}$

Tabla 14. Preparación de la serie de soluciones de los estándares de plaguicidas

Soluciones	Preparación
Solución intermedia de EI. (Fenantreno y Criseno) en concentración $2 \mu\text{g mL}^{-1}$ c/u	Se incorporaron $25 \mu\text{L}$ de estándar (solución $2000 \mu\text{g mL}^{-1}$) a un matraz aforado de 25 mL y se llevó a la marca con hexano grado HPLC
Solución intermedia de OCs en concentración $1 \mu\text{g mL}^{-1}$	Se incorporaron $10 \mu\text{L}$ de OCs (solución $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$) a un matraz aforado de 10 mL y se llevó a la marca con hexano grado HPLC
Punto "1" $0.10 \mu\text{g mL}^{-1}$	Se incorporaron $100 \mu\text{L}$ de la solución intermedia de OCs y $500 \mu\text{L}$ de la solución intermedia de EI a un matraz aforado de 1 mL y se llevó a la marca con hexano grado HPLC
Punto "2" $0.25 \mu\text{g mL}^{-1}$	Se incorporaron $250 \mu\text{L}$ de la solución intermedia de OCs y $500 \mu\text{L}$ de la solución intermedia de EI a un matraz aforado de 1 mL y se llevó a la marca con hexano grado HPLC
Punto "3" $0.50 \mu\text{g mL}^{-1}$	Se incorporaron $500 \mu\text{L}$ de la solución intermedia de OCs y $500 \mu\text{L}$ de la solución intermedia de EI a un matraz aforado de 1 mL
Punto "4" $0.75 \mu\text{g mL}^{-1}$	Se incorporaron $750 \mu\text{L}$ de la solución intermedia de OCs a un matraz aforado de 1 mL y se redujo el volumen a menos de $500 \mu\text{L}$ con calentamiento suave ($45 \text{ }^\circ\text{C}$) y corriente de nitrógeno, se añadieron $500 \mu\text{L}$ de la solución intermedia de EI y se llevó a la marca con hexano grado HPLC
Punto "5" $1 \mu\text{g mL}^{-1}$	Se transfirieron $1000 \mu\text{L}$ de la solución intermedia de OCs a un matraz aforado de 1 mL y se redujo el volumen a menos de $500 \mu\text{L}$ con calentamiento suave ($45 \text{ }^\circ\text{C}$) y corriente de nitrógeno, se añadieron $500 \mu\text{L}$ de la solución intermedia de EI y se llevó a la marca con hexano grado HPLC

La identidad de cada pico se determinó analizando la solución intermedia de OCs operando el espectrómetro de masas en modo SCAN (detección en modo de barrido total del espectro de masas) de 50 a 550-m/z y comparando los espectros obtenidos con los de la base datos de la biblioteca (NIST-Wiley Mass Spectral Library) incluida en el software del equipo. Los tiempos de retención de los compuestos se determinaron al analizar la serie de soluciones en modo SIM. La respuesta instrumental se evaluó estimando los parámetros básicos de calidad a partir del análisis de regresión de las áreas obtenidas en modo SIM con la serie de soluciones.

7.12. EVALUACIÓN Y CALIBRACIÓN DEL PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS DE PLAGUICIDAS EN HUEVO.

Para evaluar el procedimiento y realizar la calibración para el análisis de los plaguicidas en los huevos de tortuga se deben analizar muestras de referencia con concentraciones conocidas de los analitos, de forma que se tome en consideración el efecto que puede tener la matriz sobre los resultados. Como no fue posible adquirir un material de referencia certificado adecuado se prepararon en el laboratorio muestras de calibración utilizando huevo de gallina (clara y yema) como matriz. Se asume que aunque la composición del huevo de tortuga y el de gallina no es idéntica la similitud es suficiente para el propósito de este trabajo.

7.13. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS DE PLAGUICIDAS EN HUEVO DE GALLINA

Como se describe a continuación se preparó una muestra base con una concentración de cada plaguicida de $0.37 \mu\text{g g}^{-1}$ en base húmeda, equivalente a $1.27 \mu\text{g g}^{-1}$ en base seca, y a partir de ella elaboraron muestras de concentración $0.34 \mu\text{g g}^{-1}$ y $0.66 \mu\text{g g}^{-1}$ de cada plaguicida.

Para preparar la muestra base se pesó el contenido de un huevo de gallina (clara y yema) que resultó de 53.58 g y se le añadieron 1 mL de la mezcla de estándares ($20 \mu\text{g mL}^{-1}$ en hexano). Se mezcló profusamente para incorporar lo más homogéneamente posible los componentes y se dejó reposar durante 30 min. Esta mezcla se liofilizó para eliminar la humedad y el disolvente, obteniendo un peso final de 15.71 g (%H=70.67), con lo que la concentración de cada uno de los plaguicidas en la muestra seca fue de $1.27 \mu\text{g/g}$.

En forma independiente se liofilizaron otros tres huevos de gallina del mismo lote. Uno de ellos se utilizó como blanco para verificar la ausencia de plaguicidas de origen. Con los otros dos se prepararon duplicados de las siguientes mezclas:

a) 147 mg de la muestra liofilizada más 53 mg de la muestra base liofilizada. Se mezcló vigorosamente en un vortex. La mezcla resultante contiene una concentración equivalente a $0.34 \mu\text{g g}^{-1}$ (base seca) de cada uno de los plaguicidas.

b) 96 mg de la muestra liofilizada más 104 mg de la muestra base liofilizada. Se mezcló vigorosamente en un vortex. La mezcla resultante contiene una concentración equivalente a $0.66 \mu\text{g g}^{-1}$ (base seca) de cada uno de los plaguicidas.

Estas muestras de referencia, el blanco y sus duplicados se analizaron según el procedimiento ya descrito. Con los resultados de las áreas se estimaron los parámetros fundamentales de calidad del procedimiento y se hizo la calibración para el análisis de las muestras.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. ÉXITO DE ECLOSIÓN

8.1.1. Exploración inicial de datos

En el **Anexo III**, se encuentran los datos registrados para este estudio en el campamento tortuguero Playa de Ceuta, durante la temporada de anidación 2010 en los meses de junio a diciembre para los tres tipos de nidos empleados (*in situ*, unicel y corral). En la **Tabla 15** se presenta el resumen global de los datos desagregados por mes. Es interesante analizar los datos promedio de huevos por nido, eclosionados por nido y los de éxito de eclosión, medido como porcentaje de huevos eclosionados respecto al número de huevos registrados (**Figura 22**). El tamaño promedio de las nidadas es mayor al inicio de la temporada pero el éxito de eclosión es muy bajo (27%), los valores crecen y tienden a estabilizarse a partir de agosto-septiembre con nidadas de cerca de 50 huevos en promedio y éxito de eclosión entre el 70% y el 80%. Los factores que influyen sobre estos datos son diversos y complejos, están relacionados con cuestiones climáticas (humedad y temperatura), depredación y el manejo de los nidos. En todo caso, se puede concluir que el éxito de eclosión es bueno en general, con un valor promedio para toda la temporada de 70%, con los valores más altos de septiembre en adelante.

Tabla 15. Variables de éxito reproductivo *Lepidochelys olivacea*, durante la temporada de anidación 2010. Playa Ceuta, Sinaloa. Datos desagregados por mes. NN, NH, NE son respectivamente el número total registrado de nidos, huevos y huevos eclosionados. NH/NN y NE/NN corresponden a los valores promedio por nido de huevos registrados y huevos eclosionados, EE es el éxito de eclosión calculado como porcentaje de huevos eclosionados respecto al número de huevos registrados.

	NN	NH	NE	NH/NN	NE/NN	EE
JUN	6	319	87	53	15	27
JUL	31	1780	963	57	31	54
AGO	49	3160	1695	64	35	54
SEP	35	1829	1279	52	37	70
OCT	207	10187	7961	49	38	78
NOV	91	4342	2949	48	32	68
DIC	33	1564	1189	47	36	76
Total	452	23181	16123	51	36	70

En la **Tabla 16** se presentan los datos desagregados por el tipo de manejo de los nidos y se ilustran en la **Figura 23**. El tamaño promedio de la nidada en los huevos que se manejaron en cajas de unicel es menor que el de las que se dejaron *in-situ* o se manejaron en corral. Lo más interesante de esta figura es que se ve claramente que el éxito de eclosión es menor en los huevos que se manipularon para incubarlos en cajas de unicel, casi la mitad que el porcentaje de eclosión de los nidos que se incubaron en condiciones ambientales. En la muestra de nidos utilizada para este trabajo el número de huevos que se manejaron en corral es 20 veces mayor que los que se manejaron *in-situ* y casi 5 veces mayor que los que se incubaron en cajas de unicel, por lo tanto, los datos de la **Tabla 15** y la **Figura 22** están sesgados hacia los valores de los nidos en corral.

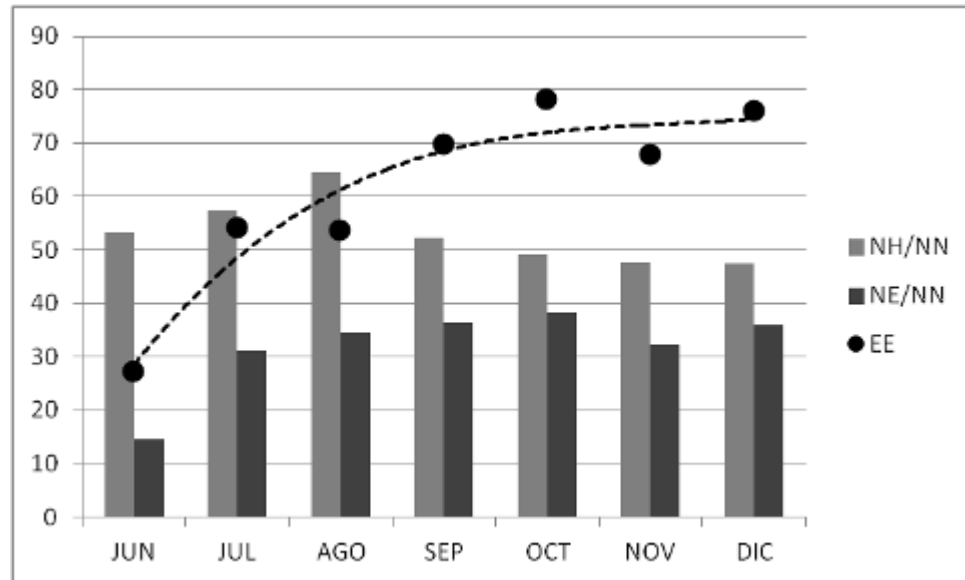


Figura 22. Variación mensual del promedio de huevos registrados por nido (NH/NN), promedio de huevos eclosionados por nido (NE/NN) y porcentaje de éxito de eclosión (EE).

Tabla 16. Variables de éxito reproductivo *Lepidochelys olivacea*, durante la temporada de anidación 2010. Playa Ceuta, Sinaloa. Datos desagregados por el tipo de manejo de los nidos. NNT, NHT, NET son respectivamente el número registrado de nidos, huevos y huevos eclosionados. NHT/NNT y NET/NNT corresponden a los valores promedio por nido de huevos registrados y huevos eclosionados, EET es el éxito de eclosión calculado como porcentaje de huevos eclosionados respecto al número de huevos registrados.

	NNT	NHT	NET	NHT/NNT	NET/NNT	EET
<i>in situ</i>	9	805	567	89	63	70
Unicel	61	3954	1638	65	27	41
Corral	382	18422	13918	48	36	76
Total	452	23181	16123	51	36	70

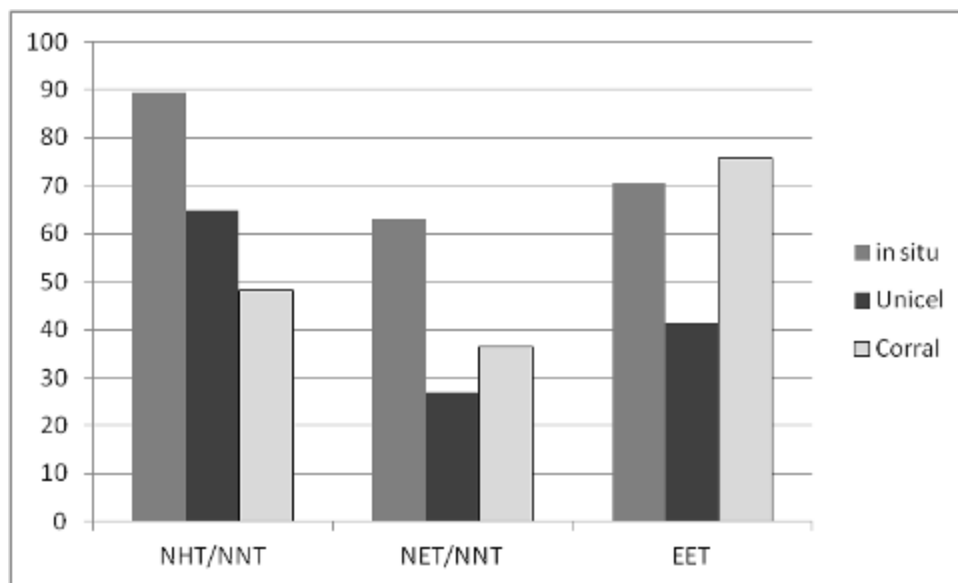


Figura 23. Variación por tipo de manejo del promedio de huevos registrados por nido (NHT/NNT), promedio de huevos eclosionados por nido (NET/NNT) y porcentaje de éxito de eclosión (EET).

Tabla 17. Variables de éxito reproductivo *Lepidochelys olivacea*, durante la temporada de anidación 2010. Playa Ceuta, Sinaloa. Datos desagregados por el tipo de manejo de los nidos y el mes de registro. NNTM, NHTM, NETM son respectivamente el número registrado de nidos, huevos y huevos eclosionados. NHTM/NNTM y NETM/NNTM corresponden a los valores promedio por nido de huevos registrados y huevos eclosionados, EETM es el éxito de eclosión calculado como porcentaje de huevos eclosionados respecto al número de huevos registrados.

	NNTM			NHTM			NETM		
	<i>in situ</i>	Unicel	Corral	<i>in situ</i>	Unicel	Corral	<i>in situ</i>	Unicel	Corral
JUN		6			319			87	
JUL	1	26	4	93	1530	157	78	751	134
AGO		24	25		1878	1282		667	1028
SEP	1		34	151		1678	68		1211
OCT	4		203	314		9873	189		7772
NOV	2	1	88	173	41	4128	162	36	2751
DIC	1	4	28	74	186	1304	70	97	1022
	NHTM/NNTM			NETM/NNTM			EETM		
	<i>in situ</i>	Unicel	Corral	<i>in situ</i>	Unicel	Corral	<i>in situ</i>	Unicel	Corral
JUN		53			15			27	
JUL	93	59	39	78	29	34	84	49	85
AGO		78	51		28	41		36	80
SEP	151		49	68		36	45		72
OCT	79		49	47		38	60		79
NOV	87	41	47	81	36	31	94	88	67
DIC	74	47	47	70	24	37	95	52	78

Para analizar los efectos tanto de la temporada como del tipo de manejo es necesario desagregar los datos en estos dos factores. No es conveniente analizar los datos diferenciándolos por tipo de manejo y por mes (**Tabla 17**) porque se reduce demasiado el tamaño de muestra en algunas categorías, en casi la mitad el tamaño de muestra es menor de 2. Así, se decidió evaluar el efecto de la temporada con solo dos categorías: lluvias (junio a octubre) y poslluvias (noviembre y diciembre), en la **Tabla 18** se presentan los datos clasificados de esta manera y en la **Figura 24** se ilustran esos resultados. El efecto de la época es menor para los nidos en corral que para los otros manejos. En general, se aprecian diferencias tanto por la época como por la forma de manejo de los nidos, pero los cambios no son siempre en el mismo sentido. Por ejemplo, el éxito promedio de eclosión en poslluvias es mayor que en lluvias para los nidos *in-situ* y en unichel, y lo contrario para los nidos en corral. Posiblemente hay interacciones entre los dos factores considerados: época y manejo de los nidos. El análisis y evaluación de las observaciones anteriores requiere de herramientas estadísticas como se describe en la siguiente sección.

Tabla 18. Variables de éxito reproductivo *Lepidochelys olivacea*, durante la temporada de anidación 2010. Playa Ceuta, Sinaloa. Datos desagregados por el tipo de manejo de los nidos y temporada de lluvias de registro. NNTL, NHTL, NETL son respectivamente el número registrado de nidos, huevos y huevos eclosionados. NHTL/NNTL y NETL/NNTL corresponden a los valores promedio por nido de huevos registrados y huevos eclosionados, EETL es el éxito de eclosión calculado como porcentaje de huevos eclosionados respecto al número de huevos registrados.

