



**Centro de Investigación en
Alimentación y Desarrollo, A.C.**

**HUEVOS Y EMBRIONES DE AVES MARINAS COMO
BIOMONITORES DE CONTAMINACIÓN POR
MERCURIO (Hg) y CADMIO (Cd) EN LA COSTA DE
SINALOA, MÉXICO**

Por:

Juan Pablo Ceyca Contreras

TESIS APROBADA POR LA

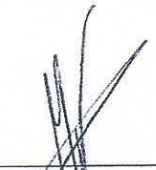
COORDINACIÓN DE MANEJO AMBIENTAL

Como requisito parcial para obtener el grado de


**DOCTOR EN CIENCIAS
EN MANEJO AMBIENTAL**

APROBACIÓN

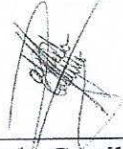
Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Juan Pablo Ceyca Contreras, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Doctor en Ciencias en Manejo Ambiental




Dr. Miguel Belancourt Lozano
Director de Tesis



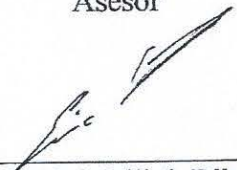
Dr. Guillermo J. Fernández Aceves
Co-director



Dr. José Alfredo Castillo Guerrero
Asesor



Dr. Albert M. van der Heiden
Asesor



Dr. Eric Mellink Bijtel
Asesor

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en esta tesis es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del Director General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director de tesis.

Dr. Pablo Wong González

Director General

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para la realización del Doctorado en Ciencias.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD), Unidad Mazatlán en Acuicultura y Manejo Ambiental, por las facilidades otorgadas para la realización del Doctorado en Ciencias.

Al Fondo Mexicano para la Conservación de la Naturaleza, A.C. y al Programa de Investigación Científica Básica del CONACYT, por el financiamiento otorgado para la realización del trabajo de campo y análisis de laboratorio a través de los proyectos PIE-2012-A-P-C-IGSI-12-12 y I010/176/2012, respectivamente.

A los miembros del Comité de Tesis: Miguel Betancourt, Guillermo Fernández, Alfredo Castillo, Albert Van der Heiden, Eric Mellink y Luz María García†.

A mis compañeros y amigos que me apoyaron durante las salidas de campo: Erick González, Carlos Covantes, Miguel Guevara, Miriam Lerma, Marco González, Carolina Franco, Alberto Piña, Francisco Santiago y Daniel Brito.

A la Dra. Olivia Torres, por su valioso apoyo en la capacitación y aplicación del ensayo de eritrocitos micronucleados y por las facilidades otorgadas durante mis estancias en la Universidad Autónoma de Guadalajara.

Al Dr. Eric Mellink, por las facilidades otorgadas para la medición del grosor de cascarones en el Laboratorio de Fauna Silvestre del CICESE, en Ensenada, B.C.

A la Dra. Crisantema Hernández y Biol. Paty Domínguez, por las facilidades otorgadas para la medición de coloración de cascarones en el Laboratorio de Nutrición y Alimentación de Peces del CIAD – Unidad Mazatlán.

Al Dr. Pablo Almazán, Lucía Mendoza y Alberto Durán, por su enorme y valioso apoyo con los trámites y soporte técnico durante la duración de mi proyecto de tesis doctoral.

A mis compañeros y amigos del Laboratorio de Ecotoxicología: Anny Sánchez, Efrén Astorga, Édgar Cruz, Carmina Vargas, Gabriela Aguilar, Irma Martínez, Carlos Covantes, Alberto Piña y Belisario Leyva.

A mis compañeros y amigos del CIAD Mazatlán, con los que compartí momentos de estrés, trabajo y diversión en el cubo y en los pasillos: Adrián, Iliana, Emir, Alejandra...

A mis familiares y amigos en Mazatlán. Gracias por su amistad y apoyo moral en distintos momentos durante estos más de cuatro años: Rafael, Darely, Kitzia, Rafita, Doroteo, Patricia, Ernesto.

A mi familia en Ensenada, B.C., por su hospitalidad y enorme apoyo durante mi estancia en esa ciudad: Cuquis, Tavo, Tavito, Tere, Daniela y Daniel.

Por último, agradezco nuevamente a mi asesor y amigo, el Dr. Alfredo Castillo, porque gran parte de este proyecto de tesis fue posible gracias al apoyo académico y moral que me brindó durante todo el proceso.

DEDICATORIA

Inmersos en las letras de este documento se encuentran muchos días de trabajo, incontables horas de desvelo y gratos momentos de satisfacción, que no hubieran sido posibles sin la paciencia y el apoyo de mi hermosa familia. Dedico este trabajo a mi esposa y mis hijos: *Anya, Abi Jaquelin y Juan Carlos.*

Muchas otras personas me han brindado su apoyo a lo largo de estos más de cuatro años de trabajo y agradezco a todos por formar parte de este proyecto. Sin embargo, tres de éstas personas me han apoyado y alentado durante toda mi vida: mis padres *Juan Pablo Ceyca y Teresa Contreras* y mi hermana *Brenda Yamilett.*

Al inicio de este proyecto, una persona incomparable que formó parte importante de mi vida y que siempre me motivó a seguir adelante tuvo que partir, para estar al lado de su compañero de vida. Ahora que están de nuevo juntos, les dedico también este pedazo de mi vida. A mis abuelos *Felicitas Bueno y Pablo Cruz Ceyca.*

CONTENIDO

	Página
Lista de Figuras.....	ix
Lista de Tablas.....	xii
Resumen.....	xiii
Abstract.....	xv
Capítulo I. Introducción general.....	1
I.1. INTRODUCCIÓN.....	1
I.2. OBJETIVOS.....	3
I.2.1. Objetivo General.....	3
I.2.2. Objetivos Específicos.....	3
I.3. SISTEMA DE ESTUDIO.....	3
I.4. ESTRUCTURA DE LA TESIS.....	4
Capítulo II. Variaciones locales e interanuales de mercurio (Hg) y cadmio (Cd) en huevos de ocho especies de aves marinas de la costa de Sinaloa, México.....	6
II.1. RESUMEN.....	6
II.2. INTRODUCCIÓN.....	7
II.3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
II.3.1. Especies de Aves Marinas.....	10
II.3.2 Sitios de Muestreo.....	12
II.3.3. Determinación de Hg y Cd.....	14
II.3.4. Caracterización de las Condiciones Oceanográficas a Escala Local.....	15
II.3.5. Análisis de Datos.....	16
II.4. RESULTADOS.....	17
II.4.1. Comparación de los Niveles de Hg y Cd entre Especies.....	17
II.4.2. Variación Interanual en Niveles de Hg y Cd.....	22
II.4.3. Comparación entre Sitios.....	22
II.4.4. Relación de Hg y Cd con la Temperatura Superficial del Mar.....	23
II.5. DISCUSIÓN.....	27
II.5.1. Análisis Inter-específico.....	27
II.5.2. Variación Interanual.....	28
II.5.3. Variación entre Sitios.....	29
II.5.4. Consideraciones Ecotoxicológicas en Aves Marinas de Sinaloa.....	31
II.6. CONCLUSIONES.....	32
Capítulo III. Relación entre las frecuencias de eritrocitos micronucleados en sangre de embriones y las concentraciones de mercurio (Hg) y cadmio (Cd) en huevos de aves marinas de la costa de Sinaloa, México.....	33
III.1. RESUMEN.....	33
III.2. INTRODUCCIÓN.....	34
III.3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	36

CONTENIDO (continuación)

	Página
III.3.1. Ensayo de Micronúcleos en Sangre de Embriones.....	36
III.3.2. Determinación de Hg y Cd.....	37
III.3.3. Análisis Estadísticos.....	38
III.4. RESULTADOS.....	39
III.5. DISCUSIÓN.....	43
III.5.1. Efectos de las Concentraciones de Hg y Cd sobre las Frecuencias de MN.....	43
III.5.2. Factibilidad de las Especies como Biomonitores de Genotoxicidad en la Costa de Sinaloa.....	44
III.6. CONCLUSIONES.....	46
Capítulo IV. Relación entre el grosor y coloración de cascarones y la concentración de mercurio (Hg) y cadmio (Cd) en huevos de ocho especies de aves marinas de la costa de Sinaloa, México.....	47
IV.1. RESUMEN.....	47
VI.2. INTRODUCCIÓN.....	48
IV.3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	51
IV.3.1. Grosor de Cascarones.....	51
IV.3.2. Coloración de Cascarones.....	52
IV.3.3. Determinación de Hg y Cd.....	53
IV.3.4. Análisis de Datos.....	53
IV.4. RESULTADOS.....	55
IV.4.1. Grosor de Cascarones.....	55
IV.4.2. Coloración de Cascarones.....	62
IV.5. DISCUSIÓN.....	67
IV.5.1. Grosor de Cascarones.....	67
IV.5.2. Coloración de Cascarones.....	70
IV.6. CONCLUSIONES.....	73
Capítulo V. Discusión general.....	74
V.1. INTRODUCCIÓN.....	74
V.2. SELECCIÓN DE ESPECIES PARA EL BIOMONITOREO DE Hg, Cd y OTROS CONTAMINANTES.....	77
V.3. TRABAJO FUTURO.....	82
Literatura citada.....	85

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura</i>		Página
1	Mapa de Sinaloa (noroeste de México) mostrando la ubicación de los sitios de muestreo.	12
2	Concentraciones medias ($\mu\text{g/g}$ peso seco) y errores estándar de Hg y Cd en huevos de cuatro especies de aves marinas del Farallón de San Ignacio, Sinaloa, México, recolectados en 2012 y 2013.	20
3	Concentraciones medias ($\mu\text{g/g}$ peso seco) y errores estándar de Hg y Cd en huevos de siete especies de aves marinas de Bahía Santa María, Sinaloa, México, recolectados en 2012 y 2013.	21
4	Concentraciones medias ($\mu\text{g/g}$ peso seco) y errores estándar de Hg en huevos de tres especies de aves marinas en diferentes sitios de anidación de Sinaloa, México.	24
5	Concentraciones medias ($\mu\text{g/g}$ peso seco) y errores estándar de Cd en huevos de tres especies de aves marinas en diferentes sitios de anidación de Sinaloa, México.	25
6	Concentraciones individuales de Hg y Cd ($\mu\text{g/g}$ peso seco) en huevos de aves marinas Pelecaniformes de la costa de Sinaloa, México, durante las temporadas de anidación 2012 y 2013, en función del promedio de la temperatura superficial del mar en el área de forrajeo de cada especie.	26
7	Relación entre las frecuencias de eritrocitos normocromáticos micronucleados en 10,000 eritrocitos totales y las concentraciones de Hg (A) y Cd (B) en cuatro especies de aves marinas (bobo de patas azules; cormorán orejudo; fragata magnífica y gaviota reidora), durante las temporadas reproductivas 2012 y 2013 en Sinaloa, México.	42

LISTA DE FIGURAS (continuación)

<i>Figura</i>		Página
8	Relación entre el grosor de los cascarones y la concentración de mercurio (Hg) en huevos de cormorán orejudo (<i>Phalacrocorax auritus</i>) en Farallón de San Ignacio (FSI), Bahía de Ohuira (BOH) y Bahía Santa María (BSM), Sinaloa, durante la temporada reproductiva 2013.	56
9	Relación entre el grosor de los cascarones y la concentración de mercurio (Hg) y cadmio (Cd), en huevos de gaviota reidora (<i>Leucophaeus atricilla</i>) de Bahía Santa María, Sinaloa, durante las temporadas reproductivas 2012 y 2013.	57
10	Relación entre el grosor de los cascarones y la concentración de mercurio (Hg), en los huevos de gaviota reidora (<i>Leucophaeus atricilla</i>) de Bahía Santa María, Sinaloa, durante las temporadas reproductivas 2012 y 2013.	58
11	Relación entre el grosor de los cascarones y el volumen de los huevos de gaviota reidora (<i>Leucophaeus atricilla</i>) en Bahía Santa María, Sinaloa, México durante las temporadas reproductivas 2012 y 2013.	59
12	Relación entre el grosor de los cascarones y el volumen de los huevos de pelícano pardo (<i>Pelecanus occidentalis</i>) en tres ecosistemas costeros de Sinaloa, México (Sistema Navachiste-Macapule, Bahía Santa María y Bahía de Mazatlán), durante la temporada reproductiva 2013.	62
13	Relación entre el brillo de los cascarones y la concentración de mercurio (Hg) en los huevos de cormorán orejudo (<i>Phalacrocorax auritus</i>) de Farallón de San Ignacio (FSI) y Bahía Santa María (BSM), Sinaloa, México, en la temporada 2013.	64
14	Relación entre el tono de los cascarones y la concentración de mercurio (Hg) en los huevos de cormorán orejudo (<i>Phalacrocorax auritus</i>) de Farallón de San Ignacio, Bahía de Ohuira y Bahía Santa María, Sinaloa, México en la temporada 2012.	65

LISTA DE FIGURAS (continuación)

<i>Figura</i>		Página
15	Relación entre el tono de los cascarones y las concentraciones de mercurio (Hg) y (Cd) en los huevos de cormorán orejado (<i>Phalacrocorax auritus</i>) de Bahía Santa María, Sinaloa, en la temporada reproductiva 2013.	66
16	Relación entre la coloración (brillo, saturación de color y tono) de los cascarones y las concentraciones de mercurio (Hg) en los huevos de gaviota ploma (<i>Larus heermanni</i>) de Farallón de San Ignacio (FSI) en la temporada 2012 y de Bahía Santa María (BSM) en la temporada 2013.	67

LISTA DE TABLAS

<i>Tabla</i>		Página
1	Número de huevos de aves marinas recolectados en cinco ecosistemas costeros de Sinaloa durante tres temporadas reproductivas, 2010, 2012 y 2013.	11
2	Concentraciones ($\mu\text{g/g}$ peso seco) de Hg y Cd en huevos de ocho especies de aves marinas de la costa de Sinaloa. ^a Tabla 3. Concentraciones ($\mu\text{g/g}$ peso seco) de Hg y Cd en huevos de gaviota reidora (<i>Leucophaeus atricilla</i>) de la Bahía Santa María durante las temporadas reproductivas 2010, 2012 y 2013.	19
3	Concentraciones ($\mu\text{g/g}$ peso seco) de Hg y Cd en huevos de gaviota reidora (<i>Leucophaeus atricilla</i>) de la Bahía Santa María durante las temporadas reproductivas 2010, 2012 y 2013.	22
4	Frecuencias (media \pm error estándar) de eritrocitos normocromáticos micronucleados y eritrocitos policromáticos micronucleados, porcentaje de eritrocitos policromáticos y concentraciones de Hg y Cd (media \pm error estándar) en ocho especies de aves marinas de la costa de Sinaloa, México.	41
5	Grosor (mm) y coloración (brillo, saturación de color y tono) de cascarones, y concentraciones promedio ($\mu\text{g/g}$ peso seco) de mercurio (Hg) y cadmio (Cd) en huevos de ocho especies de aves marinas de Sinaloa, México, en las temporadas reproductivas 2012 y 2013.	60

Resumen

El mercurio (Hg) y cadmio (Cd) se consideran entre los contaminantes de mayor riesgo debido a su toxicidad y bioacumulación en los organismos. En Sinaloa, México, se han encontrado concentraciones elevadas de Hg y Cd en especies marinas de importancia ecológica y económica, por lo que resulta fundamental implementar un programa de biomonitoreo basado en especies indicadoras. Este trabajo evaluó la utilidad de los huevos, embriones y cascarones de ocho especies de aves marinas [bobo de patas azules (*Sula nebouxii*), bobo café (*Sula leucogaster*), cormorán orejudo (*Phalacrocorax auritus*), fragata magnífica (*Fregata magnificens*), pelícano pardo (*Pelecanus occidentalis*), charrán real (*Thalasseus maximus*)], gaviota reidora (*Leucophaeus atricilla*) y gaviota ploma (*Larus heermanni*)], como posibles biomonitores de exposición a Hg y Cd en ecosistemas costeros de Sinaloa. En general, las especies piscívoras acumularon más Hg en los huevos, mientras que las gaviotas, que se alimentan de peces e invertebrados, acumularon más Cd. La concentraciones de los dos metales mostraron variabilidad temporal (generalmente 2012<2013) y espacial (en bobo patas azules, cormorán y pelícano pardo). En sangre de embriones con desarrollo avanzado, se encontró que la frecuencia de eritrocitos normocromáticos micronucleados de cuatro especies (bobo de patas azules, cormorán orejudo, fragata magnífica y gaviota reidora) se incrementó a mayor concentración de Hg y Cd, pero el efecto del Hg varió entre especies y el efecto del Cd varió entre temporadas reproductivas. El grosor de los cascarones se relacionó negativamente con la concentración de Hg y Cd en cormorán orejudo y gaviota reidora, pero en general, en las ocho especies el grosor de los cascarones fue similar al reportado para una época bajo condiciones ambientales saludables. Se encontró relación entre la coloración de cascarones y la concentración de los metales sólo en dos especies: en cormorán orejudo los efectos sobre brillo y coloración variaron entre sitios de anidación y temporadas reproductivas; en gaviota ploma, los efectos sobre brillo, saturación de color y tono fueron consistentes entre sitios de anidación, aún en temporadas distintas. A partir de las concentraciones de metales observadas en los huevos y de la respuesta a los biomarcadores evaluados (eritrocitos micronucleados, grosor y coloración de cascarones), fue posible identificar la utilidad de bobo de patas azules, cormorán orejudo, pelícano

pardo, gaviota reidora y gaviota ploma como biomonitores de contaminación por Hg y Cd en ecosistemas costeros de Sinaloa, México.

Palabras clave: metales, cadena trófica, eritrocitos micronucleados, grosor de cascarones, coloración de cascarones

Abstract

Mercury (Hg) and cadmium (Cd) are considered among the pollutants of concern because of its toxicity and bioaccumulation in organisms. In Sinaloa, Mexico, were found high concentrations of Hg and Cd in marine species of ecological and economic importance, so it is essential to implement a biomonitoring program based on indicator species. This study evaluated the usefulness of eggs, embryos and eggshells of eight species of seabirds [Blue-footed Booby (*Sula nebouxii*), Brown Booby (*Sula leucogaster*), Double-crested Cormorant (*Phalacrocorax auritus*), Magnificent Frigatebird (*Fregata magnificens*), Brown Pelican (*Pelecanus occidentalis*), Royal Tern (*Thalasseus maximus*), Laughing Gull (*Leucophaeus atricilla*) and Heermann's Gull (*Larus heermanni*)] as possible biomonitors of exposure to Hg and Cd in coastal ecosystems of Sinaloa. In general, the highest mercury concentrations were found in the piscivorous species, while in the gulls, which feed on fish and invertebrates, Cd concentrations were highest. The concentrations of the two metals showed temporal variability (generally 2012<2013) and spatial (in Blue-footed Booby, Double-crested Cormorant and Brown Pelican). In the blood of embryos with advanced development, it was found that the frequency of micronucleated normochromatic erythrocytes of four species (Blue-footed Booby, Double-crested Cormorant, Magnificent Frigatebird and Laughing Gull) increased with greater concentration of Hg and Cd, but the effect of Hg varied between species and the effect of Cd varied between breeding seasons. The eggshell thickness was negatively related to Hg and Cd concentrations in Double-crested Cormorant and Laughing Gull, but overall, eggshell thickness in the eight species was similar to that reported for a time under healthy environmental conditions. Relationships between eggshell coloration and concentration of metals were found only in two species: in Double-crested Cormorant the effects on brightness and coloration varied between nesting site and breeding seasons; in Heermann's Gull, the effects on brightness, color saturation and hue were consistent between nesting sites, even in different breeding seasons. From metal concentrations observed in eggs and response to evaluated biomarkers (micronucleated erythrocytes, eggshell thickness and eggshell coloration), it was possible to identify the usefulness of Blue-footed Booby, Double-crested Cormorant, Brown Pelican, Laughing Gull and

Heermann's Gull as biomonitors of contamination for Hg and Cd in coastal ecosystems of Sinaloa, Mexico.

Keywords: metals, food chain, micronucleated erythrocytes, eggshell thickness, eggshell coloration

Capítulo I. Introducción general

I.1. INTRODUCCIÓN

La contaminación de los ecosistemas costeros es uno de los problemas ecológicos más relevantes a nivel global (Sun et al., 2002). Generalmente estos ecosistemas funcionan como sumideros de concentraciones elevadas de contaminantes, debido a que reciben el aporte desde el continente y a través de la circulación oceánica (Rajendran et al., 2005). De la variedad de contaminantes que pueden entrar a los ecosistemas costeros, el mercurio (Hg) y el cadmio (Cd) se consideran entre los de mayor riesgo para los organismos, debido a su toxicidad y capacidad de acumulación (Frías-Espericueta et al., 2011; Margettová et al., 2012). El Hg y el Cd se han relacionado con una variedad de efectos sobre la salud, reproducción y supervivencia de los organismos, incluyendo daño genético, estrés oxidativo, neurotoxicidad, fallos renales, alteraciones del comportamiento y mortalidad de embriones (Lundholm, 1995; Eisler, 1985; Furness, 1996; Wolfe et al., 1998; Cavaş, 2008).

La planicie costera de Sinaloa está dedicada extensiva e intensivamente a la agricultura, en particular en las zonas del centro y norte del estado. Esta actividad implica el uso de cantidades importantes de plaguicidas y fertilizantes que contienen una variedad de sustancias tóxicas, incluyendo metales no esenciales como Hg y Cd (Soto-Jiménez et al., 2003; Frías-Espericueta et al., 2006; 2010). En el sur de Sinaloa, la agricultura no es la actividad preponderante, pero se han reportado concentraciones de estos metales asociados a las actividades mineras que se realizan en la zona serrana (Ruelas-Inzunza et al., 2011) y a las descargas de aguas residuales de los centros urbanos (Morales-Hernández et al., 2004). Los residuos de estas actividades, en conjunto con los sedimentos de suelos aluviales, son arrastrados por los drenes agrícolas y por los escurrimientos naturales durante la temporada de lluvias, por lo que representan las fuentes de ingreso más importantes de metales a los ecosistemas costeros de Sinaloa (Frías-Espericueta et al.,

2006; 2010). Además, estos ecosistemas pueden recibir aportes importantes de Hg y Cd por la remoción de los sedimentos derivada de la dinámica hídrica local (Sunderland et al., 2004) y de procesos oceanográficos regionales como los eventos de surgencia (Segovia-Zavala et al., 1998).

La presencia de Hg y Cd se ha reportado en una variedad de especies acuáticas que son de importancia ecológica y económica para la región, incluyendo moluscos (Osuna-López et al., 2009; Osuna-Martínez et al., 2010), crustáceos (Frías-Espericueta et al., 2007; Ruelas-Inzunza et al., 2011), peces (Ruelas-Inzunza et al., 2010; Frías-Espericueta et al., 2011) y aves (Ruelas-Inzunza et al., 2007, 2009). En algunas especies, las concentraciones de estos metales se encuentran en niveles que pueden representar riesgos para la fauna silvestre asociada y para la salud de las poblaciones humanas que las consumen (Osuna-López et al., 2009; Ruelas-Inzunza et al., 2007, 2011). Por lo tanto, resulta fundamental conocer las concentraciones actuales de Hg y Cd en las cadenas tróficas, identificar patrones espaciales y temporales en la acumulación de estos metales y evaluar posibles efectos sobre los organismos, con implicaciones directas respecto a la salud humana.

Las aves marinas se han sugerido como buenos indicadores de la salud de los ecosistemas marinos y costeros en los que se desarrollan, debido a que son muy sensibles a cambios en el medio ambiente, especialmente a variaciones en la disponibilidad de alimento y a la presencia de sustancias tóxicas (Furness y Camphuysen, 1997). Específicamente, el uso de huevos de aves marinas se ha reconocido como una herramienta eficaz dentro de programas de biomonitoreo, debido a que los huevos reflejan los niveles de contaminantes que la hembra adquirió cerca de la colonia antes de la puesta, por lo que reflejan los niveles de contaminación local (Becker et al., 2001; Burger y Gochfeld, 2004a). Además, los huevos y embriones de estas especies pueden proveer información relevante respecto a la salud de las poblaciones y ecosistemas mediante el uso de biomarcadores a distintos niveles de organización biológica (Barrett et al., 1997). Con base en lo anterior, se propusieron los siguientes objetivos:

I.2. OBJETIVOS

I.2.1. Objetivo General

En este estudio evalué la utilidad de ocho especies de aves marinas como biomonitores de contaminación en la costa de Sinaloa, a partir de la bioacumulación de mercurio (Hg) y cadmio (Cd) en huevos y la relación entre tres biomarcadores (eritrocitos micronucleados en sangre de embriones, grosor y coloración en cascarones) y las concentraciones de estos metales.

I.2.2. Objetivos Específicos

Para cumplir con el objetivo general delimité el estudio en tres secciones, cada una basada en uno de los siguientes objetivos específicos:

1. medir las acumulación de Hg y Cd en huevos y evaluar las variaciones locales e interanuales en las ocho especies de aves marinas,
2. evaluar la relación entre la frecuencia de eritrocitos micronucleados en sangre de embriones y la concentración de Hg y Cd, y
3. evaluar la relación entre grosor y coloración de cascarones y la concentración de Hg y Cd.

I.3. SISTEMA DE ESTUDIO

Este estudio lo realicé en la zona costera del estado de Sinaloa, Noroeste de México, que se encuentra en la región sureste del Golfo de California. Seleccioné cinco sitios de muestreo: Farallón de San Ignacio (FSI), que representa el ecosistema con mayor influencia de condiciones oceánicas y se ubica a 30 km del puerto de Topolobampo, municipio de Ahome; Bahía de Ohuira (OHB), una laguna costera salobre superficial ubicada en el litoral del municipio de Ahome; Sistema Lagunar Navachiste-Macapule (NMS), un conjunto de lagunas costeras someras, ubicadas en el litoral de los municipios de Ahome y Guasave; Bahía Santa María (SMB), la laguna costera más extensa del litoral sinaloense, ubicada en la zona centro-norte del estado, en los municipios de Angostura y

Navolato; y Bahía de Mazatlán (MZB), una bahía semi-cerrada localizada en la región sur de la costa de Sinaloa.

Seleccioné ocho especies de aves marinas que se reproducen en islas e islotes de estos ecosistemas costeros. Realicé la selección con base en tres criterios principales: 1) diferentes estrategias de forrajeo y preferencias alimentarias, con la finalidad de incluir especies que explotan diferentes eslabones de las cadenas tróficas; 2) anidación en colonias grandes, para asegurar la recolecta de un número suficiente de huevos sin afectar la reproducción anual de la especie; 3) acceso fácil y costeable a los sitios de anidación.

De las ocho especies que seleccioné, seis especies son preferentemente piscívoras [bobo de patas azules (*Sula nebouxii*), bobo café (*Sula leucogaster*), cormorán orejudo (*Phalacrocorax auritus*), fragata magnífica (*Fregata magnificens*), pelícano pardo (*Pelecanus occidentalis*) y charrán real (*Thalasseus maximus*)], aunque existen diferencias en cuanto al tamaño de sus presas y a la proporción de especies de peces que consumen (e.g. Velarde et al., 1994; Glahn et al., 1998; Shealer, 2002; Ceyca y Mellink, 2009). Las otras dos especies [gaviota reidora (*Leucophaeus atricilla*) y gaviota ploma (*Larus heermanni*)] son oportunistas y sus dietas pueden incluir peces, invertebrados marinos, huevos y pollos de otras aves marinas que anidan en los mismos sitios (Burger, 1996; Velarde et al., 1994; Campbell et al., 2006; Washburn et al., 2013). Las ocho especies también presentan diferencias marcadas en su capacidad de dispersión para la búsqueda de alimento, por lo que se pueden evaluar las concentraciones de metales que acumulan los huevos en función del nivel trófico y del radio de forrajeo de las especies.

I.4. ESTRUCTURA DE LA TESIS

La tesis ha sido estructurada en tres capítulos principales que pueden ser considerados como artículos individuales si se separan de la tesis. Sin embargo, parte de los datos de las concentraciones de Hg y Cd en los huevos presentados en el Capítulo II se retomaron en los dos capítulos posteriores. Así, en el Capítulo II presento las concentraciones de Hg y Cd medidas en los huevos de las ocho especies de aves marinas, evalué las diferencias inter-específicas entre estos valores, así como la variabilidad temporal; en dos temporadas reproductivas para siete especies y en tres temporadas para

gaviota reidora. También presento la comparación espacial de las concentraciones de Hg y Cd en los huevos de tres especies; en bobo de patas azules (en FSI y BSM), cormorán orejudo (en FSI, BOH, SNM y BSM) y pelícano pardo (en SNM, BSM y BMZ). En el Capítulo III evalué las relaciones del Hg y Cd con las frecuencias de eritrocitos normocromáticos micronucleados (ENCMN) y eritrocitos policromáticos micronucleados (EPCMN) en sangre de embriones de dos etapas de desarrollo; intermedia en embriones de pelícano pardo y avanzada en embriones de bobo de patas azules, cormorán orejudo, fragata magnífica y gaviota reidora. Adicionalmente presento las frecuencias de ENCMN y EPCMN observadas en sangre de embriones de bobo café, charrán real y gaviota ploma en las temporadas 2012 y 2013. En el Capítulo IV evalué las relaciones del Hg y Cd con el grosor y las coordenadas de coloración (brillo, saturación de color y tono) de los cascarones de las ocho especies de aves marinas, en las temporadas 2012 y 2013. Finalmente, en el Capítulo V, integro los hallazgos más importantes de este trabajo y presento una propuesta de las especies que pudieran funcionar mejor como especies objetivo para un programa de monitoreo de contaminantes en la costa de Sinaloa. Por último sugiero futuras líneas de investigación orientadas a reforzar los aportes de este estudio.

Capítulo II. Variaciones locales e interanuales de mercurio (Hg) y cadmio (Cd) en huevos de ocho especies de aves marinas de la costa de Sinaloa, México

II.1. RESUMEN

Se determinaron las concentraciones de mercurio (Hg) y cadmio (Cd) en huevos de aves marinas de Sinaloa, México. Se evaluaron las variaciones interanuales durante dos temporadas reproductivas (2012 y 2013) en ocho especies [bobo de patas azules (*Sula nebouxii*), bobo café (*S. leucogaster*), cormorán orejudo (*Phalacrocorax auritus*), fragata magnífica (*Fregata magnificens*), pelícano pardo (*Pelecanus occidentalis*), charrán real (*Thalasseus maximus*) y gaviota ploma (*Larus heermanni*)] y durante tres temporadas (2010, 2012 y 2013) en gaviota reidora (*Leucophaeus atricilla*). Se evaluaron las variaciones locales en bobo de patas azules (dos sitios), cormorán orejudo (cuatro sitios) y pelícano pardo (tres sitios). Las diferencias interespecíficas en las concentraciones de los dos metales fueron atribuidas a la dieta y ecología de forrajeo de las especies: las aves predominantemente piscívoras tuvieron cantidades más elevadas de Hg (*P. occidentalis*, $3.8 \pm 0.3 \mu\text{g g}^{-1}$; *S. leucogaster*, $2.1 \pm 0.2 \mu\text{g g}^{-1}$; *S. nebouxii*, $2.0 \pm 0.1 \mu\text{g g}^{-1}$; y *Phalacrocorax auritus*, $1.9 \pm 0.1 \mu\text{g g}^{-1}$), mientras que las oportunistas tuvieron concentraciones mayores de Cd (*L. heermanni*, $2.8 \pm 0.9 \mu\text{g g}^{-1}$; y *L. atricilla*, $2.3 \pm 0.3 \mu\text{g g}^{-1}$). Hubo diferencias temporales (2013 > 2012) en las concentraciones de Hg y Cd, que fueron explicados por la variabilidad interanual de las condiciones oceanográficas y ambientales de la región. Las variaciones espaciales de Hg en los huevos de cormorán orejudo fueron atribuidas a las descargas de residuos agrícolas en las lagunas costeras, mientras que la variabilidad de Cd se atribuyó al aporte de agua enriquecida del Golfo de California y a la entrada desde el continente durante la temporada de lluvias. Las concentraciones de Hg en pelícano pardo y de Cd en gaviota ploma y gaviota reidora fueron superiores a las esperadas a causar efectos nocivos sobre la reproducción y supervivencia de estas aves.

II.2. INTRODUCCIÓN

La franja costera del estado de Sinaloa, en el noroeste de México, tiene gran importancia ecológica, económica y social (Flores-Verdugo, 2007). A lo largo de los 656 km de su litoral hay ecosistemas marinos y lagunares-estuarinos altamente productivos que sustentan pesquerías bien desarrolladas. En particular los últimos son usados para la reproducción, reclutamiento y protección de muchos organismos acuáticos (Frías-Espericueta et al., 2011), mientras que en su zona adyacente se asientan algunos de los valles agrícolas de riego más importantes de México, en cuanto a volumen de producción y valor monetario. Además, esta planicie costera de Sinaloa soporta una población superior a los dos millones de habitantes y en la zona serrana se desarrolla una intensa actividad minera (INEGI, 2013). Como consecuencia, se ha detectado presencia de metales en moluscos (Osuna-López et al., 2009; Osuna-Martínez et al., 2010, 2011), crustáceos (Frías-Espericueta et al., 2007) y peces (Ruelas-Inzunza et al., 2008, 2010; Frías-Espericueta et al., 2011) que suponen un riesgo a la integridad ecológica de los ecosistemas y a la salud de las personas que dependen de sus recursos naturales (Carvalho et al., 2002; Ruelas-Inzunza et al., 2007; Montes et al., 2012).

La evaluación de las condiciones que influyen sobre la presencia o concentración de metales en los organismos resulta particularmente importante para entender y prevenir los riesgos ecológicos y de salud humana asociados con niveles elevados (Burger, 2002). El mercurio (Hg) y el cadmio (Cd) son metales de relevancia ambiental debido a su toxicidad y capacidad de acumulación en los organismos (Furness, 1996; Wolfe et al., 1998; Margettová et al., 2012). En ecosistemas costeros, la presencia de estos metales se debe a la combinación de varios procesos naturales, como la circulación oceánica, surgencias, arrastre de sedimentos continentales, transporte atmosférico y deposición (Mailman, 1980; Fitzgerald, 1989; Delgadillo-Hinojosa et al., 2001) y a la influencia de actividades humanas como la agricultura, procesos industriales y desechos urbanos (Soto-Jiménez et al., 2003; Frías-Espericueta et al., 2011).

Los ecosistemas costeros y marinos pueden recibir aportes importantes de algunos metales a través de procesos como la dinámica hídrica local (Sunderland et al., 2004) y por condiciones oceanográficas regionales como los eventos de surgencia (Segovia-

Zavala et al., 1998). En este sentido, Sinaloa se encuentra en la región sureste del Golfo de California, que se caracteriza por presentar variaciones importantes en las condiciones oceanográficas debido principalmente a surgencias intensas en la costa este durante el invierno (Álvarez-Borrego y Lara-Lara, 1991; Santamaría del Ángel, 1994) y a la presencia de eventos globales inter-anales como los ciclos de la Oscilación del Sur El Niño (Soto-Mardones et al., 1999). Localmente, las lagunas costeras de Sinaloa presentan patrones de circulación internos influenciados principalmente por las corrientes de marea (Montaño-Ley et al., 2007; Serrano et al., 2013) que tienen influencia directa en la distribución espacial y temporal de contaminantes (Montaño-Ley et al., 2007).

