

La investigación reportada en esta tesis es parte de los programas de investigación del CICESE (Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California).

La investigación fue financiada por el CONAHCYT (Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías).

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México). El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo o titular de los Derechos de Autor.

CICESE@ 2023. Todos los derechos reservados

**Centro de Investigación Científica y de Educación  
Superior de Ensenada, Baja California**



---

**Maestría en Ciencias  
en Ecología Marina**

---

**Efecto de la presencia de balanos en la salud de la tortuga  
prieta (*Chelonia mydas*) en las zonas de forrajeo de Bahía de  
los Ángeles y el complejo lagunar Ojo de Liebre, península de  
Baja California**

Tesis  
para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de  
Maestra en Ciencias

Presenta:

**Deira del Carmen Gordillo García**

Ensenada, Baja California, México  
2023

Tesis defendida por  
**Deira del Carmen Gordillo García**

y aprobada por el siguiente Comité

---

**Dra. Ma Elena Solana Arellano**  
Codirectora de tesis

---

**Dr. Carlos Alberto Flores López**  
Codirector de tesis

**Dr. Rafael Andrés Cabral Tena**

**Dra. Mónica Hernández Rodríguez**



---

**Dr. Rafael Andrés Cabral Tena**  
Coordinador del Posgrado en Ecología Marina

---

**Dra. Ana Denise Re Araujo**  
Directora de Estudios de Posgrado

Resumen de la tesis que presenta **Deira del Carmen Gordillo García** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestría en Ciencias en Ecología Marina

**Efecto de la presencia de balanos en la salud de la tortuga prieta (*Chelonia mydas*) en las zonas de forrajeo de Bahía de los Ángeles y el complejo lagunar Ojo de Liebre, península de Baja California**

Resumen aprobado por:

---

Dra. Ma Elena Solana Arellano  
**Codirectora de tesis**

---

Dr. Carlos Alberto Flores López  
**Codirector de tesis**

Los balanos, son crustáceos que establecen asociaciones simbióticas con diversos organismos, se adhieren con frecuencia a las tortugas marinas, con posibles consecuencias negativas en su salud. El objetivo de este estudio fue examinar el efecto de los balanos en la salud de las tortugas verdes (*Chelonia mydas*) en las áreas de alimentación de Bahía de los Ángeles (BLA) y el complejo lagunar Ojo de Liebre (CLOL), en la Península de Baja California. Se emplearon indicadores sanguíneos para evaluar el estado de salud de las tortugas y se analizó la cobertura de balanos en relación con el sexo, estadio ontogénico y zona anatómica de las tortugas. La identificación taxonómica de los balanos se realizó con guías taxonómicas y análisis filogenéticos con marcadores mitocondriales (16S y COI). Los resultados mostraron la presencia de tres especies de balanos (*Chelonibia testudinaria*, *Platylepas hexastylus* y *Stephanolepas muricata*), y una cuarta especie con análisis filogenéticos. La mayor incidencia fue en el plastrón en ambos sitios de estudio (aprox. 50% de las tortugas). Se observó una mayor cobertura de balanos y abundancia de *C. testudinaria* en las tortugas hembra en BLA, mientras que en CLOL, las tortugas inmaduras presentaron menor cobertura, pero mayor abundancia de *S. muricata*. Esto sugiere que la diversidad y abundancia de los balanos podrían utilizarse después para determinar el origen geográfico de las tortugas. Con respecto a la salud de las tortugas con balanos, la estadística bayesiana mostró probabilidad de diferencias entre sitios (*e.g.*, triglicéridos  $FB_{10}=24.88$ ). Las tortugas de CLOL presentaron mayores variaciones en parámetros hemáticos (*e.g.*, eritrocitosis, monocitosis, basofilia). Mientras que las tortugas de BLA, mostraron mayores variaciones en la bioquímica sanguínea (*e.g.*, hipoglucemia, aumento de AST, ALT). Por lo tanto, la presencia de balanos sí afecta negativamente en la salud de *C. mydas*. Sin embargo, la temperatura de la superficie del mar entre CLOL (18°C y 20°C) y BLA (24°C y 29°C), también podría estar relacionada. Este estudio sentó las bases para comprender la salud de *C. mydas* en las áreas de alimentación de ambos sitios. Estos hallazgos son importantes para desarrollar programas de investigación y gestión que ayuden a conservar esta especie.