	NNTL			NHTL			NETL		
	<i>in situ</i>	Unichel	Corral	<i>in situ</i>	Unichel	Corral	<i>in situ</i>	Unichel	Corral
Luvias	6	56	266	558	3727	12990	335	1505	10145
Poslluvias	3	5	116	247	227	5432	232	133	3773
	NHTL/NNTL			NETL/NNTL			EETL		
	<i>in situ</i>	Unichel	Corral	<i>in situ</i>	Unichel	Corral	<i>in situ</i>	Unichel	Corral
Luvias	93	67	49	56	27	38	60	40	78
Poslluvias	82	45	47	77	27	33	94	59	69

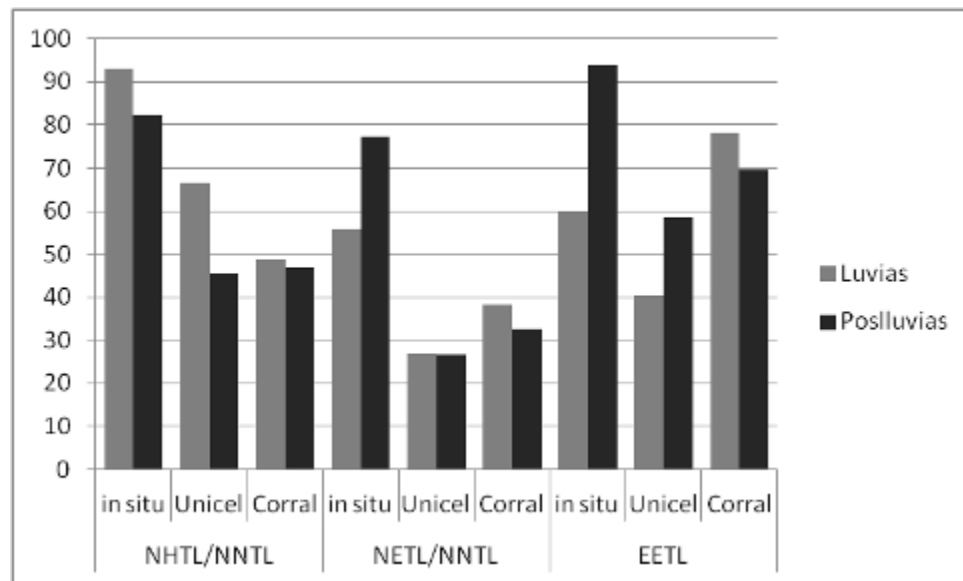


Figura 24. Variación por tipo de manejo y temporada de registro del promedio de huevos registrados por nido (NHTL/NNTL), promedio de huevos eclosionados por nido (NETL/NNTL) y porcentaje de éxito de eclosión (EETL).

8.1.2. Análisis de varianza del efecto de los factores temporada de anidación y tipo de manejo del nido sobre el éxito de eclosión.

Debido a que la variable de respuesta, éxito de eclosión, se expresa en forma de una razón y porque el número de nidos en algunos casos es bajo, **Tabla 20**, se realizó una transformación angular de los datos con la relación $P' = \arcsen\sqrt{P}$. Donde P es la fracción de huevos que eclosionaron (E) respecto al tamaño de la nidada (N), $P=E/N$ (ver transformación de datos en la **Tabla 33** del Anexo III).

A fin de determinar el efecto de los tipos de nidos (*in situ*, unicel y corral) durante la temporada de anidación (lluvias y poslluvias) en el éxito de eclosión se hizo un análisis de varianza (ANOVA). El modelo lineal generalizado fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + E_{ij}$$

Dónde:

I: indica el tipo de manejo del nido (1=*in-situ*, 2=*unicel*, 3=*corral*)

j: indica la temporada de anidación (1=lluvias, 2=poslluvias)

Y_{ij} : es el éxito de eclosión medio estimado del nido de tipo **i** en la temporada **j**, expresado como la transformación P'

μ : media general

A_i : efecto medio del factor A (tipo de nido) **i**

B_j : efecto medio del factor B (época) **j**

AB_{ij} : efecto de la interacción entre el factor A y el factor B

E_{ij} : error aleatorio sobre el modelo.

El modelo permite explorar simultáneamente la relación entre variables categóricas independientes (época del año y tipos de nidos) y la variable dependiente (proporción de eclosión registrada en cada nido durante el tiempo de anidación) y su interacción.

En la **Figura 25** se muestra que la variable transformada P' efectivamente tiene una distribución que se aproxima a una distribución normal y cumple con uno de los supuestos requeridos para la validez de los resultados de ANOVA (todas las pruebas estadísticas y sus gráficos se realizaron con el programa Statistica 6.1). El análisis de residuos, **Figura 26**, muestra que los valores residuales se distribuyen normalmente alrededor de cero, tanto para el conjunto de datos como al interior de cada grupo por lo que se concluye que el error es aleatorio y no hay colinealidad, es decir, existe independencia entre los datos. En la **Figura 27** se presenta la relación entre la varianza de los datos de cada grupo. No se cumple estrictamente con la condición de homogeneidad de varianzas (por ejemplo, se rechaza la hipótesis nula con la prueba de Levene con $p=0.01$). Sin embargo, ANOVA es bastante robusto frente a esta violación de los supuestos de la prueba.

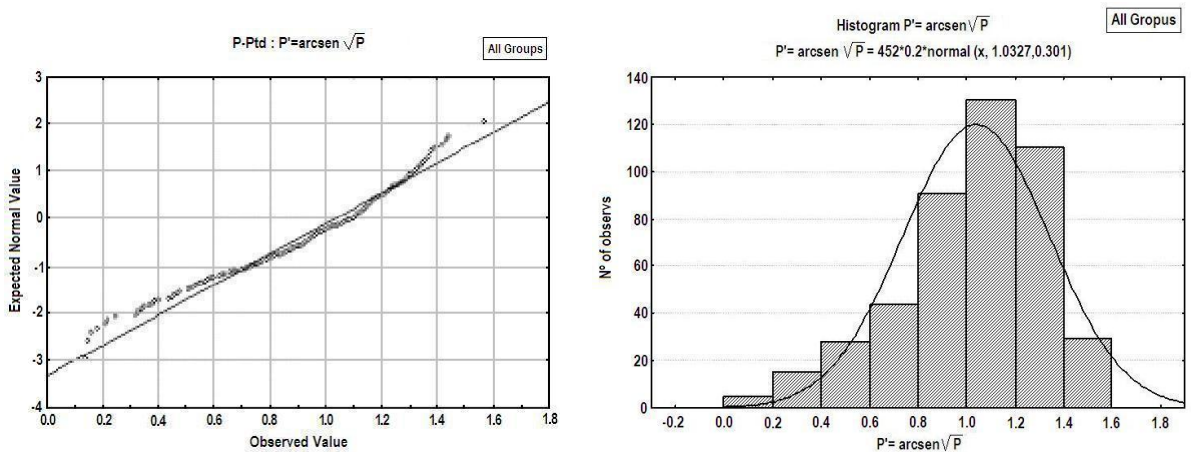


Figura 25. Gráficos de probabilidad normal de los datos transformados con la relación $P' = \arcsen\sqrt{P}$. El gráfico de la izquierda muestra la relación entre los valores experimentales y los esperados para la distribución normal y el de la derecha el histograma de los datos y la distribución normal ajustada.

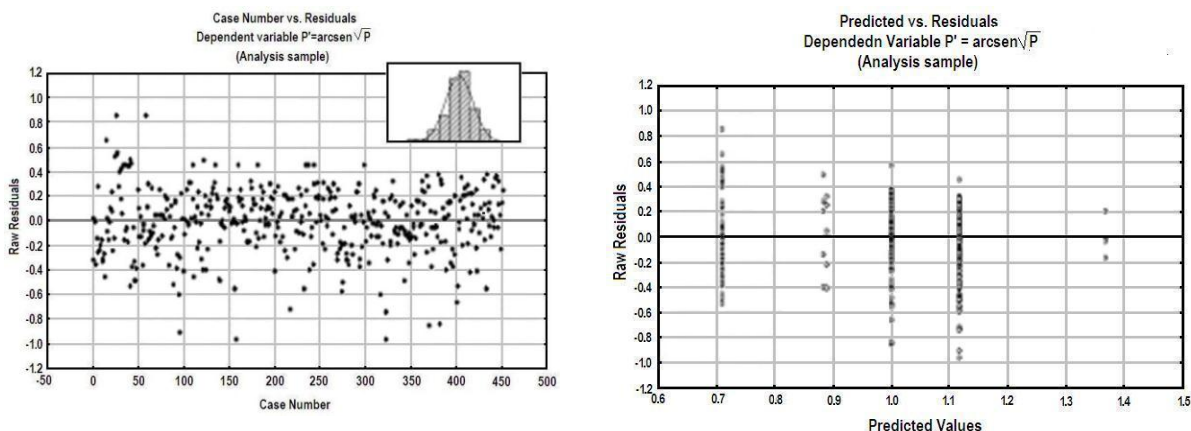


Figura 26. Gráficos de distribución de los residuos. En el gráfico de la derecha se muestran ordenados por el valor medio estimado para cada grupo y en el de izquierda por número de caso que corresponde con la ordenación (tipo de nido)-(época), el recuadro corresponde al histograma de la distribución.

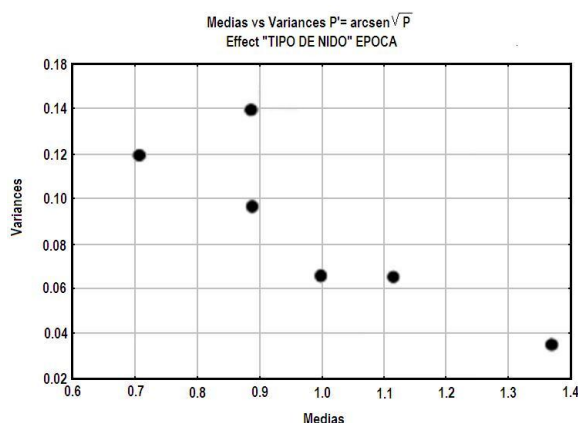


Figura 27. Relación la varianza y la media de los datos de cada grupo transformados con la relación $P' = \arcsen\sqrt{P}$.

Las hipótesis que se probaron en el ANOVA fueron:

1) FACTOR "A" (Tipo de nido)

Hipótesis de nulidad (H_0): No hay efecto de los tipos de nidos (*in situ*, unicel y corral) en el éxito de eclosión.

Hipótesis alterna (H_a): Hay efecto de los tipos de nidos (*in situ*, unicel y corral), en el éxito de eclosión.

2) FACTOR "B" (Época)

Hipótesis de nulidad (H_0): No hay efecto de la época (lluvias y post-lluvias) en el éxito de eclosión.

Hipótesis alterna (H_a): Hay efecto de la época (lluvias y post-lluvias) en el éxito de eclosión.

3) INTERACCIÓN (Tipo de Nido*Época)

Hipótesis de nulidad (H_0): No hay efecto del tipo de nido y la época en el éxito de eclosión.

Hipótesis alterna (H_a): Hay efecto del tipo de nido y la época en el éxito de eclosión.

Los resultados del análisis de varianza de dos factores con interacción se muestran en la **Tabla 19**. Se concluye que hay diferencias significativas entre los grupos tanto por efecto del tipo de manejo de los nidos, como por la época de anidación y que hay interacción entre ambos factores.

Tabla 19. Resultados del ANOVA univariado. SC es la suma de cuadrados, GL los grados de libertad, CM el cuadrado medio, F valor calculado de la variable de contraste y p la probabilidad asociada al valor de F.

Prueba de significancia univariada para $P' = \arcsen\sqrt{P}$					
Parametrización sigma-restringida					
Descomposición efectiva de hipótesis					
Efecto	SC	GL	CM	F	p
Intercepto	48.84534	1	48.84534	671.1936	0.000000
Tipo de nido	1.21742	2	0.60871	8.3644	0.000272
Epoca	0.41308	1	0.41308	5.6762	0.017614
Tipo de nido*epoca	1.04974	2	0.52487	7.2123	0.000827
Error	32.45713	446	0.07277		

Los resultados se ilustran con los gráficos de la **Figura 28**. Se ve claramente que la diferencia significativa por la forma de manejo de los nidos se debe a que la incubación en cajas de unicel provoca un disminución en el éxito de eclosión, que en la temporada de poslluvias el porcentaje de huevos que eclosionan es mayor, que las diferencias por época de anidación no son significativas cuando la incubación se hace en cajas de unicel y que el mayor éxito de eclosión ocurre con los nidos “in-situ” en la temporada de poslluvias.

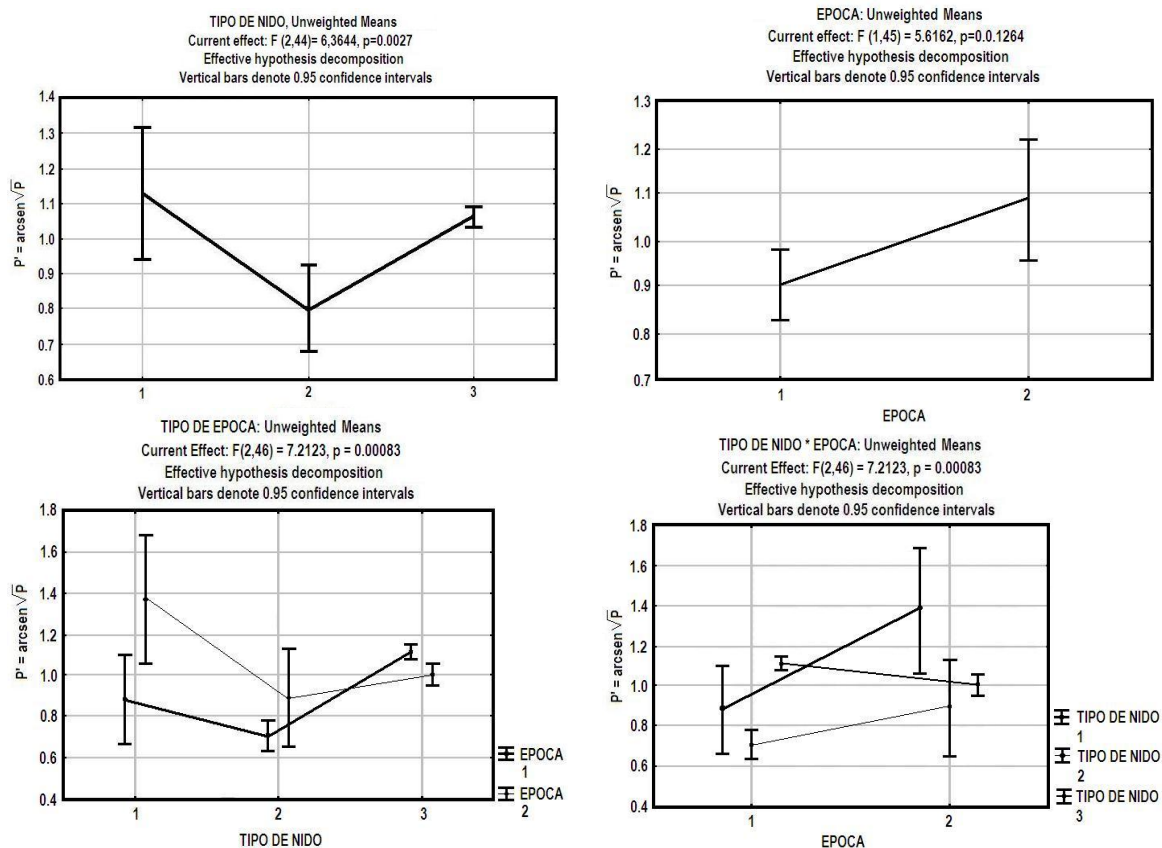


Figura 28. Gráficos del efecto de los factores sobre el éxito de eclosión. En la parte superior se muestra la influencia de los factores manejo del nido y temporada de anidación y en la parte inferior la interacción entre ambos. Tipo de nido: 1, *in situ*; 2, unicel y 3, corral. Época: 1, lluvias; 2, poslluvias.

En la **Tabla 20** se presentan los valores medios de cada categoría representados en la **Figura 43**, expresados en porcentaje de eclosión.

Tabla 20. Valores medios de los datos de éxito de eclosión de la **Figura 28** expresados como porcentaje de eclosión respecto al número de huevos en la categoría.

	<i>in-situ</i>	Unicel	Corral	
Lluvias	60	42	81	62
Poslluvias	96	60	71	78
	82	51	76	

Estos resultados coinciden con los reportados por Márquez (1998), que encontró que el mayor éxito de eclosión en el género *Lepidochelys* ocurre en los meses de septiembre- noviembre debido a que la humedad es un factor físico influyente en el desarrollo embrionario de la tortuga. García *et al.* (2003), encontraron que en los nidos colectados el porcentaje de eclosión suele ser más bajo en que los *in situ*, por lo cual se sugiere que el desplazamiento de nidos es una herramienta de conservación que se justifica en aquellos casos en donde la eclosión natural es amenazada por la caza ilegal, la depredación, erosión de la playa u otros riesgos inminentes.

8.2. MALFORMACIONES EN LAS CRÍAS.

Durante el muestreo, se examinaron aleatoriamente algunos huevos que pasado su período de incubación no eclosionaron y se identificaron malformaciones en crías de tortuga golfina, *Lepidochelys olivacea*. Se observó arrinia (ausencia de nariz) en un embrión y su plastrón no cerró completamente durante el desarrollo embrionario (**Figura 29**).



Figura 29. Malformaciones en cría de tortuga golfina, *Lepidochelys olivacea*

En el campamento tortuguero Ceuta, Sinaloa se reportan, además, crías albinas, con ciclopia (un solo ojo), con rostro deforme, ciegas, siamesas, con anoftalmia (sin desarrollo de globos oculares), prognatismo (deformación de la mandíbula) y malformaciones corporales como aletas pequeñas, ausencia del rostro o del cerebro, dos caparzones y crías con medio cuerpo.

8.3. PLAGUICIDAS ORGANOCOLORADOS

Como se mencionó en la sección de metodología, se seleccionó un procedimiento de análisis relativamente simple, rápido y de bajo consumo de disolventes. Se realizaron pruebas para evaluar las características básicas de calidad del procedimiento con los resultados que se muestran a continuación.