Las aves marinas se han utilizado como indicadores de contaminación por metales en diversas regiones del mundo (Burger y Gochfeld, 2000; Muñoz-Cifuentes et al., 2003; Becker y Dittmann, 2010). Específicamente, la cuantificación en huevos de aves marinas se ha propuesto como una herramienta para evaluar los niveles de contaminación local debido a que los metales depositados en los huevos reflejan los niveles en la sangre de las hembras durante el tiempo de formación del huevo (Burger y Gochfeld, 1993; Becker et al., 2001). En la costa de Sinaloa se reproducen cuando menos 15 especies de aves marinas y algunas de ellas se congregan en colonias de varios miles de parejas (Carmona y Danemann, 1994; González-Bernal et al., 2002; Muñoz del Viejo et al., 2004; Guevara-Medina et al., 2008). Estas aves adquieren su alimento en las aguas circundantes a los sitios de anidación y pueden ser, por lo tanto, indicadores de cambios espaciales y temporales de metales presentes en las cadenas tróficas a una escala local o regional.

En el presente estudio se determinaron las concentraciones de Hg y Cd en huevos de ocho especies de aves marinas [bobo de patas azules (*Sula nebouxii*), bobo café (*S. leucogaster*), cormorán orejudo (*Phalacrocorax auritus*), fragata magnífica (*Fregata magnificens*), pelícano pardo (*Pelecanus occidentalis*), charrán real (*Thalasseus maximus*), gaviota reidora (*Leucophaeus atricilla*) y gaviota ploma (*Larus heermanni*)] que se reproducen en cinco sitios a lo largo del estado de Sinaloa, México: Farallón de San Ignacio (FSI), Bahía de Ohuira (BOH), Sistema Navachiste-Macapule (SNM), Bahía Santa María (BSM) y Bahía de Mazatlán (BMZ). Con esta información se evaluó lo siguiente: 1) las diferencias inter-específicas en las concentraciones de Hg y Cd en tres de los sistemas de estudio; 2) la variación temporal en las concentraciones de Hg y Cd en

seis especies durante dos temporadas reproductivas (2012 y 2013) y en gaviota reidora durante tres temporadas reproductivas (2010, 2012 y 2013); 3) las variaciones espaciales de las concentraciones de Hg y Cd en los huevos de especies con varios sitios reproductivos para identificar posibles problemas de contaminación.

Las especies de aves marinas seleccionadas tienen diferentes estrategias de forrajeo y preferencias alimentarias. Seis especies son preferentemente piscívoras (bobo de patas azules, bobo café, cormorán orejudo, fragata magnífica, pelícano pardo y charrán real), aunque existen diferencias en cuanto al tamaño de sus presas y al número de especies de peces que incluyen en su dieta (e.g. Velarde et al., 1994; Glahn et al., 1998; Shealer, 2002; Ceyca y Mellink, 2009). Las otras dos especies (gaviota reidora y gaviota ploma) son oportunistas y sus dietas pueden incluir peces, invertebrados marinos, huevos y pollos de otras aves marinas que anidan en los mismos sitios (Burger, 1996; Velarde et al., 1994; Campbell et al., 2006; Washburn et al., 2013). Durante la temporada reproductiva, los radios de forrajeo de las aves marinas están restringidos por la necesidad de regresar a la colonia para incubar los huevos y alimentar a las crías (Anderson et al., 2009). En este sentido, las ocho especies seleccionadas presentan diferencias marcadas en su capacidad de dispersión para la búsqueda de alimento. Entre las especies de Suliformes y Pelecaniformes, fragata magnífica tiene un radio de forrajeo amplio, que puede alcanzar hasta 500 km en algunas colonias (Trefry et al., 2013), bobo café y bobo de patas azules realizan viajes de forrajeo de hasta 30 y 40 km, respectivamente (Weimerskirch et al., 2009), mientras que cormorán orejudo y pelícano pardo se alimentan en áreas aproximadas a los 15 km y 20 km, respectivamente (Briggs et al., 1981; Anderson et al., 2004). Las gaviotas tienen radios de forrajeo más restringidos, de 10 km en gaviota reidora y de 8 km en gaviota ploma (Islam, 2002; Dosch, 2003). Estas diferencias de nivel trófico y capacidad de dispersión de las especies pueden influir directamente en los niveles de contaminantes que acumulan en los huevos, debido a la presencia de procesos de bioacumulación en especies tope y a las variaciones en la biodisponibilidad de los contaminantes entre zonas geográficas distintas (Burger, 2002; Anderson et al., 2009, 2010).

En función de los objetivos planteados se esperaban encontrar: 1) cantidades mayores de Hg en las especies que se ubican en los niveles más altos de la cadena trófica

y cantidades mayores de Cd en las especies oportunistas; 2) diferencias interanuales en las concentraciones de Hg y Cd posiblemente asociadas a las variaciones temporales de las condiciones oceanográficas locales; y 3) concentraciones más elevadas de Hg y Cd en los huevos provenientes de colonias establecidas dentro de sistemas lagunares cercanos a zonas agrícolas.

II.3. MATERIALES Y MÉTODOS

II.3.1. Especies de Aves Marinas

La recolecta de huevos representa una técnica de bajo impacto sobre el éxito reproductivo de las poblaciones de aves marinas (Becker et al., 2001). Se recolectó un total de 416 huevos de ocho especies de aves marinas provenientes de cinco ecosistemas costeros del estado de Sinaloa, México (Tabla 1, Figura 1). En nidadas con varios huevos se recolectó el primer huevo en el orden de puesta, lo que se aseguró aplicando el método de flotación propuesto por Westerkov (1950). El periodo de muestreo incluyó tres temporadas reproductivas: 2009-2010, 2011-2012 y 2012-2013 (cada una se identificó con el último año de cada periodo). En 2010 únicamente se recolectaron huevos de gaviota reidora en SMB. En las otras dos temporadas se obtuvieron huevos en sitios de anidación seleccionados para cada una de las ocho especies: hasta en tres sitios durante la temporada 2012 y hasta en cinco sitios durante la temporada 2013. En la Tabla 1 se muestran las especies, códigos de especie, preferencias alimentarias, sitios de recolecta y números de muestra.

Tabla 1. Número de huevos de aves marinas recolectados en cinco ecosistemas costeros de Sinaloa durante tres temporadas reproductivas, 2010, 2012 y 2013.

Orden	Nombre común	Nombre científico	Clave	NOM ^a	2010	2012			2013				
					BSM	FSI	BOH	BSM	FSI	BOH	SNM	BSM	BMZ
Suliformes	Bobo patas azules	<i>Sula nebouxi</i>	BPA	Pr		6		26	28			28	
	Bobo café	<i>Sula leucogaster</i>	BC			8			13				
	Cormorán orejudo	<i>Phalacrocorax auritus</i>	CO			7	6	15	13	9	6	13	
	Fragata magnífica	<i>Fregata magificens</i>	FM					15				15	
Pelecaniformes	Pelícano pardo	<i>Pelecanus occidentalis</i>	PP	A				25		16	12	10	
Charadriiformes (Fam. Laridae)	Charrán real	<i>Thalasseus maximus</i>	CHR					31				23	
	Gaviota reidora	<i>Leucophaeus atricilla</i>	GR		12			31				30	
	Gaviota ploma	<i>Larus heermanni</i>	GP	Pr		12						6	

^aCategoría de riesgo en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010: A = amenadaza; Pr = Protección especial. La subespecie de pelícano pardo corresponde a *Pelecanus occidentalis californicus*.

Ecosistemas costeros: FSI = Farallón de San Ignacio; BOH = Bahía de Ohuira; SNM = Sistema Navachiste-Macapule; BSM = Bahía Santa María; BMZ = Bahía de Mazatlán.

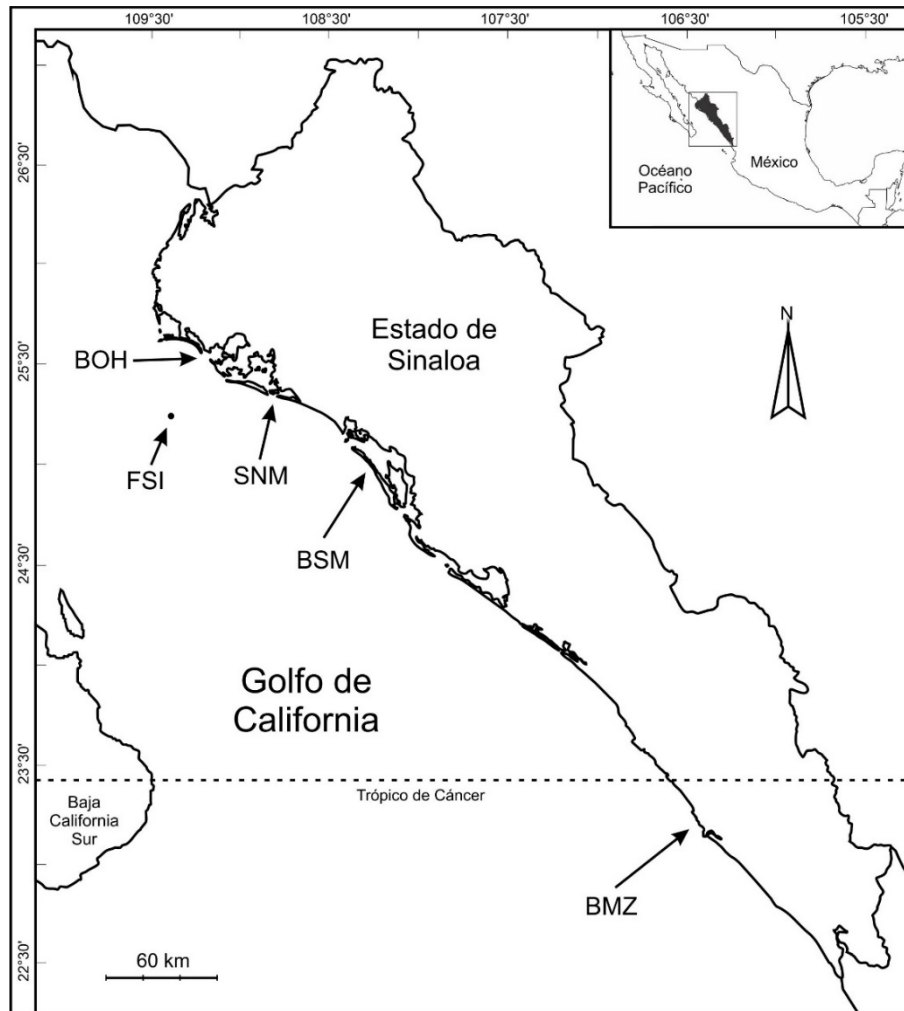


Figura 1. Mapa de Sinaloa (noroeste de México) mostrando la ubicación de los sitios de muestreo. FSI = Farallón de San Ignacio; BOH = Bahía de Ohuira; SNM = Sistema Navachiste-Macapule; BSM = Bahía de Santa María; y BMZ = Bahía de Mazatlán.

II.3.2 Sitios de Muestreo

Los cinco sitios de muestreo seleccionados están ubicados en la región sureste del Golfo de California, en la costa del estado de Sinaloa de los cuales el Farallón de San Ignacio (FSI) representa el ecosistema con mayor influencia de condiciones oceánicas ($25^{\circ}26'12''$ N, $109^{\circ}22'38''$ O). Es una isla de material rocoso, sin vegetación, localizada a 27 km de la costa en la parte norte de Sinaloa con una elevación de 140 m sobre el nivel medio del mar. La cima es una meseta de 4 ha y el resto de la isla está formada por acantilados y laderas con pendientes pronunciadas. Su base mide aproximadamente 16 ha

(González-Bernal et al., 2002). La isla carece de playa arenosa y las aguas circundantes tienen una profundidad de 200-500 m. En FSI se recolectaron huevos de bobo de patas azules, bobo café, cormorán orejudo y gaviota ploma.

Bahía de Ohuira (OHB) es una laguna costera salobre somera ($23^{\circ}37'46''$ N, $108^{\circ}58'54''$ O), con profundidades promedio de 3.0 m en la mayor parte de sus 125 km² de superficie. Se recolectaron huevos de cormorán orejudo en Isla Patos ($25^{\circ},37'10.8''$ N, $109^{\circ}00'45.7''$ O) que se localiza dentro de la bahía, a 3 km del puerto de Topolobampo. La isla es de sustrato rocoso y tiene 23 ha de superficie, 0.6 km de longitud máxima en su base y 44 m de altura de la línea de marea hasta la cima. La cubierta vegetal está dominada por una capa densa de nopaleras (*Opuntia spp.*) en asociación con copales (*Bursera laxiflora*), agaves (*Agave angustifolia*) y garambullos (*Ziziphus pedunculata*) (Reyes-Olivas et al., 2008).

El Sistema Lagunar Navachiste-Macapule (NMS) es un conjunto de lagunas costeras someras, con profundidades de 0.5 a 5 m en la mayoría del sistema, a excepción de los canales principales que presentan profundidades máximas de 12 m (Escobedo-Urías et al., 2007). Los huevos de pelícano pardo y cormorán orejudo se recolectaron en Isla Pájaros ($25^{\circ}22'38''$ N, $108^{\circ}42'13''$ O) en el interior de la Bahía de Macapule. La isla es plana y tiene elevaciones máximas de 1 m sobre el nivel del mar en la mayor parte de su terreno. Su longitud máxima es de 0.6 km. Aquí predomina la vegetación de manglar (*Rhizophora mangle* y *Avicennia germinans*), en asociación con parches de bosque espinoso y pastizal halófito. La isla está considerada como un sitio importante para la reproducción de aproximadamente 1000 parejas de pelícano pardo (Anderson et al., 2007).

Bahía Santa María (SMB) es la laguna costera más extensa del litoral sinaloense, cubre 1,350 km² e incluye varias islas, planicies lodosas extensas, marismas y manglares. SMB está separada del Golfo de California por la Isla Altamura, una barra arenosa de 42 km de largo. En mareas bajas, la mayor parte de la bahía tiene una profundidad de entre 1 y 2 m, con máximos de 20 m en los canales principales (Carmona y Danemann, 1994; Engilis et al., 1998). La recolecta de huevos se realizó en tres islas dentro de la bahía. En Isla El Rancho ($25^{\circ}09'14''$ N, $108^{\circ}22'19''$ O), una planicie arenosa de aproximadamente 120 ha en la boca norte de BSM (González-Bernal et al., 2003), se recolectaron huevos de bobo de patas azules, charrán real, gaviota reidora y gaviota ploma. En la zona central de

la bahía, en las islas El Mero (25°05'34'' N, 108°14'58'' O) y Pájaros (25°04'44'' N, 108°13'52'' O) se recolectaron huevos de cormorán orejudo, fragata magnífica y pelícano pardo. Estas dos islas se caracterizan por estar cubiertas por vegetación de manglar (*A. germinans* y *R. mangle*), con algunos manchones dispersos de pastizal y matorral espinoso. El Mero y Pájaros están separadas por 0.7 km de aguas someras y se ubican a 1 km al este de la Isla Altamura, protegidas del oleaje y los vientos del mar abierto (Carmona y Danemann, 1994).

La Bahía de Mazatlán (MZB) es un cuerpo de agua semi-cerrado de aproximadamente 40 km², con tres islas mayores y dos islotes ubicados cerca de la costa. La profundidad del agua en la zona cercana a la costa es de aproximadamente 5 m, mientras que más allá de las islas las profundidades oscilan entre 14 y 15 m. Los huevos de pelícano pardo se recolectaron en Isla Pájaros (23°15'16'' N, 106°28'36'' O), la más norteña de las tres islas, que se encuentra separada de la ciudad de Mazatlán por 0.9 km. Esta isla tiene longitud máxima de 1.1 km en su base, superficie de 48 ha y elevación de aproximadamente 140 m sobre el nivel del mar (Toledo et al., 1989, Vega-Aviña et al., 2001). La vegetación característica es el bosque espinoso, pastizal, vegetación halófila y un pequeño manchón de mangle de la especie *Conocarpus erectus* (Vega-Aviña et al., 2001).

II.3.3. Determinación de Hg y Cd

Los huevos recolectados se trasladaron al Laboratorio de Ecotoxicología del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. – Unidad Mazatlán, donde se registraron las medidas lineales (largo y ancho) y se obtuvo el contenido de los huevos. El contenido total de cada huevo (clara, yema y embrión) se liofilizó y posteriormente se molió en un mortero de cerámica, para proceder a su digestión y posterior determinación de metales. Primero se digirieron 0.25 g del contenido homogeneizado de cada huevo (peso seco) con 5 ml de HNO₃ al 50%. Posteriormente se realizó una segunda digestión agregando 3 ml de H₂O₂ a las muestras resultantes, que se colocaron en un sistema de digestión (CEM model MARSX) siguiendo el método EPA 3052. Las muestras digeridas se analizaron en un espectrofotómetro de absorción atómica marca Perkin Elmer modelo 1100B. Para la determinación de las concentraciones de Hg se utilizó un generador de

hidruros siguiendo el método EPA 7471A, y para Cd se realizó detección por flama con el método (EPA 7130). Las concentraciones de Hg y Cd se expresaron en $\mu\text{g/g}$ de peso seco. Para el aseguramiento y control de calidad (QA/AC) se utilizaron un blanco, un duplicado y un material de referencia certificado (DOLT-4 hígado de cazón) por el Consejo Nacional de investigación (National Research Council) de Canadá, que fueron digeridos con cada lote de 10 muestras y analizados con el resto de las muestras. El límite de detección para Hg fue de $0.002 \mu\text{g/g}$ y para Cd de $0.05 \mu\text{g/g}$. Los resultados de QA/QC indican que la media del porcentaje de recuperación para Hg fue 99.8% y para Cd 94.0%. La media del porcentaje de la diferencia relativa para los análisis de Hg fue 10.4% y para Cd 14.9%.

II.3.4. Caracterización de las Condiciones Oceanográficas a Escala Local

En el Golfo de California se presentan eventos de surgencia intensos durante el invierno que están asociados con incrementos en la productividad, particularmente en la costa oriental (Álvarez-Borrego y Lara-Lara, 1991). Los eventos de surgencia están relacionados positivamente con el aporte de Cd y otros metales de los sedimentos hacia la superficie del mar (Segovia-Zavala et al., 1998). En este sentido, se utilizó el promedio mensual de la temperatura superficial del mar (SST) en $^{\circ}\text{C}$, para evaluar las variaciones en las condiciones oceanográficas, particularmente de eventos de surgencia (disminución de SST), dentro del radio de forrajeo de cada especie. Se obtuvieron imágenes del satélite Aqua MODIS con cuadrícula espacial geográfica de 0.0125 grados de longitud por 0.0125 grados de latitud (4×4 km, <http://coastwatch.pfel.noaa.gov/index.html>). Se utilizó el software ArcMap 10.1 (Esri) para extraer y calcular el promedio mensual de SST ($^{\circ}\text{C}$) en función del radio de forrajeo de cada especie (Castillo-Guerrero et al., 2011), en cada sitio de anidación: bobo de patas azules (30 km), bobo café (40 km), cormorán orejudo (15 km), fragata magnífica (70 km), pelícano pardo (10 km), charrán real (20 km), gaviota reidora (5 km) y gaviota ploma (1 km) (Briggs et al., 1981; Dosch, 2003; Anderson et al., 2004; Weimerskirch et al., 2009). Debido a que las hembras depositan los contaminantes en los huevos durante el periodo de formación de los mismos (Burger y Gochfeld, 1993; Becker et al., 2001), se utilizó el promedio de SST del mes anterior a la fecha de recolecta de cada especie en cada sitio de anidación.

II.3.5. Análisis de Datos

Para los análisis estadísticos las muestras en las que no se detectaron concentraciones de metales fueron consideradas como cero. Los valores de las concentraciones de Hg y Cd fueron transformados ($\log x + 1$) para minimizar el efecto de tener una escala de valores que involucró varios ordenes de magnitud (Zar, 2010). Los análisis se aplicaron de la misma manera para las concentraciones de ambos metales, que se consideraron como variables dependientes en todos los casos. En FSI se aplicaron ANOVAs de dos vías para comparar las concentraciones de estos metales en los huevos de tres especies (bobo de patas azules, bobo café y cormorán orejudo) durante dos temporadas reproductivas (2012 y 2013). Posteriormente se aplicaron ANOVAs de una vía para incluir a gaviota ploma en la comparación inter-específica solamente durante la temporada 2012. De manera similar, en SMB se aplicaron ANOVAs de dos vías para comparar las concentraciones de Hg y Cd en los huevos de seis especies (bobo de patas azules, cormorán orejudo, fragata magnífica, pelícano pardo, charrán real y gaviota reidora) durante dos temporadas reproductivas (2012 y 2013), y en la temporada 2013 se aplicaron ANOVAs de una vía para incluir a gaviota ploma en la comparación inter-específica. En NMS se aplicó una prueba t-Student para comparar las concentraciones de Hg y Cd en los huevos de cormorán orejudo y pelícano pardo de la temporada 2013.

Para determinar las diferencias en las concentraciones de Hg y Cd entre sitios de anidación, se utilizaron huevos de tres especies de aves marinas. Para bobo de patas azules se aplicaron ANOVAs de dos vías para evaluar las diferencias entre FSI y SMB durante las temporadas 2012 y 2013. Para cormorán orejudo se compararon cuatro sitios de anidación (FSI, OHB, NMS y SMB) muestreados en la temporada 2013 con ANOVAs de una vía, de la misma manera que para pelícano pardo en tres sitios de anidación (NMS, SMB y MZB) durante la misma temporada reproductiva. Los huevos de gaviota reidora recolectados en SMB se compararon con ANOVAs de una vía para determinar las diferencias entre las tres temporadas de muestreo (2010, 2012 y 2013). Se aplicaron pruebas post-hoc de Scheffe después de los ANOVAs para identificar grupos homogéneos. Se realizaron pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas a cada grupo de datos, previo a la aplicación de los análisis ANOVA.

La relación de la SST con las concentraciones de metales entre las temporadas reproductivas 2012 y 2013 se evaluó mediante dos modelos lineales generales (GLM), que incluyeron a las concentraciones de Hg y Cd como variables dependientes, la temporada reproductiva como factor (2012 y 2013) y la SST (°C) como covariado. En estos modelos se evaluaron exclusivamente las especies de Suliformes y Pelecaniformes, que se reproducen en otoño-invierno, para minimizar el efecto del desfase reproductivo con las especies de láridos, que realizan su reproducción en primavera. Esta categorización también minimiza la influencia del nivel trófico sobre los modelos aplicados, debido a que las especies de gaviotas se ubican en niveles tróficos inferiores. Todos los resultados se consideraron significativos en valores de $P < 0.05$. Se utilizó el software Statistica 12.0 (StatSoft, Inc.) para realizar todos los análisis estadísticos.

II.4. RESULTADOS

II.4.1. Comparación de los Niveles de Hg y Cd entre Especies

Se observaron concentraciones de Hg más elevadas en las especies predominantemente piscívoras y más bajas en las dos especies de gaviotas (Tabla 2). En particular, los huevos de pelícano pardo tuvieron las concentraciones más altas de Hg (3.8 $\mu\text{g/g}$), seguidos por aquellos de bobo café, bobo de patas azules y cormorán orejudo, todos $\geq 2.0 \mu\text{g/g}$. El Cd exhibió un patrón diferente al Hg; los huevos de las dos gaviotas y de fragata magnífica tuvieron las concentraciones mayores de Cd (2.3–2.8 $\mu\text{g/g}$), mientras que las concentraciones más bajas se observaron en los huevos de charrán real y pelícano pardo, 0.0 y 1.1 $\mu\text{g/g}$, respectivamente.

Al comparar a las especies dentro de un mismo sistema costero se observaron tendencias inter-específicas similares a las anteriores (Figura 2). En FSI, durante la temporada 2012 las concentraciones de Hg fueron similares en los huevos de bobo de patas azules, bobo café y cormorán orejudo (1.9–2.0 $\mu\text{g/g}$), pero éstas fueron más elevadas que en los huevos de gaviota ploma (0.6 $\mu\text{g/g}$; $F_{3,29} = 38.7$, $p < 0.001$). En la temporada 2013 tampoco hubo diferencias entre las primeras tres especies en las concentraciones de este metal (1.3–2.2 $\mu\text{g/g}$; $F_{2,69} = 1.8$, $p = 0.168$). Las concentraciones de Cd observadas en los huevos de la temporada 2012 fueron diferentes entre las cuatro especies ($F_{3,29} = 3.3$;

$p=0.034$); en bobo de patas azules y gaviota ploma fueron similares (1.3 y $0.6 \mu\text{g/g}$), pero en bobo café y cormorán orejudo estuvieron por debajo del límite de detección. En la temporada 2013 las concentraciones de Cd fueron similares entre las tres primeras especies, dos de bobos y una de cormoranes ($F_{2,69}=1.0$, $p=0.376$; Figura 2).

En SMB hubo diferencias inter-específicas significativas en las concentraciones de Hg encontradas en los huevos recolectados durante la temporada 2012 ($F_{5,252}=10.7$, $p<0.001$; no se recolectaron huevos de gaviota ploma); las concentraciones fueron más bajas en gaviota reidora ($0.3 \mu\text{g/g}$) que en el resto de las especies, que presentaron valores similares entre ellas (1.0 – $2.3 \mu\text{g/g}$). En la temporada 2013 también hubo diferencias significativas entre especies ($F_{6,120}=17.3$, $p<0.001$), con un patrón similar al anterior; en gaviota reidora los valores más bajos ($1.0 \mu\text{g/g}$), mientras que los valores más elevados se observaron en pelícano pardo y cormorán orejudo (4.6 y $2.7 \mu\text{g/g}$). Las concentraciones de Cd en los huevos de la temporada 2012 fueron bajas para todas las especies (BDL– $0.9 \mu\text{g/g}$; no se recolectaron huevos de gaviota ploma), pero si se observaron diferencias significativas ($F_{5,252}=46.5$, $p<0.001$), debido principalmente a que en los huevos de bobo de patas azules, cormorán orejudo y pelícano pardo las concentraciones estuvieron por debajo del límite de detección. En la temporada 2013 las concentraciones de Cd fueron elevadas en los huevos de cinco especies (cormorán orejudo, fragata magnífica, pelícano pardo, gaviota reidora y gaviota ploma; 4.2 – $7.2 \mu\text{g/g}$), que difirieron significativamente de las concentraciones en los huevos de charrán real y bobo de patas azules (0 y $0.1 \mu\text{g/g}$), que presentaron concentraciones debajo de límite de detección,? ($F_{6,120}=82.6$, $p<0.001$; Figura 3). En NMS no hubo diferencias significativas en las concentraciones de Hg y Cd encontradas en los huevos de de las únicas dos especies cormorán orejudo y pelícano pardo que fueron recolectados durante la temporada 2013 (3.4 y $5.9 \mu\text{g/g}$ de Hg: $t_{20}=1.6$, $p=0.126$; 0 y $0.8 \mu\text{g/g}$ de Cd: $t_{20}=1.7$, $p=0.096$; datos no mostrados en figuras).

Tabla 2. Concentraciones ($\mu\text{g/g}$ peso seco) de Hg y Cd en huevos de ocho especies de aves marinas de la costa de Sinaloa.^a

	Bobo patas azules	Bobo café	Cormorán orejudo	Fragata magnífica	Pelícano pardo	Charrán real	Gaviota reidora	Gaviota ploma
n	88	21	69	30	63	54	73	18
Hg	2.0 ± 0.1 (BDL - 4.5)	2.1 ± 0.2 (0.7 - 5.4)	1.9 ± 0.1 (BDL - 5.4)	1.4 ± 0.1 (0.2 - 2.5)	3.8 ± 0.3 (BDL - 10.6)	1.3 ± 0.1 (BDL - 4.4)	0.7 ± 0.1 (BDL - 3.6)	0.9 ± 0.2 (0.2 - 2.3)
Cd	1.4 ± 0.2 (BDL - 7.4)	2.1 ± 0.5 (BDL - 7.4)	2.0 ± 0.3 (BDL - 9.3)	2.4 ± 0.4 (BDL - 7.0)	1.1 ± 0.2 (BDL - 5.4)	0.0 (BDL - 1.0)	2.3 ± 0.3 (BDL - 9.7)	2.8 ± 0.9 (BDL - 9.9)

^aSe presenta la media aritmética y errores estándar. Entre paréntesis se presenta el intervalo de las concentraciones. Límites de detección: 0.0002 $\mu\text{g/g}$ para Hg y 0.5 $\mu\text{g/g}$ para Cd. BDL indica debajo del límite detección.

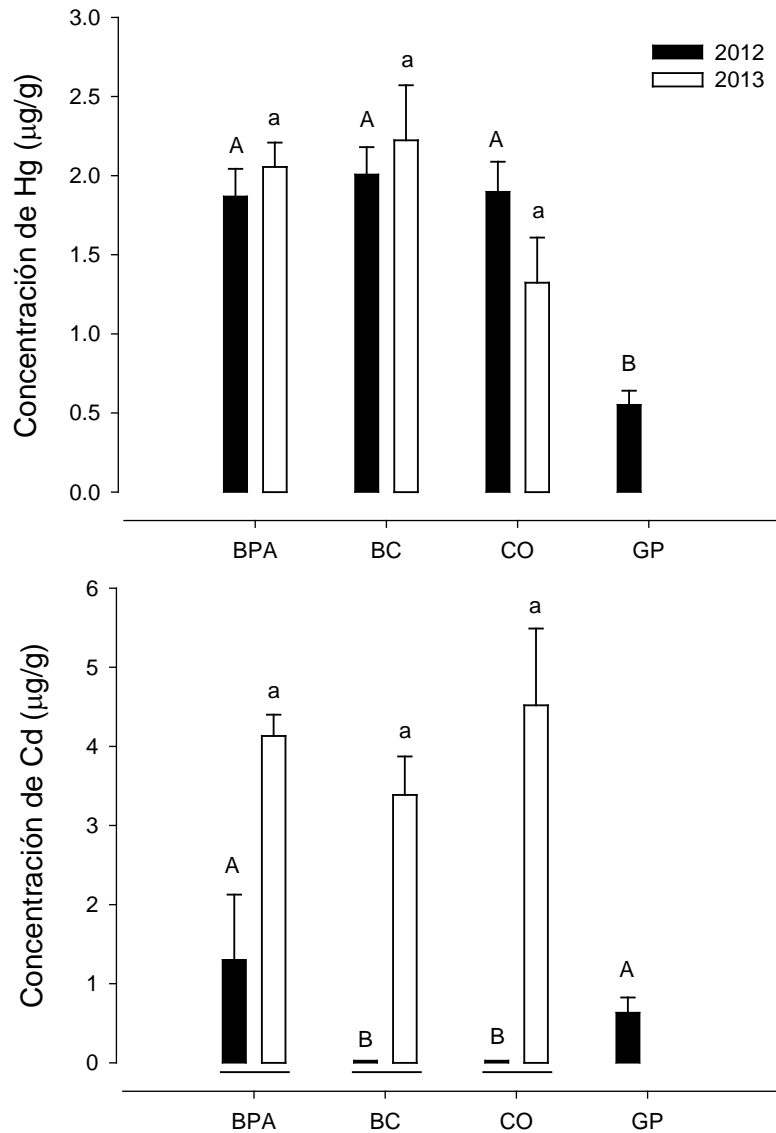


Figura 2. Concentraciones medias ($\mu\text{g/g}$ peso seco) y errores estándar de Hg y Cd en huevos de cuatro especies de aves marinas del Farallón de San Ignacio, Sinaloa, México, recolectados en 2012 y 2013. Las claves de las especies y el número de huevos en cada muestra se presentan en la Tabla 1. Letras mayúsculas iguales indican grupos homogéneos ($P > 0.05$) entre especies durante la temporada 2012. Letras minúsculas iguales indican grupos homogéneos ($P > 0.05$) entre especies durante la temporada 2013. Líneas horizontales bajo las barras indican diferencias significativas intraespecíficas ($P < 0.05$) entre años.

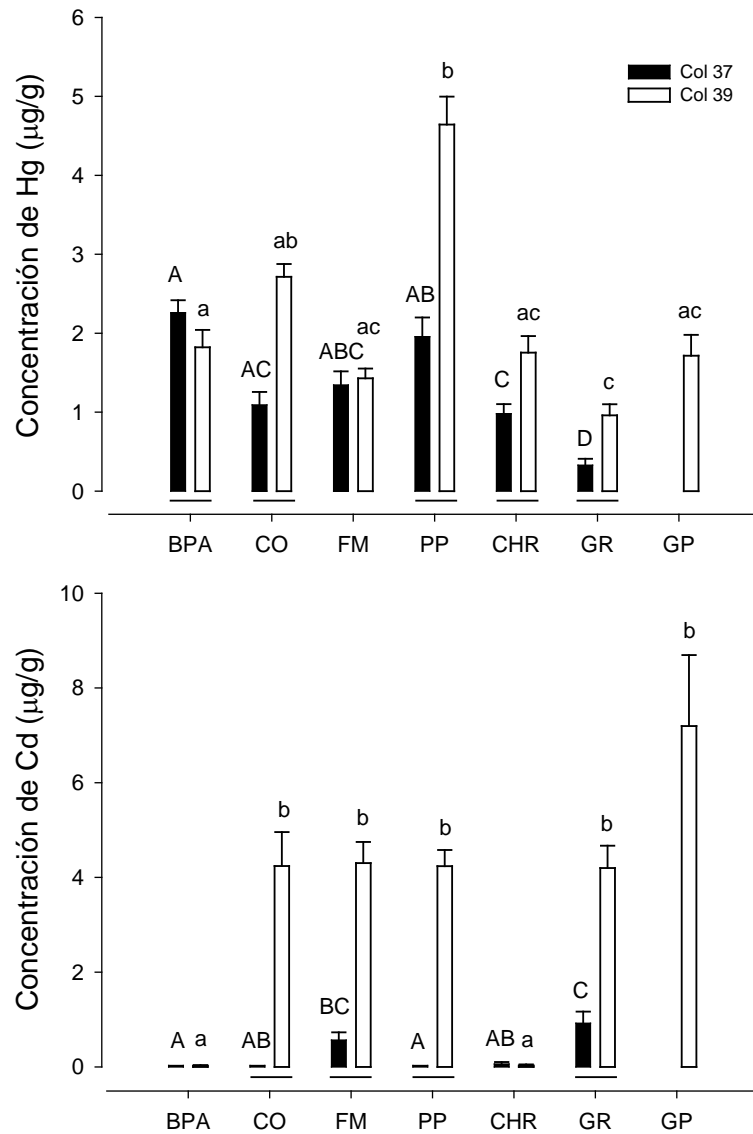


Figura 3. Concentraciones medias ($\mu\text{g/g}$ peso seco) y errores estándar de Hg y Cd en huevos de siete especies de aves marinas de Bahía Santa María, Sinaloa, México, recolectados en 2012 y 2013. Las claves de las especies y el número de huevos en cada muestra se presentan en la Tabla 1. Letras mayúsculas iguales indican grupos homogéneos ($P > 0.05$) entre especies durante la temporada 2012. Letras minúsculas iguales indican grupos homogéneos ($P > 0.05$) entre especies durante la temporada 2013. Líneas horizontales bajo las barras indican diferencias significativas intraespecíficas ($P < 0.05$) entre años.