**Palabras clave:** Balanos, *Chelonia mydas*, salud, Baja California, *Chelonibia testudinaria*.

Abstract of the thesis presented by **Deira del Carmen Gordillo García** as a partial requirement to obtain the Master of science degree in Marine Ecology

**Effect of the presence of barnacles on the green turtle's health (*Chelonia mydas*) in the foraging areas of Bahía de los Ángeles and the lagunal complex Ojo de Liebre, in the Peninsula of Baja California**

Abstract approved by:

---

Dra. Ma Elena Solana Arellano  
**Thesis co-director**

---

Dr. Carlos Alberto Flores López  
**Thesis co-director**

Barnacles, are crustaceans known for establishing symbiotic associations with various organisms, frequently attach themselves to the shell of sea turtles, potentially negatively affecting their health. This study aimed to examine the effect of barnacles on the health of green turtles (*Chelonia mydas*) in the foraging areas of Bahía de los Ángeles (BLA) and the lagoonal complex Ojo de Liebre (CLOL), located in the Peninsula of Baja California. Blood tests were utilized to assess the health status of the turtles. The coverage of barnacles was analyzed according to the sex, developmental stage, and anatomical region of *C. mydas*. Taxonomic identification of the barnacles was carried out using taxonomic guides and phylogenetic analysis with mitochondrial markers (16S and COI). The results revealed the presence of three barnacle species (*Chelonibia testudinaria*, *Platylepas hexastylus* and *Stephanolepas muricata*), and a fourth species through phylogenetic analysis. The highest incidence was found on the plastron in both study sites (approximately 50% of the turtles). Greater barnacle coverage and an abundance of *C. testudinaria* were observed in female turtles in BLA, while in CLOL, immature showed higher barnacle coverage and a greater abundance of *S. muricata*. These findings suggest that the diversity and abundance of barnacles could potentially be used in the future to determine the geographic origin of the turtles. Regarding the health of turtles with barnacles, Bayesian statistics showed probability differences between sites (*e.g.*, triglycerides  $FB_{10}=24.88$ ). Turtles from CLOL showed greater variations in hematological parameters (*e.g.*, erythrocytosis, monocytosis, basophilia). Meanwhile, turtles from BLA showed more significant variations in blood biochemical parameters (*e.g.*, hypoglycemia, increased AST, ALT). Therefore, the presence of barnacles does have a negative impact on the health of *C. mydas*. However, the sea surface temperature between CLOL (18°C to 20°C) and BLA (24°C to 29°C) could also be related to these variations. This study laid the initial groundwork for understanding the health of *C. mydas* in the feeding areas of BLA and CLOL. These findings are valuable for developing research and management programs aimed at conserving this species.

**Keywords:** Barnacles, *Chelonia mydas*, health, Baja California, *Chelonibia testudinaria*.

## Dedicatoria

*Este trabajo va dedicado a mi familia: mi mamá, mi papá y mi hermano por siempre estar apoyándome y alentándome para lograr mis sueños y objetivos, no habría logrado esto sin ustedes, los amo mucho. También a mis hermanos perrunos Shania, Wallace y Ertugrul, juntos todos somos una familia muy unida, bonita y sólida. Los amo y extraño siempre.*

*“Se feliz con lo que tienes mientras trabajas por lo que quieres”- Anónimo*

## Agradecimientos

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California (CICESE) y al posgrado en Ecología Marina por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado y contribuir a mi formación profesional y académica.

Al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por el apoyo económico brindado para poder llevar a cabo este estudio y mis estudios de posgrado (No. CVU 1036231).

A la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP) por el apoyo en campo con monitoreos y sabiduría.

A mis directores de tesis, Dra. Ma Elena Solana Arellano, por haberme aceptado como su alumna, por su guía, paciencia y apoyo tanto académico, personal y con recursos financieros e infraestructura, y por aconsejarme con cuestiones personales y orientarme, una gran amiga. Al Dr. Carlos Alberto Flores López, por aceptarme trabajar con usted, por el apoyo académico y personal, por su guía y orientación, así como por los consejos y amistad.

A los miembros de mi comité de tesis, la Dra. Mónica Hernández Rodríguez y el Dr. Rafael Cabral Tena, por su acompañamiento y asesoría en este proyecto, enriqueciendo este trabajo con sus observaciones y comentarios acertados y críticos.

Al Dr. Rafael Flores Garza, que se encuentra en la Universidad Autónoma de Guerrero, por el apoyo en la identificación de los balanos de este estudio. Al Dr. Ricardo Cruz de la Institución de Investigaciones Oceanológicas (IIO), por haberme ayudado con el análisis de mi tesis en la resolución de problemas.

A mis papás María del Carmen García Rodríguez y Alejandro Gordillo Martínez, que siempre me han apoyado para realizar mis metas y me han enseñado a ser exitosa en lo que sea que me desarrolle, me han enseñado a cuestionarme las cosas y mejorar con críticas constructivas. Los amo mucho, son mi pilar y me han demostrado uno de los amores más bonitos en este mundo, agradezco todo lo que se han esforzado por que Alex y yo logremos vivir felices.

A mi hermano Alejandro Gordillo García, que siempre ha estado apoyándome, alentándome, ayudando a ser racional y pensar en todas las posibilidades de una situación, a cuestionarme la vida y

lograr mis objetivos. Eres muy divertido, inteligente y centrado, te amo mucho hermano y agradezco que siempre me hayas y sigas cuidando, aunque sea a distancia.

A mis amigos a distancia, Beech, Paco, Mariana, Xochilt, Alo, Daniela que siempre me escuchan, me aconsejan y me apoyan para lograr mis objetivos, a pesar del tiempo y que estemos lejos, siguen presentes, los quiero mucho.