8.3.1. Evaluación de la respuesta instrumental

Para la separación cromatográfica se seleccionaron condiciones de operación de uso muy general para este tipo de análisis. En la **Figura 30** se muestra un cromatograma de la mezcla de estándares y en la **Tabla 21** se presentan los tiempos de retención. La resolución en general es buena y el tiempo del análisis cromatográfico es de 45 minutos, lo que permite analizar 8 muestras en una jornada de trabajo. La identidad de los compuestos se confirmó con base en el espectro de masas obtenido al analizar la mezcla de estándares en modo SCAN.

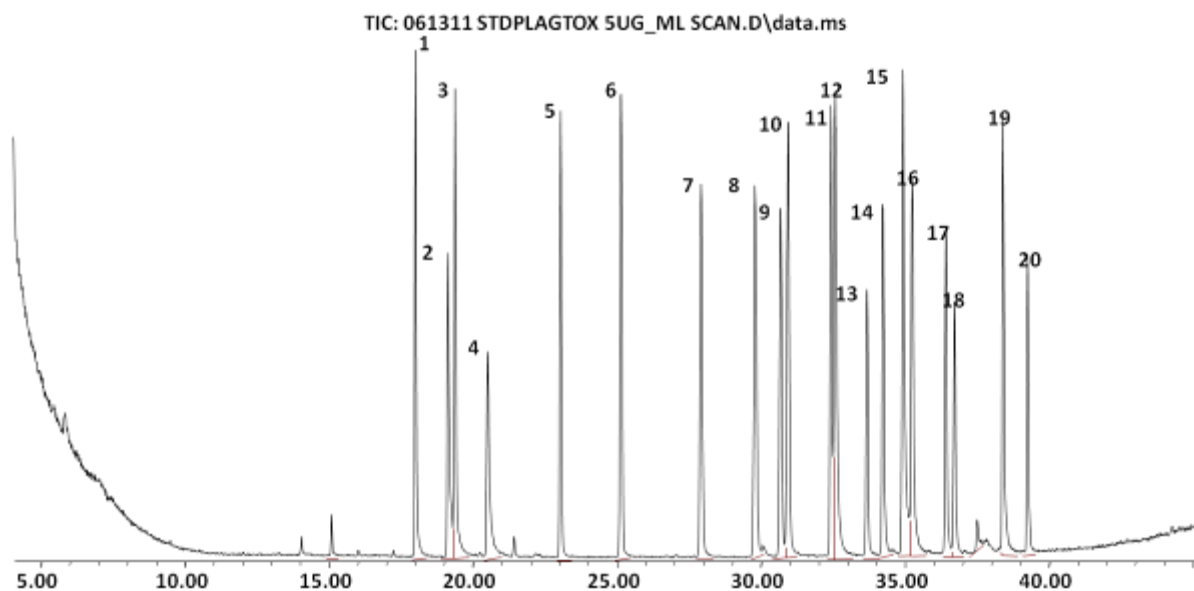


Figura 30. Cromatograma de la mezcla de estándares de plaguicidas organoclorados en concentración de 5 mg mL⁻¹. Las condiciones son las que señalan en la Tabla 12. El detector de masas operado en modo SCAN y la identidad de los picos es la que se muestra en la Tabla 21.

Tabla 21. Tiempos de retención de los plaguicidas organoclorados analizados. Las condiciones cromatográficas son las que se indican en la **Tabla 12 y 13**.

Pico	Compuesto	tr(min)
1	α -HCH	18.02
2	β -HCH	19.16
3	γ -HCH (Lindano)	19.40
4	δ -HCH	20.53
5	Heptacloro	23.06
6	Aldrín	25.15
7	Heptacloro epóxido (isómero B)	27.92
8	trans-Clordano	29.80
9	α -Endosulfán (Endosulfán I)	30.69
10	cis-Clordano	30.95
11	Dieldrín	32.45
12	4,4'- DDE (p,p'-DDE)	32.60
13	Endrín	33.70
14	β -Endosulfán (Endosulfán II)	34.26
15	4,4'-DDD (p,p'-DDD)	34.94
16	Endrín aldehído	35.26
17	Endosulfán sulfato	36.43
18	4,4'-DDT (p,p'-DDT)	36.74
19	Endrín cetona	38.44
20	Metoxicloro	39.28

Los parámetros de calidad de la respuesta instrumental se evaluaron a partir del análisis de regresión sobre los resultados obtenidos en modo SIM al analizar una serie de soluciones de la mezcla de estándares. Inicialmente se realizó el ajuste lineal con la relación $M = a + b \times A$, donde M es la masa inyectada en ng, A el área del pico en las unidades que proporciona el integrador del equipo y a y b , respectivamente, la ordenada al origen y la pendiente del ajuste lineal. En todos los casos no se puede rechazar la hipótesis de ordenada al origen nula y se hizo nuevamente el ajuste lineal, ahora con la relación $M = b \times A$. Los resultados, que se ilustran en la **Figura 31** se presentan en la **Tabla 22**. La linealidad es buena, los coeficientes de determinación r^2 son superiores a 0.9, en promedio 0.994. La repetibilidad es en promedio de 2.7 %, adecuada para el análisis de trazas. Los límites de decisión y detección son suficientes para los fines de este trabajo, pues son, respectivamente, inferiores a 0.3 y 0.5 ng, lo que en principio permitiría detectar en las muestras concentraciones menores a 2.5 ng g⁻¹ en base seca, equivalente a 0.45 ng g⁻¹ en base húmeda.

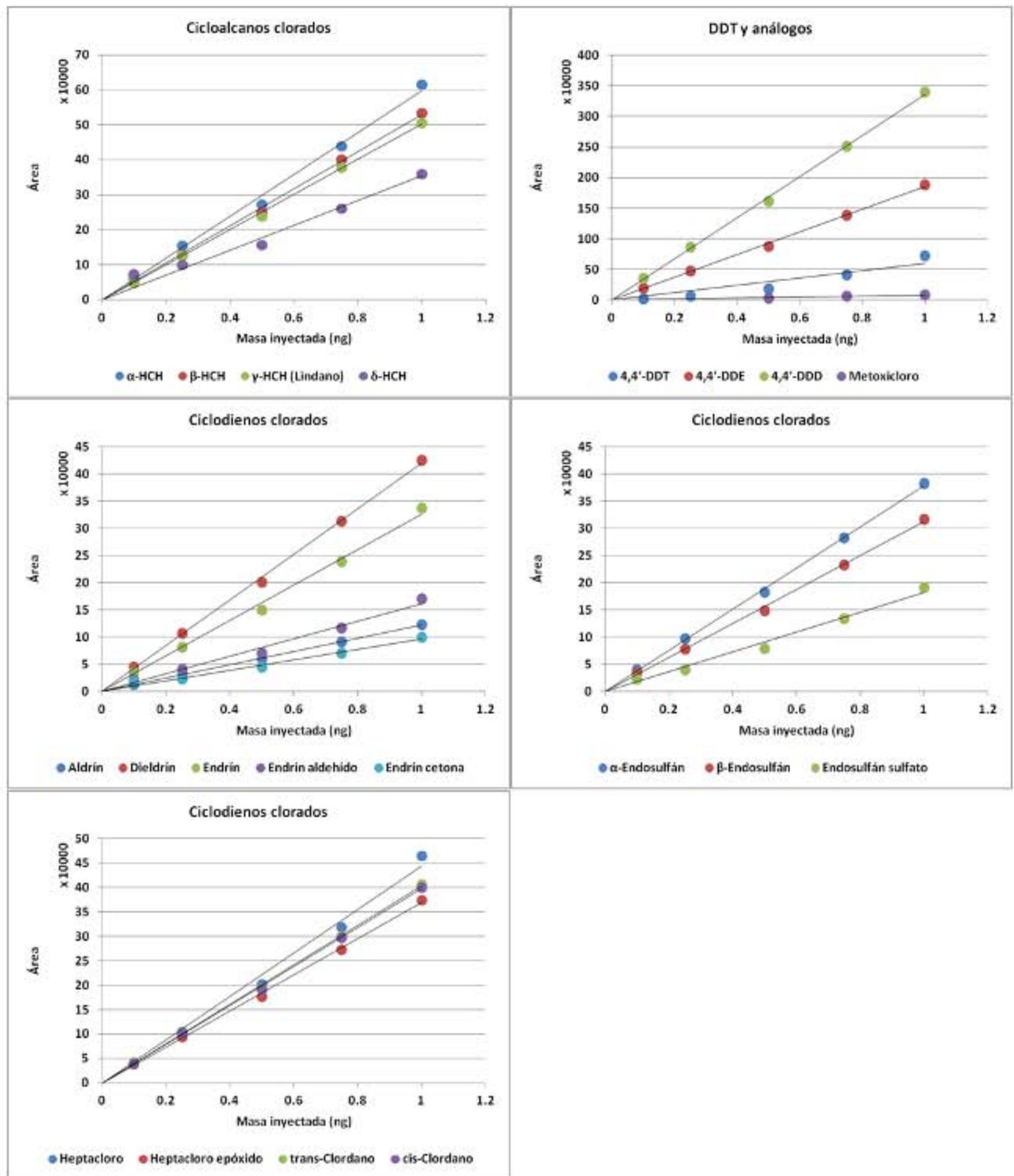


Figura 31. Relación área vs masa inyectada de los estándares de plaguicidas organoclorados en las condiciones de análisis descritas en la (sección 7.10).

Tabla 22. Parámetros de calidad de la respuesta instrumental de los POCs estudiados, obtenidos de la regresión por cuadrados mínimos del ajuste de la función $\text{Área} = K \times \text{masa inyectada}$.

	Ld _{0.05} ¹ (ng)	LD _{0.05} ² (ng)	LQ _{10%} ³ (ng)	LQ _{30%} ³ (ng)	Rep (%) ⁴	r ²	n	Intervalo ⁵ (ng)
α-HCH	0.05	0.10	0.49	0.33	2.00	0.995	5	0.1 -1.0
β-HCH	0.02	0.05	0.23	0.15	0.92	0.999	5	0.1 -1.0
γ-HCH (Lindano)	0.02	0.05	0.24	0.16	0.96	0.999	5	0.1 -1.0
δ-HCH	0.10	0.21	1.04	0.69	4.21	0.977	5	0.1 -1.0
Aldrín	0.02	0.04	0.19	0.12	0.76	0.999	5	0.1 -1.0
Dieldrín	0.03	0.05	0.25	0.17	1.03	0.999	5	0.1 -1.0
Endrín	0.05	0.10	0.50	0.33	2.01	0.995	5	0.1 -1.0
Endrín aldehído	0.09	0.18	0.89	0.59	3.61	0.984	5	0.1 -1.0
Endrín cetona	0.09	0.18	0.90	0.60	3.63	0.983	5	0.1 -1.0
α-Endosulfán	0.02	0.04	0.20	0.13	0.81	0.999	5	0.1 -1.0
β-Endosulfán	0.03	0.06	0.29	0.19	1.16	0.998	5	0.1 -1.0
Endosulfán sulfato	0.08	0.16	0.78	0.52	3.15	0.987	5	0.1 -1.0
Heptacloro	0.06	0.11	0.56	0.37	2.25	0.994	5	0.1 -1.0
Heptacloro epóxido	0.03	0.05	0.25	0.17	1.03	0.999	5	0.1 -1.0
trans- Clordano	0.02	0.04	0.21	0.14	0.85	0.999	5	0.1 -1.0
cis-Clordano	0.02	0.04	0.20	0.13	0.80	0.999	5	0.1 -1.0
4,4'-DDT	0.16	0.32	1.59	1.06	6.45	0.947	5	0.1 -1.0
4,4'-DDE	0.03	0.06	0.28	0.19	1.15	0.998	5	0.1 -1.0
4,4'-DDD	0.02	0.05	0.23	0.15	0.94	0.999	5	0.1 -1.0
Metoxicloro	0.11	0.21	1.06	0.70	2.47	0.967	3	0.5 - 1
Promedio	0.06	0.12	0.61	0.41	2.67	0.994		

¹ Límite de decisión: cantidad equivalente a una respuesta instrumental que tiene una probabilidad menor a 0.05 de ser parte del ruido.

² Límite de detección: cantidad que produce una respuesta instrumental que tiene una probabilidad menor a 0.05 de ser inferior al límite de decisión.

³ Límite de cuantificación: cantidad que puede determinarse con una precisión del 10% o 30%.

⁴ Repetibilidad: promedio de los residuales de la regresión expresado como porcentaje del valor promedio de la variable dependiente (y): $\frac{100 \times \sqrt{sse}}{\bar{y} \times n}$ donde **sse** es la suma de los cuadrados de los residuales y **n** el número de datos.

⁵ Intervalo de la cantidad de analito utilizado para el análisis de regresión.

8.3.2. Evaluación del procedimiento de análisis

Para evaluar la calidad general de todo el procedimiento de análisis se prepararon muestras de calibración en una matriz de huevo de gallina (ver sección 7.13) y se analizaron siguiendo los procedimientos descritos en la sección de metodología, **Figura 32**.

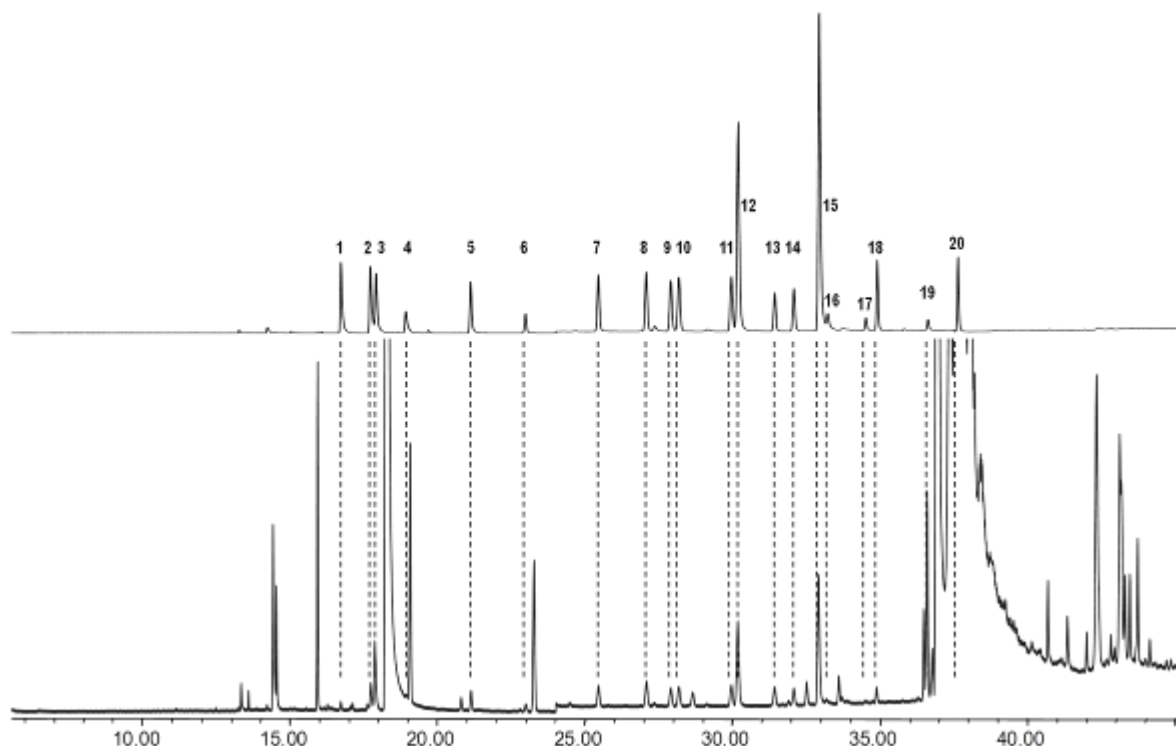


Figura 32. Cromatograma de una muestra de calibración (inferior) preparada por precipitación criogénica y fraccionamiento por extracción en fase sólida. Para la identidad (**Tabla 21**) de los picos se muestra también el cromatograma de la mezcla de estándares (superior).

Se añadió un estándar interno con el fin de corregir los errores que provienen de la manipulación de la muestra después de fraccionarla por extracción en fase sólida, EFS. Como se señaló en la sección de metodología se evaluaron el fenantreno y el criseno. En la **Tabla 23** se muestran los resultados de los coeficientes de variación de las áreas de los dos compuestos en las muestras de calibración y en las muestras de huevo de tortuga. El fenantreno presenta una mejor repetibilidad y se seleccionó como el estándar interno en la cuantificación de las muestras.

Tabla 23. Coeficientes de variación (%) de las áreas cromatográficas de los picos de los compuestos añadidos a las muestras como estándar interno.

Muestras de calibración			Muestras de huevo de tortuga		
<i>Fenantreno</i>	<i>Criseno</i>	<i>n</i>	<i>Fenantreno</i>	<i>Criseno</i>	<i>n</i>
4.3	4.9	3	10.8	22.8	36

En la **Tabla 24**, se presentan los resultados de los parámetros de calidad estimados a partir del análisis de regresión de los resultados del análisis de las muestras de calibración, utilizando el fenantreno como estándar interno y ajustando la regresión a la relación $C = b \times A_{rel}$, donde C es la concentración en $\mu\text{g g}^{-1}$ en la muestra liofilizada, A_{rel} es la razón del área del pico del plaguicida entre el área del estándar interno y b la pendiente estimada. Las características del procedimiento son aceptables para los fines de este trabajo. La repetibilidad es en todos los casos mejor del 10%, medida como coeficiente de variación, y los límites de decisión y detección indican que es posible detectar la presencia de los plaguicidas estudiados en concentraciones del orden de $0.3 \mu\text{g g}^{-1}$ en base seca, equivalente a $0.05 \mu\text{g g}^{-1}$ en base húmeda. Se debe señalar que el endosulfán sulfato no se detecta con el procedimiento seleccionado.