II.4.2. Variación Interanual en Niveles de Hg y Cd

En la mayoría de las especies y localidades las concentraciones de Hg y Cd fueron más elevadas en los huevos recolectados durante la temporada 2013 que en los de 2012 (Figuras 2 y 3). En FSI las concentraciones de Hg no mostraron diferencias interanuales significativas en los huevos de bobos y cormoranes ($F_{1,69}=1.0$, $P=0.316$), mientras que en SMB las concentraciones de este metal fueron significativamente más elevadas durante la temporada 2013 en los huevos de cuatro especies, con excepción de bobo de patas azules, donde hubo un patrón interanual inverso ($F_{1,252}=51.2$; $p<0.001$). Las diferencias interanuales fueron más acentuadas en las concentraciones de Cd, con todos los valores mayores en la temporada 2013, tanto en FSI ($F_{1,69}=113.2$, $p<0.001$) como en SMB ($F_{1,252}=390.4$, $p<0.001$). En gaviota reidora se midieron las concentraciones de Hg y Cd en SMB durante las tres temporadas reproductivas; en los dos casos se observaron diferencias interanuales. Las concentraciones de Hg fueron significativamente más bajas en la temporada 2012, en comparación con 2010 y 2013 ($F_{2,70}=12.8$, $p<0.001$), y las concentraciones de Cd fueron significativamente más elevadas durante 2013 que en las dos temporadas estudiadas previamente ($F_{2,70}=26.7$, $p<0.001$; Tabla 3).

Tabla 3. Concentraciones ($\mu\text{g/g}$ peso seco) de Hg y Cd en huevos de gaviota reidora (*Leucophaeus atricilla*) de la Bahía Santa María durante las temporadas reproductivas 2010, 2012 y 2013.^a

	2010	2012	2013
n	12	31	30
Hg	1.01 \pm 0.21	0.33 \pm 0.08*	0.96 \pm 0.14
Cd	0.83 \pm 0.23	0.92 \pm 0.25	4.20 \pm 0.47*

^aSe presenta la media aritmética y errores estándar. Límites de detección: 0.0002 $\mu\text{g/g}$ para Hg y 0.5 $\mu\text{g/g}$ para Cd. Las diferencias entre temporadas se obtuvieron con ANOVAs de una vía.

* $p < 0.001$.

II.4.3. Comparación entre Sitios

Las concentraciones de Hg en los huevos de bobo de patas azules (1.9–2.3 $\mu\text{g/g}$) y cormorán orejado (1.1–1.9 $\mu\text{g/g}$) no fueron diferentes entre sitios durante la temporada 2012 ($F_{1,84}=1.9$, $p=0.169$; $F_{1,57}=2.0$, $p=0.167$, respectivamente). En la temporada 2013 no hubo diferencias significativas en los huevos de bobo de patas azules (1.8–2.1 $\mu\text{g/g}$;

$F_{1,84}=1.9$, $p=0.169$) y pelícano pardo (4.2–5.9 $\mu\text{g/g}$; $F_{2,35}=0.9$, $p=0.404$), sin embargo, en cormorán orejudo las concentraciones de Hg fueron significativamente mayores en los huevos recolectados en NMS (3.4 $\mu\text{g/g}$) y menores en aquellos procedentes de FSI (1.3 $\mu\text{g/g}$; $F_{3,37}=5.5$, $p=0.003$; Figura 4). Las concentraciones de Cd tuvieron diferencias significativas entre sitios en los huevos de las tres especies evaluadas: en bobo de patas azules se observaron concentraciones mínimas de Cd en SMB (0 $\mu\text{g/g}$) y máximas en FSI (1.3 y 4.1 $\mu\text{g/g}$) durante las dos temporadas reproductivas; en cormorán orejudo no hubo diferencias entre sitios durante la temporada 2012 (0–0.7 $\mu\text{g/g}$; $F_{2,57}=0.28$, $p=0.758$), pero sí en la temporada 2013, donde las concentraciones de Cd estuvieron por debajo del límite de detección en NMS y oscilaron entre 2.0 y 4.5 $\mu\text{g/g}$ en FSI, BOH y BSM ($F_{3,37}=12.8$, $p<0.001$); mientras que en pelícano pardo las concentraciones de este metal fueron significativamente mayores en los huevos de SMB (4.2 $\mu\text{g/g}$), en comparación con NMS y MZB (0.5 y 0.8 $\mu\text{g/g}$), cuyos niveles fueron similares ($F_{2,35}=28.9$, $p<0.001$; Figura 5).

II.4.4. Relación de Hg y Cd con la Temperatura Superficial del Mar

Las concentraciones de Hg fueron afectadas por la temporada reproductiva (GLM; $F=34.5$, $p<0.001$), la SST (GLM; $F=29.92$, $p<0.001$) y la interacción de estas dos variables (GLM; $F=27.91$, $p<0.001$). Las concentraciones de Cd fueron afectadas por la SST (GLM; $F=19.02$, $p<0.001$) y por la interacción de ésta con la temporada reproductiva (GLM; $F=5.14$, $p=0.024$). En particular, durante la temporada 2012 las concentraciones de Hg y Cd mostraron una tendencia mínima a incrementar conforme aumentó la SST. En la temporada 2013 las concentraciones de Hg decrecieron con el incremento de la SST, mientras que las concentraciones de Cd incrementaron conforme aumentó la SST (Figura 6).

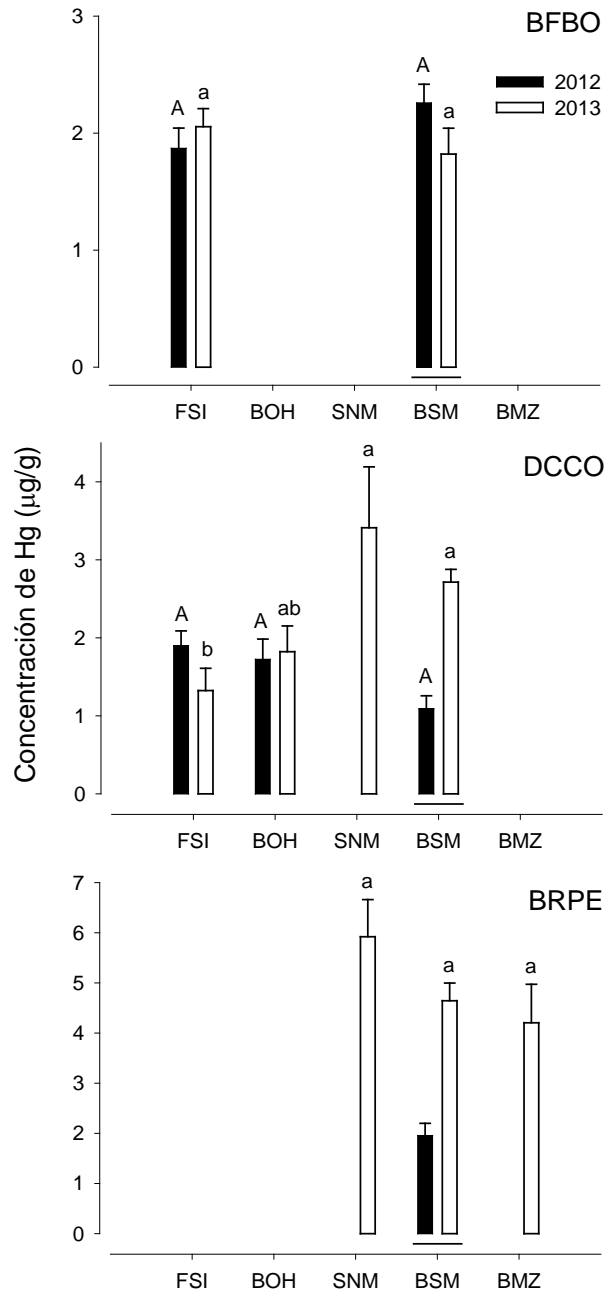


Figura 4. Concentraciones medias ($\mu\text{g/g}$ peso seco) y errores estándar de Hg en huevos de tres especies de aves marinas en diferentes sitios de anidación de Sinaloa, México. Las claves de las especies, números de huevos en cada muestra y códigos de sitios se presentan en la Tabla 1. Letras mayúsculas iguales indican grupos homogéneos ($P > 0.05$) entre especies durante la temporada 2012. Letras minúsculas iguales indican grupos homogéneos ($P > 0.05$) entre especies durante la temporada 2013. Líneas horizontales bajo las barras indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre años dentro de cada especie.

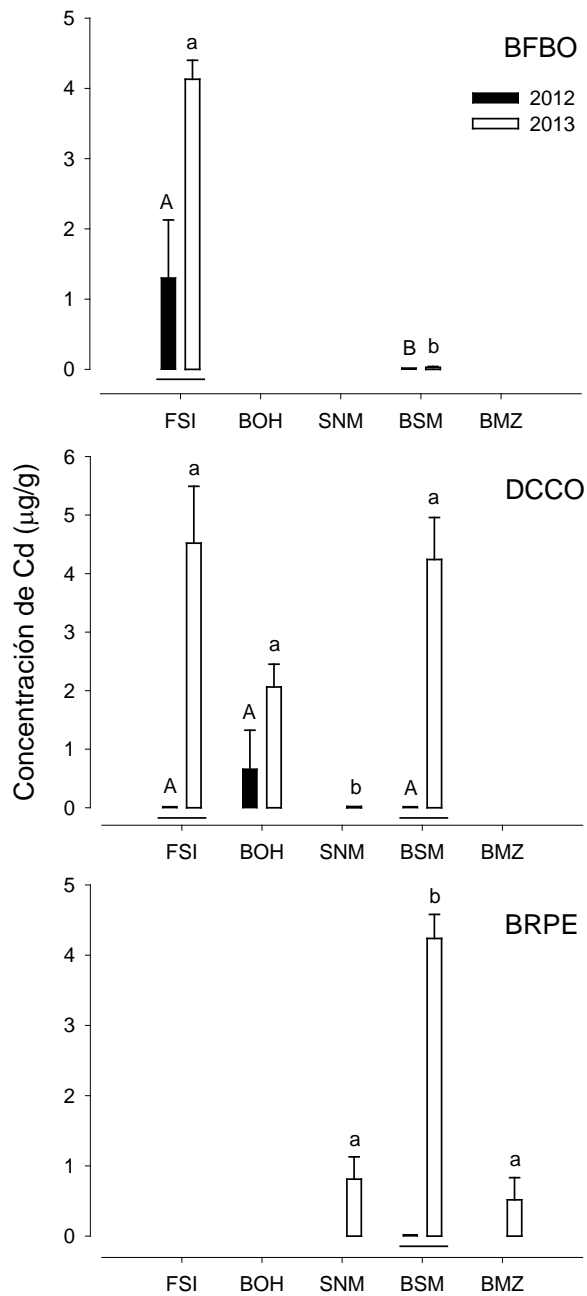


Figura 5. Concentraciones medias ($\mu\text{g/g}$ peso seco) y errores estándar de Cd en huevos de tres especies de aves marinas en diferentes sitios de anidación de Sinaloa, México. Las claves de las especies, números de huevos en cada muestra y códigos de sitios se presentan en la Tabla 1. Letras mayúsculas iguales indican grupos homogéneos ($P > 0.05$) entre especies durante la temporada 2012. Letras minúsculas iguales indican grupos homogéneos ($P > 0.05$) entre especies durante la temporada 2013. Líneas horizontales bajo las barras indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre años dentro de cada especie.

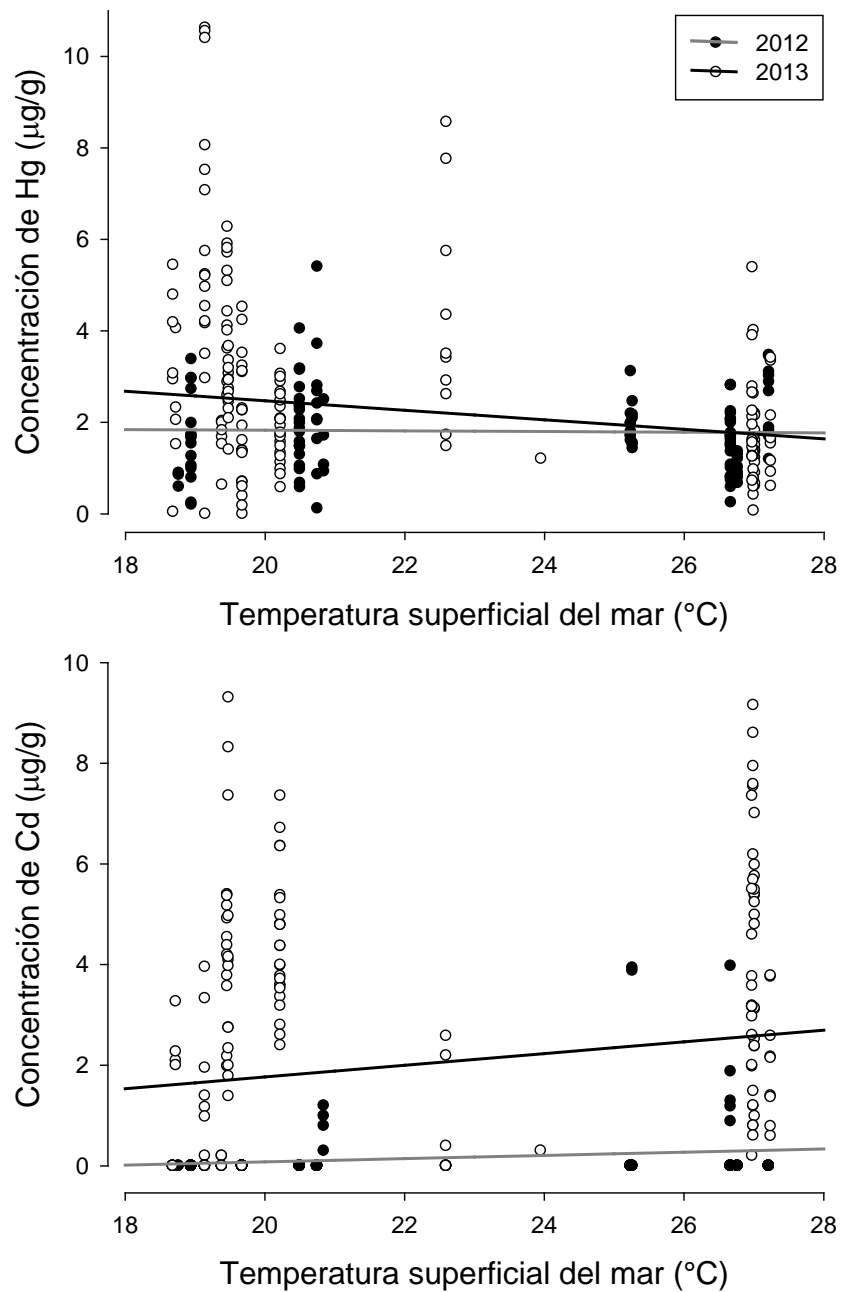


Figura 6. Concentraciones individuales de Hg y Cd ($\mu\text{g/g}$ peso seco) en huevos de aves marinas Pelecaniformes de la costa de Sinaloa, México, durante las temporadas de anidación 2012 y 2013, en función del promedio de la temperatura superficial del mar en el área de forrajeo de cada especie.

II.5. DISCUSIÓN

II.5.1. Análisis Inter-específico

En este estudio se observaron diferencias inter-específicas en las concentraciones de Hg y Cd asociadas con el nivel trófico de las especies. Las concentraciones de Hg fueron altas en especies que se alimentan preferentemente de peces y bajas en especies oportunistas. Se ha reportado la relación entre el nivel trófico y Hg en tejidos de aves marinas en diferentes regiones alrededor del mundo (Monteiro et al., 1998; Burger y Gochfeld, 2000; Burger, 2002; Carravieri et al., 2013). Las aves que explotan los niveles superiores de las cadenas alimentarias acumulan cantidades mayores de este metal (Burger, 2002; Carravieri et al., 2013). En la costa de Sinaloa, las aves Suliformes y Pelecaniformes presentaron las concentraciones más elevadas de Hg en los huevos recolectados en dos ecosistemas diferentes. En FSI, se observaron concentraciones altas en bobos y cormoranes y bajas en gaviotas. En el Golfo de California, bobo café y bobo de patas azules consumen principalmente sardinas y anchovetas (Mellink et al., 2001; Castillo-Guerrero y Mellink, 2011) y cormorán orejudo consume, además, peces demersales (Ainley et al., 1981). La dieta de gaviota ploma consiste también de sardinas y anchovetas en la región central del Golfo de California, pero los peces que consume pertenecen a la etapa de juveniles (Velarde et al., 1994; Velarde et al., 2013). Esto puede explicar las concentraciones menores de Hg en los huevos de esta especie en comparación con aquellas de bobos y cormoranes, debido a que se ha reportado que el contenido de Hg en varias especies de peces pelágicos están relacionados positivamente con la talla y la etapa de desarrollo (Cai et al., 2007; Kojadinovic et al., 2007).

En SMB, durante la temporada 2013 los huevos de pelícano pardo tuvieron concentraciones hasta dos veces más altas de Hg que el promedio para el resto de las especies, incluyendo a las demás aves piscívoras. Se ha reportado que los peces de mayor tamaño comúnmente tienen contenidos de Hg más elevados que los peces de talla pequeña (Dan y Wang, 2012; Burger et al., 2014), lo que puede explicar las concentraciones altas en los huevos de pelícano pardo, cuya dieta puede incluir peces de hasta 160 mm en promedio (intervalo: 97-257 mm; Pinson y Drummond, 1993). El tamaño de presas puede explicar también las concentraciones de Hg menores en charrán real en comparación con

las otras especies piscívoras, debido a que los charranes son aves de tamaño relativamente pequeño y comen peces relativamente pequeños (Burger y Gochfeld, 2000). De las especies oportunistas, los huevos de gaviota reidora tuvieron las concentraciones más bajas de Hg, que se pueden atribuir a una dieta variada en SMB, que consiste principalmente de camarones, anchovetas e insectos (E. González-Medina, Universidad Nacional Autónoma de México, Mazatlán, México, personal communication).

Contenidos elevados de Cd son comunes en especies que explotan niveles bajos de las cadenas tróficas e incluyen invertebrados marinos (moluscos y crustáceos) en sus dietas (Burger y Gochfeld, 2000; Burger et al., 2000; Koyama et al., 2000). En la costa de Sinaloa se encontraron valores altos de Cd en las dos especies de gaviotas, que son oportunistas (Campbell et al., 2006; Washburn et al., 2013). Sin embargo, se observaron concentraciones similares en los huevos de fragata magnífica, que consume mayormente peces. Esto se podría atribuir a que en SMB es común observar el cleptoparasitismo de fragata magnífica sobre el amplio espectro trófico de las dos especies de gaviotas; sin embargo, según (Trefry et al., 2013) señala que el radio de forrajeo amplio de fragata magnífica puede favorecer la adquisición de contaminantes en otras regiones. En contraste, las concentraciones de este metal en los huevos de charrán real estuvieron debajo del límite de detección. Se sabe que metales como el Cd no se acumulan en huevos de algunas especies (Becker et al., 2001) y, en particular, en charranes (subfamilia Sterninae) se ha reportado que las concentraciones de Cd en las hembras no están relacionadas con las concentraciones encontradas en sus huevos (Burger y Gochfeld, 1991).

II.5.2. Variación Interanual

Las diferencias interanuales en las concentraciones de Hg y Cd observadas en este estudio sugieren que la variación en las condiciones oceanográficas y ambientales del Golfo de California influyó el contenido de metales que las aves marinas de Sinaloa acumularon en sus huevos. Diversos estudios indican que las variaciones en las concentraciones de metales en presas de las aves marinas pueden resultar de cambios ambientales que afectan la biodisponibilidad mediante procesos tales como la deposición atmosférica, escurrimientos hídricos continentales durante el periodo de lluvias (Pereira

et al., 2009), surgencias (Segovia-Zavala et al., 1998), cambios climáticos (Aebischer et al., 1990) o variaciones en la estructura de las cadenas alimentarias (Montevecchi y Myers, 1996; Burgess et al., 2013).

Existen reportes que asocian la presencia de eventos de surgencia invernal en la costa oriental del Golfo de California con el incremento en la disponibilidad de nutrientes y la disminución de la SST (Álvarez-Borrego et al., 1978; Santamaría del Ángel, 1999). En general, las concentraciones de ambos metales en los huevos de la temporada 2013 fueron mayores en comparación con la temporada 2012. En particular, durante la temporada 2013 las concentraciones más elevadas de Hg en huevos de Suliformes y Pelecaniformes se presentaron cuando los valores de SST fueron bajos (18-24 °C). Esto sugiere que los eventos de surgencia incrementan la biodisponibilidad de Hg para las presas, que a la vez se traduce en una mayor exposición para las aves marinas.

El contenido de Cd en huevos también mostró asociación con la SST, pero no hubo una tendencia bien definida. En este sentido, es posible que además de los eventos de surgencia, otras fuentes de Cd como el aporte desde el continente a los ecosistemas costeros durante la temporada de lluvias, afecten las concentraciones de este metal en los huevos de las aves marinas. Lo anterior puede ser evaluado detalladamente mediante la implementación de programas de monitoreo regionales, que incluyan muestreos en temporadas reproductivas bajo distintas condiciones oceanográficas y ambientales.

II.5.3. Variación entre Sitios

Varios estudios han propuesto utilizar especies de aves marinas de distribución amplia para identificar diferencias locales y regionales en las concentraciones de metales (Burger y Gochfeld, 2000; Pereira et al., 2009; Carravieri et al., 2013). El contenido de contaminantes en muestras recolectadas a través del área completa de distribución de una especie puede proporcionar información relevante sobre variaciones en la disponibilidad de alimento o sobre la presencia de fuentes puntuales de contaminación (Burger y Gochfeld, 2003; Burgess et al., 2013). En este estudio se evaluaron las diferencias espaciales en las concentraciones de Hg y Cd en tres especies de aves marinas (bobo de patas azules, cormorán orejudo y pelícano pardo) con distribución amplia en la costa de Sinaloa. Para bobo de patas azules y cormorán orejudo la predicción era que los huevos

recolectados en las colonias establecidas dentro de sistemas lagunares adyacentes a zonas agrícolas presentarían las concentraciones más elevadas de estos metales. Sin embargo, para Hg esta predicción se cumplió sólo en los huevos de cormorán orejado recolectados durante la temporada 2013, con cantidades mayores de Hg en NMS y SMB, que son sistemas receptores de desechos agrícolas de los valles de Guasave, Évora y Culiacán (Carvalho et al., 1996; Montes et al., 2012). Lo anterior no se cumplió para Cd en ninguna de las dos especies. Los huevos de bobo de patas azules recolectados en FSI presentaron concentraciones superiores que aquellas procedentes de SMB, donde incluso, las concentraciones de Cd estuvieron por debajo del límite de detección. La biodisponibilidad de Cd en el Golfo de California se ha atribuido a los eventos de surgencia invernal (Osuna-Martínez et al., 2011). Por lo tanto la diferencia espacial en las concentraciones de Cd en los huevos de bobo de patas azules podría ser atribuida a las diferencias en las condiciones oceanográficas de cada sitio en particular. Los bobos de SMB se alimentan comúnmente en zonas cercanas a la costa, mientras que los de FSI explotan aguas más oceánicas (Castillo-Guerrero y Mellink, 2011), donde el efecto de la surgencia puede favorecer la captura de cantidades mayores de Cd. Esto también pudiera explicar las concentraciones elevadas de Cd encontradas en los huevos de cormorán orejado recolectados en FSI durante la temporada 2013.

Huevos de pelícano pardo solo se recolectaron en tres sitios dentro de bahías. En este caso, las concentraciones de Hg fueron similares en los tres sitios, pero las concentraciones de Cd registradas en SMB fueron hasta tres veces más elevadas que aquellas de NMS y MZB. SMB es el sistema lagunar más grande de la costa de Sinaloa y tiene dos conexiones permanentes con el Golfo de California (Carmona y Danemann, 1994; Engilis et al., 1998). Recibe además aportes de aguas continentales y desechos agrícolas, urbanos e industriales a través de tres ríos (río Sinaloa, río Mocorito y río Tule) y varios drenes (Acosta-Velázquez y Vázquez-Lule, 2009). Por lo tanto, es posible que los aportes desde el continente y la hidrodinámica interna y tasas de recambio de agua oceánica favorezcan una mayor disponibilidad de Cd en este ecosistema costero.

Además de pelícano pardo, en SMB también se presentaron concentraciones elevadas de Cd en huevos de cormorán orejado, pero no en los de bobo de patas azules. Aunque estas especies son preferentemente piscívoras, su dieta y ecología de alimentación

son muy distintas: el radio de forrajeo de bobo de patas azules tiene el doble de la distancia del radio de forrajeo de cormorán orejudo y pelícano pardo (Briggs et al., 1981; Anderson et al., 2004; Weimerskirch et al., 2009). Esto implica que cormorán orejudo y pelícano pardo se alimentan casi exclusivamente dentro de la bahía, que concentra cantidades mayores de Cd, mientras que bobo de patas azules puede adquirir presas en dos zonas distintas de alimentación (pelágica y costera), lo que disminuye el potencial de acumulación de este metal en los huevos.

II.5.4. Consideraciones Ecotoxicológicas en Aves Marinas de Sinaloa

En especies de aves marinas se ha reportado que concentraciones de Hg de 0.5–1.0 µg/g (peso húmedo) en los huevos pueden estar asociadas con mortalidad, malformaciones y efectos neurobiológicos (Eisler, 1987). En la costa de Sinaloa, solamente los huevos de pelícano pardo recolectados en NMS superaron las concentraciones de Hg (5.92 µg/g peso seco = 1.04 µg/g peso húmedo) asociadas a posibles efectos nocivos en aves. Durante la temporada reproductiva 2013, 34% de los huevos de pelícano pardo superaron el límite de 1.0 µg/g (peso húmedo) en los tres sitios de muestreo (intervalo: BDL–1.87 µg/g peso húmedo). Lo anterior es particularmente relevante dado que las especies consideradas mantienen poblaciones estables o en crecimiento, a excepción de pelícano pardo, cuyo número de parejas ha disminuido en los últimos años (Castillo-Guerrero et al., 2014) y es la única especie en la que se observó un embrión con el pico malformado durante la inspección del contenido de los huevos (no mostrado). Se requiere estudios posteriores orientados a evaluar el riesgo ecotoxicológico que el Hg pudiera tener sobre las colonias de pelícano pardo en la zona costera de Sinaloa sobre todo porque pertenecen a la subespecie *californicus* de pelícano pardo que se encuentra en la categoría de amenazada de la NOM-059-SEMARNAT-2010.

Se ha reportado que concentraciones de Cd incluso menores que 1.0 µg/g (peso húmedo) pueden producir efectos crónicos tales como daños en el riñón, alteraciones de comportamiento, supresión de la producción de huevos, adelgazamiento de cascarones, entre otros (Furness, 1996). En este estudio, las dos especies de gaviotas presentaron concentraciones de Cd superiores a 1.0 µg/g (peso húmedo) en los huevos recolectados en SMB durante la temporada 2013: gaviota ploma = 1.86 µg/g (0.57–2.56); gaviota reidora

= 1.09 $\mu\text{g/g}$ (BDL–2.51), sugiriendo que al menos cierta proporción de estas poblaciones pudieran presentar un riesgo potencial de efectos crónicos. Sin embargo, se requieren estudios enfocados específicamente en la evaluación del estado de salud de estas especies, de sus parámetros reproductivos y sus tendencias poblacionales en relación con las concentraciones de Cd en los huevos. Estudios más detallados sobre las concentraciones de Cd en la dieta de estas especies de gaviotas permitiría conocer el riesgo potencial del consumo de recursos pesqueros para la salud humana, en particular el consumo de camarones, que representan el alimento más importante de gaviota reidora durante la puesta de huevos (E. González-Medina, Universidad Nacional Autónoma de México, Mazatlán, México, personal communication).

II.6. CONCLUSIONES

Las concentraciones de Hg y Cd reportadas en este estudio indican que los huevos de las especies de aves marinas seleccionadas pueden ser utilizados como biomonitores de contaminación por estos metales en la costa de Sinaloa. Los huevos de las especies piscívoras tienen mayor utilidad para evaluar las concentraciones de Hg, en particular pelícano pardo, bobo de patas azules, bobo café y cormorán orejudo, mientras que los huevos de las especies oportunistas, gaviota ploma y gaviota reidora, pueden ser útiles para evaluar las concentraciones de Cd. Se recomienda la implementación de un programa de monitoreo permanente (con muestreos anuales) y la ampliación del estudio a todo el Golfo de California, para conocer los patrones de distribución a una escala regional y evaluar la influencia de la variabilidad temporal de las condiciones oceanográficas y ambientales sobre la disponibilidad de estos metales tóxicos en el corto, mediano y largo plazo.

Capítulo III. Relación entre las frecuencias de eritrocitos micronucleados en sangre de embriones y las concentraciones de mercurio (Hg) y cadmio (Cd) en huevos de aves marinas de la costa de Sinaloa, México

III.1. RESUMEN

En este estudio se evaluó la relación de Hg y Cd con las frecuencias de eritrocitos normocromáticos micronucleados (ENCMN) y eritrocitos policromáticos micronucleados (EPCMN) en sangre de embriones de aves marinas de la costa de Sinaloa, México, durante las temporadas reproductivas 2012 y 2013. En embriones de pelícano café (*Pelecanus occidentalis*) con desarrollo intermedio, las frecuencias de ENCMN y EPCMN no fueron afectadas por las concentraciones de Hg y Cd. En embriones con desarrollo avanzado de bobo de patas azules (*Sula nebouxii*), cormorán orejudo (*Phalacrocorax auritus*), fragata magnífica (*Fregata magnificens*) y gaviota reidora (*Leucophaeus atricilla*), se presentó un aumento de las frecuencias de ENCMN relacionado positivamente con las concentraciones de Hg, pero el efecto varió entre especies: los embriones de gaviota reidora mostraron el aumento más pronunciado en las frecuencias de ENCMN al incrementarse la concentración de Hg. Las concentraciones de Cd afectaron positivamente a las frecuencias de ENCMN. Esta la relación no fue diferente entre las cuatro especies, pero sí entre las dos temporadas reproductivas: los ENCMN aumentaron cuando las concentraciones de Cd fueron más elevadas en 2012, pero en 2013 no hubo relación aparente, aunque en general hubo más Cd. Los resultados obtenidos indican que bobo de patas azules, cormorán orejudo y gaviota reidora pudieran utilizarse como biomonitores de genotoxicidad en la costa de Sinaloa, considerando la relación entre las frecuencias de ENCMN y las concentraciones de Hg y Cd, además de los tamaños de puesta, distribución y tendencias poblacionales. Bobo café (*Sula leucogaster*), pelícano pardo y gaviota ploma

(*Larus heermanni*) se consideraron como especies candidatas para una evaluación más detallada, debido a las frecuencias de ENCMN y EPCMN observadas en este estudio.

III.2. INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas costeros de Sinaloa, México, son sitios importantes para la reproducción, reclutamiento y protección de una gran cantidad de especies animales (Flores-Verdugo, 2007; Frías-Espericueta et al., 2011). Sin embargo, esta importancia puede verse afectada por la presencia de metales no esenciales en sedimentos (Soto-Jiménez et al., 2003), moluscos (Osuna-Martínez et al., 2011), crustáceos (Frías-Espericueta et al., 2007), peces (Ruelas-Inzunza et al., 2008; Frías-Espericueta et al., 2011) y aves (Ruelas-Inzunza et al., 2007, 2009). En este contexto, el mercurio (Hg) y el cadmio (Cd) son particularmente importantes debido a su toxicidad y capacidad de acumulación en los organismos (Wolfe et al., 1998; Bertin y Averbeck, 2006). El Hg es un metal con elevada capacidad mutagénica y carcinogénica que produce daños neurológicos e inmunológicos y se ha relacionado directamente con mortalidad y crecimiento anormal de embriones de aves (Eisler, 1987; Wolfe et al., 1998). El Cd, por su parte, se ha relacionado con enfermedades de las vías respiratorias, fallos renales, osteoporosis, adelgazamiento de cascarones de huevo en aves e inmunosupresión, entre otros (Furness, 1996; Bertin y Averbeck, 2006). Además, el Hg y el Cd son agentes genotóxicos (Wolfe et al., 1998; Bertin y Averbeck, 2006). El daño genotóxico del Hg se debe principalmente a la ruptura de cromosomas e inhibición del huso mitótico durante la división celular (Wolfe et al., 1998). El Cd genera daño al ADN indirectamente, como consecuencia de alteraciones en compartimentos celulares por estrés oxidativo (Valverde et al., 2001). Estos efectos a nivel genético y celular pueden conducir a alteraciones fisiológicas en los individuos afectando su estado de salud, supervivencia y capacidad de reproducción, con repercusiones a nivel poblacional (Anderson y Wild, 1994).

Uno de los varios métodos propuestos para la cuantificar el efecto producido por sustancias genotóxicas en animales, es el ensayo de micronúcleos (MN) (Schmid, 1975; Udrouiu, 2006; Wolf y Luepke, 1997). Esta técnica consiste en determinar la frecuencia de células micronucleadas utilizando microscopía óptica (Schmid, 1975, 1976). Los MN son

pequeños cuerpos con características similares al núcleo que se forman por la pérdida de cromosomas (eventos clastogénicos) o fallos en el aparato mitótico (eventos aneuploidogénicos) durante la división celular (Schmid, 1975; Fenech, 1993, 2000). Por lo tanto, el incremento de las frecuencias de células micronucleadas en los organismos puede indicar daños sobre el material genético debido a la exposición a sustancias genotóxicas (Wolf y Luepke, 1997). En eritrocitos, los resultados se expresan generalmente como el número de eritrocitos micronucleados (EMN) por cada 10,000 eritrocitos totales (ET), que es la suma de eritrocitos normocromáticos (maduros; ENC) y eritrocitos policromáticos (inmaduros; EPC) (Zúñiga-González et al., 2000). En la sangre de embriones de aves se pueden observar prácticamente todos los grados de madurez de los eritrocitos, por lo que es factible utilizar las frecuencias de eritrocitos normocromáticos micronucleados (ENCMN) y de eritrocitos policromáticos micronucleados (EPCMN) como indicadores de daño genotóxico (Ceyca et al., 2014). Los EPC alcanzan su madurez 24 horas después de su formación y se convierten en ENC, por lo que los EPCMN se deben a alteraciones asociadas con la exposición reciente a genotóxicos (Zúñiga et al., 1996; Torres-Bugarín et al., 2007). En contraste, se considera que los ENCMN proporcionan información sobre eventos que ocurrieron en un periodo equivalente al tiempo de vida de los eritrocitos (25-45 días en aves; Campbell, 1994, 1995), lo que puede variar considerablemente entre especies (Udroiu, 2006).