A el laboratorio de Ecología Matemática (Elena, Olga, Adán, Mau, Barco, Cris, Caro, Samai, Michelle) por todo el apoyo en salidas de campo y laboratorio, consejos y diversión, formamos un equipo muy unido y bonito.

A los amigos que hice en el transcurso, Mauufaas, Bartolo, Rebeka, Kepan, Jasivi, Wankwadlos, Mariese, Barco, Moni, Ibrahim, Meli, Tonia, por estar presentes, escucharme y estar juntos en el transcurso de este proceso, los quiero mucho, son amigos que se quedarán por siempre, aunque cada uno este separado, pero logrando sus metas. También a Torio y a Yaya, por su cariño brindado, hicieron más felices y bonitos los días estar con mis amigos perrunos.

A mis primas, Andrea y Susana que han estado presentes en el transcurso de este trabajo y de mi vida, gracias por apoyarme y por la diversión, las quiero chamacas.

A David, por el apoyo en salidas de campo y desarrollo de este estudio, así como su guía, orientación y resolución de problemas.



## Tabla de contenido

	Página
Resumen en español.....	ii
Resumen en inglés.....	iii
Dedicatoria .....	iv
Agradecimientos.....	v
Lista de figuras.....	ix
Lista de tablas .....	xi
<b>Capítulo 1. Introducción.....</b>	<b>1</b>
1.1 Antecedentes .....	4
1.1.1 Generalidades de la tortuga prieta ( <i>Chelonia mydas</i> ) .....	4
1.1.2 Generalidades de los cirrípedos balanomorfos .....	5
1.1.3 Epibiosis.....	6
1.1.4 Salud de tortugas marinas.....	7
1.2 Justificación .....	12
1.3 Hipótesis.....	13
1.4 Objetivos .....	13
1.4.1 Objetivo general.....	13
1.4.2 Objetivos específicos.....	13
<b>Capítulo 2. Metodología.....</b>	<b>14</b>
2.1 Áreas de estudio.....	14
2.1.1 Bahía de los Ángeles.....	14
2.1.2 Complejo Lagunar Ojo de Liebre .....	14
2.2 Captura de tortugas marinas.....	15
2.2.1 Bahía de los Ángeles.....	15
2.2.2 Complejo Lagunar Ojo de Liebre .....	17
2.3 Morfométricos y clasificación de sexo de <i>Chelonia mydas</i> .....	17

2.4	Recolecta e identificación taxonómica de balanos .....	18
2.4.1	Taxonomía clásica .....	19
2.4.2	Taxonomía molecular .....	19
2.5	Cobertura de balanos .....	21
2.6	Indicadores sanguíneos .....	22
2.6.1	Biometría hemática .....	23
2.6.2	Bioquímica sanguínea .....	24
2.6.3	Análisis sanguíneo .....	24
2.7	Análisis estadísticos .....	25
<b>Capítulo 3.</b>	<b>Resultados .....</b>	<b>26</b>
3.1	Capturas de tortugas marinas .....	26
3.2	Análisis morfométricos y clasificación de sexo de <i>Chelonia mydas</i> .....	26
3.3	Identificación taxonómica de balanos .....	27
3.3.1	Taxonomía clásica .....	27
3.3.2	Taxonomía molecular .....	28
3.4	Análisis de cobertura de balanos .....	32
3.5	Determinación hematológica .....	35
3.5.1	Análisis sanguíneo .....	35
<b>Capítulo 4.</b>	<b>Discusión .....</b>	<b>41</b>
4.1	Identificación de balanos .....	41
4.2	Morfométricos, abundancia y cobertura de balanos .....	43
4.3	Parámetros sanguíneos .....	45
<b>Capítulo 5.</b>	<b>Conclusiones .....</b>	<b>50</b>
	<b>Literatura citada .....</b>	<b>52</b>
	<b>Anexos .....</b>	<b>62</b>