Tabla 24. Parámetros de calidad del procedimiento de análisis de los POCs estudiados, obtenidos de la regresión por cuadrados mínimos del ajuste de la función $C = b \times A_{rel}$. Las concentraciones expresadas con base en la muestra liofilizada.

	Ld _{0.05} ¹ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	LD _{0.05} ² ($\mu\text{g g}^{-1}$)	LQ _{10%} ³ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	LQ _{30%} ³ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Rep (%) ⁴	r ²	n	Intervalo ⁵ ($\mu\text{g g}^{-1}$)
α -HCH	0.38	0.77	4	3	6	0.971	3	0.67 - 1.30
β -HCH	0.23	0.47	2	2	4	0.989	3	0.67 - 1.30
γ -HCH (Lindano)	0.12	0.24	1.21	0.81	1.93	0.997	3	0.67 - 1.30
δ -HCH	0.50	1.01	5.03	3.36	7.99	0.950	3	0.67 - 1.30
Aldrín	0.40	0.80	4.01	2.67	6.36	0.969	3	0.67 - 1.30
Dieldrín	0.30	0.60	3.00	2.00	4.76	0.982	3	0.67 - 1.30
Endrín	0.26	0.51	2.56	1.70	4.06	0.987	3	0.67 - 1.30
Endrín aldehído	0.49	0.98	4.90	3.27	7.78	0.953	3	0.67 - 1.30
Endrín cetona	0.13	0.26	1.30	0.86	2.06	0.997	3	0.67 - 1.30
α -Endosulfán	0.22	0.44	2.18	1.45	3.46	0.991	3	0.67 - 1.30
β -Endosulfán	0.21	0.42	2.10	1.40	3.34	0.991	3	0.67 - 1.30
Endosulfán sulfato	No / Reporte	No / Reporte	No / Reporte	No / Reporte	No / Reporte	No / Reporte		0.67 - 1.30
Heptacloro	0.19	0.39	1.93	1.28	3.06	0.993	3	0.67 - 1.30
Heptacloro epóxido	0.29	0.58	2.89	1.93	4.58	0.984	3	0.67 - 1.30
trans-Clordano	0.29	0.58	2.88	1.92	4.57	0.984	3	0.67 - 1.30
cis-Clordano	0.20	0.41	2.04	1.36	3.23	0.992	3	0.67 - 1.30
4,4'-DDT	0.17	0.34	1.70	1.13	2.69	0.994	3	0.67 - 1.30
4,4'-DDE	0.24	0.48	2.39	1.60	3.80	0.989	3	0.67 - 1.30
4,4'-DDD	0.22	0.44	2.21	1.48	3.51	0.990	3	0.67 - 1.30
Metoxicloro	0.05	0.10	0.48	0.32	0.54	1.000	2	0.67 - 1.30
Promedio	0.26	0.52	2.58	1.72	4.08	0.984		

¹ Límite de decisión: cantidad equivalente a una respuesta instrumental que tiene una probabilidad menor a 0.05 de ser parte del ruido.

² Límite de detección: cantidad que produce una respuesta instrumental que tiene una probabilidad menor a 0.05 de ser inferior al límite de decisión.

³ Límite de cuantificación: cantidad que puede determinarse con una precisión del 10% o 30%.

⁴ Repetibilidad: promedio de los residuales de la regresión expresado como porcentaje del valor promedio de la variable dependiente (y): $\frac{100 \times \sqrt{sse}}{\bar{y} \times n}$ donde **sse** es la suma de los cuadrados de los residuales y **n** el número de datos.

⁵ Intervalo de la cantidad de analito utilizado para el análisis de regresión.

8.4. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS

8.4.1. Contenido de agua en las muestras recolectadas

En la **Tabla 25** y en la base de datos general del **Anexo IV**, se presentan los resultados de cada una de las muestras analizadas en cuanto al grado de desarrollo y la humedad (%H₂O), excluyendo el cascarón, calculada con la diferencia de peso antes y después de liofilizar. El promedio general de humedad en las muestras analizadas fue de 81.99%.

Tabla 25. Grado de desarrollo (Des.) y humedad (%H₂O) de las muestras recolectadas para el análisis de plaguicidas organoclorados. H indica que se encontraba en la fase inicial y E en fase embrionaria. Mi y Nj indican el número de muestra y el nido. Prom. y DE son el promedio y la desviación estándar.

	N1		N2		N3		N4		N5		N6		N7		N8	
	%H ₂ O	Des.	%H ₂ O	Des.	%H ₂ O	Des.	%H ₂ O	Des.	%H ₂ O	Des.	%H ₂ O	Des.	%H ₂ O	Des.	%H ₂ O	Des.
M1	81.21	H	81.18	H	84.54	E	81.65	H	82.27	H	85.6	E	81.06	E	80.18	H
M2	80.38	H	79.55	H	85.58	E	83.41	H	78.31	H	85.91	H	79.71	H		
M3	80.63	H	78.35	H	82.43	H	86.81	E	77.56	H			82.28	H		
M4	82.19	H	80.72	H	85.66	E	83.53	H	82.39	H						
M5	80.27	H	81.99	H	83.06	H	82.35	H	80.93	H						
M6	80.69	H	79.41	E	80.54	H										
M7					82.98	E										
M8					86.39	E										
Prom.	80.90		80.20		83.90		83.55		80.29		85.76		81.02		80.18	
DE	0.71		1.33		1.98		1.98		2.24		0.22		1.29			
	Todos	H	E													
Prom.	81.99	81.25	84.22													
DE	2.36	1.79	2.60													
n	36	27	9													

Se hizo el ANOVA de factores principales (nido y grado de desarrollo) con la variable transformada $P' = \arcsen\sqrt{P}$. Donde P es la proporción de agua, $P=(\text{peso húmedo}-\text{peso seco})/\text{peso húmedo}$. Se excluyeron del análisis los nidos N6 a N8 por su bajo tamaño de muestra ($n \leq 3$). Como no hay muestras con las dos categorías de desarrollo en los cinco nidos analizados no es posible ver si es significativa la interacción entre los factores. Los resultados que se muestran en la **Figura 33** comprueban que se cumplen satisfactoriamente los supuestos del ANOVA: distribución normal, aleatoriedad de los residuales y varianzas iguales con un nivel de significancia del 95% no se rechaza la hipótesis nula con la prueba de Levene ($p=0.09$). En la **Tabla 26** se presentan los resultados de significancia del ANOVA y en la **Figura 33** se ilustra el efecto de los factores.

La comparación de los nidos N1 a N5 muestra que hay diferencias significativas del %H₂O entre nidos, es mayor para los nidos N3 y N4, que también son los que incluyen la mayor proporción de muestras en fase de desarrollo más avanzado. El grado de desarrollo es el factor principal en el valor de %H₂O, la diferencia entre

medias es significativa al 95%. Esto último es lógico y confirma que la disponibilidad de agua es determinante para el desarrollo de los embriones.

Para confirmar la interacción entre los factores y que el grado de desarrollo es el determinante en el contenido de agua de la muestra se hizo un nuevo ANOVA, ahora considerando únicamente los nidos N2 a N4 que tienen muestras en ambos grados de desarrollo. Los resultados se presentan en la **Tabla 27** y se ilustran en la **Figura 33**, que muestran que en las fases tempranas del desarrollo no hay diferencias significativas entre las muestras de diferentes nidos, pero sí entre etapas del desarrollo.

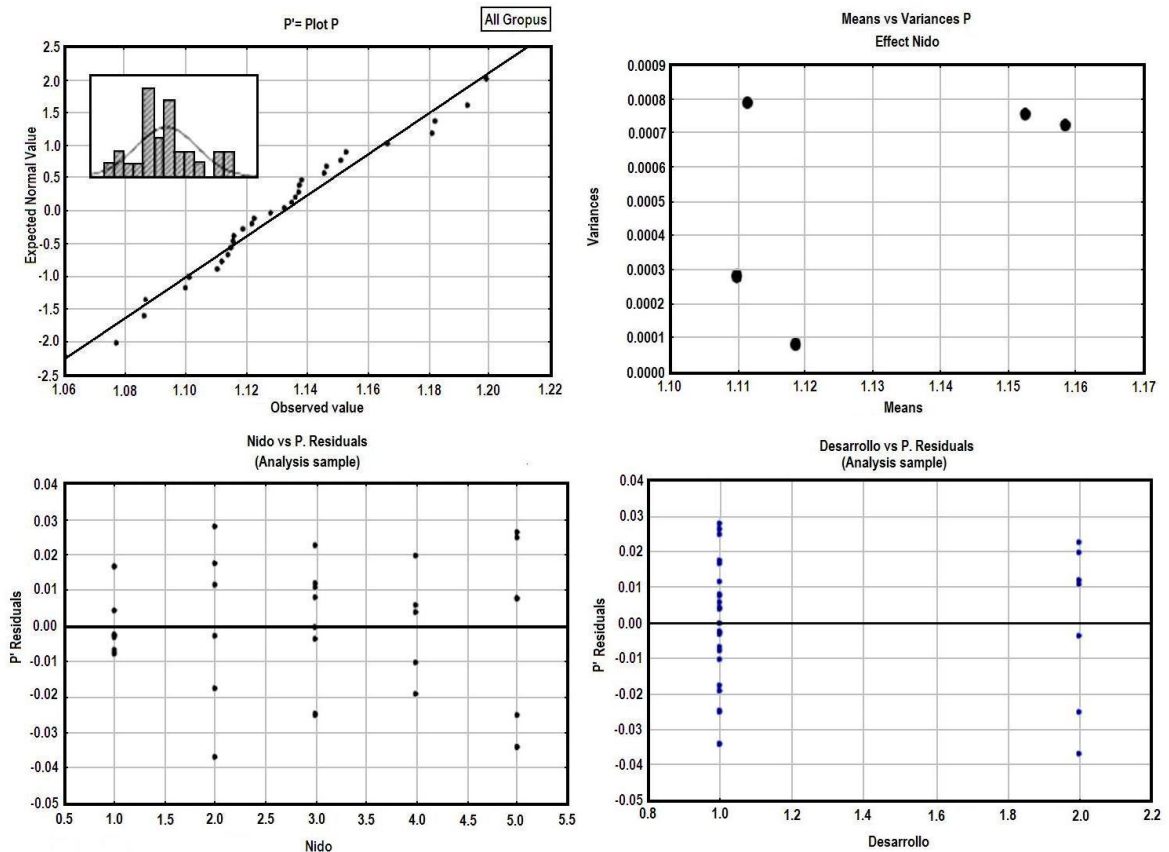


Figura 33. Verificación de los supuestos de normalidad de la distribución y homocedasticidad para el ANOVA de la humedad de las muestras en los nidos N1 a N5. La variable dependiente es la transformación $P' = \arcsen\sqrt{P}$, donde P es la proporción de agua, $P=(\text{peso húmedo}-\text{peso seco})/\text{peso húmedo}$.

Tabla 26. Resultados del ANOVA univariado sobre el contenido de agua de las muestras de los nidos N1 a N5. SC es la suma de cuadrados, GL los grados de libertad, CM el cuadrado medio, F valor calculado de la variable de contraste y p la probabilidad asociada al valor de F.

Prueba de significancia univariada para $P' = \arcsen\sqrt{P}$					
Parametrización sigma-restringida					
Descomposición efectiva de hipótesis					
	SC	GL	CM	F	p
Intercepto	21.56158702	1	21.561587	54765.9353	0
Nido	0.006703938	4	0.00167598	4.25696192	0.00960105
Desarrollo	0.003572419	1	0.00357242	9.0738613	0.0060271
Error	0.009448904	24	0.0003937		

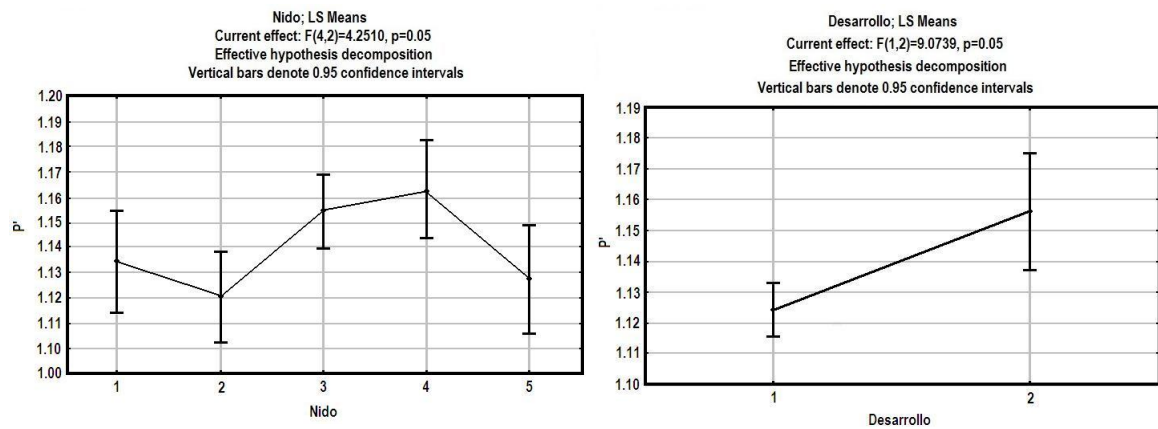


Figura 34. Comparación del efecto del nido (grafico de la izquierda) y entre fases de desarrollo (gráfico de la derecha) del contenido de agua en las muestras de los nidos N1 a N5. 1 corresponde a la fase inicial y 2 a la fase embrionaria. Los puntos corresponden al efecto medio de la categoría y las barras a los intervalos de confianza al 95%.

Tabla 27. Resultados del ANOVA sobre el contenido de agua de las muestras de los nidos N2 a N5. SC es la suma de cuadrados, GL los grados de libertad, CM el cuadrado medio, F valor calculado de la variable de contraste y p la probabilidad asociada al valor de F.

Prueba de significancia univariada para $P' = \arcsen\sqrt{P}$					
Parametrización sigma-restringida					
Descomposición efectiva de hipótesis					
Efecto	SC	GL	CM	F	p
Intercepto	82580.8829	1	82580.8829	51122.5214	
Nido	44.3992	2	22.1996	13.7429	0.0006
Desarrollo	12.6656	1	12.6656	7.8407	0.01503
Nido*Desarrollo	12.2826	2	6.1413	3.8018	0.0501
Error	20.9996	13	1.6154		

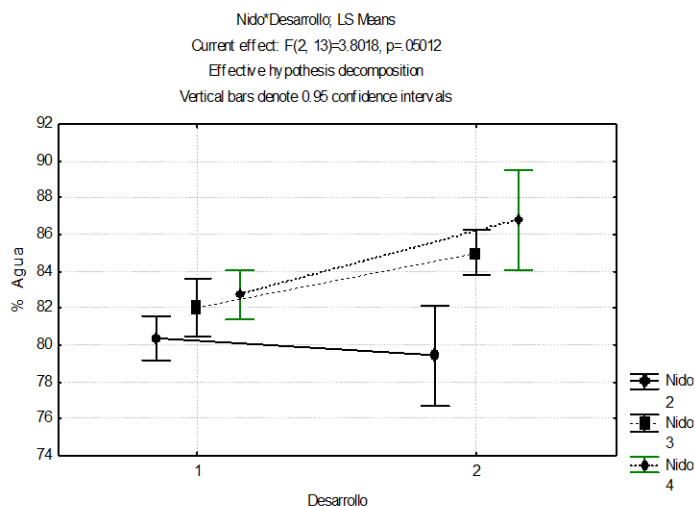


Figura 35. Interacción de los efectos del nido y entre fases de desarrollo en el contenido de agua en las muestras de los nidos N2 a N4. 1 corresponde a la fase inicial y 2 a la fase embrionaria. Los puntos corresponden al efecto medio de la categoría y las barras a los intervalos de confianza al 95%.

Aún con las limitaciones por las restricciones impuestas al muestreo, solo se autorizó a coleccionar muestras de huevos no eclosionados, se comprueba que la cantidad de agua en los huevos de tortuga aumenta conforme avanza el desarrollo embrionario y por lo tanto la importancia que tiene que durante la incubación dispongan con un abasto suficiente de la humedad ambiental.

8.4.2. Concentración de plaguicidas organoclorados.

En la base de datos general del **Anexo IV** se encuentran los resultados en base húmeda obtenidos en el análisis de plaguicidas organoclorados en las muestras de huevo de tortuga. Solo se reportan los plaguicidas que fueron detectados en al menos una de las muestras. La frecuencia con que se detectaron fue: los hexaclorociclohexanos β y γ (lindano), 100%; 4,4'-DDE, 31%; endrín, 19%; endrín cetona, 17%; α -endosulfán, 11%; 4,4'-DDD, 11%; endrín aldehído, 8%; heptacloro, 6%; trans-clordano, 3% y metoxicloro, 3%. En tanto que α -HCH, δ -HCH, aldrín, dieldrín, β -endosulfán, endosulfán sulfato, heptacloro epóxido, cis-clordano y 4,4'-DDT no se detectaron en ninguna muestra.

