



UNIVERSIDAD DEL MAR

CAMPUS PUERTO ÁNGEL

**CONCENTRACIÓN DE CONTAMINANTES ORGÁNICOS PERSISTENTES
Y LA RELACIÓN HETERÓFILOS/LINFOCITOS EN SANGRE DE DOS
ESPECIES DE AVES MARINAS DE LA BAHÍA SANTA MARÍA, SINALOA**

T E S I S

Como parte de los requisitos para obtener el título de:

Biólogo Marino

Presenta:

Alberto Piña Ortiz

Director de Tesis: Dr. José Alfredo Castillo Guerrero

Puerto Ángel, Oaxaca, 2014.



UNIVERSIDAD DEL MAR

CAMPUS PUERTO ÁNGEL

**CONCENTRACIÓN DE CONTAMINANTES ORGÁNICOS PERSISTENTES
Y LA RELACIÓN HETERÓFILOS/LINFOCITOS EN SANGRE DE DOS
ESPECIES DE AVES MARINAS DE LA BAHÍA SANTA MARÍA, SINALOA**

T E S I S

Como parte de los requisitos para obtener el título de:

Biólogo Marino

Presenta:

Alberto Piña Ortiz

Director de Tesis: Dr. José Alfredo Castillo Guerrero

Puerto Ángel, Oaxaca, 2014.



ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

Después de haber analizado y evaluado la tesis “Concentración de contaminantes orgánicos persistentes y la relación heterófilos/linfocitos en sangre de dos especies de aves marinas de la Bahía Santa María, Sinaloa”, presentada por el pasante de licenciatura en Biología Marina Alberto Piña Ortiz, se considera que cumple con los requisitos académicos y la calidad necesaria para ser defendida en el examen profesional.

Comisión Revisora

Dr. José Alfredo Castillo Guerrero
Investigador del Centro de Investigación
en Alimentación y Desarrollo A. C.,
Unidad Mazatlán.
Director

M. en C. Minerva e Isis Camacho Sánchez
Profesor-Investigador
Instituto de Ecología
Universidad del Mar Campus Puerto
Ángel
Revisor

Dr. Juan Francisco Meraz Hernando
Profesor-Investigador
Director de la División en Estudios de
Postgrado
Universidad del Mar Campus Puerto
Ángel
Revisor

M. en C. María del Rocío Gutiérrez Ortiz
Profesor-Investigador
Instituto de Ecología
Universidad del Mar Campus Puerto
Ángel
Revisor

Dr. Gerardo Martínez Villa
Profesor-Investigador
Instituto de Ecología
Universidad del Mar Campus Puerto
Ángel
Revisor

Puerto Ángel, Oaxaca, 2014.

A mi familia (Juan, Ere, Leo y Susa)

AGRADECIMIENTOS

Al Fondo Mexicano para la Conservación de la Naturaleza A.C. (PIE-2012-A-P-C-IGSI-12-12), al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (I010/176/2012), al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. por su apoyo financiero. A la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas – Islas del Golfo de California - Sinaloa por su apoyo logístico.

A la Universidad del Mar Campus Puerto Ángel por ser la institución en la cual realicé mis estudios de licenciatura, y al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Unidad Mazatlán por ser la institución en la cual pude realizar mi trabajo de tesis.

Al Dr. Alfredo Castillo Guerrero por la disposición, confianza, paciencia y apoyo en la dirección de este trabajo. Por todo el aprendizaje que me transmitió durante la realización de la tesis, en las salidas a campo, además por su amistad y por los consejos que me brindó.

Al comité de revisores: M. en C. Isis Camacho Sánchez, Dr. Juan Meraz Hernando, M. en C. Rocio Gutiérrez Ortiz y al Dr. Gerardo Martínez Villa por la disposición para la revisión de la tesis, por los comentarios y sugerencias durante la revisión, los cuales mejoraron la calidad del trabajo.