## Lista de figuras

Figura	Página
Figura 1. Mapa de la ubicación geográfica de Bahía de los Ángeles, Baja California. Mapa realizado en Arcmap v 10. El punto A pertenece a la ubicación de la bahía "La Gringa" y el punto B pertenece a "El Quemado".....	16
Figura 2. Mapa de la ubicación geográfica de Guerrero Negro, Baja California Sur. Mapa realizado en Arcmap v 10. El punto A pertenece a la ubicación de la laguna Guerrero Negro y el punto B pertenece a la laguna Ojo de Liebre. ....	16
Figura 3. Esquema de las medidas morfométricas utilizadas en este estudio: Ancho Curvo del Caparazón (ACC), Largo Recto del Caparazón (LRC), Largo Curvo del Caparazón (LCC) y Profundidad Corporal (PC), Largo del Plastrón (LP) y Largo Total de Cola (LTC), (esquema adaptado de Eckert <i>et al.</i> (2000)). ....	18
Figura 4. A) Gráfica de las medias y desviaciones estándar de las medidas morfométricas en cm de <i>C. mydas</i> entre sitios. B) Gráfica de la media y desviación estándar del peso en kg de <i>C. mydas</i> entre sitios. BLA (N=9) y CLOL (N=49). ....	27
Figura 5. Abundancia relativa de especies de balanos de <i>C. mydas</i> en los sitios de estudio. ....	28
Figura 6. Árbol filogenético de balanos para el marcador molecular 16S (longitud de 302 pb): comparación de secuencias obtenidas en este estudio (en negrita) con secuencias de referencia (sin formato resaltado y su número de acceso en paréntesis). Los números en los nodos del árbol indican la probabilidad a posteriori. ....	29
Figura 7. Árbol filogenético de balanos para el marcador molecular COI (longitud de 414 pb): comparación de secuencias obtenidas en este estudio (en negrita) con secuencias de referencia (sin formato resaltado y su número de acceso en paréntesis). Los números en los nodos del árbol indican la probabilidad de a posteriori. ....	30
Figura 8. Porcentaje (%) de <i>C. mydas</i> con balanos en algún sitio anatómico en los sitios de estudio. ....	33
Figura 9. Distribución porcentual de <i>C. mydas</i> con balanos, según sexo y sitio de muestreo. IPH: Inmaduros Potencial Hembra. ....	34
Figura 10. Porcentaje (%) de cobertura de balanos en el cuerpo de las tortugas entre sitios de muestreo en Bahía de los Ángeles (BLA) y el Complejo lagunar Ojo de Liebre (CLOL). ....	34
Figura 11. Porcentaje (%) de <i>C. mydas</i> con valores por arriba y debajo de los intervalos de referencia de parámetros hemáticos obtenidos de tortugas sanas, entre los sitios de estudio. ....	36
Figura 12. Porcentaje (%) de <i>C. mydas</i> por parámetro hemático que presentaron valores por arriba y abajo de lo normal establecido con los intervalos de referencia. ....	37
Figura 13. Porcentaje (%) de tortugas por sitio de estudio que están dentro de los intervalos de referencia de bioquímica sanguínea con base en el estudio de Labrada Martagón (2011).....	40

Figura 14. Porcentaje de tortugas marinas por sitio cuyo resultado por analito estuvo por abajo, normal o arriba de los IR de Labrada Martagón (2011). .....	40
Figura 15. Identificación de las células sanguíneas encontradas en <i>C. mydas</i> de este estudio con base en las características que mencionan Ramírez-Acevedo (2012) y Tristan (2008). A: Eritrocito, B: Eosinófilo, C: Basófilo, D: Linfocito, E: Heterófilo y F: Monocito. Fotos tomadas a través de objetivo de inmersión (1000x). .....	62
Figura 16. Ejemplo de la cobertura de balanos de dos tortugas entre sitios. El área marcada en naranja es la cobertura de balanos. ....	63
Figura 17. Distribución porcentual de <i>C. mydas</i> por abajo, normal o arriba en biometría hemática con base en los intervalos de referencia de Aguirre <i>et al.</i> , (1995) entre sitios de estudio. ....	68
Figura 18. Distribución porcentual de <i>C. mydas</i> con base en la clasificación de sus resultados de biometría hemática por parámetro por abajo, normal o arriba en comparación con los intervalos de referencia (IR) de Aguirre <i>et al.</i> , (1995). ....	69

## Lista de tablas

Tabla	Página
Tabla 1. Criterios para la asignación de sexo y estadio ontogénico en <i>Chelonia mydas</i> con base en Solana-Arellano <i>et al.</i> (2020).....	18
Tabla 2. Interpretación del Factor de Bayes sugerido por Jeffreys (1961), tomado de Ellison (1996). 25	
Tabla 3. Clasificación del sexo de <i>C. mydas</i> entre sitios.....	27
Tabla 4. Contraste entre la identificación de balanos por taxonomía clásica y molecular. NA= No amplificado y SD= Sin determinación.....	32
Tabla 5. Intervalos de referencia de los parámetros de biometría hemática en <i>C. mydas</i> con balanos entre sitios (CLOL y BLA) y sin balanos de este estudio. ....	36
Tabla 6. Intervalos de referencia entre sitios de este estudio por analito (obtenidos de la media $\pm 2 \sigma$ ) y los IR de Labrada Martagón (2011). NA: No aplica debido a que no se obtuvieron los IR. ....	39
Tabla 7. Resultados de la prueba t de Student bayesiana de las medidas morfométricas y peso de <i>C. mydas</i> entre sitios. ....	62
Tabla 8. Resultados de la prueba t de Student de muestras independientes entre las medias de analitos de los trabajos de Labrada Martagón (2011) y Aguirre & Balasz, (2000). ....	64
Tabla 9. Resultados de la prueba t de Student bayesiana de los parámetros para biometría hemática de <i>C. mydas</i> con balanos entre sitios. ....	64
Tabla 10. Resultados de prueba de t de Student bayesiana por analito de la bioquímica sanguínea de <i>C. mydas</i> con balanos entre sitios. ....	65
Tabla 11. Estadísticas básicas de parámetros de biometría hemática en <i>C. mydas</i> con balanos entre sitios (CLOL y BLA) y de <i>C. mydas</i> sin balanos de este estudio. ....	66
Tabla 12. Estadísticas básicas por analito de bioquímica sanguínea entre sitios y los obtenidos por Labrada Martagón (2011). ....	67
Tabla 13. Intervalos de referencia (IR) de Aguirre <i>et al.</i> , (1995) para parámetros evaluados de biometría hemática; NA: No Aplica porque no se obtuvieron los IR. ....	68