En la **Tabla 28** se presentan los datos estadísticos descriptivos básicos agrupados por plaguicida, considerando únicamente aquellos que fueron detectados en al menos una muestra. Los resultados están en base húmeda, considerando únicamente la yema y la clara. No sorprende que los plaguicidas en mayor concentración sean lindano, β -hexaclorociclohexano y endosulfán pues no hace muchos años su uso era permitido, fue en 2009 que se emitió prohibición internacional sobre el uso de lindano en la agricultura en el marco del Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes y en 2011 para el endosulfán. Tampoco es extraño que en orden de concentración media siga el endrín y sus metabolitos pues es un plaguicida que aún se utiliza en varios países. Aunque no se detectó DDT en ninguna muestra sí se encontraron sus metabolitos y el metoxicloro que es un análogo. Las concentraciones medias no son particularmente elevadas ($\leq 0.3 \mu\text{g g}^{-1}$) si se comparan con los valores reportados en otros trabajos (ver **Tabla**

29), pero hay que resaltar que el DDE se detectó en casi un tercio de las muestras. Estos niveles de concentración no se consideran particularmente tóxicos y por lo tanto responsables directos de la muerte de las crías, ya que no se excedieron en ningún caso las concentraciones que la FDA (Administración de Alimentos y Drogas de Estados Unidos) establece como límite peligroso ($2 \mu\text{g g}^{-1}$ de tejido húmedo).

Los resultados indican que no hay evidencia firme para relacionar la inviabilidad de los huevos analizados con los plaguicidas organoclorados, las concentraciones son similares e incluso menores que las que se han reportado en otros estudios (**sección 2.9.1**). No pueden descartarse efectos adversos en las crías por un posible efecto sinérgico de la combinación de plaguicidas en cada muestra y por la exposición crónica de las tortugas a estos compuestos, sobre todo durante las fases tempranas de desarrollo de los embriones, ya que es un momento en el que los efectos tóxicos pueden ser más severos. Es difícil concretar con precisión el efecto potencial y crónico de los plaguicidas organoclorados en los niveles mencionados por la escasa información toxicológica al respecto.

Tabla 28. Estadística descriptiva de los plaguicidas detectados, considerando el total de muestras analizadas (n=36). Concentraciones expresadas en $\mu\text{g g}^{-1}$ base húmeda.

	N válida	Frecuencia (%)	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	Percentil 25	Percentil 75	DE
β -HCH	30	100	0.98	0.42	0.16	6.44	0.31	0.81	1.56
γ -HCH (Lindano)	30	100	1.53	1.21	0.08	4.39	0.73	2.03	1.12
Endrín	30	19	0.12	0.00	0.00	1.50	0.00	0.00	0.33
Endrín aldehído	30	8	0.12	0.00	0.00	1.63	0.00	0.00	0.41
Endrín cetona	30	17	0.13	0.00	0.00	1.53	0.00	0.00	0.33
α -Endosulfán	30	11	0.17	0.00	0.00	4.48	0.00	0.00	0.82
Heptacloro	30	6	0.03	0.00	0.00	0.82	0.00	0.00	0.15
trans-Clordano	30	3	0.03	0.00	0.00	0.77	0.00	0.00	0.14
4,4'-DDE	30	31	0.03	0.00	0.00	0.22	0.00	0.04	0.05
4,4'-DDD	30	11	0.01	0.00	0.00	0.12	0.00	0.00	0.03
Metoxicloro	30	3	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.01

Tabla 29. Resultados de diversos estudios de plaguicidas organoclorados en las muestras de huevo de tortugas marinas.

Matriz	Especie	Concentración	Estudio
Huevo	<i>Caretta caretta</i>	DDE (de 0.047 y $0.091 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente).	Clark <i>et.al.</i> , en Merritt Island, Florida, en 1980 y 1985.
Huevo	<i>Chelonia mydas</i>	DDE (de $82.3 \pm 8.6 \text{ ng g}^{-1}$)	Van de Merwe, en Heron Island, Pacífico, en 2009.
Huevo	<i>Caretta caretta</i>	Σ DDTs, 67.1 (de 7.88 a 1340 ng g^{-1}).	Alava, en el Suroeste de Florida, en 2006.
Huevo	<i>Chelonia mydas</i>	Σ DDTs, ($83.5 \pm 18.3 \text{ pg g}^{-1}$).	Cuevas <i>et.al.</i> , en Celestún y el Cuyo, Yucatán, México, en el 2003.

Se realizó un ANOVA de efectos principales sobre la suma de las concentraciones de los plaguicidas para eliminar la desviación que produce el tener celdas vacías. Se analizaron los nidos N1 a N5, los nidos N6 a N8 se excluyeron por la escasa cantidad de datos. Se estudió el efecto del nido y del grado de desarrollo. Los resultados se muestran en la **Tabla 30** y la **Figura 36**. El único efecto significativo (90% de significancia) es entre los nidos y no hay ninguna diferencia por grado de desarrollo. Esto permite concluir que los plaguicidas presentes en los huevos provienen de transmisión materna y que no son adquiridos durante el tiempo de incubación en los nidos. Las diferencias entre nidos son el resultado de la historia individual de la hembra que depositó los huevos, por lo tanto los plaguicidas detectados no pueden asociarse a un impacto local sino al efecto combinado de los lugares de alimentación durante la migración de las tortugas.

Tabla 30. Resultados del ANOVA univariado sobre la concentración total de plaguicidas organoclorados en las muestras de los nidos N1 a N5. SC es la suma de cuadrados, GL los grados de libertad, CM el cuadrado medio, F valor calculado de la variable de contraste y p la probabilidad asociada al valor de F.

Prueba de significancia univariada para la suma de las concentraciones de los plaguicidas organoclorados. Parametrización sigma-restringida Descomposición efectiva de hipótesis					
	GL	SC	CM	F	p
Intercepto	1	154.731548	154.731548	58.4723878	6.9534E-08
Nido	4	24.3854983	6.09637457	2.30379378	0.087682
Desarrollo	1	0.22835398	0.22835398	0.08629399	0.77146797
Error	24	63.5095863	2.64623276		
Total	29	98.4229306			

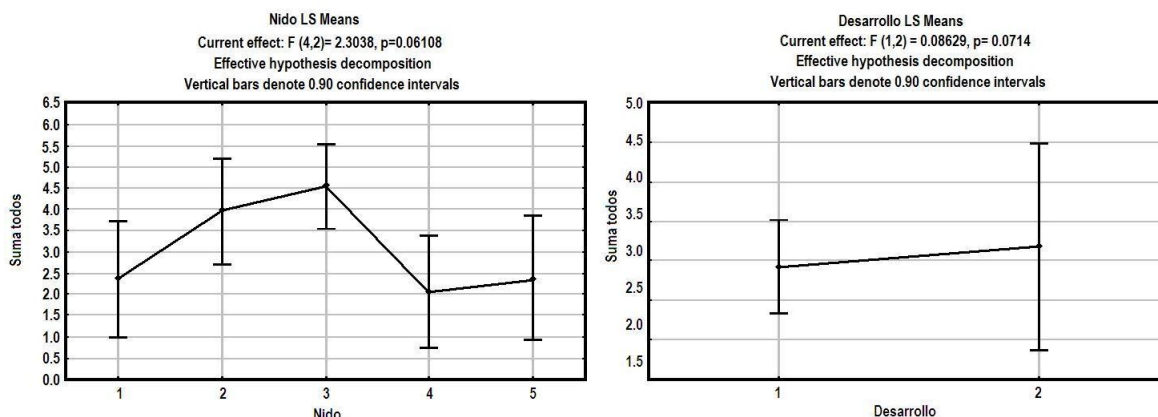


Figura 36. Comparación del efecto del nido (grafico de la izquierda) y entre fases de desarrollo (gráfico de la derecha) de la concentración total de plaguicidas detectados en las muestras de los nidos N1 a N5. 1 corresponde a la fase inicial y 2 a la fase embrionaria. Los puntos corresponden al efecto medio de la categoría y las barras a los intervalos de confianza al 90%.

9. CONCLUSIONES

La forma de manejo de los nidos durante la temporada de anidación 2010 en el campamento tortuguero de Playa Ceuta en el Golfo de California influyó significativamente en el éxito de eclosión de la tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*). La manipulación de los huevos y las condiciones de incubación provocan que los nidos que se manejaron en cajas de unicel tengan el éxito de eclosión más bajo (41%), en tanto que los que se preservaron en condiciones más naturales en corral o *in situ* tuvieron un promedio general de 76% y 70% respectivamente, que no difieren de los reportados, por ejemplo del 78% para la zona costera de Michoacán (García Romero 2007). No existe entonces un problema específico al lugar del estudio.

El éxito de eclosión varía a lo largo de la temporada y los porcentajes más altos se presentan a partir de septiembre alcanzando valores promedio por encima del 75%. Los valores más altos se registraron para los nidos *in situ* en los meses de noviembre y diciembre (poslluvias) en los que el porcentaje promedio fue mayor al 90%. Esto contrasta con el 71% y 60% del valor medio para esta misma época en los nidos en corral y en unicel. Estos datos confirman lo señalado en estudios similares y deben tomarse en consideración tanto para orientar los esfuerzos de conservación como para investigar sobre la formas de mejorar los procedimientos de manejo que involucran el traslado de los huevos.

El contenido de agua en los huevos es ligeramente superior al 80% y el aumento conforme avanza el desarrollo embrionario confirma la importancia que tiene la disponibilidad adecuada de humedad en la arena que cubre los nidos durante la incubación.

Hay cantidades detectables de plaguicidas organoclorados en los huevos de la tortuga golfina en el campamento tortuguero de Playa Ceuta en el Golfo de California. El lindano y el β - hexaclorociclohexano son los que se encuentran en forma generalizada y en mayor concentración, que en promedio fue de 1.5 y 1 $\mu\text{g g}^{-1}$ y alcanzaron valores de hasta 6 $\mu\text{g g}^{-1}$. También se detectaron en algunas muestras (frecuencia $\leq 17\%$) el endrín y sus metabolitos, el endosulfán y el clordano en concentraciones menores a 0.2 $\mu\text{g g}^{-1}$, el endosulfán en un caso rebasó los 4 $\mu\text{g g}^{-1}$. En el grupo del DDT y análogos el que se detectó con mayor frecuencia (31%) fue el 4,4' DDE en una concentración promedio de 0.03 $\mu\text{g g}^{-1}$ y un valor máximo 0.2 $\mu\text{g g}^{-1}$. Estas concentraciones no son especialmente elevadas en relación a los valores ambientales comunes. Hay diferencias significativas entre nidos en el contenido total de plaguicidas, pero no entre grados de desarrollo diferentes, por lo que se concluye que los plaguicidas detectados provienen de la transmisión materna y que no son adquiridos durante su permanencia en el nido.

Considerando los porcentajes de eclosión y las concentraciones medias de plaguicidas determinadas en este trabajo se puede inferir que estos últimos no son un factor de riesgo significativo para la reproducción de la tortuga golfina en la zona de estudio.

10. BIBLIOGRAFÍA

- ACUÑA, R. 1980.** Aspectos de la fase terrestre de la tortuga lora (*Lepidochelys olivacea*). Tesis M.Sc. en Biología. Universidad de Costa Rica, Escuela de Biología. San José. 115pp.
- ACUÑA-MESEN, R.A. 1989.** Microscopic anatomy of the *Eretmochelys imbricata* eggshell (Linnaeus 1766). *Brenesia*. 31:33-42. Universidad de Costa Rica, Escuela de Biología.
- ADDISON, R.F. 1982.** Organochlorine Compounds and Marine Lipids. *Prog. Lipid*. 21: 47-71.
- ALAM, S.K. & BRIM M.S. 2000.** Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes. *J Environ Sci Health B*. 35: 705-724.
- ALAVA, J.J., KELLER, J.L., KUCKLICK, J.R., WYNEKEN, J., CROWDER, L., & SCOTT, G. 2006.** Loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*) egg yolk concentrations of persistent organic pollutants and lipid increase during the last stage of embryonic development. *Science of the total environmental*. 367: 170-181
- ALBERT, L.A. & BENÍTEZ, J.A. 2005.** Impacto Ambiental de los Plaguicidas en los Ecosistemas Costeros. pp.: 157-176. En: **BOTELLO, A.V., RENDON-VON OSTEN, J., GOLD-BOUCHOT, G. & AGRAZ-HERNÁNDEZ, C. (EDS).** *Golfo de México Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias*. Univ. Autón. de Campeche, Univ. Nal. Autón. de México, Instituto Nacional de Ecología.
- BELITZ, H. & GROSCH, W. 1988.** *Química de los alimentos*. Ed. Acribia. Zaragoza. 1134pp.
- BELTRÁN, M.A., GALLARDO, A.C., MENDIVIL, A.S & NAPSUSIALI, M.S. 1994.** *Contribución al conocimiento de la flora en Playa Ceuta*. Escuela de Biología UAS., Culiacán, Sinaloa; 3pp.
- BOTELLO, A.V., RUEDA, Q., DÍAZ, G. & TOLEDO, A. 2000.** Persistent organochlorine pesticides in coastal lagoons of the subtropical mexican Pacif. *Bull Environment. Contam. Toxicol.*, 64: 394-397.
- CARR, A., 1952.** Handbook of turtles: The Turtles of the United States, Cánada and Baja California. *Comstock Publishing Assoc.* Ithaca, N. Y., 542 pp.
- CUEVAS, E., MALDONADO A. & COBOS, V. 2003.** Determinación de DDT y DDE en huevos de tortuga blanca (*Chelonia mydas*) y de tortuga de carey (*Eretmochelys imbricata*), en la costa de Yucatán, México. *Océanides*, 18(2):87-92.
- CUPUL- MAGAÑA, FABIO GERMÁN, ARANDA- MENA & OSCAR SAÚL. 2005.** Éxito de eclosión del cocodrilo americano (*Crocodylus acutus*) y la tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*) en Puerto Vallarta, Jalisco, México. *Rev. Electrónica de Veterinaria REDVET*, ISSN 1695-7504, Vol. VI, nº 10. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101005.html>
- CICOPLAFEST. 2004.** Catálogo Oficial de Plaguicidas. Comisión Intersecretarial para el control y uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas. México, D.F. 624pp.
- CITES, CONVENIO INTERNACIONAL SOBRE COMERCIO DE ESPECIES AMENAZADAS DE FAUNA Y FLORA. 2008.** Apéndices. www.cites.org.

CINU, CENTRO DE INFORMACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS. 2011. Noticia mundial PNUMA: Anuncia retiro del mercado de endosulfan. www.cinu.mx.

CLARK, D.R. & KRYNITSKY, A.J. 1985. *Bull Environ Contam Toxicol.* 34:121-125.

CLARK, D.R. & KRYNITSKY, A.J. 1980. *Pestic Monit J.* 14: 121-125.

COBB, G.P. & WOOD, P.D. 1997. *Chemosphere.* 34: 539-549.

CONANP, COMISIÓN NACIONAL DE ÁREAS NATURALES PROTEGIDAS & SEMARNAT, SECRETARÍA DEL MEDIOAMBIENTE Y RECURSOS NATURALES. 2009. Boletín: Ficha de identificación, *Lepidochelys olivacea*. www.conanp.gob.mx

CONANP, COMISIÓN NACIONAL DE ÁREAS NATURALES PROTEGIDAS & SEMARNAT, SECRETARÍA DEL MEDIOAMBIENTE Y RECURSOS NATURALES. 2010. Boletín: Conservación de Tortugas Marinas, con énfasis en *Eretmochelys imbricata*, Camapamento Tortuguero Chenkan, Área de Protección de Flora y Fauna Laguna de Términos. www.conanp.gob.mx

CORNELIUS, S.E. 1982. Status of sea turtles along the Pacific coast of Middle América. Pág 211-219. En: K.A. Bjorndal (ed.), *Biology and Conservation of Sea Turtles*. Smithsonian. Inst. Press, Washington, D.C. 583 pp.

CORSOLINI, S., AURIGI, S., FOCARDI, S. 2000. *Mar Pollut Bull.* 40: 952-960.

DIDIHER, C. & RANDALL, A. 2001. Diagnóstico Regional y Planificación Estratégica para la Conservación de las Tortugas Marinas de Centroamérica: Red Regional para la Conservación de las Tortugas Marinas en Centroamérica. www.latinamericaseaturtles.org.

DÍAZ, B. R. Y ARANDA, M. O. 2001-2002. Programa de protección y conservación de la tortuga marina en Puerto Vallarta, Jalisco. México, 3(1-2):197-201.

DUEÑAS, R.B. 1996. *Las tortugas y sus playas de anidación en México*. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología-UNAM.

DUFFUS, J.H. 1983. *Toxicología ambiental*. Ed.Omega. España.

ECKERT, K. L., BJORNDAL, K. A. ABREU- GROBOIS, F.A. & DONNELLY, M. T. 2000. *Técnicas de investigación y manejo para la conservación de las tortugas marinas*. Pennsylvania: Grupo Especialista en Tortugas Marinas. UICN/CSE, 4: 143-149.

ENCISO-SARACHO, F., BARRAZA-ORTEGA, M.A., SOSA CORNEJO, I., BARRAZA-GONZÁLEZ, A.M., GUARDADO-GONZÁLEZ, I.J. 2010. Evaluation in situ nests of olive ridley (*Lepidochelys olivacea*) in Playa Ceuta, Elota, Sinaloa, México, like effect of the hurricane "Lane". Citado en: ***Proceedings of the twenty-eighth anual symposium on sea turtle biology and conservation***. NOAA Technical Memorandum. Miami, Florida, 312 pp.