A la M. en C. Gabriela Aguilar Zárate y la I.B.Q. Carmina Isabel Vargas Gómez por enseñarme la técnica de extracción y detección de POCs en plasma y por realizar en tiempo el lote de muestras que se utilizaron para la realización de este trabajo. Además de la ayuda que me brindaron para la corrección de la metodología y por la paciencia que me tuvieron cada vez que me surgió una duda.

Al laboratorio de parasitología del CIAD, Unidad Mazatlán y a la Universidad Politécnica de Sinaloa por el uso de los microscopios y de sus instalaciones para poder realizar los conteos diferenciales de leucocitos.

Al L.I.A. Jorge Alberto Durán Niebla, Jefe del Área de Computo en el CIAD, Unidad Mazatlán, al M.A.I.A Eduardo Ramírez Chávez (jefe) y Alejandro Cruz García (técnico) del laboratorio de sistemas de información geográfica de la UMAR por brindarme un espacio en esta área para trabajar durante el tiempo que estuve en ambas instituciones

trabajando con mi tesis. Además a este último por ayudarme con los mapas de la zona de estudio.

A la familia Castillo-Cárdenas (Fabi, Doc y Alan) por haberme recibido en su casa durante mi estancia en Mazatlán, me hicieron sentir como un integrante más de su familia, ya que siempre me brindaron su apoyo y paciencia.

A Juan Ignacio Piña Márquina y Eréndira Ortiz Marín por haberme brindado su apoyo, paciencia, solvencia, tiempo, amistad y consejos. Mi formación como persona útil a la sociedad se lo debo en gran parte a ellos y espero que este sea el inicio de una buena travesía.

A Leo, Susa, Laura y Hugo, mis hermanos. Durante este lapso de tiempo siempre fueron un gran apoyo, que nunca se pierda el lazo que nos mantiene unidos.

A las personas que me brindaron su aprendizaje, paciencia, tiempo, consejos, afecto y sobretodo su amistad durante estos años en la UMAR: Rubi, Luis, Francisco, Lenin, Juan, Cotsikayala, Diana, Lorena, Hugo, Eder, Dulce, Iris, Alejandro, Mildred, Dafnis, David, Darla, Ronson, Enotch, Blanquita, Fernando, Sabino, Héctor, Fátima, Gabriela, entre muchos otros. Comenzamos como desconocidos y se volvieron parte de mi familia, las anécdotas que tuve con ustedes me ayudaron estos años en mi formación académica y personal. Espero que ese vínculo se mantenga por siempre.

A los amigos que hice en el CIAD: Carmina, Covantes, Efrén, Itzel, Jesús, Doc, Ceyca, Gaby, Anny, Elda. Compartí con ustedes momentos muy agradables y espero seguir contando con su amistad.

CONTENIDO

	Página
Lista de Figuras	ix
Lista de Tablas	xi
Resumen	xiii
Introducción	1
Antecedentes	4
2.1. Historia y situación actual de los COPs	4
2.2. POCs.....	5
2.2.1. DDT y análogos.....	6
2.2.2. HCHs.....	6
2.2.3. Ciclodienos y compuestos similares	14
2.3. Zona de estudio	14
2.4. Estudios de POCs en la región	18
2.5. Especies estudiadas.....	18
2.5.1. La fragata magnífica (<i>Fregata magnificens</i>).....	18
2.5.2. La gaviota reidora (<i>Leucophaeus atricilla</i>)	25
2.6. POCs y sus efectos en aves.....	27
2.7. Condición corporal usando índices morfológicos como indicador	30
2.8. La relación H/L como indicador de estrés	30
Justificación	35
Hipótesis	36
Objetivos	37
General	37
Específicos.....	37
Material y Métodos	38
6.1. Área de Estudio	38
6.2. Trabajo de campo.....	40
6.2.1. Mediciones y toma de muestra	42
6.2.2. <i>Muestreo sanguíneo</i>	43
6.3. Trabajo de laboratorio.....	45
6.3.1. Análisis de plaguicidas organoclorados	45
6.3.1.1. Estandarización del método.....	45
6.3.1.2. Extracción de POCs en plasma.....	45
6.3.1.3. Limpieza con gel de sílice (Método EPA 3630c).....	46
6.3.1.4. Detección y cuantificación de POCs mediante un cromatógrafo de gases con detector de captura de electrones (GC-ECD).....	47
6.3.2. Frotis sanguíneos	48
6.3.2.1. Tinción de laminillas.....	48
6.3.2.2. Relación H/L.....	48
6.4. Índice de condición corporal (IC)	49
6.5. Análisis estadísticos	50
Resultados	52