## Capítulo 1. Introducción

---

Las tortugas marinas son una especie emblemática y valiosa para los ecosistemas marinos. A nivel mundial, cinco de las siete especies de tortugas marinas se encuentran en las costas mexicanas. Sin embargo, todas estas especies se encuentran en alguna categoría de riesgo de acuerdo con la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (“IUCN” por sus siglas en inglés) (Seminoff, 2004), debido a la degradación de su hábitat, captura incidental, contaminación y consumo de su carne y huevos (Alonso, 2007). De estas cinco especies *Chelonia mydas* está categorizada en “peligro de extinción”, *Eretmochelys imbricata* en “peligro crítico”, mientras que *Lepidochelys olivácea*, *Caretta caretta* y *Dermochelys coriácea* bajo la categoría de “vulnerable”.

Durante el proceso de maduración, *C. mydas* realiza grandes migraciones de áreas de forrajeo hasta sitios de reproducción y de anidación (Lutz *et al.*, 2003), lo que les permite abarcar una distribución geográfica amplia. Esta especie tiene un tipo de alimentación omnívora, pero se ha observado que tiene preferencia en consumir algas rojas, verdes y pastos marinos (Seminoff *et al.*, 200). Debido a esto, *C. mydas* es la especie que más abunda en la península de Baja California, donde existen grandes extensiones de pastos marinos y de algas, lo que proporciona un hábitat idóneo para su desarrollo.

En el litoral del Golfo de California, las principales zonas de forrajeo son Bahía de los Ángeles, Bahía Concepción, Bahía de Loreto y Bahía de La Paz. Mientras que, en el Pacífico, las principales zonas de forrajeo son el Complejo lagunar Ojo de Liebre, Bahía Magdalena, Punta Abreojos y Bahía de Loreto (Nichols *et al.*, 2003).

El ciclo de vida de *Chelonia mydas* es complejo, con una tasa de crecimiento baja, por ejemplo, en BLA de  $2.23 \text{ cm año}^{-1}$  y CLOL:  $3.27 \text{ cm año}^{-1}$  (Avilés Chávez, 2018); una madurez sexual tardía de 18 a 27 años (SEMARNAT, 2018) o después de los 77.3 cm de largo recto del caparazón (Avilés Chávez, 2018); y una baja supervivencia de las crías, se ha estimado un proxy de una de cada 1,000 llega a edad adulta (Lutz & Musick, 1997; Camiñas *et al.*, 2020), lo que la hace más susceptible a impactos antropogénicos (Lutz *et al.*, 2003; Read *et al.*, 2014). Parece ser que las tortugas marinas son realmente susceptibles a agresiones biológicas, por ejemplo, el herpes virus que produce fibropapiloma en *C. mydas*, se ha correlacionado con áreas costeras muy contaminadas, con presencia de toxinas y con alta densidad humana (Aguirre & Lutz, 2004); y químicas, como la exposición del epitelio epidérmico de *C. mydas* al petróleo crudo puede producir necrosis, entre otras afectaciones (Lutcavage *et al.*, 1997). Todas estas características junto con

su amplia distribución geográfica y que se encuentran en la interfaz aire/agua, *C. mydas* es considerado un bioindicador de la salud de los ambientes costeros y marinos, al considerarla como una especie centinela ecológica (Aguirre & Lutz, 2004).

En un ambiente marino, cualquier superficie expuesta e indefensa eventualmente será colonizada por propágulos y larvas de organismos marinos presentes en la columna de agua (Wyneken *et al.*, 2013), y las tortugas marinas no son la excepción. La forma más común de colonización en tortugas marinas es la epibiosis (Leung & Poulin, 2008). Las tortugas actúan como hospederos de una amplia variedad de epibiontes, la mayoría de los cuales no son especializados y normalmente se encuentran asociados con estructuras inanimadas en el entorno marino circundante (es decir, de "vida libre") (Wyneken *et al.*, 2013). Estas asociaciones epibióticas se conocen como "comensales facultativos", en las que el hospedero no recibe ningún beneficio directo del epibionte y el epibionte demuestra poca o ninguna especificidad al sustrato (Wyneken *et al.*, 2013). No obstante, existen especies de epibiontes que presentan especificidad al sustrato, lo que se conoce como "comensales obligados" (Wyneken *et al.*, 2013).