EPA, AGENCIA DE PROTECCIÓN AMBIENTAL DE ESTADOS UNIDOS. 2009. Persistent Organic Pollutants: A Global Issue, A Global Response. www.epa.gov.

EPA, AGENCIA DE PROTECCIÓN AMBIENTAL DE ESTADOS UNIDOS. 2007. Method 1699: Pesticides in water, soil, sediment, biosolids, and tissue by HRCG/HRMS. http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/bioindicators/upload/2008_01_03_methods_method_1699.pdf.

FRAZIER, G. & JOHN, 1999. Generalidades de la Historia de Vida de las Tortugas Marinas. *Memorias de la Reunión para la Conservación de Tortugas Marinas en la Región del Gran Caribe: Un Diálogo para el Manejo Regional Efectivo*. (195pp). Santo Domingo, República Dominicana 16-18 Noviembre, 1999.

FRAZIER, W. & WESTHOFF, D. 1993. *Microbiología de los alimentos*. 4ed. Ed. Acribia, Zaragoza. 681pp.

GARCÍA, E. 1988. *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koppen*. México.

GARCÍA ROMERO, M.E., HERNÁNDEZ DUEÑA, S. L.M., GARCÍA CASTAÑEDA, B. & SANTOS SOTO, A. 2007. Protección y Conservación de tortugas marinas en la zona costera de Michoacán, México. *Redalyc*. 15-22.

GARCÍA A., G. CEBALLOS & R.A. 2003. Intensive beach management as an improved sea turtle conservation strategy in México. *Biological Conservation*. 111:253-261.

GARDNER, S.C., PIER D. & WESSELMAN, R. 2003. Organochlorine contaminants in sea turtles from the Eastern Pacific. *Marine Pollution Bulletin*. 46: 1082-1089.

GOLDEN, N.H. & RATTNER, B.A. 2003. Ranking terrestrial vertebrates species for utility in biomonitoring and vulnerability to environmental contaminants. *Environmental Contamination and Toxicology*. 176: 67-136.

GONZÁLEZ-FARIAS, F. 2003. Pesticides in the coastal zone of México. En: **TAYLOR, M.D., KLAINE, S.J., CARVALHO, F.P., BARCELÓ, D. & EVERAARTS, J. (EDS).** *Pesticides Residues in Coastal Tropical Ecosystems. Distribution, fate and effects*. Taylor and Francis, London. Cap. 11: 311-337.

GONZÁLEZ-ARIAS, C. A., ROBLEDO-MARENCO, M.L., MEDINA-DÍAZ, I.M., VELÁZQUEZ-FERNÁNDEZ, J.B., GIRÓN-PÉREZ, M.I., QUINTANILLA-VEGA, B., OSTROSKY-WEGMAN, P., PÉREZ-HERRERA, N.E., ROJAS-GARCÍA, A. E. 2010. Patrón de Uso y Venta de Plaguicidas en Nayarit, México. *Rev. Int. Contam. Ambie*. 26: 221-228.

GÓMARA B., GÓMEZ, G., DÍAZ-PANIAGUA, C., MARCO A. & GONZÁLEZ, M.J. 2007. PCB, DDT, arsenic, and heavy metal (Cd, Cu, Pb, and Zn) concentrations in chameleon (*Chamaeleo chamaeleon*) eggs from Southwest Spain. *Chemosphere*. 68: 25-31.

GUTIÉRREZ, B.C. & DROGUET, M. 2002. La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: Identificación de compuestos causantes de mal olor. *Boletín Intexter (U.P.C)*. 122: 35-41pp.

GUNANIDHI SAHOO, B.K. 2009. Structural changes in olive ridley turtle eggshells during embryonic development. *Herpetological journal*. 19: 143-149.

HARPER D.F., WALDROP C.V., JEFFERS D.R., DUNCAN, D.C. & COBB, P.G. 1999. Organochlorine and Polychlorinated Biphenyl Contamination in Black Neck Stilt (*Himantopus mexicanus*), Eggs from the Savannah and Tybee National Wildlife Refuges. *Chemosphere*. 39 (1): 151-163.

HERMIDA, D. 2009. ¿Qué está pasando con las tortugas marinas del Pacífico Oriental?. UICN, Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza. www.iucn.org.

HIRD, S. 2008. Analysis of Pesticides by Chromatographic Techniques coupled with Mass Spectrometry. En: **TADEO J.L., (EDS).** *Analysis of Pesticides in Food and Environmental Samples.* (59-94). New York.

HOPKINS, W.A. & WINNE, C.T. 2006. Influence of body size on swimming performance of four species of neonatal naticine snakes acutely exposed to a cholinesterase-inhibiting pesticide. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 25: 1208-1213.

ISLAS, G.A. 2008. Distribución de Plaguicidas Organoclorados en agua y sedimento durante la época de secas y lluvias en la Laguna de Agua Brava, Nayarit. *Tesis de Maestría.* Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM. 81pp.

INE, INSTITUTO NACIONAL DE ECOLOGÍA. 2011. Diagnóstico de la Situación del Endosulfán en México. México, 53p. www.ine.gob.mx.

INEGI, INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA Y GEOGRAFÍA. 1990. Monografía del Municipio de Elota, Sinaloa. www.e-local.gob.mx.

IWATA, H., TANABE, S., SAKAI, N., NISHIMURA, A. & TATSUKAWA, R. 1994. Geographical distribution of persistent organochlorines in air, water and sediments from Asia and Oceania, and their implications for global redistribution from lower latitudes. *Environmental Pollution,* 85:15-33.

JEFFREY A. SEMINOFF, ANTONIO RESÉNDIZ-HIDALGO, BEATRIZ JIMÉNEZ RESÉNDIZ, WALLACE J. NICHOLS Y T TODD-JONES. 2012. Tortugas marinas. INE, Instituto Nacional de Ecología. México, D.F. www2.ine.gob.mx/publicaciones/libros/546/cap16.pdf

KENNETH, A. & JOHNSON DÍAZ, J.L. 1993. *Un Tesoro de la Naturaleza: Las tortugas Marinas.* EDAMEX. México.

KERN, M.D. & FERGUSON, M.J. 1997. Gas permeability of alligator eggs and its anatomical basis. *Physiological Zoology.* 70: 530-546.

LAKE, J.L., HAEBLER, R., MCKINNEY, R., LAKE, C.A., SADOVE, S.S. 1994. *Mar Environ Res.* 38: 313-327.

LIMPUS, C.J. 1995. Global overview of the status of marine turtles: a 1995 viewpoint, p.605-609. En: K.A. Bjorndal, *Biology and Conservation of Sea Turtles,* Segunda edición. Smithsonian Institution Press, Washington D.C.

MADHUN, Y.A. & FREED, V.H. 1990. Impact of pesticides on the environment. En: **MC-EWEN & STEPHENSON G.R. (EDS).** *Pesticides in the soil environment.* (429-466). Soil Science Society of America. USA.

MARQUEZ, R. 1990. Sea turtle of the world. An annotated and illustrated catalogue of sea turtle species known to date. *FAO Species Catalog, FAO Fisheries Synopsis 11 (125):*81 pp.

MÁRQUEZ, R. 1996. *Las tortugas marinas y nuestro tiempo.* Fondo de Cultura Económica. México, D.F.

MANZANO, P.M. 2007. Detección de compuestos organoclorados en tortugas marinas varadas en las Islas Canarias y causas de mortalidad. *Tesis doctoral*. Universidad de la Palmas de Gran Canaria, España. 257pp.

MCKENZIE, C., GODLEY, B.J., FURNESS, R.W., WELLS, D.E. 1999. *Mar Environ Res.* 47: 117-135.

MCKIM, J.M., JOHNSON, K.L. 1983. *Bull Environ Contam Toxicol.* 31: 53-60.

MIAO, X., BALAZS, G.H., MURAKAWA, S.K., LI, Q.X. 2001. *Sci Total Environ.* 281: 247-253.

MILLER, J.D. 1997. Reproduction in sea turtles. Pág. 51-80. En: P.L. Lutz y J.A. Musick, *The Biological of Sea Turtles*. CRC Press, Boca Raton, Florida.

MORA, R. 1995. Composición química del huevo de tortuga lora (*Lepidochelys olivacea*) y evaluación de su calidad física y microbiológica durante su almacenamiento. *Tesis Lic.* En Tecnología de Alimentos. Universidad de Costa Rica, Escuela de Tecnología de Alimentos. San José. 69pp.

MORALES RODRÍGUEZ, M.M. & COBOS-GASCA, V.M. 2005. DDT y Derivados en Huevos de la Tortuga de Carey, *Eretmochelys imbricata* (Linnaeus, 1766), en las Costas del Estado de Campeche. En: **BOTELLO A.V., RENDON-VON OSTEN, J., GOLD-BOUCHOT, G. & AGRAZ- HERNÁNDEZ, C. (EDS).** *Golfo de México Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias.* (237-248). México: Univ. Autón. de Campeche, Univ. Nal. Autón. de México, Instituto Nacional de Ecología.

MORALES, Z.F. 2008. Redes institucionales y espacio geográfico: Pautas en el desarrollo regional de la agricultura en Sinaloa, México. Diez años de cambios en el Mundo, en la Geografía y en las Ciencias Sociales, 1999-2008. *Actas del X Coloquio Internacional de Geocrítica*, Universidad de Barcelona, 26-30 de mayo de 2008. www.ub.es/geocrit/-xcol/110.htm

MUSICK, J. A. & LIMPUS, C.J. 1997. Generalidades de la Historia de Vida de las Tortugas Marinas. *Memorias de la Reunión "Conservación de Tortugas Marinas en la Región del Gran Caribe - Un Diálogo para el Manejo Regional Efectivo" IUCN.* Marine Turtle Specialist Group, Santo Domingo, República Dominicana 16-18 Noviembre, 1999.

NATIONAL MARINE FISHERIES SERVICE (NOAA) AND U.S. FISH AND WILDLIFE SERVICE. 1998. Recovery Plan for U.S. Pacific Populations of the Olive Ridley Turtle (*Lepidochelys olivacea*). U.S. Department of the Interior U.S. Fish and Wildlife Service.

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-059-SEMARNAT. 2001. Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres- Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio de listas de especies en riesgo. *Diario Oficial de la Federación D. O. F.*, Miércoles 16 de Marzo de 2002, Segunda sección. pp 1-153.

OMS, ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. 1992. *Consecuencias Sanitarias del Empleo de Plaguicidas en la Agricultura.* Ginebra, Suiza. 128 p.

PHILIP & SMITH. 2007. Contaminant exposure in terrestrial vertebrates. *Environmental Pollution* , 150: 41-64.

PODREKA S., GEORGES A., MAHER B. & LIMPUS C.J. 1998. *Environ Health Perspect.* 106: 185-188.

- PLATT, S.G., RAINWATER, T.R., FINGER, A.G., THORBJARNARSON, J.B., MC-MURRY, S.T. & ANDERSON, T.A. 2006.** Food habits, ontogenetic dietary partitioning, and observations of foraging behaviour of Morelet's crocodile (*Crocodylus moreletii*) in northern Belize. *Herpetological Journal*. 16: 281-290.
- PLATT, S.G., RAINWATER, T.R., SNIDER, S., GAREL, A., ANDERSON, T.A. & MC-MURRY, S.T. 2007.** Consumption of large mammals by *Crocodylus moreletii*: field observations of necrophagy and interspecific kleptoparasitism. *Southwestern Naturalist*. 52: 310-317.
- PLIMMER, J.R. 2001.** Chemistry of pesticides. En: **KRIEGER, R. (ED).** *Handbook of Pesticide Toxicology*. Vol.1. Academic Press, Nueva York: 95-107.
- RAITI, S.J. 2004.** *Manual of Reptiles*. BSAVA, British Small Animal Veterinary Association. Inglaterra.
- RZEDOWSKI, J. 1983.** *Vegetación de México*. Editorial LIMUSA. México.
- SARACHO, F.E. 2009.** La ecología: caza de tortugas y saqueo de nidos. Mazatlán, Sinaloa. FACIMAR-UAS. www.lasecologicas.blogspot.mx.
- SILVA, B.D. & GUERRERO, N.G. 1986.** Estudio del contenido estomacal de la tortuga marina (*Lepidochelys olivacea*), en la costa de Oaxaca, México. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología- Universidad Nacional Autónoma de México*. 13 (2): 121-132.
- SMITH, H.M. & TAYLOR, E.H. 1950.** An annotated check-list and key to the reptiles of México exclusive of the snakes. *Bull. U.S. Natl. Mus.*, 199: 1-253.
- SCHNOOR, J. 1992.** Chemical fate and transport in the environment. En: **SCHNOOR, J. (ED).** Fate of Pesticides & Chemicals in the Environment. (1-24). *Environ. Sci. Tech.* Wiley-Interscience Series. 436 p.
- STORELI, M.M., MARCOTRIGIANO, G.O. 2000.** *Bull Environ Contam Toxicol*. 64: 481-488.
- TADEO, J.L., SANCHEZ, C. & BRUNETE, L. 2008.** *Analysis of Pesticides in food and environmental samples*. Madrid, España, Ed. CRC Press, 382pp.
- THOMPSON, N.P., RANKIN, P.W., JOHNSTON, D.W. 1974.** *Bull Environ Contam Toxicol*. 11: 399-403.
- TORRES, G.P. 2009.** Proyecto de Conservación de Tortugas Marinas en Playa Acayo-Mogote, Chacocente 2008-2009. *Informe técnico*. Conserving Threatened & Ecosystems Worldwide. Nicaragua. 55pp.
- THOMPSON, N.P., RANKIN, P.W. & JOHNSTON, D.W. 1974.** *Bull Environ Contam Toxicol*. 11:399-403.
- THOMPSON, M.B. & SPEAKE, B.K. 2004.** Egg morphology and composition. En: **DEEMING, D.C. (ED).** *Reptilian Incubation: Environment, Evolution and Behaviour*. (45-74). Nottingham University Press, Nottingham, Great Britain.
- TURIEL, E. & MARTÍN, E.A. 2008.** Sample Handling of Pesticides in Food and Environmental Samples. En: **TADEO, J.L.** *Analysis of Pesticides in Food and environmental samples*. (35-58). Madrid, España.
- VAN DE MERWE, J., WHITTIER, J., IBRAHIM, K., HODGE, M. & LEE, S. 2009.** Analysing persistent organic pollutants in eggs, blood and tissue (*Chelonia mydas*) using gas chromatography with tandem mass spectrometry (GC-MS/MS). *Anal Bional Chem*.

VAN DE MERWE, J., HODGE, M., OLSZOWY, H., WHITTIER, J. & KAMARRUDDIN, I., LEE, S. 2009. Chemical Contamination of Green Turtle (*Chelonia mydas*) Eggs in Peninsular Malaysia: Implications for Conservation and Public Health. *Environmental Health Perspectives*. 117 (9): 1397-1401.

VASILYEVA, G.K., GOGOTOVY, I.N. & SUROVTSEVA, E.G. 1992. Adaptation of microorganisms for pesticide degradation. En: **SCHNOOR, J. (ED).** *Fate of Pesticides & Chemicals in the Environment*. (259-273). Environ. Sci. Tech. Wiley-Interscience Series. 436 p.

WARNOCK, N. & SCHWARZBACH, S.E. 1995. Incidental kill of dunlin and killdeer by strychnine. *Journal of Wildlife Diseases*. 31: 566-569.

WAVE, G.W. & WHITACRE, D.M. 2004. *The Pesticide Book: Introducción a los Insecticidas*. 6th ed. Meister Media Worldwide, Willoughby, Ohio. 496pp.

WEISBROD, A.V., SHEA, D., MOORE, M.J. & STEGEMAN, J.J. 2001. Species, tissue and gender-related organochlorine bioaccumulation in white-sided dolphins, pilot whales and their common prey in the Northwest Atlantic. *Mar. Environ. Res.* 51:29-50.

YOLANI A., ROBLES P. & VEGA J.A. 2002. Determinación del porcentaje de emergencia de neonatos en tortuga golfina *Lepidochelys olivacea* (Eschscholtz, 1829) en Islas Cañas, Pacífico Panameño. *Tecnociencia*. Escuela de Biología, CRU-Veraguas-Universidad de Panamá. 9 (2). 12pp.

ANEXOS

I. *Permiso de colecta*

SUBSECRETARÍA DE GESTIÓN
PARA LA PROTECCIÓN AMBIENTAL
DIRECCIÓN GENERAL DE VIDA SILVESTRE

OFICIO NÚM. SGPA/DGVS/ 04990/10
MÉXICO, D. F., A 23 JUN 2010

"2010, Año de la Patria. Bicentenario del Inicio de la Independencia y Centenario del Inicio de la Revolución"

ING. PESQ. AARÓN ESLIMAN SALGADO
GRUPO TORTUGUERO DE LAS CALIFORNIAS, A.C.
GUAHUHTÉMOC No. 155, E/BELISARIO DOMÍNGUEZ Y
FCO. I. MADERO, COL. PUEBLO NUEVO,
C.P. 23060, LA PAZ, BAJA CALIFORNIA SUR
TEL. 01 (612) 1257874
aaron@grupotortugero.org

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 31, fracción VI del Reglamento Interior de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales; 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-050-SEMARNAT-2001, protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestres-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-lista de especies en riesgo; la Dirección General de Vida Silvestre autoriza la licencia de colecta científica 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*) y prieta (*Chelonia mydas*) en áreas de forrajeo de la Península de Baja California, Golfo de California, y el Pacífico Norte de México",

- Colecta de hasta setenta y cinco (75) ejemplares de "tortuga amarilla" *Caretta caretta*, hasta setenta y cinco (75) ejemplares de "tortuga golfinia" *Lepidochelys olivacea*, hasta cien (100) ejemplares de "tortuga carey" *Eretmochelys imbricata* y hasta cincuenta (50) ejemplares de "tortuga prieta" *Chelonia mydas* para obtener: biopsias de piel, muestras de sangre, obtención de datos morfométricos, sexado, muestras de contenido estomacal, fragmentos de tejido escamoso de caparazón. Inmediatamente de obtener las muestras biológicas se procederá a liberar las tortugas marinas en el área de captura (cuando la captura se realice a través de redes de enmalle, esta será durante periodos de 12 a 24 horas revisando las redes cada dos horas).