Particularmente en aves, se han determinado las frecuencias de EMN en varias especies silvestres (Skarphedinsdottir et al., 2010) y en cautiverio (Bhunya y Jena, 1992; 1993; Zúñiga et al., 1996; Zúñiga-González et al., 2000; Gómez-Meda et al., 2006). Asimismo, se ha destacado la efectividad del ensayo de EMN en sangre de embriones de aves como herramienta efectiva para evaluar la exposición a sustancias genotóxicas bajo condiciones de laboratorio (Wolf y Luepke, 1997; Greywe et al., 2012). Durante el desarrollo embrionario, la alta competencia metabólica favorece la activación de promutágenos (Wolf y Luepke, 1997), que se asume son transferidos por la hembra durante la formación del huevo (Becker et al., 2001; Becker, 2003; Stončius, 2003). Por esta razón, recientemente se propuso la aplicación del ensayo de EMN en sangre de embriones de aves marinas en las costas de México (Ceyca et al., 2014). En el campo, se han realizado solo pocos estudios para evaluar la efectividad del ensayo de EMN en

embriones de aves (e.g. Stončius, 2003; Stončius y Lazutka, 2003) por lo que es indispensable obtener información detallada en poblaciones silvestres para conocer la utilidad de esta técnica dentro de programas de monitoreo de contaminantes en los ecosistemas.

Específicamente para Hg y Cd, algunos estudios han evaluado la formación de EMN después de la administración de concentraciones de estos metales en varias especies. En el pez *Carassius auratus auratus* se confirmó que el cloruro de mercurio produce daño genotóxico y citotóxico (Cavaş, 2008). En larvas de ranas africanas (*Xenopus laevis*), las frecuencias de EMN incrementaron después de la inyección de concentraciones ambientalmente relevantes de Cd (Mouchet et al., 2006). También en embriones de gallinas (*Gallus domesticus*) se observó el efecto genotóxico del cloruro de cadmio a partir de las frecuencias de EPCMN a diferentes dosis de exposición (Wolf et al., 2008). En el capítulo II, se reportan las concentraciones de Hg y Cd en huevos de ocho especies de aves marinas de la costa de Sinaloa, México. En particular, las concentraciones de Hg fueron más elevadas en las especies de aves Suliformes y Pelecaniformes, que son preferentemente piscívoras, mientras que las concentraciones de Cd fueron superiores en dos especies de gaviotas, que tienen hábitos oportunistas.

En este sentido, el objetivo del presente estudio es evaluar la relación entre las frecuencias de eritrocitos micronucleados y las concentraciones de Hg y Cd en embriones de ocho especies de aves marinas de la costa de Sinaloa, México [bobo de patas azules (*Sula nebouxii*), bobo café (*S. leucogaster*), cormorán orejudo (*Phalacrocorax auritus*), fragata magnífica (*Fregata magnificens*), pelícano pardo (*Pelecanus occidentalis*), charrán real (*Thalasseus maximus*), gaviota reidora (*Leucophaeus atricilla*) y gaviota ploma (*Larus heermanni*)], a partir de las frecuencias de ENCMN en 10,000 eritrocitos y de EPCMN en 1,000 EPC durante dos temporadas reproductivas (2012 y 2013).

III.3. MATERIALES Y MÉTODOS

III.3.1. Ensayo de Micronúcleos en Sangre de Embriones

Se recolectaron 134 huevos con embriones que estaban en diferentes etapas de desarrollo, correspondientes a ocho especies de aves marinas durante dos temporadas

reproductivas (2011-2012 y 2012-2013) en cinco sitios de anidación de la costa de Sinaloa, México. Los huevos se trasladaron al Laboratorio de Ecotoxicología del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Unidad Mazatlán, en contenedores con temperatura controlada a aproximadamente 37°C. Se extrajeron los embriones de los huevos y se colocaron en charolas de aluminio limpias para determinar visualmente la presencia de deformidades y clasificarlos en dos etapas de desarrollo embrionario en función de las siguientes características: 1) etapa intermedia: embriones con desarrollo completo de extremidades superiores e inferiores, piel translúcida y observación a simple vista de órganos internos; y 2) etapa avanzada: embriones completamente formados, con la piel opaca que impide la observación de órganos internos.

Posteriormente se extrajo sangre de cada embrión (~0.5 ml) y se realizaron frotis sobre portaobjetos limpios. Los frotis se dejaron secar al aire y posteriormente se fijaron con etanol al 80% durante 10 min. Para realizar el conteo de MN, las laminillas se tiñeron con el colorante naranja de acridina, que es específico para ácidos nucleicos (Zamora-Pérez et al., 2004; Torres-Bugarín et al., 2007). Se consideraron como MN los cuerpos de ADN separados completamente del núcleo de los eritrocitos, no refractarios y de al menos un tercio más pequeños y con la misma coloración e intensidad que el núcleo (Grisolia, 2002). El conteo de MN se realizó con microscopía de fluorescencia con objetivo 100X (Marca Carl Zeiss Axiostar® con lámpara de fluorescencia HBO 50 y fuente de poder mbq, con el objetivo A-Plan®). De cada especie, se determinó la frecuencia de ENCMN en 10,000 ET y de EPCMN en 1,000 EPC en las dos etapas de desarrollo embrionario (Zúñiga-González et al., 2000; Zúñiga-González et al., 2001; Torres-Bugarín et al., 2007).

III.3.2. Determinación de Hg y Cd

Se determinó la concentración de Hg y Cd en el homogeneizado del contenido de huevo y embrión. Los homogeneizados se liofilizaron y molieron en un mortero de cerámica, para proceder a su digestión y posterior determinación de metales. Primero se digirieron 0.25 g del contenido homogeneizado de cada huevo (peso seco) con 5 ml de HNO₃ al 50%. Posteriormente se realizó una segunda digestión agregando 3 ml de H₂O₂ a las muestras resultantes, que se colocaron en un sistema de digestión (CEM modelo MARSX) siguiendo el método EPA 3052. Las muestras digeridas se analizaron en un

espectrofotómetro de absorción atómica marca Perkin Elmer modelo 1100B. Para la determinación de las concentraciones de Hg se utilizó un generador de hidruros siguiendo el método EPA 7471A, y para Cd se realizó detección por flama con el método EPA 7130. Las concentraciones de Hg y Cd se expresaron en $\mu\text{g/g}$ de peso seco. Para el aseguramiento y control de calidad (QA/AC) se utilizaron un blanco, un duplicado y un material de referencia certificado (DOLT-4 hígado de cazón) por el Consejo Nacional de investigación (National Research Council) de Canadá, que fueron digeridos con cada lote de 10 muestras y analizados con el resto de las muestras. El límite de detección para Hg fue de $0.002 \mu\text{g/g}$ y para Cd de $0.05 \mu\text{g/g}$. Los resultados de QA/QC indican que la media del porcentaje de recuperación para Hg fue 99.8% y para Cd 94.0%. La media del porcentaje de la diferencia relativa para los análisis de Hg fue 10.4% y para Cd 14.9%.

III.3.3. Análisis Estadísticos

Los resultados se analizaron por métodos estadísticos sólo en las especies con tres o más muestras en cada temporada reproductiva (2012 y 2013) y en cada etapa de desarrollo embrionario (intermedia y avanzada). La relación entre las variables de respuesta (ENCMN o EPCMN) con los factores (especie y/o temporada reproductiva), variables continuas (concentraciones de Hg y Cd) y sus interacciones se evaluó por modelos lineales generales (GLM). El poder estadístico no fue suficiente para incluir interacciones triples, por lo que se eliminaron de los modelos completos iniciales. Posteriormente se eliminaron las interacciones dobles, variables continuas y factores no significativos ($p < 0.05$), para concluir con modelos simplificados.

En la etapa intermedia fue posible analizar solo los datos de pelícano pardo, debido a que el resto de las especies tuvieron menos de tres muestras disponibles en alguna de las dos temporadas reproductivas. Así, los datos de pelícano pardo se analizaron mediante dos GLM, para evaluar por separado la relación de las frecuencias de ENCMN y EPCMN con las concentraciones de Hg y Cd. Los dos GLM iniciales incluyeron a las frecuencias de ENCMN o EPCMN como variables de respuesta, la temporada reproductiva como factor, las concentraciones de Hg y Cd como variables continuas, además de las interacciones temporada \times concentración de Hg y concentración de Hg \times concentración de Cd.

En la etapa avanzada se aplicaron dos GLM para evaluar por separado la relación de las frecuencias de ENCMN y EPCMN con las concentraciones de Hg y Cd en cuatro especies: bobo de patas azules, cormorán orejudo, fragata magnífica y gaviota reidora. Los dos GLM iniciales incluyeron a las frecuencias de ENCMN o EPCMN como variables de respuesta, la especie y temporada reproductiva como factores, las concentraciones de Hg y Cd como variables continuas, además de las siguientes interacciones: especie \times temporada, especie \times concentración de Hg, temporada \times concentración de Hg, especie \times concentración de Cd, temporada \times concentración de Cd y concentración de Hg \times concentración de Cd. En el GLM aplicado para evaluar ENCMN se excluyó un dato de fragata magnífica que presentó frecuencia de 25 ENCMN, debido a que se consideró como un dato atípico. Las comparaciones múltiples en los GLM se realizaron *a posteriori* mediante la prueba de diferencia mínima significativa (LSD por sus siglas en inglés). Se utilizó el software Statistica 10.0 (StatSoft, Inc.) para realizar los análisis estadísticos.

III.4. RESULTADOS

En la Tabla 4 se presentan las frecuencias de ENCMN y EPCMN de las ocho especies de aves marinas, que en general fueron muy variables entre las dos temporadas reproductivas (2012 y 2013). En los embriones de pelícano pardo de la etapa intermedia, las frecuencias de ENCMN no fueron afectadas por las interacciones concentración de Hg \times concentración de Cd ($F_{1,6}=0.00$, $p=0.99$) y temporada \times concentración de Hg ($F_{1,6}=0.74$, $p=0.42$). La temporada reproductiva ($F_{1,6}=0.02$, $p=0.89$) y las concentraciones de Hg ($F_{1,6}=0.51$, $p=0.50$) y Cd ($F_{1,6}=0.00$, $p=0.97$) tampoco afectaron las frecuencias de ENCMN. Las frecuencias de EPCMN tampoco tuvieron relación con las interacciones concentración de Hg \times concentración de Cd ($F_{1,6}=0.04$, $p=0.85$) y temporada \times concentración de Hg ($F_{1,6}=0.02$, $p=0.89$). El factor temporada reproductiva y las concentraciones de Hg ($F_{1,6}=0.02$, $p=0.88$) y Cd ($F_{1,6}=0.05$, $p=0.82$), tampoco estuvieron relacionadas con las frecuencias de EPCMN en los embriones con desarrollo intermedio.

En los embriones de la etapa avanzada se encontró relación entre el Hg y las frecuencias de ENCMN, que fue diferente entre especies (interacción especie \times concentración de Hg: $F_{3,29}=3.39$, $p=0.03$). En las cuatro especies (bobo patas de patas

azules, cormorán orejado, fragata magnífica y gaviota reidora) la relación fue positiva, pero los valores de las pendientes indicaron una respuesta mucho mayor de gaviota reidora al incrementarse la concentración de Hg (Figura 7A). Las frecuencias de ENCMN se relacionaron significativamente con las concentraciones de Cd ($F_{1,29}=28.44$, $p<0.001$), pero el efecto observado fue diferente por temporada reproductiva (interacción temporada x concentración de Cd; $F_{1,29}=30.89$, $p<0.001$). En 2012 las frecuencias de ENCMN registraron incremento conforme aumentaron las concentraciones de Cd, mientras en 2013 el efecto fue muy débil (Figura 7B).

La interacción especie x temporada ($F_{7,29}=4.58$, $p=0.002$) también fue significativa. Esto se debió a que las frecuencias de ENCMN en los embriones de gaviota reidora fueron más elevadas en la temporada 2013 y más bajas en la temporada 2012. En las otras tres especies las frecuencias de ENCMN no fueron diferentes entre sí. En este mismo GLM, las interacciones temporada reproductiva x concentración de Hg ($F_{1,27}=0.44$, $p=0.51$), especie x concentración de Cd ($F_{3,27}=2.44$, $p=0.09$) y concentración de Hg por concentración de Cd ($F_{1,27}=0.16$, $p=0.69$) no se relacionaron con las frecuencias de ENCMN. Los factores especie ($F_{3,27}=2.50$, $p=0.08$) y temporada reproductiva ($F_{1,27}=0.74$, $p=0.40$) no fueron significativos, al igual que la variable continua concentración de Hg ($F_{1,27}=0.04$, $p=0.85$).

Las frecuencias de EPCMN de la etapa avanzada fueron diferentes entre especies ($F_{1,43}=3.47$, $p=0.02$): gaviota reidora y bobo de patas azules tuvieron frecuencias más elevadas (2.1 ± 0.5 y 1.7 ± 0.5 , respectivamente), en comparación con fragata magnífica (0.7 ± 0.3) y cormorán orejado (0.4 ± 0.3). Sin embargo, el resto de las interacciones, factores y variables continuas incluidas en el GLM no fueron significativos: concentración de Hg x concentración de Cd ($F_{1,28}=0.12$, $p=0.73$), temporada x concentración de Cd ($F_{1,28}=3.19$, $p=0.08$), especie x concentración de Cd ($F_{3,28}=0.09$, $p=0.97$), temporada x concentración de Hg ($F_{1,28}=0.42$, $p=0.52$), especie x concentración de Hg ($F_{3,28}=0.38$, $p=0.76$), especie x temporada ($F_{3,28}=0.40$, $p=0.75$), temporada reproductiva ($F_{1,28}=0.15$, $p=0.70$) y concentraciones de Hg ($F_{1,28}=0.89$, $p=0.35$) y Cd ($F_{1,28}=0.45$, $p=0.51$).

Tabla 4. Frecuencias (media \pm error estándar) de eritrocitos normocromáticos micronucleados y eritrocitos policromáticos micronucleados, porcentaje de eritrocitos policromáticos y concentraciones de Hg y Cd (media \pm error estándar) en ocho especies de aves marinas de la costa de Sinaloa, México.*

Especie	Clave	2012						2013					
		n	ENCMN	EPCMN	% EPC	Hg (ug/g)	Cd (ug/g)	n	ENCMN	EPCMN	% EPC	Hg (ug/g)	Cd (ug/g)
ETAPA INTERMEDIA													
Bobo patas azules	BPA	2	6.0 \pm 4.0	12.0 \pm 5.0	22.9	2.5 \pm 1.5	BDL						
Bobo café	BC	2	6.5 \pm 0.5	12.5 \pm 2.5	19.3	1.8 \pm 0.1	BDL	3	0.3 \pm 0.3	3.0 \pm 1.5	15.5	1.6 \pm 0.2	3.7 \pm 1.0
Cormorán orejudo	CO	2	2.0 \pm 1.0	3.5 \pm 3.5	15.4	0.9 \pm 0.0	BDL	6	1.7 \pm 0.7	4.7 \pm 2.5	18.1	1.9 \pm 0.5	2.7 \pm 0.6
Fragata magnífica	FM							2	0.0 \pm 0.0	1.5 \pm 0.5	19.8	1.7 \pm 0.5	3.2 \pm 2.2
Pelícano pardo	PP	6	3.2 \pm 1.3	12.5 \pm 5.9	19.9	1.3 \pm 0.3	BDL	6	1.3 \pm 0.8	5.0 \pm 1.1	16.6	5.5 \pm 0.7	2.9 \pm 0.9
Charrán real	CHR							3	0.7 \pm 0.3	1.3 \pm 0.9	14.3	1.4 \pm 0.6	0.2 \pm 0.2
Gaviota reidora	GR	2	2.5 \pm 0.5	1.0 \pm 0.0	21.7	0.0 \pm 0.0	BDL	5	0.4 \pm 0.2	2.4 \pm 0.4	23.9	0.8 \pm 0.2	2.7 \pm 1.0
Gaviota ploma	GP	2	8.0 \pm 1.0	2.0 \pm 1.0	16.6	0.3 \pm 0.1	0.5 \pm 0.5						
ETAPA AVANZADA													
Bobo patas azules	BPA	6	2.7 \pm 1.0	2.2 \pm 0.5	9.3	2.3 \pm 0.3	BDL	3	2.7 \pm 0.9	0.7 \pm 0.7	5.7	2.5 \pm 0.6	3.1 \pm 1.8
Bobo café	BC							3	0.3 \pm 0.3	0.0 \pm 0.0	4.5	2.9 \pm 0.5	4.8 \pm 1.3
Cormorán orejudo	CO	6	1.0 \pm 0.4	0.2 \pm 0.2	4.4	1.4 \pm 0.1	BDL	4	1.3 \pm 0.3	0.8 \pm 0.8	2.3	2.0 \pm 0.5	2.6 \pm 1.2
Fragata magnífica	FM	6	4.8 \pm 4.1	1.2 \pm 0.5	8.1	1.4 \pm 0.3	0.7 \pm 0.3	6	1.7 \pm 0.7	0.5 \pm 0.2	7.5	1.7 \pm 0.1	4.4 \pm 0.7
Pelícano pardo	PP	2	3.5 \pm 0.5	0.0 \pm 0.0	4.2	2.0 \pm 1.0	BDL	9	0.9 \pm 0.4	0.9 \pm 0.4	8.7	5.3 \pm 0.9	2.4 \pm 0.7
Charrán real	CHR	2	1.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	2.3	1.2 \pm 1.2	0.9 \pm 0.1	8	0.1 \pm 0.1	0.9 \pm 0.3	13.6	1.7 \pm 0.2	BDL
Gaviota reidora	GR	6	8.7 \pm 2.7	2.8 \pm 1.0	11.2	0.8 \pm 0.2	1.2 \pm 0.5	10	0.5 \pm 0.2	1.7 \pm 0.5	3.6	0.7 \pm 0.1	2.9 \pm 0.6
Gaviota ploma	GP	3	0.3 \pm 0.3	1.0 \pm 0.6	13.2	0.7 \pm 0.2	0.5 \pm 0.3	1	0	0	16.3	1.7	9.3

*n = números de muestra; ENCMN = eritrocitos normocromáticos micronucleados en 10,000 eritrocitos totales; EPCMN = eritrocitos policromáticos micronucleados en 1,000 eritrocitos policromáticos; % EPC = % de eritrocitos en 10,000 ET; BDL = debajo del límite de detección para Cd (0.5 ug/g).

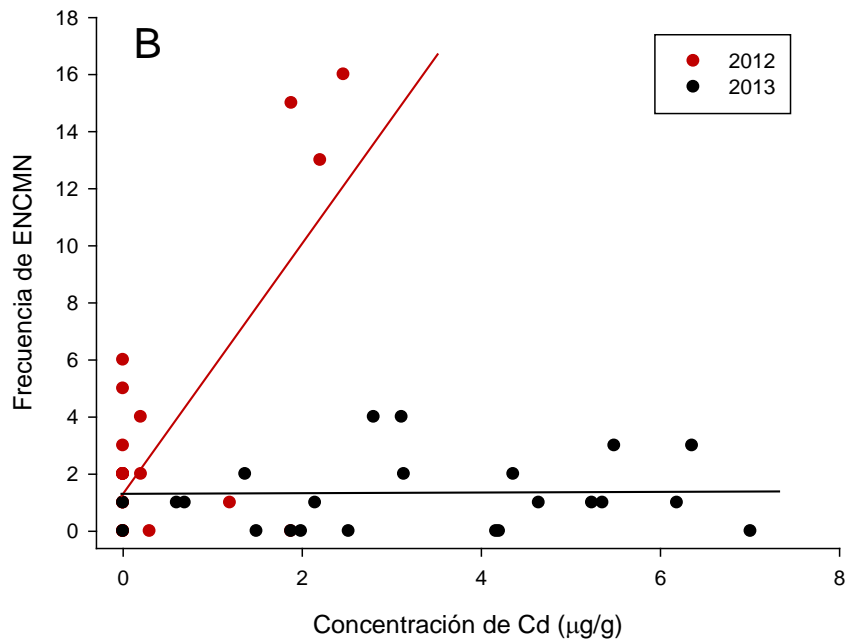
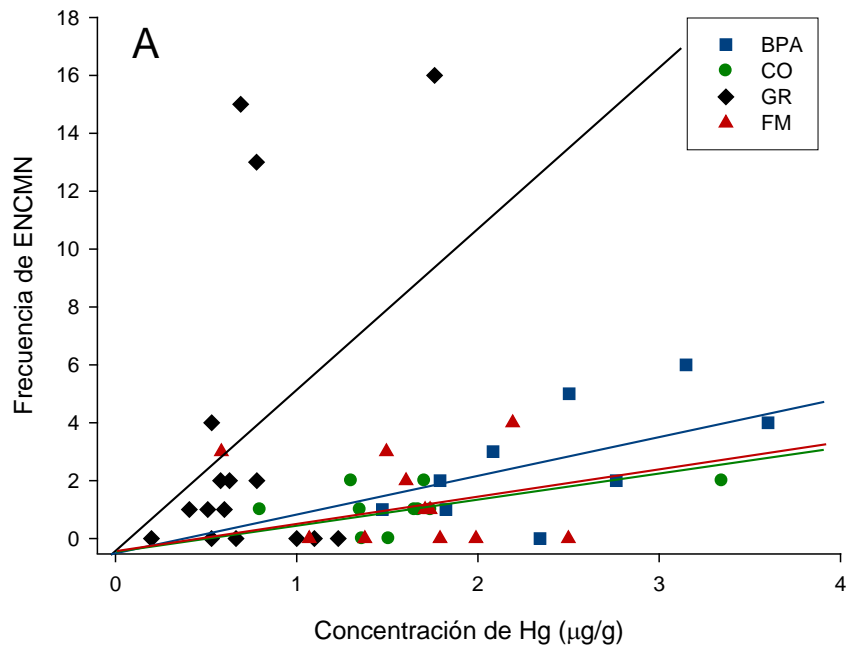


Figura 7. Relación entre las frecuencias de eritrocitos normocromáticos micronucleados (ENCMN) en 10,000 eritrocitos totales y las concentraciones de Hg (A) y Cd (B) en cuatro especies de aves marinas [bobo de patas azules (BPA); cormorán orejado (CO); fragata magnífica (FM) y gaviota reidora (GR)], durante las temporadas reproductivas 2012 y 2013 en Sinaloa, México.

III.5. DISCUSIÓN

III.5.1. Efectos de las Concentraciones de Hg y Cd sobre las Frecuencias de MN

En aves, se han atribuido incrementos de las frecuencias de EMN a la exposición a metales y otros genotóxicos (Wolf et al., 2008; Baesse et al., 2015), pero no se había encontrado una relación directa entre la formación de MN y la ingesta de Hg. En este estudio, se registró un aumento en la frecuencia de ENCMN en embriones con desarrollo avanzado asociado con concentraciones altas de Hg en los huevos y embriones. No obstante, esta relación varió entre especies, lo que pudiera indicar diferencias en la sensibilidad de las especies a este metal (Heinz et al., 2009). Los embriones de gaviota reidora mostraron un incremento más pronunciado de las frecuencias de ENCMN, comparados con los embriones de bobo de patas azules, fragata magnífica y cormorán orejudo. En contraste, Heinz et al. (2009) concluyeron que los embriones de gaviota reidora presentan baja sensibilidad al Hg, al igual que los embriones de cormorán orejudo, lo que sugiere que aunque el Hg es un agente genotóxico, otros factores pudieran ser la causa del incremento en las frecuencias de ENCMN, incluyendo el estado nutricional de los individuos, el polimorfismo genético involucrado en la reparación del ADN y la posible sinergia de varios metales y de otros agentes genotóxicos (Iarmarcovai et al., 2008; Burger y Gochfeld, 2013). Los resultados indican que la concentración de Hg incide en la frecuencia de ENCMN, pues aunque se desconoce el mecanismo de acción, el patrón de relación positiva fue consistente en las todas las especies evaluadas en la etapa avanzada.

La relación entre las frecuencias de células micronucleadas y el Cd es más difícil de evaluar debido a que el daño genotóxico se origina a través de una serie de factores bioquímicos y genéticos que pueden operar de manera aislada o en conjunto (Joseph, 2009). Aun así, se ha comprobado experimentalmente el efecto del Cd sobre la inducción de MN en anfibios (Mouchet et al., 2006), peces (Özkan et al., 2011) y embriones de aves (Wolf et al., 2008). En este estudio, se observó relación de las concentraciones de Cd con las frecuencias de ENCMN. Esta relación parece afectar de manera similar a las cuatro especies evaluadas, aun cuando presentan hábitos de alimentación diferentes, que pueden influir en la cantidad de metales que transfieren a los huevos. Gaviota reidora y fragata magnífica acumulan más Cd, debido al consumo de invertebrados marinos, en

comparación con bobo de patas azules y cormorán orejudo cuyas dietas consisten principalmente de peces (ver Capítulo II). Aunque no hubo diferencias interespecíficas, el posible efecto del Cd sobre las frecuencias de ENCMN varió en función de la temporada reproductiva. Mientras que en los embriones con desarrollo avanzado de la temporada 2012 las frecuencias de ENCMN presentaron una relación positiva con las concentraciones de Cd, en la temporada 2013 el Cd no mostró una relación aparente con las frecuencias de EPCMN, aun cuando durante esta temporada se observaron en general concentraciones más elevadas de este metal.

En los embriones de pelícano pardo con desarrollo intermedio ninguna de las dos frecuencias (ENCMN y EPCMN) se relacionó con las concentraciones de Hg o Cd. Heinz et al. (2009) reportaron que concentraciones de Hg entre 0.25 y 1.0 $\mu\text{g/g}$ (de peso húmedo) incrementan la mortalidad de los embriones. En este estudio, las concentraciones de Hg fueron más elevadas en los embriones de pelícano pardo con desarrollo intermedio de la temporada 2013. Sin embargo, aunque las concentraciones de este metal estuvieron dentro del intervalo reportado para mortalidad (5.5 $\mu\text{g/g}$ de peso seco = 0.97 $\mu\text{g/g}$ de peso húmedo), no se observaron efectos genotóxicos en los embriones. Por lo tanto, aunque se han evidenciado las propiedades genotóxicas del Hg en varias especies (Nepomuceno et al., 1997; Cavaş, 2008; Crespo-López et al., 2009), en pelícano pardo este metal no influyó en la formación de ENCMN y EPCMN.

Las frecuencias de EPCMN en los embriones de la etapa avanzada fueron más elevadas en gaviota reidora, como ocurrió con las frecuencias de ENCMN. Sin embargo, los EPCMN no se relacionaron con las concentraciones de Hg y Cd contenidas en los homogeneizados. Esto supone que en los embriones con desarrollo avanzado las frecuencias de EPCMN no son un buen indicador de daño genético por la exposición a estos dos metales, bajo la metodología de conteo aplicada.

III.5.2. Factibilidad de las Especies como Biomonitorios de Genotoxicidad en la Costa de Sinaloa

La relación entre las frecuencias de MN observadas en una especie y la concentración de un contaminante particular no necesariamente hace a dicha especie biomonitor de genotoxicidad adecuado. Existen una serie de factores que se deben de

considerar antes de delinear las estrategias del monitoreo de genotóxicos, incluyendo: 1) las frecuencias de ENCMN y EPCMN observadas; 2) la capacidad para acumular agentes genotóxicos y su relación con las frecuencias observadas; 3) las historias de vida de las especies; y 4) los aspectos poblacionales (Ceyca et al., 2014).

Con base en los resultados obtenidos fue posible identificar a bobo de patas azules, cormorán orejudo y gaviota reidora como posibles biomonitores de genotoxicidad por la exposición a Hg y Cd en la costa de Sinaloa. Las tres especies tienen colonias abundantes y tamaños de puesta de más de un huevo (bobo de patas azules, 2-3 huevos; cormorán orejudo, 4 huevos; gaviota reidora, 3 huevos), que garantizan la disponibilidad de muestras. bobo de patas azules y cormorán orejudo están bien distribuidas en la costa centro-norte de Sinaloa, con tres y cinco sitios de anidación, respectivamente (Guevara-Medina et al., 2008; Castillo-Guerrero et al., 2014; Gámez-López et al., 2014). Gaviota reidora solamente se reproduce dentro de Bahía Santa María (Castillo-Guerrero et al., 2014), pero es la más abundante, por lo que podría considerarse como la especie más factible para su uso como biomonitor en este ecosistema costero.

Las frecuencias de ENCMN observadas en los embriones de fragata magnífica con desarrollo avanzado se relacionaron con las concentraciones de Hg y Cd. Sin embargo, ésta especie anida únicamente en un sitio de la Bahía Santa María (Castillo-Guerrero et al., 2014) y las hembras se reproducen generalmente cada dos años (Hamer et al., 2001). Por lo tanto, la recolecta periódica de huevos de fragata magnífica para el monitoreo de genotóxicos podría afectar negativamente a la población anidante, en el largo plazo. En contraste, pelícano pardo es una especie con distribución amplia en la costa de Sinaloa (Anderson et al., 2013), que tiene poblaciones grandes, reproducción anual y tamaños de nidada de 3 huevos. Sin embargo, aunque las frecuencias de EPCMN y ENCMN no mostraron relación con las concentraciones de Hg y Cd en los embriones con desarrollo intermedio, no se evaluaron los embriones de la etapa avanzada. Las concentraciones de Hg en los homogeneizados de pelícano pardo fueron las más elevadas de este estudio y, además, presenta una tendencia poblacional negativa (Castillo-Guerrero et al., 2014). Debido a esto, no debería descartarse la posibilidad de realizar estudios más detallados en los huevos y embriones de pelícano pardo, para evaluar la posible relación de niveles

elevados de Hg con efectos sobre la salud y reproducción de esta especie en la costa de Sinaloa.

III.6. CONCLUSIONES

En este estudio se encontró relación entre la frecuencia de ENCMN en sangre de embriones de cuatro especies de aves marinas y las concentraciones de Hg y Cd. De estas, bobo de patas azules, cormorán orejudo y gaviota reidora pudieran utilizarse como biomonitores de genotoxicidad bajo este esquema de estudio, siempre que se realicen investigaciones de campo y experimentales para determinar el nivel del efecto de estos metales sobre las frecuencias de MN observadas. Fragata magnífica también podría resultar un buen biomonitor de daño genotóxico, pero su uso debería limitarse cuando existan otras especies disponibles que cumplan una función similar. Las concentraciones elevadas de Hg encontradas en pelícano pardo sugieren que puede existir un riesgo potencial de daño genotóxico en esta especie. Sin embargo, con los datos disponibles no fue posible evaluar la relación de este metal con las frecuencias de ENCMN en embriones con desarrollo avanzado. En tres especies (bobo café, charrán real y gaviota ploma) no se evaluaron las asociaciones de Hg y Cd con las frecuencias de MN. Aun así, las frecuencias de ENCMN y EPCMN observadas en bobo café y gaviota ploma fueron mayores que las reportadas para especies con factibilidad como biomonitores de agentes genotóxicos (más de 3.5 EMN por cada 10,000 eritrocitos; Torres-Bugarín et al., 2007). Por lo tanto, estas dos especies pueden considerarse como candidatas para una evaluación más detallada, bajo condiciones controladas, que permitan identificar a los agentes químicos responsables del daño genético.

Capítulo IV. Relación entre el grosor y coloración de cascarones y la concentración de mercurio (Hg) y cadmio (Cd) en huevos de ocho especies de aves marinas de la costa de Sinaloa, México

IV.1. RESUMEN

El grosor y la coloración de los cascarones de varias especies de aves se han sugerido como indicadores de contaminación ambiental. En este estudio se evaluaron las relaciones del grosor y las coordinadas coloración de los cascarones con las concentraciones de mercurio (Hg) y cadmio (Cd), en huevos de ocho especies de aves marinas de la costa de Sinaloa, México: bobo de patas azules (*Sula nebouxii*), bobo café (*S. leucogaster*), cormorán orejudo (*Phalacrocorax auritus*), fragata magnífica (*Fregata magnificens*), pelícano pardo (*Pelecanus occidentalis*), charrán real (*Thalasseus maximus*), gaviota reidora (*Leucophaeus atricilla*) y gaviota ploma (*Larus heermanni*), durante dos temporadas reproductivas (2012 y 2013). Aunque se observaron efectos de Hg y Cd sobre el grosor de los cascarones de cormorán orejudo y gaviota reidora, en general en las ocho especies el grosor de los cascarones fue similar al reportado para una época bajo condiciones ambientales saludables, por lo que no representa un riesgo potencial para la reproducción de estas aves. En los cascarones de cormorán orejudo se encontraron relaciones entre el brillo y la concentración de Hg y entre el tono y la concentración de Hg y Cd, que variaron entre sitios de anidación y temporadas reproductivas. En gaviota ploma hubo relaciones entre el brillo, saturación de color y tono de los cascarones y la concentración de Hg, que fueron consistentes en los dos sitios de anidación, aun en temporadas distintas (FSI en 2012 y BSM en 2013). Los resultados indican que, bajo la metodología aplicada, sólo la coloración de los cascarones de gaviota ploma puede ser utilizada como biomarcador de exposición a Hg. En cormorán orejudo, la variabilidad inter-colonial observada en las relaciones entre coloración, Hg y Cd,

sugiere que otros factores tales como la disponibilidad de alimento y la edad de las hembras pueden afectar la coloración de los cascarones. En general, con excepción de la coloración de cascarones de gaviota ploma, el grosor y la coloración de los cascarones no se perfilan como biomarcadores de exposición a Hg y Cd, bajo los criterios considerados en este estudio.

VI.2. INTRODUCCIÓN

Los cascarones de varias especies de aves se han utilizado como indicadores de contaminación ambiental en muchas regiones del mundo (Elliott et al., 1988; Becker et al., 2001; Helander et al., 2002; Muñoz-Cifuentes et al., 2003). Durante la época de mayor aplicación de plaguicidas organoclorados, en las décadas de 1960 y 1970, la exposición crónica a estas sustancias provocó que las poblaciones de algunas especies de aves se redujeran considerablemente debido al adelgazamiento y rotura de los cascarones y los consecuentes fallos reproductivos (Gress, 1970; Gress et al., 1973; Jehl, 1973). En las últimas décadas ha habido una disminución en los niveles de contaminantes organoclorados, lo que ha propiciado que el grosor de los cascarones sea comparable al que tenían estas especies antes de la época de uso intensivo de plaguicidas organoclorados y ha habido una recuperación de las poblaciones de las especies afectadas (Helander et al., 2002; Norstrom y Hebert, 2006; Becker y Dittmann, 2009; Mellink et al., 2009). Sin embargo, otros tipos de contaminantes se siguen liberando a los ecosistemas como desechos de los centros urbanos, de los procesos industriales y de la producción agrícola (Soto-Jiménez et al., 2003; Ruelas-Inzunza et al., 2010). Actualmente no se conocen a detalle los efectos que estos contaminantes pueden estar ejerciendo sobre la estructura y función de los cascarones de aves silvestres.