Varios estudios han demostrado que los organismos epibiontes más comunes en *C. mydas* son los cirrípedos balanomorfos o "balanos" (Cirripedia) (Pereira *et al.*, 2006; Lazo Wasem *et al.*, 2011; Cheang *et al.*, 2013), que son crustáceos filtradores sésiles pertenecientes a la infraclase Cirripedia dentro de la clase Maxillopoda del subfilo Crustacea (Martin & Davis, 2001; Horton *et al.*, 2021). Con alrededor de 1300 especies descritas (Roig-Juñent *et al.*, 2014), la mayoría de las especies de balanos son hermafroditas sésiles con fertilización cruzada. Se ha sugerido que las larvas planctónicas pueden detectar señales químicas, el flujo de agua y la rugosidad del cuerpo de la tortuga marina para el asentamiento (Wyneken *et al.*, 2013). Además, se ha mencionado que los balanos actúan como "pioneros" en la colonización sobre las tortugas marinas debido a que proporcionan hendiduras y espacios para la colonización de otros organismos móviles (Frick *et al.*, 2002; Wyneken *et al.*, 2013).

Para realizar análisis taxonómicos en organismos multicelulares, se recomienda emplear tanto datos morfológicos (taxonomía clásica), como datos moleculares (taxonomía molecular), debido a que cada uno tiene sus ventajas y desventajas (Rentería-Alcántara, 2007; Martínez-Goss & Arguelles, 2020). Los estudios morfológicos proporcionan una amplia gama de caracteres para diversos taxones, lo que permite un análisis taxonómico mucho más detallado y sistematizado, aunque la selección de los caracteres puede ser arbitraria (Hillis & Wiens, 2000; Rentería-Alcántara, 2007). En el caso de balanos, los estudios morfológicos se han basado en el análisis de características como la forma y estructura de la conchilla cónica, patrón de crecimiento de placas calcáreas, presencia o ausencia de espinas o muescas, adherencia

a la tortuga, entre otras (Monroe & Limpus, 1979; Zullo, 1979; Ortíz *et al.*, 2002; Celis *et al.*, 2007; Karaa *et al.*, 2012). Sin embargo, la morfología sola puede no ser suficiente para comprender completamente la diversidad y las relaciones evolutivas dentro de este grupo (Hillis & Wiens, 2000; Celis *et al.*, 2007).

Por lo tanto, se ha vuelto cada vez más común combinar los enfoques morfológicos con análisis moleculares para una mejor clasificación de diversos taxones. Los estudios moleculares ofrecen una mayor resolución taxonómica al estar basados en diferencias genéticas entre especies, lo que los convierte en herramientas útiles para resolver relaciones evolutivas complejas. Además, los datos moleculares son más objetivos y reproducibles que los datos morfológicos, pero su análisis requiere de una amplia gama de técnicas de laboratorio y análisis computacionales (Hillis & Wiens, 2000; Rentería-Alcántara, 2007).

Los marcadores moleculares, que se basan en la detección de diferencias en moléculas como proteínas, ARN y ADN, son herramientas útiles en los análisis taxonómicos (Cornejo-Romero *et al.*, 2014). En las últimas décadas, la biología molecular ha experimentado un notable avance en la identificación molecular, permitiendo la comparación de secuencias de nucleótidos de ADN, especialmente en regiones codificantes de genes específicos, lo que resulta de gran utilidad en la identificación de especies (Da Silva *et al.*, 2012). En particular, los marcadores moleculares basados en el ADN mitocondrial, que se transmiten por vía materna, son altamente conservados en muchos de los genes del genoma mitocondrial y se pueden extraer en grandes cantidades (Grahame & Avise, 1995). Sin embargo, también presentan zonas polimórficas lo que los convierte en herramientas valiosas que proporcionan gran cantidad de información para estimar la historia evolutiva y para resolver problemas taxonómicos como especies morfológicamente crípticas (Grahame & Avise, 1995; Oliveira *et al.*, 2013).

En el caso de organismos epibiontes asociados a las tortugas marinas, varios estudios han utilizado tanto características morfológicas como segmentos de genes para la identificación (Monroe & Limpus, 1979; Zullo, 1979; Ortíz *et al.*, 2002; Lazo Wasem *et al.*, 2011; Karaa *et al.*, 2012) y determinación de las relaciones evolutivas de estos epibiontes (Rawson *et al.*, 2003; Hayashi *et al.*, 2013; Hoeg *et al.*, 2020). En el caso de balanos, para la identificación de las especies con análisis moleculares y filogenéticos se ha empleado el uso de los marcadores mitocondriales 12S, 16S, 18S, 28S y Citocromo Oxidasa Subunidad-1 (Rawson *et al.*, 2003; Hayashi *et al.*, 2013; Perez-Losada *et al.*, 2014).