7.1. Caracterización de concentraciones de POCs en <i>F. magnificens</i> y <i>L. atricilla</i> . ..52	
7.2. Relación Heterófilos/Linfocitos, perfiles de leucocitos e índice de condición corporal en <i>F. magnificens</i> y <i>L. atricilla</i>62	
7.3. Relación entre las concentraciones de POCs en sangre y el estado inmunológico de <i>F. magnificens</i> y <i>L. atricilla</i>65	
Discusión	70
8.1. Caracterización de concentraciones de POCs en <i>F. magnificens</i> y <i>L. atricilla</i>	70
8.1.1 Comparación entre sexos	74
8.1.2 Variación temporal.....	75
8.1.3 Comparación entre especies	76
8.2. Relación Heterófilos/Linfocitos, perfiles de leucocitos e índice de condición corporal en <i>F. magnificens</i> y <i>L. atricilla</i>	78
8.3. Relación entre las concentraciones de POCs en sangre y el estado inmunológico de <i>F. magnificens</i> y <i>L. atricilla</i>	80
Conclusión	82
Bibliografía	84
Anexos	115
Anexo I. Procedimiento para realizar el conteo diferencial de glóbulos blancos.	115
Preparación de reactivos	115
Procedimiento de tinción.....	115
Anexo II. Medidas morfométricas, peso e índice de condición corporal en <i>Fregata magnificens</i>	117
Anexo III. Medidas morfométricas, peso e índice de condición corporal en <i>Leucophaeus atricilla</i>	121

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Localización geográfica de BSM, Sinaloa.....	17
Figura 2. a) Adulto macho de <i>Fregata magnificens</i> perchado sobre un árbol y b) exhibiéndose en época de cortejo.....	20
Figura 3. a) Adulto hembra de <i>Fregata magnificens</i> en el Parque Nacional Tortugas Secas, Estados Unidos en 2009 y b) perchado sobre la punta de un <i>Opuntia robusta</i> en Isla Campeón, Galápagos.....	22
Figura 4. a) Cabeza de juvenil de <i>Fregata magnificens</i> b) juvenil sobre un nido probando sus alas.....	24
Figura 5. a) Individuos adultos de <i>Leucophaeus atricilla</i> con plumaje reproductivo en la isla El Rancho, Bahía Santa María durante la temporada reproductiva 2011 y b) individuo adulto con plumaje no reproductivo en North Beach, Calvert, Maryland.....	26
Figura 6. Localización geográfica de las islas El Rancho y Pájaros dentro de BSM, Sinaloa.....	39
Figura 7. Método de captura para individuos de <i>F. magnificens</i> en la isla Pájaros.....	40
Figura 8. Método de captura con trampas de resorte para individuos de <i>L. atricilla</i> en la isla El Rancho.....	41
Figura 9. Toma de medidas morfométricas a individuos de <i>L. atricilla</i> y <i>F. magnificens</i> en la isla El Rancho y Pájaros; a) medición del tarso a <i>L. atricilla</i> b) medición del culmen <i>L. atricilla</i> c) medición de la ulna a <i>F. magnificens</i>	42
Figura 10. Método de extracción de sangre de la vena braquial.....	43
Figura 11. a) Elaboración de frotis de los organismos a los cuáles se les extrajo sangre; b) manera en la que se preserva la sangre extraída a los individuos para evitar coagulación; c) registro de datos de los individuos capturados y elaboración de etiquetas y d) rotulado de frotis.....	44
Figura 12. a) Centrifugado de las muestras de sangre extraídas a los individuos de <i>L. atricilla</i> y <i>F. magnificens</i> ; b) Extracción de plasma de las muestras centrifugadas.....	44