Hay dos metales no esenciales, mercurio (Hg) y cadmio (Cd), cuyos efectos sobre la vida silvestre han sido documentados (Wolfe et al., 1998; Wayland y Scheuhammer, 2011). En aves, el Hg se ha relacionado con efectos neurológicos, reducción del éxito de eclosión, malformaciones y mortalidad de embriones (Wolfe et al., 1998; Heinz et al., 2012), mientras que el Cd se ha asociado con citotoxicidad, anemia, enfermedades cardíacas y daño testicular, entre otros (Eisler, 1985; Furness, 1996; Chen et al., 2012).

Además, ambos metales pueden ejercer efectos nocivos sobre la estructura y calidad de los cascarones de huevo en varias especies, particularmente en aves de corral (Leach et al., 1979; Lundholm, 1987; Lundholm, 1995; Korénkova et al., 2007; Rahman et al., 2007).

La exposición crónica al Hg puede favorecer el adelgazamiento de los cascarones de gallinas domésticas (Lundholm, 1987, 1995). El mecanismo responsable parece ser la inhibición de la movilización de calcio (Ca) desde el tracto gastrointestinal o el hueso medular hacia la glándula del cascarón (Lundholm, 1995). La exposición al Cd también se ha relacionado con el adelgazamiento de cascarones de gallinas (Leach et al., 1979) y codornices japonesas (Korénkova et al., 2007; Rahman et al., 2007), aunque los mecanismos de acción no son bien conocidos. Una de las explicaciones está basada en la posible competencia del Cd por los sitios de enlace del Ca en la calmodulina (polipéptido que actúa como receptor del Ca), que afecta el metabolismo del Ca en la glándula del cascarón (Lundholm y Mathson, 1986).

Algunos estudios han sugerido que la coloración de los cascarones puede ser utilizada como indicador de contaminación ambiental (Mikšík et al., 1996; Jagannath et al., 2008; Hanley y Doucet, 2012). La coloración de los cascarones está basada en pigmentos sintetizados en la glándula del cascarón de las aves (Wang et al., 2009; 2011), que proporcionan dos tonos diferentes: 1) protoporfirinas y zinc-protoporfirinas, que dan los tonos marrones; y 2) biliverdinas y biliverdinas quelato de zinc, que dan los tonos verdes y azules (Mikšík et al., 1996; Kilner, 2006). La presencia de elementos metálicos en los pigmentos abre la posibilidad de que la coloración de los cascarones sea afectada por la presencia de metales en el ambiente, a través de la sustitución del Zn por otros metales no esenciales (Mikšík et al., 1996). A la fecha no se han realizado estudios para evaluar la relación de concentraciones de metales con los patrones de color de los cascarones.

Las diferencias en la coloración de los cascarones está dada por las variaciones en tres coordenadas de color: brillo (luminosidad; cantidad de blanco y negro), saturación de color (intensidad) y tono (el color *per se*; relacionado con la longitud de onda de la luz; Moreno et al., 2006; Avilés et al., 2007; Jagannath et al., 2008). Aunque los estudios enfocados en determinar el efecto de contaminantes sobre los patrones de coloración de

cascarones son pocos, se ha reportado que el DDT afecta negativamente el brillo y la saturación de los cascarones, encontrándose cascarones más opacos (Wall, 2008), de menor intensidad y con un tono más azul-verde a concentraciones más elevadas de este plaguicida (Jagannath et al., 2008). Los efectos de otros contaminantes sobre estos parámetros son todavía desconocidos.

El uso combinado del grosor y la coloración de los cascarones como herramienta de monitoreo ambiental se ha implementado únicamente en individuos de gavilán euroasiático (*Accipiter nisus*) y gaviota argéntea (*Larus argentatus*), expuestos a concentraciones altas de contaminantes organoclorados (Jagannath et al., 2008; Hanley y Doucet, 2012). Sin embargo, en otras especies expuestas a otros tipos de sustancias no se ha evaluado la utilidad del grosor y la coloración de los cascarones como indicadores de contaminación. En huevos de ocho especies de aves marinas de la costa de Sinaloa, México (Capítulo II de esta tesis), las concentraciones de Hg fueron más elevadas en las especies de aves Suliformes y Pelecaniformes, que son preferentemente piscívoras, mientras que las concentraciones de Cd fueron superiores en dos especies de gaviotas, que tienen hábitos oportunistas. Estas relaciones entre nivel trófico y concentración de metales se han reportado previamente, con las especies que son depredadores tope de las cadenas alimentarias acumulando cantidades mayores de Hg (Burger, 2002; Carravieri et al., 2013) y las especies oportunistas, que incluyen invertebrados marinos (moluscos y crustáceos) en sus dietas, acumulando más Cd (Burger y Gochfeld, 2000; Burger et al., 2000; Koyama et al., 2000).

En concordancia, el objetivo del presente estudio fue evaluar la relación entre el grosor y la coloración de los cascarones y las concentraciones de Hg y Cd en ocho especies de aves marinas, seis piscívoras [bobo de patas azules (*Sula nebouxii*), bobo café (*S. leucogaster*), cormorán orejudo (*Phalacrocorax auritus*), fragata magnífica (*Fregata magnificens*), pelícano pardo (*Pelecanus occidentalis*), charrán real (*Thalasseus maximus*)] y dos oportunistas [gaviota reidora (*Leucophaeus atricilla*) y gaviota ploma (*Larus heermanni*)], en Sinaloa, México, durante dos temporadas reproductivas (2012 y 2013).

Aunque se ha reportado que la exposición a contaminantes ambientales puede afectar los patrones de grosor y coloración de los cascarones (Jagannath et al., 2008;

Hanley y Doucet, 2012), muchos otros factores también pueden influir en estos patrones (Hanley y Doucet, 2012). Por ejemplo, en algunas especies de aves, los cascarones con una coloración más verde-azul pueden indicar mejor condición corporal y capacidad antioxidante de las hembras, debido a una deposición relativamente mayor de biliverdina en los cascarones (Moreno et al., 2006; López-Rull et al., 2008). Algunos factores ambientales también pueden afectar la coloración de los cascarones, vía diferencias en la calidad de las hembras, por ejemplo; en aves paserinas se ha reportado que en los años más lluviosos las hembras ponen huevos con cascarones más azul-verde, debido a que una mejor disponibilidad de alimento resulta en hembras de mejor calidad (Avilés et al., 2007). El volumen de los huevos también se ha relacionado con la calidad de las hembras, debido a que las hembras con mejor condición corporal ponen huevos más grandes con mayores reservas energéticas, que favorecen un rápido crecimiento y una mayor tasa de supervivencia de los pollos (Henrik et al., 1993; You et al., 2009). Por lo tanto, el volumen puede utilizarse como indicador de la calidad de los huevos y como reflejo de una mejor condición corporal de las hembras.

Considerando las concentraciones de Hg y Cd en los huevos de las ocho especies de aves marinas reportadas en el Capítulo II, en este estudio se esperaba encontrar: 1) cascarones más delgados a concentraciones mayores de Hg en los huevos de las especies preferentemente piscívoras (Suliformes y Pelecaniformes); 2) cascarones más delgados a concentraciones mayores de Cd en las dos especies de gaviotas (gaviota reidora y gaviota ploma); 3) cascarones con menos brillo, menor saturación de color y un tono más azul-verde a concentraciones mayores de Hg (en los huevos de las especies piscívoras) y a concentraciones mayores de Cd (en las dos especies de gaviotas).

IV.3. MATERIALES Y MÉTODOS

IV.3.1. Grosor de Cascarones

Se recolectaron 403 huevos de ocho especies de aves marinas en cinco sitios de anidación de la costa de Sinaloa, durante dos temporadas reproductivas (2012 y 2013; Tabla 1). En los nidos que contenían más de un huevo, se seleccionó el primer huevo en el orden de puesta a partir del método de flotación propuesto por Westerkov (1950). Los

huevos se midieron y pesaron antes de extraer el contenido. Las medidas de largo total (mm) y de diámetro máximo (mm) de cada huevo se tomaron con un calibrador electrónico (Stainless Hardened, 0.01 mm de precisión), mientras que el peso se obtuvo con una balanza electrónica marca (0.01 g de precisión). El volumen (mm^3) de los huevos se estimó aplicando la fórmula $0.51 \times \text{largo} \times \text{ancho}^2$ (Hoyt, 1979; Honza et al., 2011). Los cascarones se cortaron con un bisturí, en la zona del ecuador, para extraer el contenido. Una vez separados del contenido, los cascarones se lavaron, conservando las membranas internas, y se dejaron secar al aire durante dos meses o más. El grosor se midió con un calibrador de puntas redondas (Starrett 1010M, 0.001 mm de precisión). Se tomaron cinco medidas en sitios cercanos al ecuador de cada cascarón y se utilizaron los promedios para realizar los análisis estadísticos (Mellink et al., 2009). El coeficiente de variación promedio para todas las muestras fue de 2.4%.

IV.3.2. Coloración de Cascarones

La coloración de los cascarones se midió con un espectrofotómetro Kónica-Minolta, modelo CM-600d, con máscara de referencia CM-A180 para un área de iluminación de 8 mm. Las calibraciones del blanco se realizaron con la placa de calibración CM-A177. Se utilizó el espacio de color CIE $L^* C^* H^\circ$, que se basa en las medidas de tres coordenadas dentro de un espacio de color tridimensional, en el espectro de luz visible por el ojo humano (longitudes de onda entre 400 y 700 nm). Las coordenadas de este sistema son: brillo (escala de 0 a 100), saturación de color (escala de 0 a 100) y tono (ángulo de en la rueda de color; valores de 0 a 360° ; Jagannath et al., 2008). Se tomaron 5 medidas de color en sitios seleccionados al azar, a través del eje más largo de cada cascarón. Los valores de cada coordenada se obtuvieron automáticamente por el espectrofotómetro, a partir de la media de las 5 medidas secuenciales de cada cascarón (Avilés et al., 2006; Morales et al., 2010).

El uso de cascarones almacenados durante periodos largos de tiempo se ha defendido como una técnica confiable para comparar los patrones de coloración intra-específica de los cascarones, siempre que todo el set de muestras haya recibido el mismo manejo durante su almacenamiento (Cassey et al., 2010). Las medidas de coloración de los cascarones de este estudio se obtuvieron al menos un año después de la recolecta.

Todos los cascarones permanecieron bajo condiciones de almacenamiento similares (protegidos de la luz solar, polvo y humedad) y en ningún caso se midió la coloración en huevos frescos. Por lo tanto, las coordenadas de color obtenidas son comparables entre cascarones de una misma especie.

IV.3.3. Determinación de Hg y Cd

Se determinó la concentración de Hg y Cd en el homogeneizado del contenido de huevo y embrión. Los homogeneizados se liofilizaron y molieron en un mortero de cerámica, para proceder a su digestión y posterior determinación de metales. Primero se digirieron 0.25 g del contenido homogeneizado de cada huevo (peso seco) con 5 ml de HNO₃ al 50%. Posteriormente se realizó una segunda digestión agregando 3 ml de H₂O₂ a las muestras resultantes, que se colocaron en un sistema de digestión (CEM modelo MARSX) siguiendo el método EPA 3052. Las muestras digeridas se analizaron en un espectrofotómetro de absorción atómica marca Perkin Elmer modelo 1100B. Para la determinación de las concentraciones de Hg se utilizó un generador de hidruros siguiendo el método EPA 7471A, y para Cd se realizó detección por flama con el método (EPA 7130). Las concentraciones de Hg y Cd se expresaron en µg/g de peso seco. Para el aseguramiento y control de calidad (QA/AC) se utilizaron un blanco, un duplicado y un material de referencia certificado (DOLT-4 hígado de cazón) por el Consejo Nacional de investigación (National Research Council) de Canadá, que fueron digeridos con cada lote de 10 muestras y analizados con el resto de las muestras. El límite de detección para Hg fue de 0.002 µg/g y para Cd de 0.05 µg/g. Los resultados de QA/QC indican que la media del porcentaje de recuperación para Hg fue 99.8% y para Cd de 94.0%. La media del porcentaje de la diferencia relativa para los análisis de Hg fue 10.4% y para Cd de 14.9%.

IV.3.4. Análisis de Datos

Se aplicaron modelos lineales generales (GLM) para evaluar la relación entre el grosor (mm) y coloración (brillo, saturación de color y tono) de los cascarones y las concentraciones de Hg y Cd. Debido a que las características físicas y estructurales de los cascarones varían en función de las historias de vida y la ecología reproductiva de las especies (Cassey et al., 2012), no es adecuado realizar comparaciones inter-específicas del

grosor y coloración de los cascarones. Por lo tanto, se aplicaron GLM por separado para cada una de las ocho especies estudiadas. En todos los casos, las variables de respuesta fueron el grosor y las coordenadas de coloración (brillo, saturación de color y tono). Como covariados se incluyeron el volumen (como indicador de calidad de los huevos) y las concentraciones de Hg y Cd. En el caso de bobo café, fragata magnífica, charrán real y gaviota reidora, los GLM incluyeron solamente a la temporada reproductiva (2012 y 2013) como factor, mientras que en gaviota ploma, el único factor incluido fue el sitio de anidación (FSI y BSM). En pelícano pardo sólo se evaluaron los datos de la temporada 2013, incluyendo el factor sitio de anidación (SMN, BSM y BMZ). Cada GLM incluyó todas las posibles interacciones, excluyendo las que incluían el volumen de los huevos.

En bobo de patas azules, se aplicaron GLM por separado para FSI y BSM. Para los datos de FSI los modelos incluyeron la temporada reproductiva como factor, además de los covariados (volumen, Hg y Cd). En BSM, los modelos no incluyeron al Cd como covariado, debido a que en la temporada 2012 las concentraciones de este metal estuvieron debajo del límite de detección y en 2013 sólo se obtuvieron datos en 3 muestras (resultando en medias y varianzas iguales a cero). Por lo tanto, los GLM utilizados para BSM incluyeron como factor a la temporada reproductiva y como covariados al volumen y la concentración de Hg.

En cormorán orejado, se aplicaron GLM por separado para las temporadas 2012 y 2013. En la temporada reproductiva 2012 el Cd no se incluyó como covariado en los modelos para grosor y coloración de cascarones, debido a que en esta temporada las concentraciones de Cd estuvieron por debajo del límite de detección en FSI y BSM, mientras que en BOH solo se encontró Cd en una muestra (resultando en medias y varianzas iguales a cero). En este caso, los modelos para evaluar grosor y coloración (brillo, saturación de color y tono) de cascarones en la temporada 2012 incluyeron al sitio de anidación (FSI, BOH y BSM) como factor, además de los covariados volumen y concentración de Hg. Para evaluar el grosor de cascarones en la temporada 2013, además del factor sitio de anidación (FSI, BOH y BSM) se incluyeron los covariados volumen, Hg y Cd. En los modelos para evaluar coloración de cascarones (brillo, saturación de color y tono) en la temporada 2013, sólo se incluyeron los datos de FSI y BSM, debido a que en BOH no se obtuvieron datos de coloración durante esta temporada. En este caso, los

GLM incluyeron el factor sitio de anidación (FSI y BSM) y los covariados volumen, Hg y Cd.

Todos los GLM aplicados partieron de un modelo completo inicial y posteriormente se eliminaron las interacciones, covariados y factores no significativos ($p > 0.05$), para concluir con modelos más simplificados. La proporción de la varianza en las variables de respuesta que fue explicada por efectos parciales de los factores, covariados e interacciones, se presenta como eta-cuadrada (η^2 ; suma de cuadrados para los efectos, dividido entre la suma de cuadrados total; Taggart et al., 2009). Se utilizó el software Statistica 10.0 (StatSoft, Inc.) para realizar los análisis estadísticos.

IV.4. RESULTADOS

IV.4.1. Grosor de Cascarones

El grosor de los cascarones de bobo de patas azules, bobo café, fragata magnífica, charrán real y gaviota ploma no fue afectado por las concentraciones de Hg y Cd. Tampoco se encontraron diferencias significativas entre sitios de anidación y/o temporadas reproductivas y no hubo relación del volumen de los huevos con el grosor de los cascarones en estas cinco especies (todos los valores de $P > 0.05$).

En cormorán orejudo, se encontró solamente una relación entre el Hg con el grosor de los cascarones en la temporada 2013, pero el efecto fue diferente entre sitios de anidación (interacción sitio x concentración de Hg; $F_{2,22}=3.8$; $p=0.038$, $\eta^2=0.26$). En FSI y BOH el grosor de los cascarones disminuyó ligeramente conforme se incrementó la concentración de Hg, mientras que en BSM la tendencia fue inversa (valores de las pendientes: FSI=-0.0012; BOH=-0.0047; BSM=0.0059; Figura 8).

En gaviota reidora, la variación en el grosor de los cascarones fue explicada por la interacción Hg x Cd ($F_{1,53}=5.8$, $P=0.020$, $\eta^2=0.10$), la interacción temporada reproductiva x Hg ($F_{1,53}=8.0$, $P=0.007$, $\eta^2=0.13$) y el volumen de los huevos ($F_{1,53}=5.0$, $P=0.030$, $\eta^2=0.09$). Cuando la concentración de Hg es baja (alrededor de 0.5 $\mu\text{g/g}$), el incremento de la concentración de Cd no afecta el grosor de los cascarones. Sin embargo, el incremento de la concentración de Hg reduce ligeramente el grosor de los cascarones, aun cuando no exista incremento de Cd. Cuando las concentraciones de los dos metales se

incrementan a la par, el grosor de los cascarones se reduce gradualmente, observándose cascarones menos gruesos (0.270 mm) cuando la concentración de Hg supera los 3.5 $\mu\text{g/g}$ y la de Cd los 8.0 $\mu\text{g/g}$ (Figura 9). La relación del Hg con el grosor de los cascarones fue diferente entre temporadas reproductivas; en la temporada 2012 se observó una tendencia fuerte de reducción del grosor a concentraciones mayores de Hg, mientras que en 2013 se observó una relación positiva entre grosor y Hg, pero fue muy débil (valores de las pendientes: 2012=-0.149 y 2013=0.0016; Figura 10). El grosor también fue afectado por el volumen de los huevos, encontrándose cascarones más gruesos en los huevos más voluminosos (Figura 11).

Aunque en general los huevos de pelícano pardo presentaron concentraciones elevadas de Hg (Tabla 5), la variación en el grosor de los cascarones de la temporada 2013 fue explicada solamente por el volumen de los huevos ($F_{1,36}=6.2$, $p=0.018$, $\eta^2=0.15$). En este caso, el grosor de los cascarones de los tres ecosistemas costeros evaluados (SNM, BSM y BMZ) fue mayor en los huevos con mayor volumen (Figura 12).

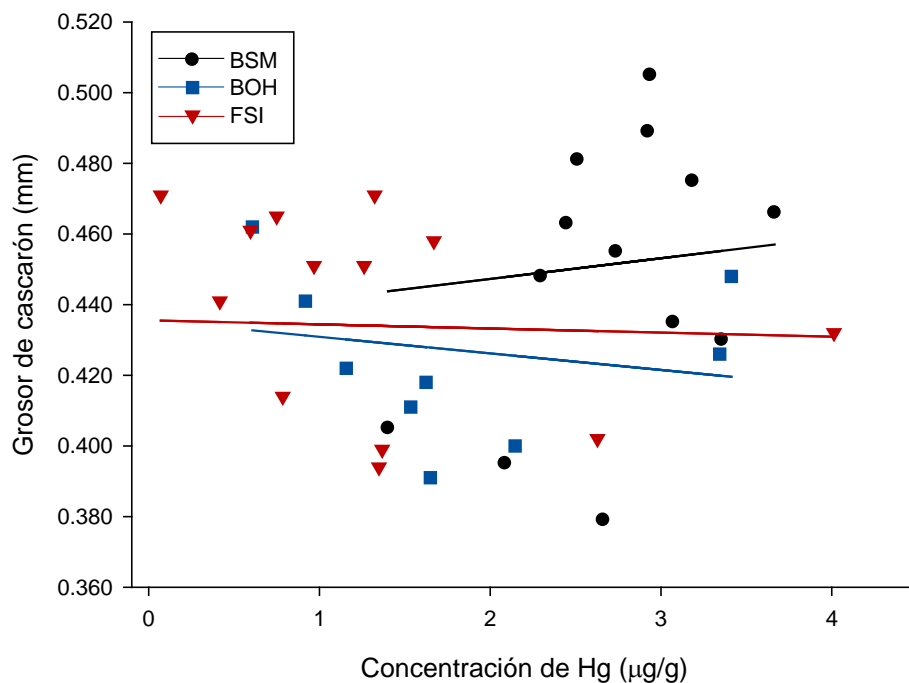


Figura 8. Relación entre el grosor de los cascarones y la concentración de mercurio (Hg) en huevos de cormorán orejado (*Phalacrocorax auritus*) en Farallón de San Ignacio (FSI), Bahía de Ohuira (BOH) y Bahía Santa María (BSM), Sinaloa, durante la temporada reproductiva 2013.

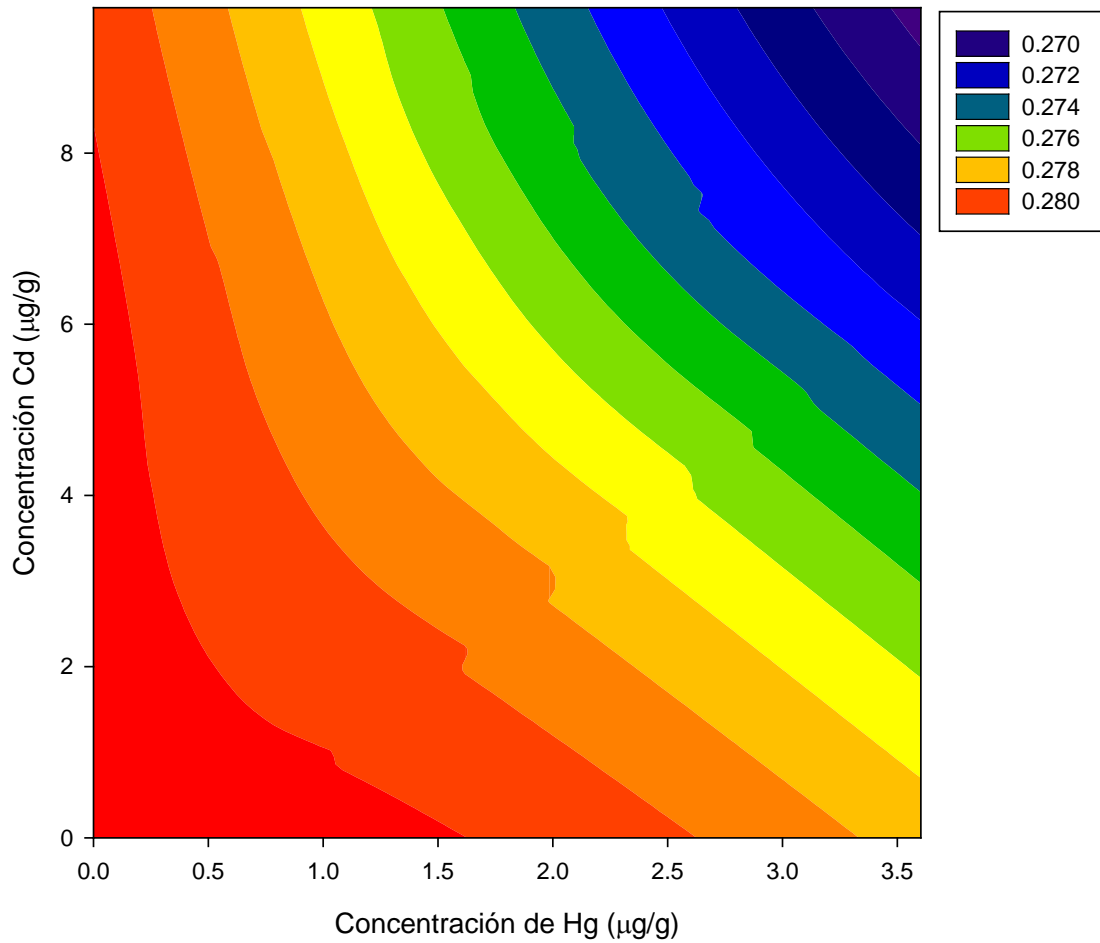


Figura 9. Relación entre el grosor de los cascarones y la concentración de mercurio (Hg) y cadmio (Cd), en huevos de gaviota reidora (*Leucophaeus atricilla*) de Bahía Santa María, Sinaloa, durante las temporadas reproductivas 2012 y 2013.

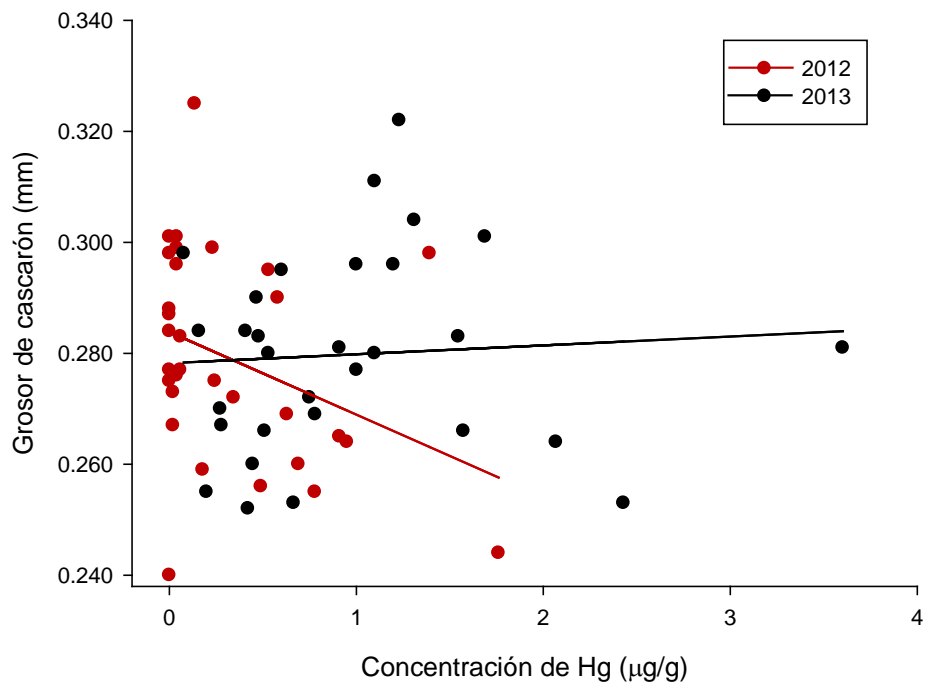


Figura 10. Relación entre el grosor de los cascarones y la concentración de mercurio (Hg), en los huevos de gaviota reidora (*Leucophaeus atricilla*) de Bahía Santa María, Sinaloa, durante las temporadas reproductivas 2012 y 2013.

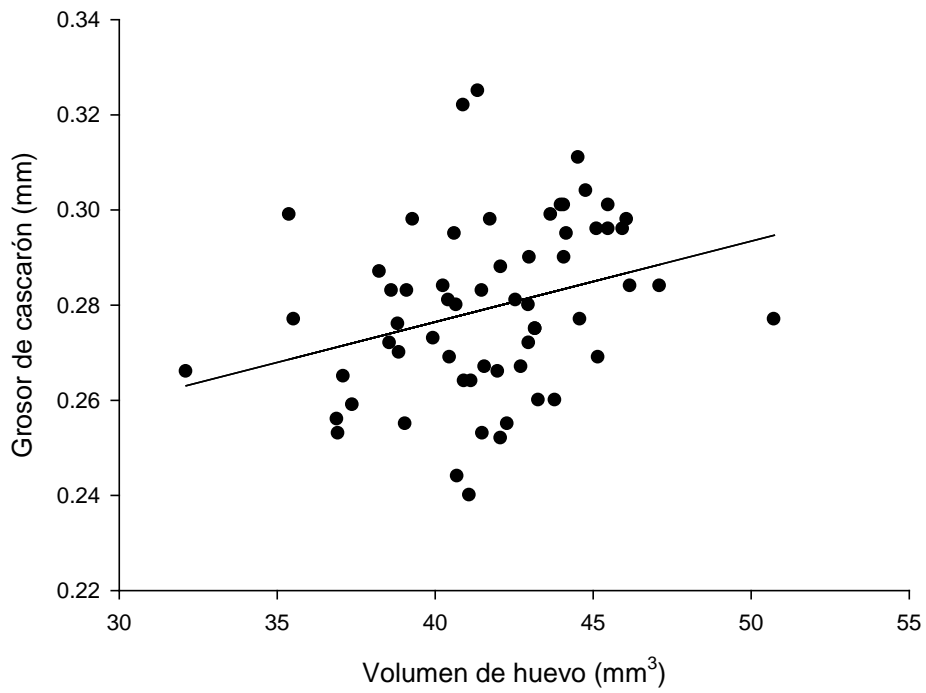


Figura 11. Relación entre el grosor de los cascarones y el volumen de los huevos de gaviota reidora (*Leucophaeus atricilla*) en Bahía Santa María, Sinaloa, México durante las temporadas reproductivas 2012 y 2013.

Tabla 5. Grosor (mm) y coloración (brillo, saturación de color y tono) de cascarones, y concentraciones promedio ($\mu\text{g/g}$ peso seco) de mercurio (Hg) y cadmio (Cd) en huevos de ocho especies de aves marinas de Sinaloa, México, en las temporadas reproductivas 2012 y 2013.

Nombre común	Nombre científico	Temporada	Sitio ¹	n	Grosor	Coordenadas de coloración			Hg	Cd
						Brillo	Saturación	Tono		
Bobo de patas azules	<i>Sula nebouxii</i>	2012	FSI	6	0.458 ± 0.015	85.4 ± 1.0	12.1 ± 1.1	98.0 ± 2.4	1.9 ± 0.2	1.3 ± 0.8
			BSM	25	0.469 ± 0.006	89.0 ± 0.6	7.8 ± 0.4	105.5 ± 2.3	2.3 ± 0.2	BDL
		2013	FSI	28	0.465 ± 0.006	87.1 ± 0.5	12.2 ± 0.7	98.7 ± 0.6	2.1 ± 0.2	4.1 ± 0.3
			BSM	28	0.457 ± 0.006	88.4 ± 0.5	7.7 ± 0.4	117.2 ± 2.6	1.8 ± 0.2	0
Bobo café	<i>Sula leucogaster</i>	2012		8	0.481 ± 0.018	90.5 ± 1.3	9.7 ± 1.2	98.7 ± 2.0	2.0 ± 0.2	BDL
		2013		13	0.525 ± 0.015	90.4 ± 0.7	10.6 ± 0.6	98.3 ± 0.8	2.2 ± 0.3	3.4 ± 0.5
Cormorán orejudo	<i>Phalacrocoax auritus</i>	2012	FSI	7	0.421 ± 0.012	86.8 ± 1.1	9.2 ± 0.7	114.1 ± 4.1	1.9 ± 0.2	BDL
			BOH	6	0.403 ± 0.005	87.5 ± 0.8	9.7 ± 1.1	110.5 ± 2.6	1.7 ± 0.3	0.7 ± 0.7
			BSM	15	0.425 ± 0.009	86.6 ± 0.5	10.3 ± 0.4	105.5 ± 1.6	1.1 ± 0.2	BDL
		2013	FSI	13	0.439 ± 0.008	87.6 ± 0.6	9.2 ± 0.5	115.9 ± 1.9	1.3 ± 0.3	4.5 ± 1.0
			BOH	9	0.424 ± 0.008	NA	NA	NA	1.8 ± 0.3	2.1 ± 0.4
			SNM	6	0.448 ± 0.006	89.3 ± 1.0	6.7 ± 0.5	117.7 ± 0.9	3.4 ± 0.8	BDL
Fragata magnífica	<i>Fregata magnificens</i>	2012		15	0.392 ± 0.010	92.7 ± 0.7	7.4 ± 0.6	93.7 ± 0.7	1.3 ± 0.2	0.6 ± 0.2
		2013		15	0.400 ± 0.007	95.1 ± 0.3	5.4 ± 0.4	98.9 ± 0.7	1.4 ± 0.1	4.3 ± 0.4
Pelícano pardo	<i>Pelecanus occidentalis</i>	2012	BSM	25	0.579 ± 0.007	92.9 ± 0.5	12.8 ± 1.3	91.6 ± 0.5	2.0 ± 0.2	0.0 ± 0.0
			2013	SNM	16	0.567 ± 0.009	95.6 ± 0.4	7.7 ± 0.6	96.6 ± 0.7	5.9 ± 0.7
		2013	BSM	12	0.579 ± 0.008	95.2 ± 0.4	9.7 ± 0.7	96.2 ± 0.7	4.6 ± 0.4	4.2 ± 0.3
			BMZ	10	0.577 ± 0.013	95.4 ± 0.2	8.4 ± 0.4	96.2 ± 0.4	4.2 ± 0.8	0.5 ± 0.3
Charrán real	<i>Thalasseus maximus</i>	2012		31	0.329 ± 0.007	82.3 ± 1.0	11.7 ± 0.8	91.0 ± 1.7	1.0 ± 0.1	0.1 ± 0.0
		2013		23	0.345 ± 0.003	84.5 ± 0.7	11.4 ± 0.6	88.8 ± 1.1	1.8 ± 0.2	0

Gaviota reidora	<i>Leucophaeus atricilla</i>	2012		31	0.279 ± 0.003	58.6 ± 0.8	19.0 ± 0.3	87.7 ± 0.7	0.3 ± 0.1	0.9 ± 0.2
		2013		30	0.280 ± 0.003	59.9 ± 0.8	18.4 ± 0.3	88.0 ± 0.6	1.0 ± 0.1	4.2 ± 0.5
Gaviota ploma	<i>Larus heermanni</i>	2012	FSI	12	0.329 ± 0.008	70.8 ± 1.0	14.4 ± 0.6	83.8 ± 1.2	0.6 ± 0.1	0.6 ± 0.2
		2013	BSM	6	0.340 ± 0.007	71.4 ± 1.8	14.2 ± 1.1	85.6 ± 2.5	1.7 ± 0.3	7.2 ± 1.5

¹Sitio: FSI = Farallón de San Ignacio; BSM = Bahía Santa María; BOH = Bahía de Ohuira; SNM = Sistema Navachiste-Macapule; BMZ = Bahía de Mazatlán.
BDL = Debajo del límite de detección para Cd (0.5 µg/g).
NA = No analizado.