La presencia de balanos en las tortugas puede estar influenciada por varios factores incluyendo la desnutrición, caquexia y letargia, así como la forma del caparazón, el cuerpo y el sexo de la tortuga (Rubin *et al.*, 2016; Stacy *et al.*, 2018; Lim *et al.*, 2020). Además, la cantidad de larvas de balanos presentes en el



ambiente y las diferencias de temperatura en la columna de agua pueden afectar la duración del periodo larval y, por lo tanto, la cantidad de balanos presentes (Zardus & Hadfield, 2004; Anil *et al.*, 2012; Frick & Pfaller, 2013; Kim *et al.*, 2022).

Es importante mencionar que, para los balanos, esta asociación epibiótica con las tortugas marinas presenta beneficios indirectos al reducir la competencia y la depredación, que son los principales factores que afectan la capacidad de una colonización exitosa (Wyneken *et al.*, 2013). Además, al ser organismos filtradores, la relación entre su distribución en el cuerpo de la tortuga y las corrientes marinas pueden proveer un mejor posicionamiento energético (Frick & Pfaller, 2013; Wyneken *et al.*, 2013; Roig-Juñent *et al.*, 2014). Asimismo, los balanos pueden beneficiarse de la expansión del rango y el aumento de la mezcla genética al estar asociadas con las tortugas migratorias, lo que se denomina forésis (Wyneken *et al.*, 2013). De esta manera, las tortugas marinas actúan como vectores de dispersión a larga distancia para los invertebrados marinos bentónicos (Harding *et al.*, 2011).

## 1.1 Antecedentes

### 1.1.1 Generalidades de la tortuga prieta (*Chelonia mydas*)

La tortuga prieta (*Chelonia mydas* Linnaeus, 1758), también conocida como tortuga verde, es una especie que se distribuye en el Pacífico Este y es la más común del Noroeste de México. Bahía de los Ángeles y el Complejo lagunar Ojo de Liebre son de las principales áreas de desarrollo y forrajeo para la tortuga prieta que se encuentran en la península de Baja California (Nichols *et al.*, 2003; Read *et al.*, 2014; Avilés Chávez, 2018), donde la tortuga prieta juega un papel importante en términos ecológicos, culturales y económicos (Nichols *et al.*, 2003). Con el uso de ADN mitocondrial, se ha demostrado que las poblaciones de tortugas marinas de estos sitios están compuestas por stocks de diferentes orígenes (Dutton *et al.*, 2008; Avilés Chávez, 2018). Se ha demostrado que aproximadamente el 95% de las tortugas que se encuentran en estos sitios de estudio provienen de stocks mexicanos de Michoacán e Islas de Revillagigedo (Nichols *et al.*, 2003; Dutton *et al.*, 2008; Avilés Chávez, 2018).

Hasta el momento, la información disponible sobre las rutas de migración de *C. mydas* en aguas de Baja California se ha obtenido a través del seguimiento de migraciones reproductivas y de forrajeo de tortugas maduras, así como de migraciones de forrajeo y de desarrollo de tortugas inmaduras (Nichols *et al.*, 2003).

Sus rutas de migración van desde Michoacán hasta el Golfo de California con una tendencia a seguir la costa del Pacífico tropical mexicano (Hart *et al.*, 2015). Las hembras de esta especie pueden viajar hasta 2,000 km entre sus áreas de forrajeo y anidación, las cuales realizan cada 2 o 4 años (Read *et al.*, 2014), mientras que, se ha documentado que los machos pueden recorrer distancias promedio similares (Moncada-Gavilán, 2005).

En cuanto a la alimentación de *C. mydas* en la región de Bahía de los Ángeles, se ha observado una diferencia notable en comparación con otras poblaciones cercanas del Golfo de California. Esto se debe a que en este sitio se encuentra una abundancia de algas marinas, lo que constituye la principal fuente de alimento para estas tortugas (Seminoff *et al.*, 2002). En contraste, en el Complejo lagunar Ojo de Liebre, las tortugas consumen principalmente pastos marinos, como *Zostera marina* y *Ruppia maritima* (Nichols *et al.*, 2003; CONANP, 2016). En ambos sitios, se ha documentado que las tortugas prietas se alimentan de invertebrados como medusas, plumas de mar y esponjas, sin embargo, esto está en función de la disponibilidad del alimento (Seminoff *et al.*, 2002; Labrada Martagón *et al.*, 2010; Avilés, 2018).

### 1.1.2 Generalidades de los cirrípedos balanomorfos

Los cirrípedos balanomorfos (balanos), pertenecen al suborden Balanomorpha dentro del orden Sessilia en el superorden Thoracica y la infraclase Cirripedia (Newman & Ross, 1976; Martin & Davis, 2001). Son organismos sésiles simétricos con conchillas cónicas. Su nombre hace referencia a los apéndices torácicos o cirros que utilizan para alimentarse de zooplancton y partículas orgánicas de tamaño similar a través de la filtración (Roig-Juñent *et al.*, 2014). Normalmente, sus conchillas cónicas, se componen por seis u ocho placas verticales, aunque estas varían dependiendo de la especie (Roig-Juñent *et al.*, 2014).