Continúa al reverso.../ *ml*
Hoja 1 de 3

II. Formato de colecta

Formato de colecta.

Formato de tortugas			
Lugar:	Playa Ceuta, Sin.	Fecha:	
Observadores:			
Especie:	<i>L. olivacea</i>		
Ubicación:		PSL km:	
Lat: N		Lon: W	
Profundidad:		Temp (C):	
Largo curvo (CCL):			
Ancho curvo (CCW):			
Largo recto (SCL):			
Ancho recto (SCW):			
Peso (kg):			
Sexo:	Macho	Hembra	?
Marcas:	Izq:	Der:	
Escaneada metal:	Si	No	
Escaneada PIT:	Si	No	
Variables reproductivas			
Tipo de nido		<i>Insitu</i>	Unicel
<small>(marque una)</small>			Corral
Mes:			
Huevos viables			Crías libera.:
+			
Huevos No viables			Crías muer.:
=			
Total colectados:			Obser.:
Impactos Humanos: (haga un círculo)			
Anzuelo			
Red			
Otro:			
Disposición final (marque una)			
1=	Viva, liberada		
2=	Viva, en cautiverio		
3=	Dejada en Playa		
4=	Dejada en mar		
5=	Otro		
Reseña en el frasco de colecta (HNV)			
Lugar/Día/Mes/Año/Coordenada/Sp y Núm. De frasco			

III. Datos de eclosión

Resultados obtenidos de la proporción de eclosión para cada tipo de nido (1: *in situ*; 2: unicel y 3: corral).
Época 1: Lluvias y 2: Post-lluvias.

							transformación		
ID	TIPO DE NIDO	MES	EPOCA	# HUEVOS	# ECLOSIÓN	P=E/H	\sqrt{P}	$P'=\arccos \sqrt{P}$	%ECLOSIÓN
10	2	1	1	55	8	0.15	0.38	0.39	14.55
11	2	1	1	59	26	0.44	0.66	0.73	44.07
12	2	1	1	58	24	0.41	0.64	0.70	41.38
13	2	1	1	50	6	0.12	0.35	0.35	12.00
14	2	1	1	49	14	0.29	0.53	0.56	28.57
15	2	1	1	48	9	0.19	0.43	0.45	18.75
1	1	2	1	93	78	0.84	0.92	1.16	83.87
16	2	2	1	45	9	0.20	0.45	0.46	20.00
17	2	2	1	46	11	0.24	0.49	0.51	23.91
18	2	2	1	91	25	0.27	0.52	0.55	27.47
19	2	2	1	65	9	0.14	0.37	0.38	13.85
20	2	2	1	59	9	0.15	0.39	0.40	15.25
21	2	2	1	50	9	0.18	0.42	0.44	18.00
22	2	2	1	50	3	0.06	0.24	0.25	6.00
23	2	2	1	49	47	0.96	0.98	1.37	95.92
24	2	2	1	56	19	0.34	0.58	0.62	33.93
25	2	2	1	43	19	0.44	0.66	0.73	44.19
26	2	2	1	48	13	0.27	0.52	0.55	27.08
27	2	2	1	56	23	0.41	0.64	0.70	41.07
28	2	2	1	86	45	0.52	0.72	0.81	52.33
29	2	2	1	112	57	0.51	0.71	0.79	50.89
30	2	2	1	91	59	0.65	0.81	0.94	64.84
31	2	2	1	54	11	0.20	0.45	0.47	20.37
32	2	2	1	58	17	0.29	0.54	0.57	29.31
33	2	2	1	55	49	0.89	0.94	1.23	89.09
34	2	2	1	58	52	0.90	0.95	1.24	89.66
35	2	2	1	38	38	1.00	1.00	1.57	100.00
36	2	2	1	47	43	0.91	0.96	1.27	91.49
37	2	2	1	53	37	0.70	0.84	0.99	69.81
38	2	2	1	46	37	0.80	0.90	1.11	80.43
39	2	2	1	55	45	0.82	0.90	1.13	81.82
40	2	2	1	61	37	0.61	0.78	0.89	60.66
41	2	2	1	58	28	0.48	0.69	0.77	48.28
72	3	2	1	40	40	1.00	1.00	1.57	100.00
73	3	2	1	30	20	0.67	0.82	0.96	66.67
74	3	2	1	37	37	1.00	1.00	1.57	100.00
76	3	2	1	50	37	0.74	0.86	1.04	74.00

42	2	3	1	92	35	0.38	0.62	0.66	38.04
43	2	3	1	98	25	0.26	0.51	0.53	25.51
44	2	3	1	53	44	0.83	0.91	1.15	83.02
46	2	3	1	60	2	0.03	0.18	0.18	3.33
47	2	3	1	81	71	0.88	0.94	1.21	87.65
48	2	3	1	63	54	0.86	0.93	1.18	85.71
49	2	3	1	102	11	0.11	0.33	0.33	10.78
50	2	3	1	104	39	0.38	0.61	0.66	37.50
51	2	3	1	108	5	0.05	0.22	0.22	4.63
52	2	3	1	108	15	0.14	0.37	0.38	13.89
53	2	3	1	86	4	0.05	0.22	0.22	4.65
54	2	3	1	52	5	0.10	0.31	0.32	9.62
55	2	3	1	85	58	0.68	0.83	0.97	68.24
56	2	3	1	74	39	0.53	0.73	0.81	52.70
57	2	3	1	94	28	0.30	0.55	0.58	29.79
58	2	3	1	90	41	0.46	0.67	0.74	45.56
59	2	3	1	104	31	0.30	0.55	0.58	29.81
60	2	3	1	91	10	0.11	0.33	0.34	10.99
61	2	3	1	68	27	0.40	0.63	0.68	39.71
62	2	3	1	64	22	0.34	0.59	0.63	34.38
63	2	3	1	60	15	0.25	0.50	0.52	25.00
64	2	3	1	50	50	1.00	1.00	1.57	100.00
65	2	3	1	43	23	0.53	0.73	0.82	53.49
66	2	3	1	48	13	0.27	0.52	0.55	27.08
77	3	3	1	42	41	0.98	0.99	1.42	97.62
78	3	3	1	53	39	0.74	0.86	1.03	73.58
79	3	3	1	54	37	0.69	0.83	0.98	68.52
80	3	3	1	57	55	0.96	0.98	1.38	96.49
81	3	3	1	37	27	0.73	0.85	1.02	72.97
82	3	3	1	37	27	0.73	0.85	1.02	72.97
83	3	3	1	48	37	0.77	0.88	1.07	77.08
84	3	3	1	44	37	0.84	0.92	1.16	84.09
85	3	3	1	70	43	0.61	0.78	0.90	61.43
86	3	3	1	69	58	0.84	0.92	1.16	84.06
87	3	3	1	38	21	0.55	0.74	0.84	55.26
88	3	3	1	37	25	0.68	0.82	0.96	67.57
89	3	3	1	78	75	0.96	0.98	1.37	96.15
90	3	3	1	68	57	0.84	0.92	1.16	83.82
91	3	3	1	63	53	0.84	0.92	1.16	84.13
92	3	3	1	78	55	0.71	0.84	1.00	70.51
93	3	3	1	38	32	0.84	0.92	1.16	84.21
94	3	3	1	38	31	0.82	0.90	1.13	81.58
95	3	3	1	47	44	0.94	0.97	1.32	93.62
96	3	3	1	47	41	0.87	0.93	1.21	87.23
97	3	3	1	52	48	0.92	0.96	1.29	92.31
98	3	3	1	52	48	0.92	0.96	1.29	92.31

99	3	3	1	49	23	0.47	0.69	0.75	46.94
100	3	3	1	48	40	0.83	0.91	1.15	83.33
101	3	3	1	38	34	0.89	0.95	1.24	89.47
2	1	4	1	151	68	0.45	0.67	0.74	45.03
102	3	4	1	48	33	0.69	0.83	0.98	68.75
103	3	4	1	48	15	0.31	0.56	0.59	31.25
104	3	4	1	59	45	0.76	0.87	1.06	76.27
105	3	4	1	44	40	0.91	0.95	1.26	90.91
106	3	4	1	49	45	0.92	0.96	1.28	91.84
107	3	4	1	58	26	0.45	0.67	0.73	44.83
108	3	4	1	58	32	0.55	0.74	0.84	55.17
109	3	4	1	49	12	0.24	0.49	0.52	24.49
110	3	4	1	46	2	0.04	0.21	0.21	4.35
111	3	4	1	47	25	0.53	0.73	0.82	53.19
112	3	4	1	39	37	0.95	0.97	1.34	94.87
113	3	4	1	65	53	0.82	0.90	1.13	81.54
114	3	4	1	47	20	0.43	0.65	0.71	42.55
115	3	4	1	49	35	0.71	0.85	1.01	71.43
116	3	4	1	49	40	0.82	0.90	1.13	81.63
117	3	4	1	52	42	0.81	0.90	1.12	80.77
118	3	4	1	52	50	0.96	0.98	1.37	96.15
119	3	4	1	54	43	0.80	0.89	1.10	79.63
120	3	4	1	54	42	0.78	0.88	1.08	77.78
121	3	4	1	48	47	0.98	0.99	1.43	97.92
122	3	4	1	48	47	0.98	0.99	1.43	97.92
123	3	4	1	62	51	0.82	0.91	1.14	82.26
124	3	4	1	52	52	1.00	1.00	1.57	100.00
125	3	4	1	39	36	0.92	0.96	1.29	92.31
126	3	4	1	40	15	0.38	0.61	0.66	37.50
127	3	4	1	42	35	0.83	0.91	1.15	83.33
128	3	4	1	45	36	0.80	0.89	1.11	80.00
129	3	4	1	45	40	0.89	0.94	1.23	88.89
130	3	4	1	44	27	0.61	0.78	0.90	61.36
131	3	4	1	43	41	0.95	0.98	1.35	95.35
132	3	4	1	43	28	0.65	0.81	0.94	65.12
133	3	4	1	59	47	0.80	0.89	1.10	79.66
134	3	4	1	60	51	0.85	0.92	1.17	85.00
135	3	4	1	41	21	0.51	0.72	0.80	51.22
3	1	5	1	61	13	0.21	0.46	0.48	21.31
4	1	5	1	75	72	0.96	0.98	1.37	96.00
5	1	5	1	117	91	0.78	0.88	1.08	77.78
6	1	5	1	61	13	0.21	0.46	0.48	21.31
136	3	5	1	37	33	0.89	0.94	1.24	89.19
137	3	5	1	39	23	0.59	0.77	0.88	58.97
138	3	5	1	50	42	0.84	0.92	1.16	84.00
139	3	5	1	48	44	0.92	0.96	1.28	91.67

140	3	5	1	54	48	0.89	0.94	1.23	88.89
141	3	5	1	58	51	0.88	0.94	1.22	87.93
142	3	5	1	58	55	0.95	0.97	1.34	94.83
143	3	5	1	55	53	0.96	0.98	1.38	96.36
144	3	5	1	54	53	0.98	0.99	1.43	98.15
145	3	5	1	54	54	1.00	1.00	1.57	100.00
146	3	5	1	57	57	1.00	1.00	1.57	100.00
147	3	5	1	51	48	0.94	0.97	1.33	94.12
148	3	5	1	51	47	0.92	0.96	1.29	92.16
149	3	5	1	36	13	0.36	0.60	0.64	36.11
150	3	5	1	50	33	0.66	0.81	0.95	66.00
151	3	5	1	60	21	0.35	0.59	0.63	35.00
152	3	5	1	56	44	0.79	0.89	1.09	78.57
153	3	5	1	48	39	0.81	0.90	1.12	81.25
154	3	5	1	48	37	0.77	0.88	1.07	77.08
155	3	5	1	51	45	0.88	0.94	1.22	88.24
156	3	5	1	51	39	0.76	0.87	1.06	76.47
157	3	5	1	45	41	0.91	0.95	1.27	91.11
158	3	5	1	41	38	0.93	0.96	1.30	92.68
159	3	5	1	51	46	0.90	0.95	1.25	90.20
160	3	5	1	54	47	0.87	0.93	1.20	87.04
161	3	5	1	48	46	0.96	0.98	1.37	95.83
162	3	5	1	54	48	0.89	0.94	1.23	88.89
163	3	5	1	56	44	0.79	0.89	1.09	78.57
164	3	5	1	72	58	0.81	0.90	1.11	80.56
165	3	5	1	40	32	0.80	0.89	1.11	80.00
166	3	5	1	44	36	0.82	0.90	1.13	81.82
167	3	5	1	53	15	0.28	0.53	0.56	28.30
168	3	5	1	45	1	0.02	0.15	0.15	2.22
169	3	5	1	59	47	0.80	0.89	1.10	79.66
170	3	5	1	58	54	0.93	0.96	1.31	93.10
171	3	5	1	44	44	1.00	1.00	1.57	100.00
172	3	5	1	45	41	0.91	0.95	1.27	91.11
173	3	5	1	52	50	0.96	0.98	1.37	96.15
174	3	5	1	51	47	0.92	0.96	1.29	92.16
175	3	5	1	50	40	0.80	0.89	1.11	80.00
176	3	5	1	47	42	0.89	0.95	1.24	89.36
177	3	5	1	62	46	0.74	0.86	1.04	74.19
178	3	5	1	36	30	0.83	0.91	1.15	83.33
179	3	5	1	53	43	0.81	0.90	1.12	81.13
180	3	5	1	46	30	0.65	0.81	0.94	65.22
181	3	5	1	44	29	0.66	0.81	0.95	65.91
182	3	5	1	46	30	0.65	0.81	0.94	65.22
183	3	5	1	50	33	0.66	0.81	0.95	66.00
184	3	5	1	55	54	0.98	0.99	1.44	98.18
185	3	5	1	53	51	0.96	0.98	1.38	96.23

186	3	5	1	41	36	0.88	0.94	1.21	87.80
187	3	5	1	41	38	0.93	0.96	1.30	92.68
188	3	5	1	40	36	0.90	0.95	1.25	90.00
189	3	5	1	40	36	0.90	0.95	1.25	90.00
190	3	5	1	44	32	0.73	0.85	1.02	72.73
191	3	5	1	48	30	0.63	0.79	0.91	62.50
192	3	5	1	55	55	1.00	1.00	1.57	100.00
193	3	5	1	59	40	0.68	0.82	0.97	67.80
194	3	5	1	48	39	0.81	0.90	1.12	81.25
195	3	5	1	51	45	0.88	0.94	1.22	88.24
196	3	5	1	63	61	0.97	0.98	1.39	96.83
197	3	5	1	66	61	0.92	0.96	1.29	92.42
198	3	5	1	61	58	0.95	0.98	1.35	95.08
199	3	5	1	48	33	0.69	0.83	0.98	68.75
200	3	5	1	50	39	0.78	0.88	1.08	78.00
201	3	5	1	35	29	0.83	0.91	1.14	82.86
202	3	5	1	49	43	0.88	0.94	1.21	87.76
203	3	5	1	46	41	0.89	0.94	1.23	89.13
204	3	5	1	54	42	0.78	0.88	1.08	77.78
205	3	5	1	52	46	0.88	0.94	1.22	88.46
206	3	5	1	45	44	0.98	0.99	1.42	97.78
207	3	5	1	46	43	0.93	0.97	1.31	93.48
208	3	5	1	45	38	0.84	0.92	1.17	84.44
209	3	5	1	52	48	0.92	0.96	1.29	92.31
210	3	5	1	41	39	0.95	0.98	1.35	95.12
211	3	5	1	40	17	0.43	0.65	0.71	42.50
212	3	5	1	44	31	0.70	0.84	1.00	70.45
213	3	5	1	35	28	0.80	0.89	1.11	80.00
214	3	5	1	36	35	0.97	0.99	1.40	97.22
215	3	5	1	51	39	0.76	0.87	1.06	76.47
216	3	5	1	53	44	0.83	0.91	1.15	83.02
217	3	5	1	26	17	0.65	0.81	0.94	65.38
218	3	5	1	55	47	0.85	0.92	1.18	85.45
219	3	5	1	55	38	0.69	0.83	0.98	69.09
220	3	5	1	54	51	0.94	0.97	1.33	94.44
221	3	5	1	52	49	0.94	0.97	1.33	94.23
222	3	5	1	50	29	0.58	0.76	0.87	58.00
223	3	5	1	51	48	0.94	0.97	1.33	94.12
224	3	5	1	54	29	0.54	0.73	0.82	53.70
225	3	5	1	44	41	0.93	0.97	1.31	93.18
226	3	5	1	39	36	0.92	0.96	1.29	92.31
227	3	5	1	41	38	0.93	0.96	1.30	92.68
228	3	5	1	34	5	0.15	0.38	0.39	14.71
229	3	5	1	48	40	0.83	0.91	1.15	83.33
230	3	5	1	47	39	0.83	0.91	1.15	82.98
231	3	5	1	39	36	0.92	0.96	1.29	92.31