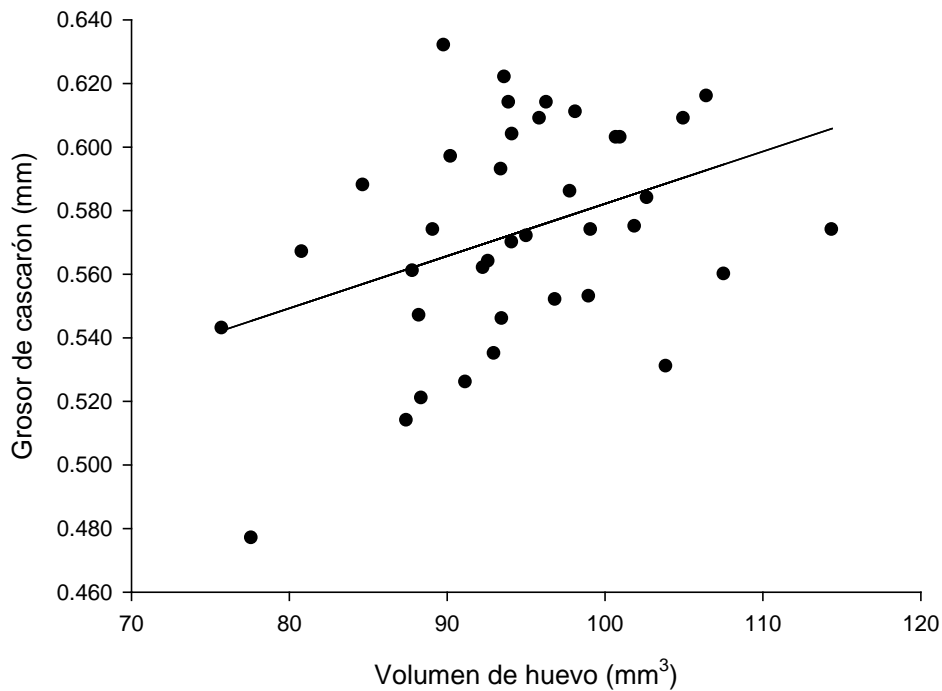


Figura 12. Relación entre el grosor de los cascarones y el volumen de los huevos de pelícano pardo (*Pelecanus occidentalis*) en tres ecosistemas costeros de Sinaloa, México (Sistema Navachiste-Macapule, Bahía Santa María y Bahía de Mazatlán), durante la temporada reproductiva 2013.

IV.4.2. Coloración de Cascarones

La variación en el brillo de los cascarones de bobo de patas azules se relacionó sólo con la temporada reproductiva en FSI ($F_{1,28}=4.9$, $P=0.035$, $\eta^2=0.15$). El brillo fue mayor en los cascarones recolectados en la temporada 2013 en comparación con 2012 (Tabla 5). En BSM, el tono de los cascarones de bobo de patas azules también fue afectado por la temporada reproductiva ($F_{1,51}=11.4$, $P=0.001$, $\eta^2=0.18$); se observaron cascarones de tono más azul-verde en la temporada 2013, que en 2012 (Tabla 5).

En cormorán orejado, el brillo de los cascarones de la temporada 2013 fue afectado por la interacción sitio de anidación x Hg ($F_{1,17}=7.0$, $P=0.017$, $\eta^2=0.29$). El brillo de los cascarones disminuyó a concentraciones elevadas de Hg en FSI, pero en BSM se observó un patrón inverso (Figura 13). Respecto al tono de los cascarones de cormorán orejado, en la temporada 2012 esta coordenada de color se relacionó con la interacción sitio de

anidación x Hg ($F_{2,21}=4.8$, $P=0.019$, $\eta^2=0.31$). El tono de los cascarones disminuyó a concentraciones elevadas de Hg en FSI, pero en BOH y BSM el tono fue mayor cuando hubo más Hg (Figura 14). En la temporada 2013, la variabilidad en el tono de los cascarones fue explicada por la interacción sitio x Hg x Cd ($F_{1,17}=8.3$, $P=0.011$, $\eta^2=0.33$). Al separar por sitio de anidación, el efecto del Hg y Cd sobre el tono de los cascarones solamente se observó en las muestras de BSM (interacción Hg x Cd; $F_{1,8}=6.6$, $P=0.033$, $\eta^2=0.45$). Sin embargo, se identificaron varios patrones en función de la concentración de cada metal: tendencia hacia cascarones más azules (130 a 140° en la rueda de color) al combinarse concentraciones altas de Hg y Cd (mayores $3.5 \mu\text{g/g}$ y $9.0 \mu\text{g/g}$, respectivamente), pero también cuando hubo concentraciones bajas (menos de $2.5 \mu\text{g/g}$ para ambos metales); tendencia hacia cascarones verde-azulados (110 a 120° en la rueda de color) a concentraciones de Hg de $3.5 \mu\text{g/g}$ y de Cd hasta $6.0 \mu\text{g/g}$; y tendencia hacia colores verde-amarillento (90 a 100° en la rueda de color) a concentraciones elevadas de Cd (alrededor $9.0 \mu\text{g/g}$) y bajas de Hg (alrededor de $2.0 \mu\text{g/g}$; Figura 15).

En fragata magnífica no hubo relación entre la coloración de los cascarones y la concentraciones de Hg y Cd (todos los valores de $P>0.05$). Sin embargo, se encontraron diferencias entre temporadas reproductivas en las tres coordenadas de coloración. La saturación fue mayor en la temporada 2012 ($F_{1,28}=7.9$, $p=0.009$, $\eta^2=0.22$), mientras que el brillo y los valores de tono fueron más altos en 2013 ($F_{1,28}=8.9$, $p=0.006$, $\eta^2=0.24$ y $F_{1,28}=27.8$, $p<0.001$, $\eta^2=0.50$, respectivamente; Tabla 5).

En los huevos de gaviota ploma recolectados en FSI durante la temporada 2012 y en BSM durante 2013, las tres coordenadas de coloración de cascarones se relacionaron con las concentraciones de Hg. Se observaron relaciones negativas entre los valores de brillo ($F_{1,15}=17.4$, $p=0.001$, $\eta^2=0.54$) y tono ($F_{1,15}=7.8$, $p=0.013$, $\eta^2=0.34$) con las concentraciones de Hg. En contraste, la saturación de color mostró una relación positiva con este metal ($F_{1,15}=6.6$, $p=0.021$, $\eta^2=0.31$). Además, los valores observados fueron diferentes entre los dos sitios de anidación: la saturación de color fue mayor en los cascarones de FSI ($F_{1,15}=4.6$, $p=0.049$, $\eta^2=0.23$), mientras que el brillo y los valores de tono fueron superiores en los cascarones de BSM ($F_{1,15}=12.8$, $p=0.003$, $\eta^2=0.46$ y $F_{1,15}=7.6$, $p=0.015$, $\eta^2=0.34$, respectivamente; Tabla 5; Figura 16).

En los cascarones de bobo café, pelícano pardo, charrán real y gaviota reidora, ninguna de las interacciones, factores o covariados incluidos en los modelos fueron significativos (todos los valores de $P > 0.05$). Por lo tanto, no se encontró relación de la coloración de cascarones de estas cuatro especies con las concentraciones de Hg y Cd medidas en los huevos.

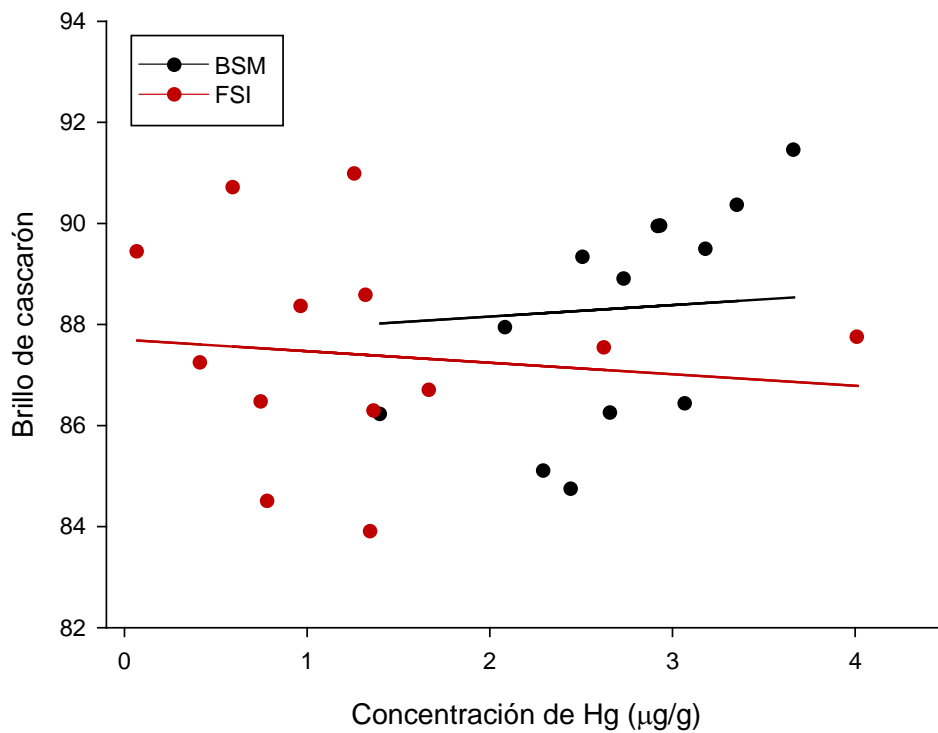


Figura 13. Relación entre el brillo de los cascarones y la concentración de mercurio (Hg) en los huevos de cormorán orejudo (*Phalacrocorax auritus*) de Farallón de San Ignacio (FSI) y Bahía Santa María (BSM), Sinaloa, México, en la temporada 2013.

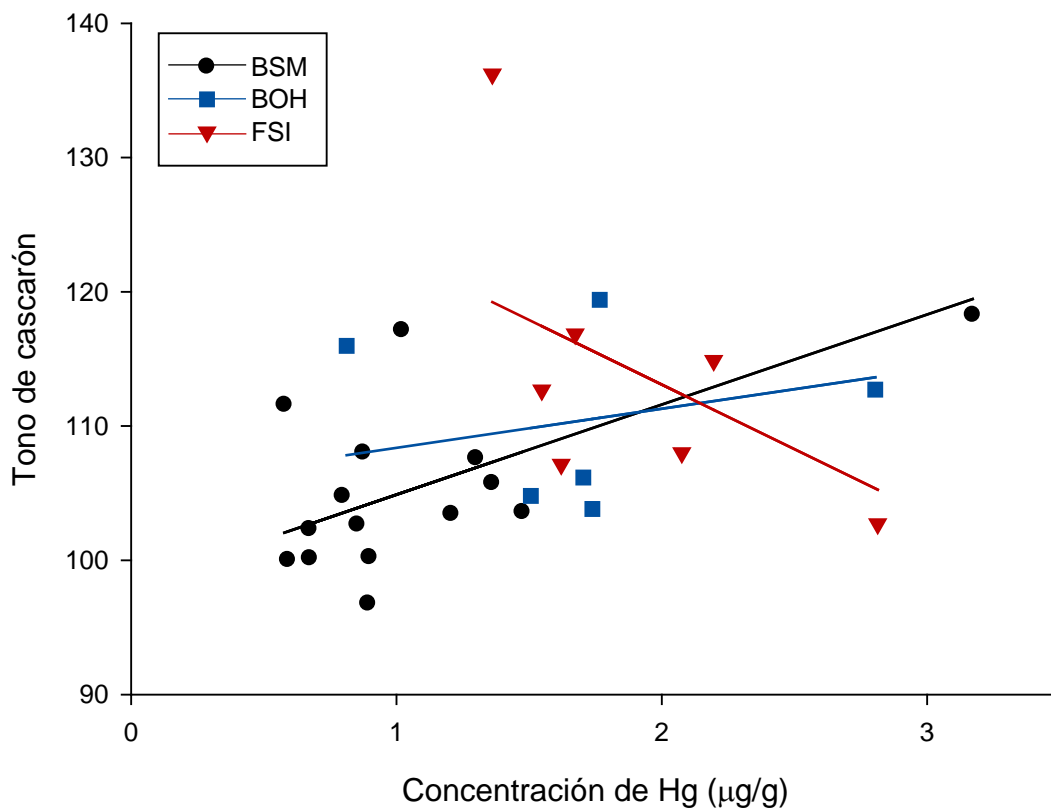


Figura 14. Relación entre el tono de los cascarones y la concentración de mercurio (Hg) en los huevos de cormorán orejudo (*Phalacrocorax auritus*) de Farallón de San Ignacio, Bahía de Ohira y Bahía Santa María, Sinaloa, México en la temporada 2012.

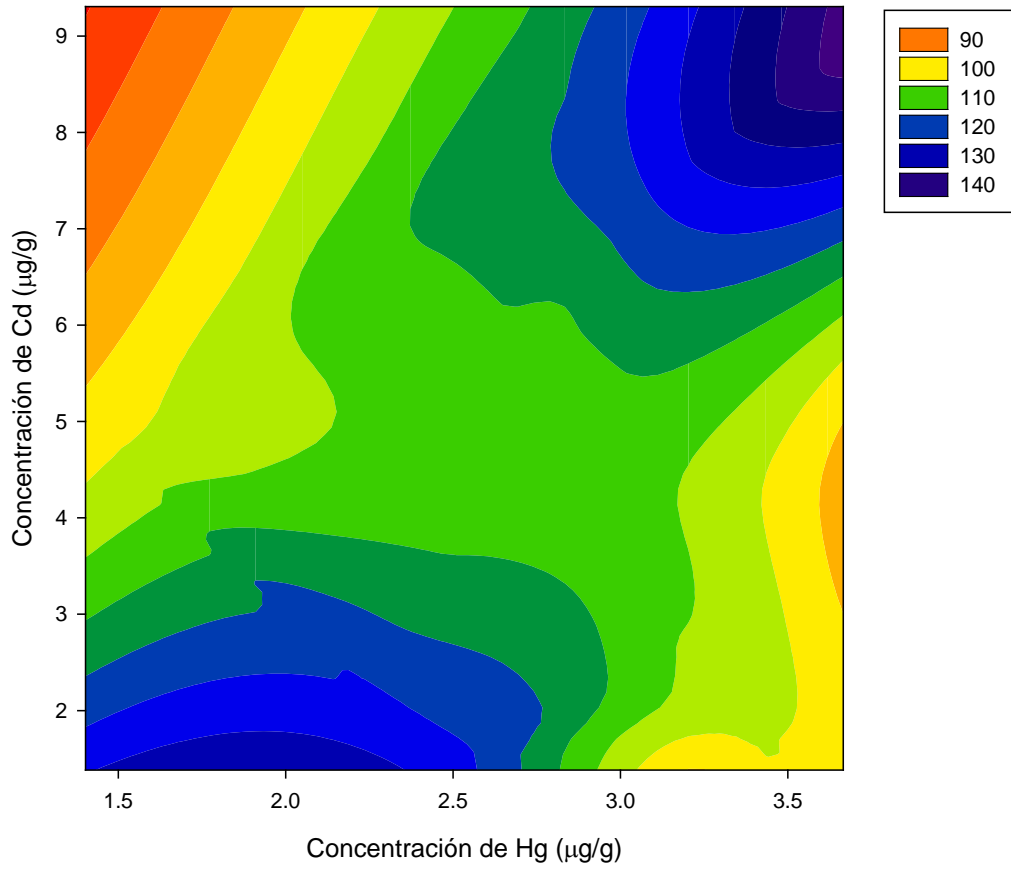


Figura 15. Relación entre el tono de los cascarones y las concentraciones de mercurio (Hg) y (Cd) en los huevos de cormorán orejudo (*Phalacrocorax auritus*) de Bahía Santa María, Sinaloa, en la temporada reproductiva 2013.

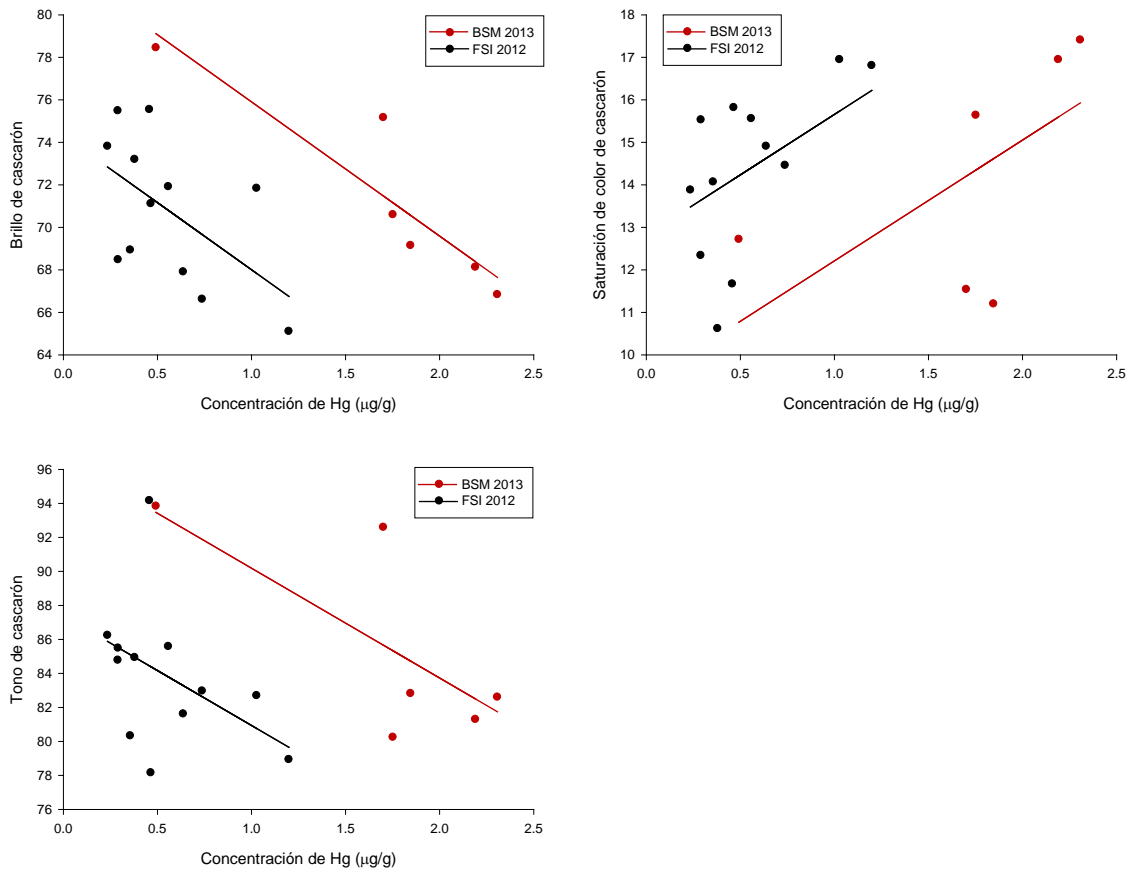


Figura 16. Relación entre la coloración (brillo, saturación de color y tono) de los cascarones y las concentraciones de mercurio (Hg) en los huevos de gaviota ploma (*Larus heermanni*) de Farallón de San Ignacio (FSI) en la temporada 2012 y de Bahía Santa María (BSM) en la temporada 2013.

IV.5. DISCUSIÓN

IV.5.1. Grosor de Cascarones

En este estudio se esperaba encontrar relaciones negativas entre el grosor de los cascarones y las concentraciones de Hg y Cd en huevos de ocho especies de aves marinas de la costa de Sinaloa. Esta predicción sólo se cumplió parcialmente en cormorán orejudo y gaviota reidora. En cormorán orejudo el Hg se relacionó con el grosor de los cascarones, pero el efecto sólo se observó en la temporada 2013 y no fue consistente entre sitios de anidación (relación negativa en FSI y BOH y relación positiva en BSM). Sin embargo, a

pesar de las relaciones observadas entre el grosor de los cascarones y el Hg en cormorán orejudo, los cascarones de la costa de Sinaloa (0.432 ± 0.004 mm) tienen un grosor similar al reportado históricamente para esta especie bajo condiciones libres de contaminantes ambientales (0.430 mm; ejemplares de museos, recolectados antes de 1946 en California y Baja California; Gress et al., 1973). Por lo tanto, las concentraciones de Hg encontradas en los huevos no tuvieron un efecto relevante sobre el grosor de los cascarones de cormorán orejudo en las dos temporadas reproductivas evaluadas.

Los cascarones de gaviota reidora de BSM (0.279 ± 0.003 mm en 2012 y 0.280 ± 0.003 mm en 2013) fueron incluso más gruesos que el reportado históricamente para las colonias de Texas, EUA, en una época de niveles mínimos de contaminación ambiental (antes de 1946; 0.270 ± 0.003 mm; King et al., 1978). En este sentido, aunque se encontró una relación negativa entre grosor, Hg y Cd, el grosor actual de los cascarones sugiere que el efecto observado no está en un nivel crítico. Por lo tanto, las concentraciones de metales contenidas en los huevos actualmente no representan un problema aparente para la especie.

Históricamente, los cascarones de pelícano pardo se han considerado entre los más sensibles a la exposición a contaminantes ambientales, en particular al DDE (Anderson et al., 1975). Entre 1969 y 1974, el grosor de los cascarones de esta especie disminuyó hasta 50% en algunas colonias de California y Baja California, en relación con el grosor en años previos a 1943 (0.572 mm; Anderson y Hickey, 1970; Gress; 1970; Risebrough, 1972; Anderson et al., 1975). Poco se sabe sobre la acumulación de Hg en huevos y sus efectos sobre el grosor de cascarones. En 1986 se reportaron concentraciones de Hg de 0.1 a 0.3 $\mu\text{g/g}$ (peso húmedo) en huevos recolectados en Texas, EUA, y de 0.1 a 0.8 $\mu\text{g/g}$ (peso húmedo) en huevos de dos colonias del sureste de México (Lawrence et al., 1986). En este estudio las concentraciones de Hg en huevos de pelícano pardo (0–10.7 $\mu\text{g/g}$ peso seco = 0.1–1.6 $\mu\text{g/g}$ peso húmedo) fueron las más elevadas de las ocho especies y superaron, incluso, a las reportadas anteriormente para Texas y el sureste de México. Sin embargo, no se encontró relación entre el grosor de los cascarones y la concentración este Hg, ni entre grosor y Cd. El grosor de los cascarones de pelícano pardo de la costa de Sinaloa (0.575 ± 0.004 mm) fue, además, similar al reportado para antes de 1943, lo que indica

que los niveles de Hg y Cd en los huevos de las colonias de la costa de Sinaloa no parecen influir en el grosor de los cascarones de esta especie.

En bobo de patas azules, bobo café, fragata magnífica, charrán real y gaviota ploma no se encontró relación del Hg y Cd con el grosor de los cascarones. Sin embargo, el grosor de los cascarones de bobo café de FSI (0.508 ± 0.012 mm) fue similar al reportado para la temporada reproductiva 2006 en el mismo sitio (0.513 mm), pero 6% menor que el observado en cascarones de Isla San Jorge (norte del Golfo de California) en 1925-1926 (0.543; Mellink et al., 2009). En fragata magnífica, el grosor de los cascarones de BSM (0.396 ± 0.006 mm) fue ligeramente superior al reportado en colonias de Belice consideradas libres de contaminación ambiental (0.386 mm; Parker et al., 1987). En gaviota ploma, los cascarones de FSI (0.329 ± 0.008 mm) y BSM (0.340 ± 0.007 mm) fueron mucho más gruesos que aquellos de Isla Rasa (centro del Golfo de California) recolectados en 1976, en la época de mayor aplicación de DDT (0.272 ± 0.006 mm; Rahn y Dawson, 1979).

En charrán real, los cascarones de BSM (0.329 ± 0.007 mm en 2012 y 0.345 ± 0.003 mm en 2013) fueron más delgados que los recolectados en colonias de Texas, EUA, en años previos a 1943 (0.358 ± 0.004 mm). Incluso, durante la temporada 2012 en BSM, los cascarones de charrán real fueron más delgados que los de las colonias de Texas en 1970, en plena era del DDT (0.330 ± 0.007 ; King et al., 1978). En esta especie, las concentraciones de Hg y Cd encontrados en los huevos de BSM en las temporadas 2012 y 2013 fueron bajas y no se relacionaron con el grosor de los cascarones. Por lo tanto, encontrar cascarones más delgados en BSM que en las colonias de Texas no puede explicarse con las concentraciones de metales presentadas en este estudio. Otros factores como la disponibilidad de alimento, condiciones ambientales y/o la variabilidad genética de la especie pudieran estar relacionadas con las diferencias en el grosor de los cascarones entre regiones geográficas. Con respecto a los cascarones de bobo de patas azules, este estudio presenta los primeros datos sobre grosor de cascarones en colonias del Golfo de California.

IV.5.2. Coloración de Cascarones

Se ha reportado que las medidas de coloración de los cascarones pueden ser herramientas valiosas para el monitoreo de contaminantes ambientales (Jagannath et al., 2008; Hanley y Doucet, 2012). Aun así, en la actualidad solo se ha demostrado el efecto del DDE sobre la coloración de los cascarones de gavián euroasiático (*Accipiter nisus*; Jagannath et al., 2008) y de una mezcla de contaminantes organoclorados sobre la coloración de cascarones de gaviota argéntea (*Larus argentatus*; Hanley y Doucet, 2012). El efecto potencial de otros tipos de contaminantes no se ha evaluado. Mikšík y colaboradores (1996) sugirieron la posibilidad de que la coloración de los cascarones sea afectada por la presencia de metales en las aves, a través de la sustitución del Zn por otros metales no esenciales. En este estudio se esperaban encontrar relaciones negativas entre la coloración de los cascarones y las concentraciones de Hg y Cd en las ocho especies de aves marinas evaluadas. Sin embargo, las coordenadas de coloración (brillo, saturación de color y tono) sólo se relacionaron parcialmente con estos metales en dos especies: cormorán orejudo y gaviota ploma.

La coloración de los cascarones está en función de la cantidad de pigmentos (protoporfirinas y biliverdinas) depositados por la hembra durante la formación de los cascarones. Aunque existe gran variabilidad en los patrones de coloración de los cascarones entre especies, en general, se reconocen tres tipos básicos de coloración: 1) cascarones blancos, que tienen cantidades reducidas de pigmentos o carecen de ellos; 2) cascarones de color uniforme, con concentraciones mayores de biliverdinas que les proporcionan tonos verdes y azules; y 3) cascarones manchados o moteados, con concentraciones mayores de protoporfirinas que les proporcionan un fondo de color uniforme claro y manchas o puntos más oscuros de tonos marrones (Mikšík et al., 1994). Los cascarones de cormorán orejudo tienen una coloración uniforme, que oscila entre tonos verdes y azules (90 a 140° en la rueda de color), mientras que los cascarones de gaviota ploma tienen manchas de tonos marrones y grises, sobre un fondo que oscila entre tonos amarillos-rojizos y verdes (78 a 95° en la rueda de color). En las dos especies, el tono de los cascarones se relacionó con las concentraciones de Hg, pero los efectos observados fueron diferentes. En gaviota ploma, se observó una tendencia hacia cascarones más amarillos-rojizos a concentraciones más elevadas de Hg. Esta relación fue

consistente en los dos sitios de anidación, en dos temporadas distintas (2012 en FSI y 2013 en BSM), lo que sugiere que el tono de los cascarones de gaviota ploma pudiera funcionar bien como indicador de concentraciones elevadas de Hg en los huevos.

En cormorán orejudo, las concentraciones de metales afectaron de manera diferente al tono de los cascarones de cada temporada reproductiva. En la temporada 2012, la relación tono – Hg no fue consistente entre sitios de anidación. Los cascarones de BOH y BSM presentaron una tendencia hacia tonos más azules (100 a 120° en la rueda de color) con más Hg, mientras que aquellos de FSI mostraron una tendencia hacia tonos más verdes (120 a 100° en la rueda de color) a concentraciones mayores de este metal. En la temporada 2013, el Hg se relacionó con el tono de los cascarones de BSM, pero únicamente cuando interactuó con el Cd. En este caso, los cascarones fueron más azules cuando se presentaron las concentraciones más elevadas de Hg y Cd. La variabilidad intercolonial observada en las relaciones entre el tono de los cascarones y las concentraciones de metales en huevos de cormorán orejudo, pudiera ser explicada por una mayor cantidad de biliverdina en los cascarones de BOH y BSM. Esto puede estar asociado a su vez, con una mayor disponibilidad de alimento en estos sitios, debido a que los huevos más azules indican una mejor condición corporal de las hembras (Avilés et al., 2007; López-Rull et al., 2008).

En cormorán orejudo y gaviota ploma, el brillo de los cascarones se relacionó con las concentraciones de Hg. En gaviota ploma, los resultados apoyan fuertemente la predicción de que el Hg reduce el brillo de los cascarones, aun considerando que las muestras se recolectaron en temporadas distintas para cada sitio de anidación (2012 en FSI y 2013 en BSM). En cormorán orejudo, el Hg sólo se relacionó con el brillo en los cascarones de la temporada 2013, pero el efecto fue diferente entre sitios de anidación; en FSI se observó una relación negativa y en BSM la relación fue positiva, aun cuando en este último sitio se encontraron concentraciones más elevadas de Hg. En este sentido, se ha reportado que la variabilidad en el brillo de los cascarones está relacionada con el orden de puesta y con la edad de la hembra, encontrándose cascarones más brillantes en los primeros huevos puestos y en aquellos producidos por hembras más jóvenes (Moreno et al., 2005). El Hg se acumula con la edad en los tejidos de las aves, por lo que las hembras más jóvenes ponen generalmente huevos con menos Hg (Hindell et al., 1999). En gaviota

ploma, en los dos sitios de anidación se recolectaron los primeros huevos en el orden de puesta, pero no fue posible controlar la edad de las hembras. Por lo tanto, los resultados observados en la relación entre brillo de cascarones y Hg pueden explicarse solamente por la edad de las hembras: las hembras más jóvenes transfieren cantidades menores de Hg a los huevos y producen cascarones más brillantes. En gaviota ploma, lo anterior fue consistente entre los dos sitios de anidación. Sin embargo, en cormorán orejudo este argumento sugiere que las muestras de FSI provienen de hembras más jóvenes y explica la tendencia de cascarones más brillantes a concentraciones más bajas de Hg, pero contradice lo observado en BSM.

La saturación de color de los cascarones sólo se relacionó con las concentraciones de Hg en gaviota ploma. Aun así, las predicciones para esta coordenada de color no se cumplieron bajo ninguna circunstancia, debido a que en esta especie se esperaba encontrar una relación negativa entre la saturación de color y la concentración de Cd. En contraste, los cascarones presentaron una coloración más intensa (mayor saturación) a concentraciones más elevadas de Hg. El patrón fue consistente entre los dos sitios de anidación, por lo que la variabilidad en la saturación de color de los cascarones de gaviota ploma pudiera atribuirse a las concentraciones de Hg contenidas en los huevos. Aunque los resultados de este estudio no permiten identificar el proceso que conduce a un incremento de la saturación con el aumento de Hg, los resultados de las tres coordenadas de coloración fueron muy consistentes en los cascarones de esta especie, aun cuando las muestras se recolectaron en dos sitios de anidación y en temporadas reproductivas diferentes. Esto sugiere que los patrones de coloración de gaviota ploma son constantes entre sitios y temporadas, por lo que pueden ser considerados como herramientas útiles para evaluar la exposición a Hg.

De las demás especies evaluadas, únicamente en bobo de patas azules se han realizado estudios para evaluar los patrones de coloración de cascarones, aunque se han enfocado en relacionar la coloración azul-verde de las biliverdinas con la calidad de las hembras y como señal para inducir mayor cuidado parental de los machos durante el periodo de cría de pollos (Moreno y Osorno, 2003). En bobo café, pelícano pardo, fragata magnífica, charrán real y gaviota reidora, aunque no hubo relación con Hg y Cd, los datos de coloración de este estudio son los primeros que se obtienen para estas especies en todo

su rango de distribución, por lo que pueden ser utilizados como valores de referencia en estudios futuros.

IV.6. CONCLUSIONES

El grosor de cascarones de aves marinas se ha utilizado desde hace varias décadas como indicador de exposición a contaminantes organoclorados, pero el efecto potencial de metales no esenciales no se conoce a detalle. Aquí se evaluó el posible efecto del Hg y Cd sobre el grosor de los cascarones de ocho especies de aves marinas. En general, se observaron concentraciones mayores de Hg en las especies preferentemente piscívoras y de Cd en las especies oportunistas. Sin embargo, aunque se encontraron relaciones negativas entre el grosor de los cascarones y las concentraciones de estos metales en dos especies (cormorán orejudo y gaviota reidora), el grosor de los cascarones de las ocho especies estudiadas fue similar al grosor reportado en una época considerada bajo condiciones ambientales saludables. El Hg y Cd sólo se relacionaron con la coloración de los cascarones de cormorán orejudo y gaviota ploma. Las relaciones observadas entre las tres coordenadas de coloración y las concentraciones de Hg en gaviota ploma sugieren que los cascarones de esta especie pudieran funcionar bien para indicar exposición al Hg en los dos sitios de anidación estudiados. En cormorán orejudo, se encontró variabilidad inter-colonial en las relaciones de los dos metales, por lo que otros factores como la disponibilidad de alimento y la edad de las hembras pudieran estar afectando el brillo y tono de los cascarones. Con excepción de la coloración de cascarones de gaviota ploma, en general, el grosor y la coloración de los cascarones no se perfilaron como biomarcadores buenos de exposición a Hg y Cd bajo los criterios considerados en este estudio.

Capítulo V. Discusión general

V.1. INTRODUCCIÓN

Este estudio es el primero en presentar información general sobre las concentraciones de Hg y Cd en huevos de ocho especies de aves marinas que anidan en la costa de Sinaloa, México. Los resultados mostraron que existieron diferencias inter-específicas en las concentraciones de estos metales, que fueron relacionadas con el nivel trófico de las especies (Capítulo II). Se ha reportado que las aves marinas que se alimentan de presas de los niveles superiores de las cadenas tróficas acumulan cantidades mayores de Hg (Burger, 2002), mientras que las especies que consumen presas de los niveles bajos de las cadenas alimentarias e incluyen invertebrados marinos (moluscos y crustáceos) en sus dietas, acumulan niveles mayores de Cd (Burger y Gochfeld, 2000; Burger et al., 2000). En general, esto fue cierto para las especies que anidan en la costa de Sinaloa. Las aves Suliformes y Pelecaniformes presentaron las concentraciones más elevadas de Hg en los huevos, mientras que las dos especies de gaviotas, que son oportunistas, mostraron concentraciones mayores de Cd (Capítulo II).

Los estudios interanuales sobre las concentraciones de metales en los huevos de las aves marinas son útiles para entender si las concentraciones de estos contaminantes están disminuyendo o aumentando en los ecosistemas (Burger y Gochfeld, 2004b). Estos estudios también permiten inferir si la variabilidad ambiental está influyendo en las concentraciones de metales que las aves marinas pueden acumular en sus huevos. Por ejemplo, existen reportes que asocian la presencia de eventos de surgencia invernal en la costa oriental del Golfo de California con el incremento en la disponibilidad de nutrientes y la disminución de la temperatura superficial del mar (Álvarez-Borrego et al., 1978; Santamaría del Ángel, 1999). En este estudio se encontraron diferencias en las concentraciones de Hg y Cd entre dos temporadas reproductivas (2012<2013), que fueron

relacionadas con la variabilidad interanual de las condiciones oceanográficas (surgencias) y ambientales (escurrimientos continentales) de la región (Capítulo II).