Figura 13. Representación de la columna con gel de sílice empleado para la limpieza de las muestras de plasma conteniendo los POCs.....	46
Figura 14. Método para la elaboración de un frotis sanguíneo en un portaobjetos.....	48
Figura 15. Conteo diferencial de leucocitos en un frotis sanguíneo (Houwen 2001).....	49
Figura 16. Concentración (medias \pm ES) de POCs ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) en adultos de <i>F. magnificens</i> durante toda la temporada reproductiva 2010-2011.....	55
Figura 17. Concentración (medias \pm ES) de POCs ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) en adultos de <i>L. atricilla</i> durante toda la temporada reproductiva 2011.....	58
Figura 18. Concentraciones medias de POCs ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) en <i>L. atricilla</i> a lo largo de la temporada reproductiva 2011 en BSM	59
Figura 19. Concentraciones medias \pm ES de POCs ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) para <i>F. magnificens</i> y <i>L. atricilla</i> al inicio de la temporada reproductiva 2010-2011.....	60
Figura 20. Condición corporal [media \pm error estándar (ES)] de individuos adultos de <i>F. magnificens</i> durante toda la temporada reproductiva 2011	64
Figura 21. Relación de la concentración de ΣDDT ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) en plasma de <i>F. magnificens</i> con el IC (%)......	65
Figura 22. Relación de heterófilos (a) y linfocitos (b) con las concentraciones de POCs en sangre de <i>L. atricilla</i>	67
Figura 23. Relación entre el IC de <i>F. magnificens</i> con los perfiles de linfocitos y heterófilos.....	69

LISTA DE TABLAS

Página

Tabla I. Propiedades químicas de los principales POCs	8
Tabla II. Aves marinas reproductoras de BSM. Se indica el mes adecuado para realizar el monitoreo poblacional y los sitios específicos donde se reproduce cada especie (Castillo-Guerrero & Guevara 2011)	16
Tabla III. Rutas de exposición de POCs en aves marinas.....	27
Tabla IV. Media \pm desviación estándar (DE) de la relación H/L en algunas especies de aves marinas	32
Tabla V. Clasificación de las células sanguíneas y sus funciones principales..	33
Tabla VI. Concentraciones de POCs en sangre ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ de plasma) para <i>F. magnificens</i> en Bahía Santa María durante la temporada reproductiva 2010-2011.....	52
Tabla VII. Concentraciones medias por grupos de POCs en sangre ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ de plasma \pm ES) para <i>Fregata magnificens</i> en BSM durante la temporada reproductiva 2010-2011.	54
Tabla VIII. Concentraciones de POCs en sangre ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ de plasma) para <i>L. atricilla</i> en Bahía Santa María durante la temporada reproductiva 2011.....	56
Tabla IX. Concentraciones medias por grupos de POCs en sangre ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ de plasma \pm ES) para <i>L. atricilla</i> en BSM durante la temporada reproductiva 2011.	59
Tabla X. Concentraciones medias de POCs ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1} \pm \text{SE}$) en sangre de <i>F. magnificens</i> y <i>L. atricilla</i> al inicio de la temporada reproductiva 2010-2011	61
Tabla XI. Media \pm ES e (intervalo) de la relación H/L y conteos diferenciales de leucocitos para 45 individuos de <i>F. magnificens</i> (35 adultos, 2 subadultos y 8 pollos) y 121 individuos adultos de <i>L. atricilla</i> en BSM durante la temporada reproductiva 2011.....	62
Tabla XII. Media \pm ES e (intervalo) de la relación H/L y conteos diferenciales de leucocitos para 36 individuos de <i>F. magnificens</i> adultos ($n = 21$ hembras y $n = 15$ machos) y 121 individuos de <i>L. atricilla</i> adultos ($n = 63$ hembras y $n = 58$ machos) en BSM durante la temporada reproductiva 2010-2011	63