232	3	5	1	39	34	0.87	0.93	1.20	87.18
233	3	5	1	47	28	0.60	0.77	0.88	59.57
234	3	5	1	41	36	0.88	0.94	1.21	87.80
235	3	5	1	45	33	0.73	0.86	1.03	73.33
236	3	5	1	41	30	0.73	0.86	1.03	73.17
237	3	5	1	57	55	0.96	0.98	1.38	96.49
238	3	5	1	44	32	0.73	0.85	1.02	72.73
239	3	5	1	54	51	0.94	0.97	1.33	94.44
240	3	5	1	51	41	0.80	0.90	1.11	80.39
241	3	5	1	54	45	0.83	0.91	1.15	83.33
242	3	5	1	53	38	0.72	0.85	1.01	71.70
243	3	5	1	46	13	0.28	0.53	0.56	28.26
244	3	5	1	48	43	0.90	0.95	1.24	89.58
245	3	5	1	50	50	1.00	1.00	1.57	100.00
246	3	5	1	46	44	0.96	0.98	1.36	95.65
247	3	5	1	55	55	1.00	1.00	1.57	100.00
248	3	5	1	55	55	1.00	1.00	1.57	100.00
249	3	5	1	65	28	0.43	0.66	0.72	43.08
250	3	5	1	45	38	0.84	0.92	1.17	84.44
251	3	5	1	51	35	0.69	0.83	0.98	68.63
252	3	5	1	51	39	0.76	0.87	1.06	76.47
253	3	5	1	48	23	0.48	0.69	0.76	47.92
254	3	5	1	44	43	0.98	0.99	1.42	97.73
255	3	5	1	37	37	1.00	1.00	1.57	100.00
256	3	5	1	45	42	0.93	0.97	1.31	93.33
257	3	5	1	76	61	0.80	0.90	1.11	80.26
258	3	5	1	48	47	0.98	0.99	1.43	97.92
259	3	5	1	48	45	0.94	0.97	1.32	93.75
260	3	5	1	55	51	0.93	0.96	1.30	92.73
261	3	5	1	62	52	0.84	0.92	1.16	83.87
262	3	5	1	53	43	0.81	0.90	1.12	81.13
263	3	5	1	53	34	0.64	0.80	0.93	64.15
264	3	5	1	52	48	0.92	0.96	1.29	92.31
265	3	5	1	50	49	0.98	0.99	1.43	98.00
266	3	5	1	44	26	0.59	0.77	0.88	59.09
267	3	5	1	48	40	0.83	0.91	1.15	83.33
268	3	5	1	43	33	0.77	0.88	1.07	76.74
269	3	5	1	49	40	0.82	0.90	1.13	81.63
270	3	5	1	53	51	0.96	0.98	1.38	96.23
271	3	5	1	52	48	0.92	0.96	1.29	92.31
272	3	5	1	61	58	0.95	0.98	1.35	95.08
273	3	5	1	45	42	0.93	0.97	1.31	93.33
274	3	5	1	60	43	0.72	0.85	1.01	71.67
275	3	5	1	43	37	0.86	0.93	1.19	86.05
276	3	5	1	45	44	0.98	0.99	1.42	97.78
277	3	5	1	61	57	0.93	0.97	1.31	93.44

278	3	5	1	41	36	0.88	0.94	1.21	87.80
279	3	5	1	53	27	0.51	0.71	0.79	50.94
280	3	5	1	37	21	0.57	0.75	0.85	56.76
281	3	5	1	51	49	0.96	0.98	1.37	96.08
282	3	5	1	59	35	0.59	0.77	0.88	59.32
283	3	5	1	52	34	0.65	0.81	0.94	65.38
284	3	5	1	46	12	0.26	0.51	0.54	26.09
285	3	5	1	49	31	0.63	0.80	0.92	63.27
286	3	5	1	39	13	0.33	0.58	0.62	33.33
287	3	5	1	50	38	0.76	0.87	1.06	76.00
288	3	5	1	42	27	0.64	0.80	0.93	64.29
289	3	5	1	37	21	0.57	0.75	0.85	56.76
290	3	5	1	36	18	0.50	0.71	0.79	50.00
291	3	5	1	44	22	0.50	0.71	0.79	50.00
292	3	5	1	44	21	0.48	0.69	0.76	47.73
293	3	5	1	39	35	0.90	0.95	1.24	89.74
294	3	5	1	46	29	0.63	0.79	0.92	63.04
295	3	5	1	42	35	0.83	0.91	1.15	83.33
296	3	5	1	49	31	0.63	0.80	0.92	63.27
297	3	5	1	49	27	0.55	0.74	0.84	55.10
298	3	5	1	46	38	0.83	0.91	1.14	82.61
299	3	5	1	46	37	0.80	0.90	1.11	80.43
300	3	5	1	44	37	0.84	0.92	1.16	84.09
301	3	5	1	42	40	0.95	0.98	1.35	95.24
302	3	5	1	40	38	0.95	0.97	1.35	95.00
303	3	5	1	44	43	0.98	0.99	1.42	97.73
304	3	5	1	54	28	0.52	0.72	0.80	51.85
305	3	5	1	62	28	0.45	0.67	0.74	45.16
306	3	5	1	51	43	0.84	0.92	1.16	84.31
307	3	5	1	59	37	0.63	0.79	0.91	62.71
308	3	5	1	50	40	0.80	0.89	1.11	80.00
309	3	5	1	53	53	1.00	1.00	1.57	100.00
310	3	5	1	53	53	1.00	1.00	1.57	100.00
311	3	5	1	44	29	0.66	0.81	0.95	65.91
312	3	5	1	50	38	0.76	0.87	1.06	76.00
313	3	5	1	49	42	0.86	0.93	1.18	85.71
314	3	5	1	60	50	0.83	0.91	1.15	83.33
315	3	5	1	62	30	0.48	0.70	0.77	48.39
316	3	5	1	55	45	0.82	0.90	1.13	81.82
317	3	5	1	36	25	0.69	0.83	0.99	69.44
318	3	5	1	38	30	0.79	0.89	1.09	78.95
319	3	5	1	53	50	0.94	0.97	1.33	94.34
320	3	5	1	51	44	0.86	0.93	1.19	86.27
321	3	5	1	44	41	0.93	0.97	1.31	93.18
322	3	5	1	47	45	0.96	0.98	1.36	95.74
323	3	5	1	45	35	0.78	0.88	1.08	77.78

324	3	5	1	49	34	0.69	0.83	0.98	69.39
325	3	5	1	40	32	0.80	0.89	1.11	80.00
326	3	5	1	52	36	0.69	0.83	0.98	69.23
327	3	5	1	37	9	0.24	0.49	0.52	24.32
328	3	5	1	44	34	0.77	0.88	1.07	77.27
329	3	5	1	46	42	0.91	0.96	1.27	91.30
330	3	5	1	47	30	0.64	0.80	0.93	63.83
331	3	5	1	45	41	0.91	0.95	1.27	91.11
332	3	5	1	62	53	0.85	0.92	1.18	85.48
333	3	5	1	45	6	0.13	0.37	0.37	13.33
334	3	5	1	45	1	0.02	0.15	0.15	2.22
335	3	5	1	48	24	0.50	0.71	0.79	50.00
336	3	5	1	36	30	0.83	0.91	1.15	83.33
337	3	5	1	41	38	0.93	0.96	1.30	92.68
338	3	5	1	52	33	0.63	0.80	0.92	63.46
7	1	6	2	85	74	0.87	0.93	1.20	87.06
8	1	6	2	88	88	1.00	1.00	1.57	100.00
67	2	6	2	41	36	0.88	0.94	1.21	87.80
339	3	6	2	38	24	0.63	0.79	0.92	63.16
340	3	6	2	39	24	0.62	0.78	0.90	61.54
341	3	6	2	50	42	0.84	0.92	1.16	84.00
342	3	6	2	46	30	0.65	0.81	0.94	65.22
343	3	6	2	38	20	0.53	0.73	0.81	52.63
344	3	6	2	40	24	0.60	0.77	0.89	60.00
345	3	6	2	53	43	0.81	0.90	1.12	81.13
346	3	6	2	45	29	0.64	0.80	0.93	64.44
347	3	6	2	52	34	0.65	0.81	0.94	65.38
348	3	6	2	54	35	0.65	0.81	0.94	64.81
349	3	6	2	45	37	0.82	0.91	1.14	82.22
350	3	6	2	55	35	0.64	0.80	0.92	63.64
351	3	6	2	55	13	0.24	0.49	0.51	23.64
352	3	6	2	55	33	0.60	0.77	0.89	60.00
353	3	6	2	52	39	0.75	0.87	1.05	75.00
354	3	6	2	51	30	0.59	0.77	0.87	58.82
355	3	6	2	43	16	0.37	0.61	0.66	37.21
356	3	6	2	54	33	0.61	0.78	0.90	61.11
357	3	6	2	50	28	0.56	0.75	0.85	56.00
358	3	6	2	47	38	0.81	0.90	1.12	80.85
359	3	6	2	55	32	0.58	0.76	0.87	58.18
360	3	6	2	54	35	0.65	0.81	0.94	64.81
361	3	6	2	44	30	0.68	0.83	0.97	68.18
362	3	6	2	46	20	0.43	0.66	0.72	43.48
363	3	6	2	35	20	0.57	0.76	0.86	57.14
364	3	6	2	39	33	0.85	0.92	1.17	84.62
365	3	6	2	60	46	0.77	0.88	1.07	76.67
366	3	6	2	43	36	0.84	0.91	1.16	83.72

367	3	6	2	50	42	0.84	0.92	1.16	84.00
368	3	6	2	61	41	0.67	0.82	0.96	67.21
369	3	6	2	60	41	0.68	0.83	0.97	68.33
370	3	6	2	50	45	0.90	0.95	1.25	90.00
371	3	6	2	67	63	0.94	0.97	1.32	94.03
372	3	6	2	55	45	0.82	0.90	1.13	81.82
373	3	6	2	64	57	0.89	0.94	1.23	89.06
374	3	6	2	28	17	0.61	0.78	0.89	60.71
375	3	6	2	32	15	0.47	0.68	0.75	46.88
376	3	6	2	26	25	0.96	0.98	1.37	96.15
377	3	6	2	24	22	0.92	0.96	1.28	91.67
378	3	6	2	49	1	0.02	0.14	0.14	2.04
379	3	6	2	41	32	0.78	0.88	1.08	78.05
380	3	6	2	40	26	0.65	0.81	0.94	65.00
381	3	6	2	33	11	0.33	0.58	0.62	33.33
382	3	6	2	33	16	0.48	0.70	0.77	48.48
383	3	6	2	43	28	0.65	0.81	0.94	65.12
384	3	6	2	43	33	0.77	0.88	1.07	76.74
385	3	6	2	24	16	0.67	0.82	0.96	66.67
386	3	6	2	47	31	0.66	0.81	0.95	65.96
387	3	6	2	41	24	0.59	0.77	0.87	58.54
388	3	6	2	58	56	0.97	0.98	1.38	96.55
389	3	6	2	40	1	0.03	0.16	0.16	2.50
390	3	6	2	51	48	0.94	0.97	1.33	94.12
391	3	6	2	43	23	0.53	0.73	0.82	53.49
392	3	6	2	42	39	0.93	0.96	1.30	92.86
393	3	6	2	39	31	0.79	0.89	1.10	79.49
394	3	6	2	51	37	0.73	0.85	1.02	72.55
395	3	6	2	59	43	0.73	0.85	1.02	72.88
396	3	6	2	57	31	0.54	0.74	0.83	54.39
397	3	6	2	60	19	0.32	0.56	0.60	31.67
398	3	6	2	45	37	0.82	0.91	1.14	82.22
399	3	6	2	41	31	0.76	0.87	1.05	75.61
400	3	6	2	51	43	0.84	0.92	1.16	84.31
401	3	6	2	54	45	0.83	0.91	1.15	83.33
402	3	6	2	40	15	0.38	0.61	0.66	37.50
403	3	6	2	50	24	0.48	0.69	0.77	48.00
404	3	6	2	50	17	0.34	0.58	0.62	34.00
405	3	6	2	46	20	0.43	0.66	0.72	43.48
406	3	6	2	46	40	0.87	0.93	1.20	86.96
407	3	6	2	45	39	0.87	0.93	1.20	86.67
408	3	6	2	49	5	0.10	0.32	0.33	10.20
409	3	6	2	49	10	0.20	0.45	0.47	20.41
410	3	6	2	47	33	0.70	0.84	0.99	70.21
411	3	6	2	45	29	0.64	0.80	0.93	64.44
412	3	6	2	46	39	0.85	0.92	1.17	84.78

413	3	6	2	46	44	0.96	0.98	1.36	95.65
414	3	6	2	39	20	0.51	0.72	0.80	51.28
415	3	6	2	53	42	0.79	0.89	1.10	79.25
416	3	6	2	53	46	0.87	0.93	1.20	86.79
417	3	6	2	58	53	0.91	0.96	1.27	91.38
418	3	6	2	49	43	0.88	0.94	1.21	87.76
419	3	6	2	50	36	0.72	0.85	1.01	72.00
420	3	6	2	48	25	0.52	0.72	0.81	52.08
421	3	6	2	39	36	0.92	0.96	1.29	92.31
422	3	6	2	33	29	0.88	0.94	1.22	87.88
423	3	6	2	60	18	0.30	0.55	0.58	30.00
424	3	6	2	52	33	0.63	0.80	0.92	63.46
425	3	6	2	51	45	0.88	0.94	1.22	88.24
426	3	6	2	44	36	0.82	0.90	1.13	81.82
9	1	7	2	74	70	0.95	0.97	1.34	94.59
68	2	7	2	46	30	0.65	0.81	0.94	65.22
69	2	7	2	49	41	0.84	0.91	1.15	83.67
70	2	7	2	39	15	0.38	0.62	0.67	38.46
71	2	7	2	52	11	0.21	0.46	0.48	21.15
427	3	7	2	54	40	0.74	0.86	1.04	74.07
428	3	7	2	52	32	0.62	0.78	0.90	61.54
429	3	7	2	49	39	0.80	0.89	1.10	79.59
430	3	7	2	54	54	1.00	1.00	1.57	100.00
431	3	7	2	54	54	1.00	1.00	1.57	100.00
432	3	7	2	33	24	0.73	0.85	1.02	72.73
433	3	7	2	35	33	0.94	0.97	1.33	94.29
434	3	7	2	50	41	0.82	0.91	1.13	82.00
435	3	7	2	54	30	0.56	0.75	0.84	55.56
436	3	7	2	16	3	0.19	0.43	0.45	18.75
437	3	7	2	53	51	0.96	0.98	1.38	96.23
438	3	7	2	52	41	0.79	0.89	1.09	78.85
439	3	7	2	21	14	0.67	0.82	0.96	66.67
440	3	7	2	54	45	0.83	0.91	1.15	83.33
441	3	7	2	58	34	0.59	0.77	0.87	58.62
442	3	7	2	42	31	0.74	0.86	1.03	73.81
443	3	7	2	49	45	0.92	0.96	1.28	91.84
444	3	7	2	31	22	0.71	0.84	1.00	70.97
445	3	7	2	65	43	0.66	0.81	0.95	66.15
446	3	7	2	41	39	0.95	0.98	1.35	95.12
447	3	7	2	48	46	0.96	0.98	1.37	95.83
448	3	7	2	60	39	0.65	0.81	0.94	65.00
449	3	7	2	49	40	0.82	0.90	1.13	81.63
450	3	7	2	49	46	0.94	0.97	1.32	93.88
451	3	7	2	44	33	0.75	0.87	1.05	75.00
452	3	7	2	41	20	0.49	0.70	0.77	48.78
453	3	7	2	46	38	0.83	0.91	1.14	82.61

454	3	7	2	50	45	0.90	0.95	1.25	90.00
-----	---	---	---	----	----	------	------	------	-------

Nido	Muestra	% Agua	Desarrollo	β -HCH	γ -HCH (Lindano)	SCAC	Endrín	Endrín aldehído	Endrín cetona	α - Endosulfán	Heptacloro	trans- Clordano	SCDC	4,4'-DDE	4,4'-DDD	Metoxicloro	SDDT	Suma todos
N4	M1	81.65	H	0.2	0.9	1.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.1
N4	M2	83.41	H	0.6	2.2	2.7	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0
N4	M3	86.81	E	0.3	1.4	1.7	0.0	0.0	1.5	0.0	0.0	0.0	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0	3.3
N4	M4	83.53	H	0.7	1.3	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.1	2.0
N4	M5	82.35	H	0.2	0.3	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5
N5	M1	82.27	H	0.3	4.4	4.6	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	5.2
N5	M2	78.31	H	0.5	0.7	1.2	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	1.6
N5	M3	77.56	H	0.2	2.0	2.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.2
N5	M4	82.39	H	0.3	0.6	0.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.9
N5	M5	80.93	H	0.4	0.9	1.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.4
N6	M1	85.6	E	0.5	1.4	1.9	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	2.4
N6	M2	85.91	H	0.4	1.9	2.2	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	2.5
N7	M1	81.06	E	0.4	5.7	6.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	6.1
N7	M2	79.71	H	0.3	3.1	3.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.4
N7	M3	82.28	H	0.3	2.7	3.0	7.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	7.6	0.0	0.0	0.0	0.0	10.6
N8	M1	80.18	H	0.1	1.1	1.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.1