Otra componente evaluada en este estudio fue la variabilidad espacial de las concentraciones de Hg y Cd en los huevos de tres especies de aves marinas: cormorán orejudo, bobo de patas azules y pelícano pardo (Capítulo II). La variabilidad en las concentraciones de Hg en los huevos de cormorán orejudo se relacionó con el posible aporte de los drenes agrícolas que descargan en SNM y BSM. En bobo de patas azules, la mayor concentración de Cd en FSI respecto a BSM se atribuyó a que las aves utilizan distintas zonas de alimentación, donde los bobos de FSI se alimentan en zonas más oceánicas con mayor influencia de surgencias. En pelícano pardo, las concentraciones de Cd más elevadas en BSM pudieron deberse a una combinación de factores: los aportes desde el continente y la hidrodinámica interna y tasas de recambio de agua oceánica, en esta que es la bahía más grande de la costa de Sinaloa (Capítulo II).

El uso de biomarcadores en huevos y embriones puede constituirse como una herramienta útil en programas de biomonitorio. Gil y Pla (2001) establecieron que los biomarcadores pueden proveer medidas de exposición, efectos tóxicos y susceptibilidad individual a compuestos químicos ambientales, y según Fossi (1994), es recomendable que los biomarcadores cumplan con las siguientes características: 1) que se puedan medir rápidamente en tejidos o productos biológicos obtenidos por un método no invasivo; 2) que puedan relacionarse con medidas de exposición y/o nivel de daño del organismo estudiado; 3) que sean producto de una técnica altamente sensible, que requieran cantidades mínimas de muestra, y que ésta sea fácil de obtener y de bajo costo; y 4) que puedan aplicarse en especies diferentes con resultados similares.

El ensayo de eritrocitos micronucleados (EMN) en sangre de embriones de aves cumple bien con los criterios anteriores, debido a que se ha demostrado que puede ser un biomarcador efectivo y de bajo costo para evaluar el daño genotóxico producido por una variedad de contaminantes (Stončius y Lazutka, 2003). Se ha demostrado experimentalmente que la exposición a Hg y Cd induce daño al material genético de las células (Nepomuceno et al., 1997; Cavaş, 2008; Wolf et al., 2008). Sin embargo, este estudio es el primero en evaluar las relaciones de estos metales con las frecuencias de eritrocitos policromáticos micronucleados (EPCMN) y eritrocitos normocromáticos

micronucleados (ENCMN) en aves marinas de vida libre. En general, se observó que las frecuencias de ENCMN en embriones con desarrollo avanzado de bobo de patas azules, cormorán orejado, fragata magnífica y gaviota reidora aumentaron conforme se incrementaron las concentraciones de Hg y Cd. Sin embargo, el efecto del Hg varió en función de la especie y el efecto del Cd fue diferente entre temporadas reproductivas (Capítulo III). Las cuatro especies tienen características de ecología trófica diferentes, que van desde las preferentemente piscívoras hasta las oportunistas, que consumen peces, invertebrados marinos y terrestres, por lo que cada una puede tener diferentes escenarios de exposición y susceptibilidad a estos metales. En este caso, la relación entre ENCMN y Hg observada en los embriones de gaviota reidora sugieren una mayor susceptibilidad a este metal. Sin embargo, debido a que el ensayo de EMN no es un biomarcador específico, otros factores pueden estar influyendo en las frecuencias de ENCMN observadas en gaviota reidora, incluyendo la condición corporal de los individuos, la capacidad específica de reparación del material genético y la posible interacción entre los metales y otros contaminantes (Iarmarcovai et al., 2008; Burger y Gochfeld, 2013).

Por lo anteriormente expuesto, si se toman en cuenta las historias de vida de las especies objetivo y la relación que esto tiene con la bioacumulación de metales, la posible vulnerabilidad ante los genotóxicos puede ser evaluada mediante la aplicación del ensayo de EMN en embriones como herramienta de biomonitorio. También deben considerarse los factores asociados a los sitios de muestreo, las particularidades de los agentes contaminantes (Pastor *et al.*, 2001) y la posible variabilidad asociada a factores nutricionales, edad y condición fisiológica parental (Ceyca et al., 2014). Asimismo, el uso de embriones presenta varias ventajas con respecto al uso de individuos adultos. Los efectos observados en embriones son ecotoxicológicamente relevantes, dado que las alteraciones en el material genético pueden ligarse con efectos primarios en la fisiología de los individuos y consecuentemente, con la salud, reproducción y sobrevivencia de los mismos. Por lo tanto, efectos deletéreos en embriones pueden utilizarse como indicadores de alerta temprana de posibles repercusiones sobre las tendencias poblacionales y la estructura de la comunidad (Becker, 2003).

En este estudio, el grosor de los cascarones se relacionó negativamente con las concentraciones de Hg en cormorán orejado y con las concentraciones de Hg y Cd en

gaviota reidora (Capítulo IV). Sin embargo, la disminución en el grosor no fue tal que pudiera comprometer la integridad de los huevos, por lo cual, aunque relevantes, los resultados deben tomarse con cautela y corroborarse con estudios posteriores.

Este estudio es el primero en presentar relaciones entre las coordenadas de coloración (brillo, saturación de color y tono) de cascarones con las concentraciones de Hg y Cd en cormorán orejudo y gaviota ploma. La variabilidad inter-colonial en las relaciones de los dos metales con el brillo y el tono de los cascarones de cormorán orejudo sugiere que otros factores pudieran estar influyendo en los patrones de coloración observados, como la edad de las hembras y la disponibilidad de alimento, lo que reduce el potencial de este biomarcador para evaluar la exposición a Hg y Cd (Capítulo IV). En contraste, las tres coordenadas de coloración de los cascarones de gaviota ploma se relacionaron fuertemente con las concentraciones de Hg y los patrones observados fueron consistentes entre sitios de anidación. Esto sugiere que la coloración de los cascarones de gaviota ploma pudiera utilizarse como un biomarcador de exposición a Hg en los dos sitios de anidación estudiados (FSI y BSM). Por lo tanto, para estudios posteriores sería recomendable evaluar otros factores que influyan sobre los patrones de coloración, como, por ejemplo, la variabilidad inter-colonial en las condiciones ambientales y su influencia sobre la disponibilidad de alimento, que pueden afectar la condición nutricional y reproductiva de las hembras (e.g. Avilés et al., 2007; López-Rull et al., 2008; Morales et al., 2010).

V.2. SELECCIÓN DE ESPECIES PARA EL BIOMONITOREO DE Hg, Cd y OTROS CONTAMINANTES

Este trabajo evaluó la utilidad de los huevos (clara y yema) embriones y cascarones de ocho especies de aves marinas, como posibles biomonitores de exposición a Hg y Cd en ecosistemas costeros de Sinaloa, México. Aunque se observó alta variabilidad tanto en bioacumulación como en biomarcadores, fue posible identificar aquellas especies que pudieran identificarse en estatus de preocupación debido a las concentraciones elevadas de los metales evaluados. De esta manera, los huevos de pelícano pardo presentaron las concentraciones más elevadas de Hg, que incluso superaron el nivel asociado con efectos adversos sobre la reproducción y sobrevivencia de los pollos reportado en la literatura

(Capítulo II). De las ocho especies estudiadas, pelícano pardo es la única en la que se ha reportado una tendencia de disminución de las poblaciones en la costa de Sinaloa (Castillo-Guerrero et al., 2014) y fue la única especie en la que se observó un embrión con deformidad severa en el pico durante el procesamiento de los huevos. Por lo tanto, aunque una variedad de factores podrían estar influyendo en esta tendencia, las concentraciones de Hg en los huevos no pueden descartarse como una de las causas posibles de reducción poblacional, siendo necesario estudios posteriores para caracterizar posibles efectos teratogénicos y neurológicos, evaluando las posibles consecuencias en el éxito reproductivo de la especie. Históricamente, las poblaciones de esta especie en varias regiones de Norteamérica han sufrido reducciones importantes, asociadas en particular a la exposición a contaminantes organoclorados. En México, actualmente la subespecie *Pelecanus occidentalis californicus* (especie estudiada en el presente trabajo) se encuentra sujeta a Protección Especial según la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010. Aunque en este estudio los cascarones de pelícano pardo tuvieron un grosor similar al observado previo a la época de mayor aplicación de organoclorados (Anderson y Hickey, 1970; Gress; 1970; Risebrough, 1972; Anderson et al., 1975), la especie se considera altamente sensible a este tipo de contaminantes y no deben descartarse efectos futuros de otras sustancias de nueva generación que pueden estar ingresando actualmente a los ecosistemas. Pelícano pardo es una especie de distribución amplia en la costa de Sinaloa, tiene nidadas de tres huevos anualmente y la recolecta de muestras es relativamente sencilla (Ceyca et al., 2014). En este sentido, considerando los niveles de Hg en los huevos, la sensibilidad a otros tipos de contaminantes, su distribución y tendencia poblacional, pelícano pardo es una especie candidata para seguir realizando estudios sobre los efectos de la contaminación, que permitan discernir si los niveles de los contaminantes pudieran tener consecuencias a nivel poblacional.

En este estudio, las concentraciones de Hg encontradas en los huevos de cormorán orejudo no fueron tan altas como las observadas en otras aves piscívoras. Sin embargo, los embriones de cormorán orejudo mostraron relaciones positivas entre las frecuencias de ENCMN y las concentraciones de este metal. El Cd también se relacionó con las frecuencias de ENCMN (Capítulo III). Además, el grosor, brillo y tono de los cascarones fueron afectados por la exposición a estos metales, aunque los patrones difirieron entre

sitios de anidación (Capítulo IV). El grosor de los cascarones de cormorán orejado observado en este estudio fue similar al observado antes de la época de mayor aplicación de contaminantes organoclorados (Gress et al., 1973), sin embargo, aunque en algunos casos se detectó adelgazamiento relacionado a las concentraciones de metales, éste no se observó en lo que se consideran niveles críticos para la especie en esta región en particular. Históricamente, las poblaciones de Norteamérica de cormorán orejado fueron afectadas notablemente por la exposición a plaguicidas organoclorados durante la década de los 1970 (Gress et al., 1973). Aunque las poblaciones se incrementaron gradualmente en algunos sitios después de la restricción del uso de estas sustancias, la especie continúa enfrentado problemas serios de conservación, incluyendo pérdida de hábitat, condiciones climáticas adversas, disturbio humano, incremento de la depredación por fauna introducida a los sitios de anidación y contaminación (Carter et al., 1995). Estos factores, en conjunto con las evidencias encontradas en este estudio, justifican la inclusión de cormorán orejado dentro de programas de monitoreo de las poblaciones reproductoras, que incluyan además la evaluación de los niveles de contaminación en huevos como reflejo de las concentraciones en los ecosistemas locales. La distribución de cormorán orejado en la costa de Sinaloa es amplia, con al menos cinco sitios de anidación reportados para la región centro-norte (Carmona y Danemann, 1994; Carter et al., 1995; Castillo-Guerrero et al., 2014), se reproduce anualmente y tiene nidadas de hasta cuatro huevos, lo que incrementa su potencial como biomonitor de contaminación en esta región.

La utilidad de bobo de patas azules como indicador de contaminación ambiental no ha sido evaluada. Esta especie tiene características interesantes, dado que es un depredador tope de las cadenas tróficas del mar, se reproduce anualmente, pone de dos a tres huevos y tiene una distribución amplia en la costa norte de Sinaloa, con colonias establecidas en Farallón de San Ignacio, Bahía Santa María (Castillo-Guerrero y Mellink, 2006) y Bahía de Jitzámuri (Gámez-López et al., 2014). Además, se ha demostrado que es altamente sensible a cambios en la disponibilidad de alimento (Jahncke y Goya et al., 2000; Ancona et al., 2011) y es una de las especies más estudiadas en cuanto a su ecología reproductiva (Castillo, 2003), ecología de forrajeo (Castillo-Guerrero y Mellink, 2006, 2011), comportamiento (Torres y Drummond, 1999) y caracterización molecular (Tylor et al., 2013). En este estudio, los huevos de bobo de patas azules tuvieron concentraciones

elevadas de Hg (Capítulo II) y los embriones con desarrollo avanzado mostraron una relación positiva entre las concentraciones de Hg y el incremento de las frecuencias de ENCMN (Capítulo III). Estos resultados, en conjunto con su facilidad de manipulación y disponibilidad de muestras anualmente, resaltan su potencial como biomonitor de contaminación en esta región de la costa de Sinaloa.

Aunque se ha sugerido la utilidad de las plumas de gaviota reidora como indicadores de exposición a Hg y otros metales, estas matrices no se recomiendan para evaluar las concentraciones de Cd, porque no reflejan las concentraciones contenidas en los tejidos internos (Gochfeld et al., 1996). En este estudio gaviota reidora presentó concentraciones relativamente altas de Cd en los huevos (Capítulo II) que además se relacionaron con el incremento de las frecuencias de ENCMN en sangre de embriones (Capítulo III). Esto sugiere que los huevos de esta especie si pueden utilizarse como indicadores de exposición a Cd. Además, aunque las concentraciones de Hg en los huevos fueron bajas, en los embriones de gaviota reidora se observó la relación más clara entre el aumento de este metal y el incremento de las frecuencias de ENCMN, en comparación con otras tres especies (Capítulo III). Además, el grosor de los cascarones fue afectado negativamente por el incremento en las concentraciones de Hg y Cd, aunque los cascarones fueron incluso más gruesos que lo reportado para otras colonias (King et al., 1978; Capítulo IV). En la costa de Sinaloa, esta especie anida solamente en Bahía Santa María, donde se ha observado un incremento considerable de la población en los últimos años (Castillo-Guerrero et al., 2014). Esto sugiere que, aunque se observaron efectos del Hg y Cd sobre embriones y cascarones, las concentraciones de estos metales no representan un problema aparente para la especie. Aun así, no pueden descartarse problemas futuros relacionados con la exposición a estos y otros contaminantes, por lo que el uso de huevos, embriones y cascarones de gaviota reidora tienen potencial para ser utilizados como biomonitores de contaminación en este sitio de la costa de Sinaloa.

Las concentraciones de Cd en los huevos de gaviota ploma fueron las más altas observadas entre las ocho especies estudiadas (Capítulo II), pero no tuvieron relación con el grosor y coloración de los cascarones (Capítulo IV) y la relación con las frecuencias de micronúcleos en sangre de embriones no fue evaluada, debido a un número bajo de muestras (Capítulo III). No obstante, aunque las concentraciones de Hg en los huevos de

gaviota ploma fueron las más bajas entre las ocho especies, si se observó relación de este metal con la coloración de los cascarones, que fueron además muy consistentes entre dos sitios de anidación estudiados en dos temporadas reproductivas diferentes (FSI en 2012 y BSM en 2013). Más del 95% de la población mundial de gaviota ploma anida en México (Velarde, 1999) y esta especie se encuentra protegida por las leyes mexicanas (SEMARNAT, 2010; sujeta a Protección Especial), lo que incrementa la necesidad de evaluar el estado actual de sus poblaciones e identificar posibles problemas de conservación, incluyendo la exposición a metales y otros contaminantes. Gaviota ploma se reproduce anualmente, tiene nidadas de dos a tres huevos y, en la costa de Sinaloa, anida en Farallón de San Ignacio, Bahía Santa María (Guevara-Medina et al., 2008; Castillo-Guerrero et al., 2014) y Bahía de Mazatlán (J.A. Castillo-Guerrero; comunicación personal). En este sentido, su distribución amplia, su tendencia a acumular cantidades elevadas de Cd y el uso potencial de la coloración de cascarones como biomarcador de exposición a Hg, sugiere que esta especie puede funcionar bien como biomonitor de contaminación en la costa de Sinaloa.

De las especies evaluadas en este estudio, tres de ellas no parecen tener potencial como biomonitores, en función de las concentraciones de Hg y Cd en los huevos, la respuesta a los biomarcadores evaluados (EMN, grosor y coloración de cascarones), su distribución y disponibilidad de muestras. Bobo café acumula Hg y Cd en los huevos, pero los embriones y cascarones no fueron afectados aparentemente por las concentraciones observadas. Además, su reproducción en Sinaloa está restringida a Farallón de San Ignacio (Guevara-Medina et al., 2008). Los huevos de charrán real mostraron concentraciones de Hg y Cd menores que la mayoría de las ocho especies evaluadas, que además no mostraron relación con las frecuencias de micronúcleos, grosor o coloración de cascarones. Esta especie anida solamente en Bahía Santa María (Castillo-Guerrero et al., 2014) y pone un huevo anualmente, por lo que los resultados de este estudio no justifican la recolecta de huevos para el monitoreo de contaminantes. De manera similar, fragata magnífica anida solamente en Bahía Santa María, el tamaño de nidada es de un solo huevo y su reproducción es bianual. Por lo tanto, aunque se encontraron concentraciones relativamente altas de Cd en los huevos y se observaron relaciones entre las frecuencias

de ENCMN, Hg y Cd, la recolecta de huevos bajo un esquema de monitoreo de largo plazo podría afectar la reproducción de esta especie en este sitio de la costa de Sinaloa.

En general, a partir de las concentraciones de metales observadas en los huevos y de la respuesta a los biomarcadores evaluados (EMN, grosor y coloración de cascarones), en este estudio fue posible identificar la utilidad de bobo de patas azules, cormorán orejudo, pelícano pardo, gaviota reidora y gaviota ploma como biomonitores de contaminación por Hg y Cd en ecosistemas costeros de Sinaloa, México. Sin embargo, la incorporación de estas especies deberá ser validada previamente, mediante la realización de estudios más detallados, que permitan identificar otros posibles factores que pueden afectar los patrones de acumulación de contaminantes y la sensibilidad de las especies a estas sustancias. Algunas propuestas de trabajos futuros se enlistan a continuación:

- 1) caracterización de la biología reproductiva, ecología de forrajeo y dieta de las especies en cada sitio de muestreo;
- 2) tendencias poblacionales;
- 3) determinación de concentraciones de contaminantes en huevos y cascarones; incluyendo metales, plaguicidas organoclorados y organofosforados, bifenilos policlorados, dibenzodioxinas policloradas y dibenzofuranos policlorados, retardantes de llama bromados, entre otros;
- 4) evaluación de biomarcadores de daño genético y celular en sangre de embriones, a través de estudios experimentales bajo condiciones controladas; se sugiere la incorporación de otras técnicas complementarias, como el ensayo cometa y la determinación de especies reactivas de oxígeno (ROS);
- 5) evaluación de neurotoxicidad y teratogénesis en embriones como indicadores de exposición; y
- 6) evaluación de biomarcadores de calidad de cascarones (grosor, coloración, porosidad y contenido de antioxidantes) bajo condiciones controladas.

V.3. TRABAJO FUTURO

Este estudio presenta un diagnóstico sobre el estado actual de las concentraciones de Hg y Cd en huevos de ocho especies de aves marinas, que anidan en cinco ecosistemas

costeros de Sinaloa. Sin embargo, estos sitios forman parte de una región geográfica más amplia, el Golfo de California, cuyas características oceanográficas y ambientales pueden influir directamente en la bioacumulación de estos metales (e.g. Osuna-Martínez et al., 2011). Por lo tanto, para entender mejor los patrones espaciales y temporales de bioacumulación, el estudio podría ampliarse a todo el Golfo de California, donde las cinco especies de aves marinas propuestas como posibles biomonitores (bobo de patas azules, cormorán orejudo, pelícano pardo, gaviota reidora y gaviota ploma) están distribuidas ampliamente y algunas colonias concentran miles de parejas reproductoras (Howell y Webb, 1995; Mellink, 2001; González-Bernal *et al.*, 2002; Tershy y Breese, 1997; Anderson *et al.*, 2007). Esto se traduce en disponibilidad de muestras para implementar un sistema de biomonitoreo de contaminantes en huevos y sus efectos en etapas tempranas de desarrollo (Ceyca et al., 2014).

Globalmente se ha reconocido que los programas de biomonitoreo más exitosos son aquellos que incluyen un set de especies que difieren en su fisiología, biología reproductiva y ecología de forrajeo, y que pueden proveer diferentes índices de contaminación en un área específica (Klein et al., 2012). El uso de huevos como herramientas para el biomonitoreo tiene la ventaja de ser una técnica menos destructiva, relativamente fácil de muestrear y con la posibilidad de analizar una variedad de compuestos orgánicos y metales. Los huevos se pueden manipular manualmente y los cascarones evitan la contaminación con agentes externos durante la recolecta, lo que asegura la calidad de las muestras (Klein et al., 2012). Con el uso de huevos es posible la realización de estudios retrospectivos sobre las tendencias de los contaminantes, debido a que se pueden almacenar durante periodos largos de tiempo, sin afectar significativamente la carga original de contaminantes (Norstrom y Hebert, 2006; Vander Pol y Becker, 2007). Además, los huevos brindan la posibilidad de utilizar biomarcadores en embriones (Wolf y Luepke, 1997; Stončius y Lazutka, 2003) y cascarones (Elliott et al., 1988), por lo que las concentraciones observadas se pueden relacionar con efectos potenciales sobre la reproducción de las aves.

Este estudio proporciona indicios de posibles afectaciones del Hg y Cd sobre el material genético de embriones en al menos cuatro especies de aves marinas. Sin embargo, para ligar estos efectos en el nivel bioquímico-celular con posibles problemas

poblacionales, se requiere de la implementación de estudios interdisciplinarios, que combinen información sobre la salud individual y las tendencias poblacionales. En el futuro cercano, uno de los retos más importantes para los investigadores será la identificación de especies y poblaciones especialmente vulnerables a las interacciones entre los contaminantes y el cambio climático global (Noyes et al., 2009). En aves marinas, los efectos del cambio climático sobre las poblaciones pueden tomar muchos años en ser aparentes (Thompson y Ollason, 2001). Por lo tanto, para entender los diferentes procesos involucrados se requiere de estudios de largo plazo sobre la ecología de la cadena alimentaria y sus múltiples relaciones con el ambiente (Durant et al., 2004). La tendencia está orientada hacia la realización de estudios más amplios, utilizando enfoques multiespecíficos que permitan analizar efectos sobre ecosistemas y comunidades (Doney et al., 2012). La metodología aplicada en este estudio pudiera ser replicada en un programa de biomonitoreo regional, que incluya la toma de datos en otros sitios de anidación dentro del Golfo de California; sin embargo, esta deberá de considerar, además de los patrones de bioacumulación y efectos de los contaminantes a nivel individual, la evaluación de otros factores como la ecología de forrajeo y las tendencias poblacionales en el corto, mediano y largo plazo.

Literatura citada

- Acosta-Velázquez J. y Vázquez-Lule A.D. 2009. Caracterización del sitio de manglar Santa María - La Reforma. Sitios de Manglar con Relevancia Biológica y con Necesidades de Rehabilitación Ecológica. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), México, D.F., México, 1–18 p.
- Aebischer N.J., Coulson J.C. y Colebrook J.M. 1990. Parallel long-term trends across four marine trophic levels and weather. *Nature* 347:753-755.
- Ainley D.G., Anderson D.W. y Kelly P.R. 1981. Feeding ecology of marine cormorants in southwestern North America. *Condor* 83:120–131.
- Álvarez-Borrego S. y Lara-Lara J.R. 1991. The physical environment and primary productivity of the Gulf of California. En: Dauphin J.P, Simoneit B.R.T. (eds.). *The Gulf and Peninsular Province of the Californias*, Vol. 47. American Association of Petroleum Geologists Memoir, Tulsa, OK, USA, 555–567 p.
- Álvarez-Borrego S., Rivera J.A., Gaxiola-Castro G., Acosta-Ruiz M.J. y Schwartzlose R.A. 1978. Nutrientes en el Golfo de California. *Ciencias Mar.* 5:53–71.
- Ancona S., Sánchez-Colón S., Rodríguez C. y Drummond H. 2011. El Niño in the warm tropics: local sea temperature predicts breeding parameters and growth of blue-footed boobies. *J. Anim. Ecol.* 80:799–808.
- Anderson C.D., Roby D.D. y Collis K. 2004. Foraging patterns of male and female double-crested cormorants nesting in the Columbia River estuary. *Can. J. Zool.* 82:541–554.
- Anderson D.W, Henny C.J., Godinez-Reyes C., Gress F., Palacios E.L, del Prado S. y Bredy J. 2007. Size of the California Brown Pelican metapopulation during a non-El Niño year. U.S. Geological Survey, Open-File Report 2007-1299, Reston, Virginia, USA, 35 pp.
- Anderson D.W. y Hickey J.J. 1970. Oological data on egg and breeding characteristic of brown pelicans. *Wilson Bull.* 82:14–28.
- Anderson D.W., Henny C.J., Godinez-Reyes C., Gress F., Palacios E., Santos del Prado K., Gallo Reynoso J.P. y Bredy, J. 2013. Size and distribution of the California Brown Pelican metapopulation in a non-ENSO year. *Mar. Ornithol.* 41:95-106.
- Anderson O.R.J., Phillips R.A., McDonald R.A., Shore R.F., McGill R.A.R. y Bearhop S. 2009. Influence of trophic position and foraging range on mercury levels within a seabird community. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 375:277–288.
- Anderson O.R.J., Phillips R.A., Shore R.F, McGill R.A.R., McDonald R.A. y Bearhop S. 2010. Element patterns in albatrosses and petrels: influence of trophic position, foraging range, and prey type. *Environ. Pollut.* 158:98–107.
- Anderson S.L. y Wild G.C. 1994. Linking genotoxic responses and reproductive success in ecotoxicology. *Environ. Health Perspect.* 102:9–12.
- Anderson, D.W., Jehl Jr. J.R., Risebrough R.W., Woods Jr. L.A., Deweese L.R. y Edgecomb W.G. 1975. Improved reproduction off the Southern California Coast. *Science* 190:806-808.
- Avilés J.M., Soler J.J. y Perez-Contreras T. 2006. Dark nests and egg colour in birds: a possible functional role of ultra- violet reflectance in egg detectability. ? *Proc. R. Soc. B* 273:2821-2829.
- Avilés J.M., Stokke B.G., Moksnes A., Røskaft E. y Møller A.P. 2007. Environmental conditions influence egg color of reed warblers *Acrocephalus scirpaceus* and their parasite, the common cuckoo *Cuculus canorus*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 61:475–485.

- Baesse C.Q., Tolentino V.C. de M., Da Silva A.M., Silva A.D.A., Ferreira G.Â., Paniago L.P.M., Nepomuceno J.C. y de Melo C. 2015. Micronucleus as biomarker of genotoxicity in birds from Brazilian Cerrado. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 115:223–228.
- Barrett J.C., Vainio H., Peakall D. y Goldstein B.D. 1997. 12th meeting of the Scientific Group on Methodologies for the Safety Evaluation of Chemicals: Susceptibility to environmental hazards. *Environ. Health Perspect.* 105:699–737.
- Becker P.H. 2003. Biomonitoring with birds. En: Markert B.A., Breure A.M. y Zechmeister H.G. (eds.). *Bioindicators and Biomonitors: principles, concepts and applications*. Elsevier, Oxford, U.K., 677-736 p.
- Becker P.H. y Dittmann T. 2009. Contaminants in Bird Eggs. *Wadden Sea Ecosyst.* 25.
- Becker P.H. y Dittmann T. 2010. Contaminants in bird eggs in the Wadden Sea: trends and perspectives. *Wadden Sea Ecosystem* 26:205–209.
- Becker P.H., Muñoz-Cifuentes J., Behrends B., and Schmieder K.R. 2001. Contaminants in bird eggs in the Wadden Sea: spatial and temporal trends 1991-2000. *Wadden Sea Ecosyst.* 11:1–68.
- Bertin G. y Averbeck D. 2006. Cadmium: cellular effects, modifications of biomolecules, modulation of DNA repair and genotoxic consequences (a review). *Biochimie* 88:1549–1559.
- Bhunya S.P. y Jena G.B. 1992. Genotoxic potential of the organochlorine insecticide lindane (gamma-BHC): an in vivo study in chicks. *Mutat. Res.* 272:175–181.
- Bhunya S.P. y Jena G.B. 1993. Studies on the genotoxicity of monocrotophos, an organophosphate insecticide, in the chick in vivo test system. *Mutat. Res.* 292:231-239.
- Briggs K.T., Lewis D.B., Tyler W.B. y Hunt G.L. 1981. Brown pelicans in southern California: habitat use and environmental fluctuations. *Condor* 83:1–15.
- Burger J. 1996. Laughing Gull (*Larus atricilla*). En: Poole A., Gill F. (ed.) *The birds of North America* No. 225. The Birds of North America Online, Ithaca, NY, USA.
- Burger J. 2002. Food chain differences affect heavy metals in bird eggs in Barnegat Bay, New Jersey. *Environ. Res.* 90:33–39.
- Burger J. y Gochfeld M. 1991. Cadmium and lead in Common Terns (*Aves: Sterna hirundo*): relationship between levels in parents and eggs. *Environ. Monit. Assess.* 16:253–258.
- Burger J. y Gochfeld M. 1993. Heavy-metal and selenium levels in feathers of young egrets and herons from Hong-Kong and Szechuan, China. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 3:322–327.
- Burger J. y Gochfeld M. 1997. Heavy metal and selenium concentrations in feathers of egrets from Bali and Sulawesi, Indonesia. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 32:217–221.
- Burger J. y Gochfeld M. 2000. Metal levels in feathers of 12 species of seabirds from Midway Atoll in the northern Pacific Ocean. *Sci. Total Environ.* 257:37–52.
- Burger J. y Gochfeld M. 2003. Spatial and temporal patterns in metal levels in eggs of common terns (*Sterna hirundo*) in New Jersey. *Sci. Total Environ.* 311:91–100.
- Burger J. y Gochfeld M. 2004a. Marine Birds as Sentinels of Environmental Pollution. *Ecohealth* 1:263–274.
- Burger J. y Gochfeld M. 2004b. Metal levels in eggs of common terns (*Sterna hirundo*) in New Jersey: temporal trends from 1971 to 2002. *Environ. Res.* 94:336–43.

- Burger J. y Gochfeld M. 2013. Selenium and mercury molar ratios in commercial fish from New Jersey and Illinois: variation within species and relevance to risk communication. *Food Chem. Toxicol.* 57:235–45.
- Burger J., Gochfeld M., Jeitner C., Pittfield T. y Donio M. 2014. Heavy metals in fish from the Aleutians: interspecific and locational differences. *Environ. Res.* 131:119–130.
- Burger J., Trivedi C.D. y Gochfeld M. 2000. Metals in Herring and Great Black-backed Gulls from the New York Bight: the role of salt gland in excretion. *Environ. Monit. Assess.* 64:569–581.
- Burgess N.M., Bond A.L., Hebert C.E., Neugebauer E. y Champoux L. 2013. Mercury trends in Herring Gull (*Larus argentatus*) eggs from Atlantic Canada, 1972-2008: temporal change or dietary shift? *Environ. Pollut.* 172:216–222.
- Cai Y., Rooker J.R., Gill G.A. y Turner J.P. 2007. Bioaccumulation of mercury in pelagic fishes from the northern Gulf of Mexico. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 64:458–469.
- Calixto-Albarrán I. y Osorno J.-L. 2000. The diet of the Magnificent Frigatebird during chick rearing. *Condor* 102:569–576.
- Campbell R.W., Preston M.I., Sealy S.G., Hansen B. y Shepard M.G. 2006. Featured species - Heermann's Gull. *Wildlife Afield* 3:152–204.
- Campbell T.W. 1994. Hematology. En: Ritchie B.W., Harrison G.J. y Harrison L.R. (eds.). *Avian medicine: principles and application*. Wingers Publishing, Inc., Lake Worth, Fl, 176-198 p.
- Campbell T.W. 1995. *Avian hematology and cytology*. 2nd ed. Iowa State University Press, Ames, IA.
- Carmona R. y Danemann G.D. 1994. Nesting waterbirds of Santa Maria Bay, Sinaloa, Mexico, April 1988. *West. Birds.* 25:158–162.
- Carravieri A., Bustamante P., Churlaud C. y Chérel Y. 2013. Penguins as bioindicators of mercury contamination in the Southern Ocean: birds from the Kerguelen Islands as a case study. *Sci. Total Environ.* 454-455:141–148.
- Carter H.R., Sowls A.L., Rodway M.S., Wilson U.W., Lowe R.W., McChesney G.J., Gress F. y Anderson D.W. 1995. Population Size, trends, and conservation problems of the Double-crested Cormorant on the Pacific coast of North America. *Colonial Waterbirds* 18:189-215.
- Carvalho F.P., Fowler S.W., González-Farías F., Mee L.D. y Readman J.W. 1996. Agrochemical residues in the Altata-Ensenada del Pabellon coastal lagoon (Sinaloa, Mexico): a need for integrated coastal zone management. *Int. J. Environ. Health Res.* 6:209–220.
- Carvalho F.P., González-Farías F., Villeneuve J.P., Cattini C., Hernandez-Garza M., Mee L.D., Fowler S.W. 2002. Distribution, fate and effects of pesticide residues in tropical coastal lagoons of northwestern Mexico. *Environ. Technol.* 23:1257–1270.
- Cassey P., Portugal S.J., Maurer G., Ewen J.G., Boulton R.L., Hauber M.E. y Blackburn T.M. 2010. Variability in avian eggshell colour: a comparative study of museum eggshells. *PLoS One* 5, e12054.
- Cassey P., Thomas G.H., Maurer G., Hauber M.E., Grim T., Lovell P.G. y Mikšík I. 2012. Why are birds' eggs colourful? Eggshell pigments co-vary with life-history and nesting ecology among British breeding non-passerine birds. *Biol. J. Linn. Soc.* 106:657–672.
- Castillo-Guerrero, J.A. 2003. Respuestas del bobo de patas azules (*Sula nebouxii*) a las características del hábitat, con énfasis en las relaciones interespecíficas, en Isla El

- Rancho, Sinaloa, durante la temporada reproductiva 2003. Tesis de Doctorado en Ciencias. Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada. Ensenada, B. C. 98 p.
- Castillo-Guerrero J.A. y Mellink E. 2006. Maximum Diving depth in fledging blue-footed boobies: skill development and transition to independence. *Wilson J. Ornithol.* 118:527–531.
- Castillo-Guerrero J.A. y Mellink E. 2011. Occasional inter-sex differences in diet and foraging behavior of the Blue-footed Booby: maximizing chick rearing in a variable environment? *J. Ornithol.* 152:269–277.
- Castillo-Guerrero J.A., González-Medina E. y Fernández G. 2014. Seabird colonies of the small islands of Bahía Santa María-La Reforma, Sinaloa, México. *Waterbirds* 37:439–445.
- Castillo-Guerrero J.A., Guevara-Medina M.A., y Mellink E. 2011. Breeding ecology of the Red-billed Tropicbird *Phaethon aethereus* under contrasting environmental conditions in the Gulf of California. *Ardea* 99:61–71.
- Cavaş T. 2008. In vivo genotoxicity of mercury chloride and lead acetate: micronucleus test on acridine orange stained fish cells. *Food Chem. Toxicol.* 46:352–358.
- Ceyca J.P. y Mellink E. 2009. Ecología reproductiva del bobo café (*Sula leucogaster*) en Morros El Potosí, Guerrero, México. *Rev. Mex. Biodivers.* 80:793–800.
- Ceyca J.P., Torres-Bugarín O., Castillo-Guerrero J.A. y Betancourt-Lozano M. 2014. Seabird embryos as biomonitors of micronucleogenic genotoxic agents: potential application for the coasts of Mexico. *Avian Biol. Res.* 7:223–234.
- Chen X., Zhu Y.H., Cheng X.Y., Zhang Z.W. y Xu S.W. 2012. The protection of selenium against cadmium-induced cytotoxicity via the heat shock protein pathway in chicken splenic lymphocytes. *Molecules* 17:14565–14572.
- Crespo-López M.E., Macêdo G.L., Pereira S.I.D., Arrifano G.P.F., Picanço-Diniz D.L.W., Nascimento J.L.M. Do y Herculano A.M. 2009. Mercury and human genotoxicity: critical considerations and possible molecular mechanisms. *Pharmacol. Res.* 60:212–220.
- Dang F. y Wang W.-X. 2012. Why mercury concentration increases with fish size? Biokinetic explanation. *Environ. Pollut.* 163:192–198.
- Doney S.C., Ruckelshaus M., Emmett Duffy J., Barry J.P., Chan F., English C. A., Galindo H.M., Grebmeier J.M., Hollowed A.B., Knowlton N., Polovina J., Rabalais N.N., Sydeman W.J. y Talley L.D. 2012. Climate change impacts on marine ecosystems. *Ann. Rev. Mar. Sci.* 4:11–37.
- Dosch J.J. 2003. Movement patterns of adult Laughing Gulls *Larus atricilla* during the nesting season. *Acta Ornithol.* 38:15–25.
- Durant J.M., Stenseth N.C., Anker-nilssen T., Harris M.P., Thompson P.M. y Wanless S. 2004. Marine birds and climate fluctuation in the North Atlantic. En: Stenseth N.C. y Ottersen G. (eds.). *Marine Ecosystems and Climate Variation: The North Atlantic a comparative perspective.* Oxford University Press Inc., New York, 95–105 p.
- Eisler R. 1985. Cadmium hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. US Fish and Wildlife Service Biology Report 85.
- Eisler R. 1987. Mercury hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. US Fish and Wildlife Service Biological Report 85:1–90.