Tabla XIII. Valores medios de la relación H/L y conteos diferenciales de leucocitos para individuos de <i>F. magnificens</i> a diferentes edades.....	63
Tabla XIV. Coeficiente de regresión \pm ES de la relación H/L, leucocitos e IC con las concentraciones de POCs ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) en sangre de <i>L. atricilla</i>.....	66
Tabla XV. Niveles de Riesgo Mínimos de POCs ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) reportados para seres humanos y mamíferos, y sus efectos.....	73

Resumen

Se determinó la concentración de veinte plaguicidas organoclorados, así como la relación que guardan con la razón heterófilo/linfocito en sangre de Fragata magnífica (*Fregata magnificens*) y gaviota reidora (*Leucophaeus atricilla*), durante la temporada reproductiva 2010-2011 en la bahía de Santa María, Sinaloa. Además, se realizaron comparaciones entre sexos y especies de las concentraciones de plaguicidas a fin de determinar si hay respuesta en el sistema inmune mediante la caracterización de la relación H/L, también se determinó la condición corporal de las aves. La detección y cuantificación de plaguicidas se realizó mediante cromatografía de gases con detector de captura de electrones. La relación H/L y el conteo diferencial de leucocitos se realizaron mediante la lectura de frotis sanguíneos con tinción Wright-Giemsa en un microscopio óptico con objetivo 100x. El plaguicida con mayor concentración en sangre de fragata fue el HCH- β , al igual que en los machos de gaviota y el *cis*-clordano en las hembras. Respecto a la comparación de POCs entre sexos de la misma especie, para la fragata el Σ DDTs fue el único plaguicida con diferencias significativas, siendo mayor la concentración en machos. La gaviota no presentó diferencias intersexuales de POCs, pero hubo una disminución gradual en la concentración de estos plaguicidas al avanzar la temporada reproductiva. La concentración de POCs fue mayor en gaviotas que en fragatas. La razón H/L en gaviotas y fragatas no presentó diferencias significativas entre sexos ni en la etapa reproductiva. La condición corporal de las fragatas difirió entre sexos, las hembras tuvieron una mejor condición corporal. Las gaviotas no presentaron diferencias significativas entre sexos en lo que respecta a la CC. La razón H/L no tuvo relación significativa con las concentraciones de POCs en sangre de fragatas y gaviotas. Pero las fragatas presentaron una relación entre los POCs y su índice de condición corporal. La determinación de algunos plaguicidas (DDE y el HCH- β) detectados en sangre son resultado de la acumulación dentro de la bahía a lo largo de varias décadas y su posterior incorporación a la cadena trófica de BSM, pero la detección de otros plaguicidas (aldrín, clordano, endosulfán y heptacloro) indica aplicaciones recientes en los campos agrícolas adyacentes, pues la presencia de estos contaminantes en la biota no es tan persistente. Las concentraciones de todos los POCs analizados rebasan los LMRs sugeridos por la ATSDR. Referente a las diferencias intersexuales en las concentraciones de POCs se pueden deber a aspectos como el dimorfismo sexual, las reservas energéticas y los roles de crianza. Finalmente, para la fragata se estableció que los plaguicidas no parecen afectar su sistema inmune, pero para el caso de *L. atricilla* se encontró que las concentraciones de Σ DDTs, Σ Clordanos y Σ Endosulfanes pueden estar afectando al sistema inmune de la especie.

Palabras clave: POCs, Sistema inmune, Condición corporal, *F. magnificens*, *L. atricilla*.