- Elliott J.E., Norstrom R.J. y Keith J.A. 1988. Organochlorine and eggshell thinning in northern gannets (*Sula bassanus*) from Eastern Canada, 1968-1984. *Environ. Pollut.* 52:81-102.
- Engilis A., Oring L.W., Carrera E., Nelson J.W. y Martínez A. 1998. Shorebird surveys in Ensenada Pabellones and Bahía Santa María, Sinaloa, Mexico: critical winter habitats for Pacific flyway shorebirds. *Wilson Bull.* 110:332-341.
- Escobedo-Urías D., Martínez-López A., Jiménez-Illescas Á., Ulloa-Pérez A.E. y Zavala-Norzagaray A. 2007. Intercambio de carbono orgánico particulado del sistema lagunar San Ignacio-Navachiste, Sinaloa, con el mar adyacente. En: Hernández de la Torre B. y Gaxiola-Castro G. (eds.). *Carbono en Ecosistemas Acuáticos México*. INE, CICESE, México, D.F., México, 171-185 p.
- Fenech M. 1993. The cytokinesis-block micronucleus technique: a detailed description of the method and its application to genotoxicity studies in human populations. *Mutat. Res.* 285:35-44.
- Fenech M. 2000. The in vitro micronucleus technique. *Mutat. Res.* 455:81-95.
- Fitzgerald W.F. 1989. Atmospheric and oceanic cycling of mercury. En: Riley J.P., Chester R. (eds.). *Chemical Oceanography Vol 10*. Academic Press, New York, NY, USA, 151-186 p.
- Flores-Verdugo F.J., Agraz-Hernández C. y Benítez-Pardo D. 2007. Ecosistemas acuáticos costeros: importancia, retos y prioridades para su conservación. En: Sánchez O., Herzig M., Peters E., Márquez R. y Zambrano L. (eds.) *Perspectivas sobre Conservación de Ecosistemas Acuáticos en México*. SEMARNAT, INE, USFWS, Unidos para la Conservación AC, UMSNH, 147-166 p.
- Fossi M.C. 1994. Nondestructive biomarkers in ecotoxicology. *Environ. Health Perspect.* 102:49-54.
- Frías-Espéricueta M.G., Izaguirre-Fierro G., Valenzuela-Quiñonez F., Osuna-López J.I., Voltolina D., López-López G., Muy-Rangel M.D. y Rubio-Castro W. 2007. Metal content of the Gulf of California blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 79:214-217.
- Frías-Espéricueta M.G., Osuna-López J.I., Izaguirre-Fierro G., Aguilar-Juárez M. y Voltolina D. 2010. Cadmio y plomo en organismos de importancia comercial de la zona costera de Sinaloa, México: 20 años de estudios. *CICIMAR Oceanides* 25:121-134.
- Frías-Espéricueta M.G., Osuna-López J.I., Jiménez-Vega M.A., Castillo-Bueso D., Muy-Rangel M.D., Rubio-Carrasco W., López-López G., Izaguirre-Fierro G. y Voltolina D. 2011. Cadmium, copper, lead, and zinc in *Mugil cephalus* from seven coastal lagoons of NW Mexico. *Environ. Monit. Assess.* 182:133-139.
- Frías-Espéricueta M.G., Osuna-López J.I., Voltolina D., Correa-González E.M., Armenta-Monje M.J., López-López G. y Izaguirre-Fierro G. 2006. Metals in shrimp farm sediments, Sinaloa, Northwest Mexico. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 77:912-917.
- Furness R.W. 1996. Cadmium in birds. En: W.N. Beyer, G.H. Heinz, A.W. Redmon-Norwood (eds.). *Environmental contaminants in wildlife: interpreting tissue concentrations*. Lewis, Boca Raton, FL, 389-404 p.
- Furness R.W. y Camphuysen C.J. 1997. Seabirds as monitors of the marine environment. *ICES Journal of Marine Science* 54:726-737.
- Gámez-López J.E., Díaz-Gaxiola, J.M. y Rangel-Cota, G. 2014. Anidamiento y reproducción del pájaro bobo patas azules (*Sula nebouxii* Milne-Edwards, 1882) y

- avifauna acompañante en la Isla Pájaros, Bahía de Jitzamuri, Sinaloa, México. *Juyyaania* 2:173-189.
- Gil F. y Pla A. 2001. Biomarkers as biological indicators of xenobiotic exposure. *J. Appl. Toxicol.* 21:245–255.
- Glahn J.F., Harrel B. y Vyles C. 1998. The diet of wintering double-crested cormorants feeding at lakes in the Southeastern United States. *Colon. Waterbirds.* 21:431–437.
- Gochfeld M., Belant J.L., Shukla T., Benson T. y Burger J. 1996. Heavy metals in Laughing Gulls: gender, age and tissue differences. *Environ. Toxicol. Chem.* 15:2275–2283.
- Gómez-Meda B.C., Zamora-Perez A.L., Luna-Aguirre J., González-Rodríguez A., Ramos-Ibarra M.L., Torres-Bugarín O., Batista-González C.M. y Zúñiga-González G.M. 2006. Nuclear abnormalities in erythrocytes of parrots (*Aratinga canicularis*) related to genotoxic damage. *Avian Pathol.* 35:206–210.
- González-Bernal M.A., Mellink E. y Fong-Mendoza J.R. 2002. Nesting birds of Farallón de San Ignacio, Sinaloa, México. *West. Birds* 33:254–257.
- González-Bernal M.A., Vega X. y Mellink E. 2003. Nesting of Western Gulls in Bahía de Santa María-La Reforma, Sinaloa, México. *West. Birds* 34:175–177.
- Gosler A.G., Higham J.P. y James Reynolds S. 2005. Why are birds' eggs speckled? *Ecol. Lett.* 8:1105–1113.
- Gress F. 1970. Reproductive status of the California Brown Pelican in 1970, with notes on breeding and natural history. California Dept. of Fish and Game, Wildl. Mgmt. Admin. Report 70-6.
- Gress F., Risebrough R.W., Anderson D.W., Kiff L.F. y Jehl J.R. 1973. Reproductive failures of Double-crested Cormorant in Southern California and Baja California. *Wilson Bull.* 85:197–208.
- Greywe D., Kreutz J., Banduhn N., Krauledat M., Scheel J., Schroeder K.R., Wolf T. y Reisinger K. 2012. Applicability and robustness of the hen's egg test for analysis of micronucleus induction (HET-MN): results from an inter-laboratory trial. *Mutat. Res.* 747:118–134.
- Grisolia C.K. 2002. A comparison between mouse and fish micronucleus test using cyclophosphamide, mitomycin C and various pesticides. *Mutat. Res.* 518:145-150.
- Guevara-Medina M.A., Castillo-Guerrero J.A. y González-Bernal M.A. 2008. Presencia y abundancia de aves de la isla Farallón de San Ignacio, Sinaloa. *Huitzil* 9:20–28.
- Hamer K.C., Schreiber E.A. y Burger J. 2001. Breeding biology, life histories, and life history-environment interactions in seabirds. En: E.A. Schreiber and J. Burger (eds.). *Biology of marine birds.* CRC Press, Boca Raton, FL, 217-261 p.
- Hanley D. y Doucet S.M. 2009. Egg coloration in ring-billed gulls (*Larus delawarensis*): a test of the sexual signaling hypothesis. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 63:719–729.
- Hanley D. y Doucet S.M. 2012. Does environmental contamination influence egg coloration? A long-term study in herring gulls. *J. Appl. Ecol.* 49:1055–1063.
- Heinz G.H., Hoffman D.J., Klimstra J.D. y Stebbins K.R. 2012. A comparison of the teratogenicity of methylmercury and selenomethionine injected into bird eggs. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 62:519–528.
- Heinz G.H., Hoffman D.J., Klimstra J.D., Stebbins K.R., Kondrad S.L. y Erwin C.A. 2009. Species differences in the sensitivity of avian embryos to methylmercury. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 56:129–38.

- Helander B., Olsson A., Bignert A., Asplund L. y Litzén K. 2002. The role of DDE, PCB, coplanar PCB and eggshell parameters for reproduction in the white-tailed sea eagle (*Haliaeetus albicilla*) in Sweden. *Ambio* 31:386–403.
- Henrik G.S., Ulf O. y Thomas O. 1993. Inter-clutch variation in egg mass among starling *Sturnus vulgaris* reflects female condition. *Ornis Scand* 24:311–6.
- Hindell M.A., Brothers N. y Gales R. 1999. Mercury and cadmium concentrations in the tissues of three species of southern albatrosses. *Polar Biol.* 22:102–108.
- Honza M., Požgayová M., Procházka P. y Cherry M.I. 2011. Blue-green eggshell coloration is not a sexually selected signal of female quality in an open-nesting polygynous passerine. *Naturwissenschaften* 98:493–9
- Howell S.N.G. y Webb S. 1995. A guide to the birds of Mexico and northern Central America. Oxford University Press, Oxford.
- Hoyt D.F. 1979. Practical methods of estimating volume and fresh egg weights of bird eggs. *Auk* 96:73–77
- Iarmarcovai G., Bonassi S., Botta A., Baan R. A. y Orsière T. 2008. Genetic polymorphisms and micronucleus formation: A review of the literature. *Mutat. Res.* 658:215–233.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). 2013. Perspectiva estadística: Sinaloa. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. México, D.F., México, 91 pp.
- Islam K. 2002. Heermann's Gull (*Larus heermanni*). En: Poole A. y Gill F. (eds.). *The Birds of North America*, No. 643. Philadelphia, PA: The Birds of North America Inc., 1-16 pp.
- Jagannath A., Shore R.F., Walker L.A., Ferns P.N. y Gosler A.G. 2008. Eggshell pigmentation indicates pesticide contamination. *J. Appl. Ecol.* 45:133–140.
- Jahncke J. y Goya E. 2000. Responses of three booby species to El Niño 1997-1998. *Waterbirds* 23:102-108.
- Jehl J.R. 1973. Studies of a declining population of brown pelicans in Northwestern Baja California. *Condor* 75:69-79.
- Joseph P. 2009. Mechanisms of cadmium carcinogenesis. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 238:272–279.
- Kilner R.M. 2006. The evolution of egg colour and patterning in birds. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 81:383–406.
- King K.A., Flickinger E.L. y Hildebrand H.H. 1978. Shell thinning and pesticide residues in Texas aquatic bird eggs, 1970. *Pesticides Monitoring Journal* 12:16-21.
- Klein R., Bartel-Steinbach M., Koschorreck J., Paulus M., Tarricone K., Teubner D., Wagner G., Weimann T. y Veith M. 2012. Standardization of egg collection from aquatic birds for biomonitoring - A critical review. *Environ. Sci. Technol.* 46:5273–5284.
- Kojadinovic J., Potier M., Le Corre M., Cosson R.P. y Bustamante P. 2007. Bioaccumulation of trace elements in pelagic fish from the Western Indian Ocean. *Environ. Pollut.* 146:548–566.
- Korenekova B., Skalicka M., Nad P., Saly J. y Korenek M. 2007. Effects of cadmium and zinc on the quality of quail's eggs. *Biol. Trace Elem. Res.* 116:103–109
- Koyama J., Nanamori N. y Segawa S. 2000. Bioaccumulation of waterborne and dietary cadmium by oval squid, *Sepioteuthis lessoniana*, and its distribution among organs. *Mar. Pollut.* 40:961–967.

- Lawrence R.G., Blankinship D.R. y Jackson G.A. 1986. Contaminants in Brown Pelican eggs collected from Texas and Mexico, 1986. US Fish and Wildlife Service, Ecological Services, 21 p.
- Leach R.M., Wang K.W., Baker D.E. 1979. Cadmium and the food chain: the effect of dietary cadmium on tissue composition in chicks and laying hens. *J Nutr* 109:437–443
- López-Rull I., Mikšík I. y Gil D. 2008. Egg pigmentation reflects female and egg quality in the spotless starling *Sturnus unicolor*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 62:1877–1884.
- Lundholm C.E. 1987. Methyl mercury decreases the eggshell thickness and inhibits the Ca^{2+} uptake in a homogenate of the eggshell gland mucosa and its subcellular fractions from the domestic fowl. *Pharm. Toxicol.* 60:3X5 388.
- Lundholm C.E. 1995. Effects of methyl mercury at different dose regimes on eggshell formation and some biochemical characteristics of the eggshell gland mucosa of the domestic fowl. *Comp. Biochem. Physiol. - C Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.* 110:23–28.
- Lundholm C.E. y Mathson K. 1986. Effect of some metal compounds on the Ca^{2+} binding and $\text{Ca}^{2+}\text{-Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ activity of eggshell gland mucosa homogenate from domestic fowl. *Acta pharmacol. et toxicol.* 59:410-415.
- Mailman R.B. 1980. Heavy metals. En: Perry J.J (ed.). *Introduction to Environmental Toxicology*. Elsevier, New York, NY, USA, 34–43 p.
- Marettová E., Mareta M., Legáth J. y Škrobánek P. 2012. The effect of cadmium, with and without supplemental selenium, on reproductive performance in chickens. *Avian Biol. Res.* 5:103–106.
- Mellink E. 2001. History and status of colonies of Heermann's Gull in Mexico. *Waterbirds* 24:188–194.
- Mellink E., Domínguez J. y Luévano J. 2001. Diet of eastern Pacific Brown Boobies *Sula leucogaster brewsteri* on Isla San Jorge, north-eastern Gulf of California, and an April comparison with diets in the middle Gulf of California. *Mar. Ornithol.* 29:23–28.
- Mellink E., Riojas-López M.E. y Luévano-Esparza J. 2009. Organochlorine content and shell thickness in brown booby (*Sula leucogaster*) eggs in the Gulf of California and the southern Pacific coast of Mexico. *Environ. Pollut.* 157:2184–8.
- Mikšík I., Holán V. y Deyl Z. 1994. Quantification content and variability of eggshell pigment. *Comp. Biochem. Physiol.* 109A:769–772.
- Mikšík, I., Holán, V. y Deyl, Z. 1996. Avian eggshell pigments and their variability. *Comp. Biochem. Physiol.* 113B:607–612.
- Montaño-Ley Y., Peraza-Vizcarra R. y Páez-Osuna F. 2007. The tidal hydrodynamics modeling of the Topolobampo coastal lagoon system and the implications for pollutant dispersion. *Environ. Pollut.* 147:282–290.
- Monteiro L.R., Granadeiro J.P. y Furness R.W. 1998. Relationship between mercury levels and diet in Azores seabirds. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 166:259–265.
- Montes A.M., González-Farias F.A. y Botello A.V. 2012. Pollution by organochlorine pesticides in Navachiste-Macapule, Sinaloa, Mexico. *Environ. Monit. Assess.* 184:1359–1369.
- Montevocchi W.A. y Myers R.A. 1996. Dietary changes of seabirds indicate shifts in pelagic food web. *Sarsia* 80:313–322.
- Morales J., Torres R. y Velando A. 2010. Parental conflict and blue egg coloration in a seabird. *Naturwissenschaften* 97:173–80.

- Morales-Hernández F., Soto-Jiménez M.F. y Páez-Osuna F. 2004. Heavy metals in sediments and Lobster (*Panulirus gracilis*) from the discharge area of the Submarine Sewage Outfall in Mazatlán Bay (SE Gulf of California). Arch. Environ. Contam. Toxicol. 46:485–491.
- Moreno J. y Osorno J.L. 2003. Avian egg colour and sexual selection: does eggshell pigmentation reflect female condition and genetic quality? Ecol. Lett. 6:803–806.
- Moreno J., Lobato E., Morales J., Merino S., Tomás G., Martínez-De La Puente J., Sanz J.J., Mateo R. y Soler J.J. 2006. Experimental evidence that egg color indicates female condition at laying in a songbird. Behav. Ecol. 17:651–655.
- Moreno J., Morales J., Lobato E., Merino S., Tomás G. y Martínez-De La Puente J. 2005. Evidence for the signaling function of egg color in the pied flycatcher *Ficedula hypoleuca*. Behav. Ecol. 16:931–937.
- Mouchet F., Baudrimont M., Gonzalez P., Cuenot Y., Bourdineaud J.P., Boudou A. y Gauthier L. 2006. Genotoxic and stress inductive potential of cadmium in *Xenopus laevis* larvae. Aquat. Toxicol. 78:157–66.
- Muñoz del Viejo A., Vega X., González M.A. y Sánchez J.M. 2004. Disturbance sources, human predation and reproductive success of seabirds in tropical coastal ecosystems of Sinaloa State (Mexico). Bird Conserv. Int. 14:191–202.
- Muñoz-Cifuentes J., Becker P.H., Sommer U., Pacheco P. y Schlatter R. 2003. Seabird eggs as bioindicators of chemical contamination in Chile. Environ. Pollut. 126:123–137.
- Nepomuceno J.C., Ferrari Í., Spanó M.A. y Centeno A.J. 1997. Detection of micronuclei in peripheral erythrocytes of *Cyprinus carpio* exposed to metallic mercury. Environ. Mol. Mutagen. 30:293–297.
- Norstrom R.J. y Hebert C.E. 2006. Comprehensive re-analysis of archived herring gull eggs reconstructs historical temporal trends in chlorinated hydrocarbon contamination in Lake Ontario and Green Bay, Lake Michigan, 1971-1982. J. Environ. Monit. 8:835–47.
- Noyes P.D., McElwee M.K., Miller H.D., Clark B.W., Van Tien L.A., Walcott K.C., Erwin K.N. y Levin E.D. 2009. The toxicology of climate change: environmental contaminants in a warming world. Environ. Int. 35:971–86.
- Osuna-López J.I., Frías-Espericueta M.G., López-López G., Zazueta-Padilla H.M., Izaguirre-Fierro G., Páez-Osuna F., Ruiz-Fernández A.C. y Voltolina D. 2009. Cd, Pb and organochlorine pesticides of *Mytella strigata* (Pelecypoda: Mytilidae) of six coastal lagoons of NW Mexico. Boletín Investig. Mar. y Costeras. 38:233–239.
- Osuna-Martínez C.C., Páez-Osuna F. y Alonso-Rodríguez R. 2010. Mercury in cultured oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg, 1793 and *C. corteziensis* Hertlein, 1951) from four coastal lagoons of the SE Gulf of California, Mexico. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 85:339–343.
- Osuna-Martínez C.C., Páez-Osuna F. y Alonso-Rodríguez R. 2011. Cadmium, copper, lead and zinc in cultured oysters under two contrasting climatic conditions in coastal lagoons from SE Gulf of California, Mexico. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 87:272–275.
- Özkan F., Gündüz S.G., Berköz M. y Hunt A.Ö. 2011. Induction of micronuclei and other nuclear abnormalities in peripheral erythrocytes of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, following exposure to sublethal cadmium doses. Turk. J. Zool. 35:585–592.

- Parker J.W., Byers E. y Bonaccorso F. 1987. Aspects of the population biology of *Fregata magnificens* in Belize. *American Birds* 41:11-19.
- Pastor N., López-Lázaro M., Tella J.L., Baos R., Hiraldo F. y Cortés F. 2001. Assessment of genotoxic damage by the comet assay in white storks (*Ciconia ciconia*) after the Doñana Ecological Disaster. *Mutagenesis* 16:219–23.
- Pereira M.G., Walker L.A., Best J. y Shore R.F. 2009. Long-term trends in mercury and PCB congener concentrations in gannet (*Morus bassanus*) eggs in Britain. *Environ. Pollut.* 157:155–163.
- Pinson D. y Drummond H. 1993. Brown pelican siblicide and the prey-size hypothesis. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 32:111–118.
- Rahman M.S., Sasanami T. y Mori M. 2007. Effects of cadmium administration on reproductive performance of Japanese quails (*Coturnix japonica*). *J. Poult. Sci.* 44:92–97.
- Rahn H. y Dawson R. 1979. Incubation water loss in eggs of Heermann's and Western Gulls. *Physiol. Zool.* 52:451–460.
- Rajendran R.B., Imagawa T., Tao H. y Ramesh R. 2005. Distribution of PCBs, HCHs and DDTs, and their ecotoxicological implications in Bay of Bengal, India. *Environ. Int.* 31:503–12.
- Reyes-Olivas Á., Apodaca-Ovalle V., Cota-Sánchez H. y Casillas-Álvarez P. 2008. Relación del suelo y la topografía con la diversidad y estructura de la vegetación insular en el desierto costero de Sinaloa, México. En: Flores-Campaña L.M. (ed.). *Estudios de las Islas del Golfo de California*. UAS, Gobierno del Estado de Sinaloa, CONACYT, México, 53–66 p.
- Risebrough R.W. 1972. Effects of environmental pollutants upon animals other than man. *Proc. of the Sixth Berkeley Symposium on Mathematical Statistics and Probability*, University of California Press, Berkeley, 443-463 p.
- Ruelas-Inzunza J., Green-Ruiz C., Zavala-Nevárez M. y Soto-Jiménez M. 2011. Biomonitoring of Cd, Cr, Hg and Pb in the Baluarte River basin associated to a mining area (NW Mexico). *Sci. Total Environ.* 409:3527–3536.
- Ruelas-Inzunza J., Hernández-Osuna J. y Páez-Osuna F. 2009. Organic and total mercury in muscle tissue of five aquatic birds with different feeding habits from the SE Gulf of California, Mexico. *Chemosphere* 76:415–418.
- Ruelas-Inzunza J., Meza-López G. y Páez-Osuna F. 2008. Mercury in fish that are of dietary importance from the coasts of Sinaloa (SE Gulf of California). *J. Food Compos. Anal.* 21:211–218.
- Ruelas-Inzunza J., Páez-Osuna F. y Arvizu-Merín M. 2007. Mercury distribution in selected tissues of migratory and resident avifauna from Altata-Ensenada del Pabellón Lagoon, Southeast Gulf of California. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 78:39–43.
- Ruelas-Inzunza J., Páez-Osuna F. y García-Flores D. 2010. Essential (Cu) and nonessential (Cd and Pb) metals in ichthyofauna from the coasts of Sinaloa state (SE Gulf of California). *Environ. Monit. Assess.* 162:251–263.
- Santamaría del Ángel E., Álvarez-Borrego S. y Müller-Karger F.E. 1994. Gulf of California biogeographic regions based on coastal zone color scanner imagery. *J. Geophys. Res.* 99:7411–7421.
- Santamaría del Ángel E., Álvarez-Borrego S., Millán-Núñez R. y Müller-Karger F.E. 1999. Sobre el efecto débil de las surgencias de verano en la biomasa fitoplanctónica del golfo de California. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* 49:207–212.

- Schmid W. 1975. The micronucleus test. *Mutat. Res.* 31:9-15.
- Schmid W. 1976. The micronucleus test for cytogenetic analysis. En: A. Hollander (ed.). *Chemical Mutagens Vol 4*. Plenum Press, New York, 31-35 p.
- Segovia-Zavala J.A., Delgadillo-Hinojosa F. y Álvarez-Borrego S. 1998. Cadmium in the coastal upwelling area adjacent to the California–Mexico Border. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 46:475–481.
- SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental -especies nativas de México y de flora y fauna silvestres- categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio- lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación, Estados Unidos Mexicanos – 30 de diciembre de 2010.
- Serrano D., Ramírez-Félix E. y Valle-Levinson A. 2013. Tidal hydrodynamics in a two-inlet coastal lagoon in the Gulf of California. *Cont. Shelf Res.* 63:1–12.
- Shealer D.A. 2002. Foraging behavior and food of seabirds. En: Schreiber E.A. y Burger J. (eds.) *Biology of marine birds*. CRC Press, Boca Ratón, FL, USA, 137-177 p.
- Skarphedinsdottir H., Hallgrímsson G.T., Hansson T., Hägerroth P.-A., Liewenborg B., Tjärnlund U., Akerman G., Barsiene J. y Balk L. 2010. Genotoxicity in herring gulls (*Larus argentatus*) in Sweden and Iceland. *Mutat. Res.* 702:24–31.
- Soto-Jiménez M., Páez-Osuna F. y Ruiz-Fernández A.C. 2003. Geochemical evidences of the anthropogenic alteration of trace metal composition of the sediments of Chiricahueto marsh (SE Gulf of California). *Environ. Pollut.* 125:423–432.
- Soto-Mardones L., Marinone S.G. y Parés-Sierra A. 1999. Variabilidad espaciotemporal de la temperatura superficial del mar en el Golfo de California. *Ciencias Mar.* 25:1–30.
- Stončius D. 2003. Spontaneous micronuclei in embryos of the Black-headed Gull (*Larus ridibundus* L.) populations. *Ekologija* 1:63–66.
- Stončius D. y Lazutka J.R. 2003. Spontaneous and benzo[a]pyrene-induced micronuclei in the embryos of the black-headed gull (*Larus ridibundus* L.). *Mutat. Res. Toxicol. Environ. Mutagen.* 538:31–39.
- Sun J., Wang M.-H. y Ho Y.-S. 2012. A historical review and bibliometric analysis of research on estuary pollution. *Mar. Pollut. Bull.* 64:13–21.
- Sunderland E.M., Gobas F.A.P.C., Heyes A., Branfireun B.A., Bayer A.K., Cranston R.E. y Parsons M.B. 2004. Speciation and bioavailability of mercury in well-mixed estuarine sediments. *Mar. Chem.* 90:91–105.
- Taggart M. A., Green A.J., Mateo R., Svanberg F., Hillström L. y Meharg A.A. 2009. Metal levels in the bones and livers of globally threatened marbled teal and white-headed duck from El Hondo, Spain. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 72:1–9.
- Tershy, B.R y Breese, D. 1997. The birds of San Pedro Mártir Island, Gulf of California, Mexico. *Western Birds* 28:96-107.
- Thompson P. y Ollason, J. 2001. Lagged effects of ocean climate change on fulmar population dynamics. *Nature* 413:417–20.
- Toledo C., Rojas M., Navarro A., León L., Rojas J. y Deffis A. 1989. Estudio de impacto ambiental del desarrollo turístico ecológico de las islas Lobos y Venados. En: Deffis A. (ed.). *Arquitectura Ecológica Tropical*. Editorial Concepto, México, D.F., México, 103 pp.
- Torres R. y Drummond H. 1999. Does large size make daughters of the blue-footed booby more expensive than sons? *J. Anim. Ecol.* 68:1133–1141.

- Torres R. y Velando A. 2007. Male reproductive senescence: the price of immune-induced oxidative damage on sexual attractiveness in the blue-footed booby. *J. Anim. Ecol.* 76:1161–1168.
- Torres-Bugarín O., Zavala-Aguirre J.L., Gómez-Rubio P., Buelna-Osben H.R., Zúñiga-González G. y García-Ulloa M. 2007. Especies de peces con potencial como bioindicadoras de genotoxicidad en el lago “La Alberca”, Michoacán, México. *Hidrobiológica* 17:75–81.
- Trefry S.A., Diamond A.W., Spencer N.C. y Mallory M.L. 2013. Contaminants in Magnificent Frigatebird eggs from Barbuda, West Indies. *Mar. Pollut. Bull.* 75:317–321.
- Tylor S., Morris-Pocock J., Tershy B., Castillo-guerrero J.A. y Friesen V.L. 2013. Hybridization from possible sexual mis-imprinting: molecular characterization of hybridization between brown *Sula leucogaster* and blue-footed boobies *S. nebouxii*. *Mar. Ornithol.* 41:113–119.
- Udroiu I. 2006. The micronucleus test in piscine erythrocytes. *Aquat. Toxicol.* 79:201–204.
- Valverde M., Trejo C. y Rojas E. 2001. Is the capacity of lead acetate and cadmium chloride to induce genotoxic damage due to direct DNA-metal interaction? *Mutagenesis* 16:265–270.
- Vander Pol S.S. y Becker P.R. 2007. Monitoring contaminants in seabirds: the importance of specimen banking. *Mar. Ornithol.* 35:113–118.
- Vega-Aviña R., Benítez-Pardo D., Flores-Campaña L.M. y Hernández-Álvarez F. 2001. Vegetación y flora de Isla Pájaros e Isla Lobos de la Bahía de Mazatlán, Sinaloa. *Listados Florísticos de México* 21:1–19.
- Velarde E. 1999. Breeding biology of Heermann’s Gulls on Isla Rasa, Gulf of California, Mexico. *Auk* 116:513–519.
- Velarde E., Ezcurra E. y Anderson D.W. 2013. Seabird diets provide early warning of sardine fishery declines in the Gulf of California. *Sci. Rep.* 3, 1332:1–6.
- Velarde E., Tordesillas M.S., Vieyra L. y Esquivel R. 1994. Seabirds as indicators of important fish populations in the Gulf of California. *CalCOFI Rep.* 35:137–143.
- Wall B. 2008. Organochlorine pesticide contamination and its potential effects on eggshell characteristics of Dickcissels (*Spiza americana*). *John Wesley Powell Res. Conf. Paper* 11:1–34.
- Wang X.T., Zhao C.J., Li J.Y., Xu G.Y., Lian L.S., Wu C.X. y Deng X.M. 2009. Comparison of the total amount of eggshell pigments in Dongxiang brown-shelled eggs and Dongxiang blue-shelled eggs. *Poult. Sci.* 88:1735–1739.
- Wang Z.P., Liu R.F., Wang a R., Li J.Y. y Deng X.M. 2011. Expression and activity analysis reveal that heme oxygenase (decycling) 1 is associated with blue egg formation. *Poult. Sci.* 90:836–841.
- Washburn B.E., Bernhardt G.E., Kutschbach-Brohl L., Chipman R.B. y Francoeur L.C. 2013. Foraging ecology of four gull species at a coastal–urban interface. *Condor* 115:67–76.
- Wayland M. y Scheuhammer A.M. 2011. Cadmium in birds. En: Meador, J.P. (ed.). *Environmental Contaminants in Biota: interpreting tissue concentrations*. CRC Press, 645–666 p.
- Weimerskirch H., Shaffer S., Tremblay Y., Costa D., Gadenne H., Kato A., Ropert-Coudert Y., Sato K. y Aurióles-Gamboá D. 2009. Species- and sex-specific differences

- in foraging behaviour and foraging zones in blue-footed and brown boobies in the Gulf of California. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 391:267–278.
- Westerkov K. 1950. Methods for determining the age of game bird eggs. *Journal of Wildlife Management* 14:56-67.
- Wolf T. y Luepke N.-P. 1997. Formation of micronuclei in incubated hen's eggs as a measure of genotoxicity. *Mutat. Res.* 394:163–175.
- Wolf T., Niehaus-Rolf C., Banduhn N., Eschrich D., Scheel J. y Luepke N.-P. 2008. The hen's egg test for micronucleus induction (HET-MN): Novel analyses with a series of well-characterized substances support the further evaluation of the test system. *Mutat. Res.* 650:150–164.
- Wolfe M.F., Schwarzbach S. y Sulaiman R.A. 1998. Effects of mercury on wildlife: a comprehensive review. *Environ. Toxicol. Chem.* 17:146–160.
- You Y., Feng J., Wang H., Wang J., Dong C., Su X., Sun H. y Gao W. 2009. Variation in egg size and nestling growth rate in relation to clutch size and laying sequence in great tits *Parus major*. *Prog. Nat. Sci.* 19:427–433.
- Zamora-Pérez A.L., Zúñiga-González G.M., Gómez-Meda B.C., Ramos-Ibarra M.L., Batista-González C.M. y Torres-Bugarín, O. 2004. Induction of micronucleated cells in the shed skin of salamanders (*Ambystoma sp.*) treated with colchicine or cyclophosphamide. *Environ. Mol. Mutagen.* 44:436-440.
- Zar J.H. 2010. *Biostatistical Analysis*. 5th Ed. Pearson Prentice-Hall, Upper Saddle River, NJ, USA. 944 pp.
- Zúñiga G., Torres-Bugarín O., Ramírez-Muñoz M.P., Ramos A., Fanti-Rodríguez E., Portilla E., García-Martínez D., Cantú J.M., Gallegos-Arreola M.P. y Sánchez-Corona J. 1996. Spontaneous micronuclei in peripheral blood erythrocytes from 35 mammalian species. *Mutat. Res.* 369:123–127.
- Zúñiga-González G., Torres-Bugarín O., Luna-Aguirre J., González-Rodríguez A., Zamora-Perez A., Gómez-Meda B.C., Ventura-Aguilar A.J., Ramos-Ibarra M.L., Ramos-Mora A., Ortíz G.G. y Gallegos-Arreola M.P. 2000. Spontaneous micronuclei in peripheral blood erythrocytes from 54 animal species (mammals, reptiles and birds): Part two. *Mutat. Res.* 467:99–103.
- Zúñiga-González G., Torres-Bugarín O., Ramos-Ibarra M.L., Zamora-Perez a, Gómez-Meda B.C., Ventura-Aguilar a J., Ramos-Mora a, Ortíz G.G., Alvarez-Moya C., González-Rodríguez a, Luna-Aguirre J. y Gallegos-Arreola M.P. 2001. Variation of micronucleated erythrocytes in peripheral blood of *Sciurus aureogaster* in relation to age: an increment of micronucleated polychromatic erythrocytes after the administration of colchicine. *Environ. Mol. Mutagen.* 37:173–7.