El ciclo de vida de los balanos comprende seis estadios larvales de nauplio y un estadio cíprido (cypris), especializado en la selección y fijación del sustrato, seguido de una metamorfosis hasta llegar a su fase adulta (Newman & Ross, 1976; Alonso, 2007; Roig-Juñent *et al.*, 2014). Los estadios larvales experimentan cambios morfológicos como el aumento del tamaño, variaciones en la forma y la aparición de estructuras como filamentos frontales y complejidad de los apéndices (Roig-Juñent *et al.*, 2014). El periodo larval en los balanos varía según la región y la especie. En regiones costeras templadas, típicamente es de 14 a 21 días y en mares cálidos es de 5 a 11 días (Anil *et al.*, 2001; Zardus & Hadfield, 2004). Estos organismos hermafroditas suelen ser de fecundación cruzada obligada (Zardus & Hadfield, 2004), aunque se ha registrado autofecundación facultativa en varias especies de balanos (Furman & Yule, 1990; Roig-Juñent

*et al.*, 2014). El tiempo de vida de los balanos adultos tiene una duración de aproximadamente 3 años, durante los cuales permanecen unidos al hospedero (Rawson *et al.*, 2003; Hayashi & Tsuji, 2008; Nájera-Hillman *et al.*, 2012).

Los cirrípedos balanomorfos se han convertido en objeto de estudio en diversos ámbitos de la biología como la ecología, la biogeografía y la genética, entre otros, debido a ciertos rasgos como el hecho de ser sésiles y por ello su facilidad de manipulación en ambientes naturales como en laboratorio (Rawson *et al.*, 2003; Hayashi & Tsuji, 2008; Nájera-Hillman *et al.*, 2012; Cheang *et al.*, 2013; Pérez-Losada *et al.*, 2014; Roig-Juñent *et al.*, 2014; Beden & Karahan, 2021).

### 1.1.3 Epibiosis

La epibiosis es el tipo de simbiosis más común en la colonización de organismos en ambientes marinos, y se refiere a la asociación entre dos o más organismos, en donde un hospedero (basibionte) brinda soporte a uno o más organismos colonizadores, típicamente oportunistas (epibiontes) (Wyneken *et al.*, 2013). Un epibionte es todo organismo que se encuentra adherido a una superficie sin causar daño (Odum & Barrett, 2008).

Los balanos, además de establecer asociaciones con diversos organismos, se encuentran comúnmente asociados a las tortugas marinas debido a que sus superficies duras y expuestas, como el caparazón y los escudos, ofrecen un hábitat idóneo para los balanos (Pereira *et al.*, 2006; Lazo Wasem *et al.*, 2011). En este sentido, según la definición dada por Odum & Barrett, (2008), los balanos son considerados como organismos epibiontes debido a su ubicación. Sin embargo, existe un gran debate sobre la relación ecofisiológica entre los balanos y las tortugas marinas.

Algunos autores han demostrado que la presencia de balanos con tortugas marinas puede tener efectos negativos en su salud. Por ejemplo, la presencia de estos organismos puede aumentar el peso corporal y la resistencia en el nado de las tortugas, así como provocar graves lesiones en la piel de las aletas debido a la incrustación de los organismos como el género *Stephanolepas* spp. y permitir el ingreso de bacterias y hongos, lo que contradice la idea de que los balanos son “comensales” de las tortugas (Labrada Martagón, 2011; Frick & Pfaller, 2013; Wyneken *et al.*, 2013; Rubin *et al.*, 2016). Sin embargo, otros autores mencionan que estos organismos no son parásitos debido a que no obtienen nutrientes a partir de su hospedador, sino solamente sustrato, movilidad y protección (Alonso, 2007; Frick & Pfaller, 2013).

La relación simbiótica entre los balanos y las tortugas marinas ha sido objeto de numerosos estudios en los últimos años, los cuales han explorado patrones de distribución espacial, diversidad de epibiontes y las posibles causas y efectos de esta simbiosis (Hayashi & Tsuji, 2008; Wyneken *et al.*, 2013). Por ejemplo, Hayashi & Tsuji, (2008) demostraron que en cuanto a la distribución espacial de balanos en *C. mydas* varias especies (*e.g.*, *Chelonibia*, *Platylepas* y *Stomatolepas*) coexisten y existe una división de nichos con respecto a la selección de su microhábitat. Además, se ha identificado una gran diversidad de epibiontes presentes en tortugas marinas como balanos, poríferos, cnidarios, algas, poliquetos, anfípodos, moluscos, crustáceos, peces, entre otros (Frick & Pfaller, 2013). En cuanto a las posibles causas de esta relación simbiótica, se han considerado diversos factores. Uno de ellos radica en la necesidad de que las tortugas anfitrionas compartan el mismo hábitat y coincidan temporalmente con las poblaciones de epibiontes de vida libre (Frick & Pfaller, 2013). Es decir, para que se produzca la epibiosis, las tortugas y los posibles epibiontes deben coexistir en el mismo lugar al mismo tiempo. Otro factor es que la probabilidad y frecuencia de la epibiosis están determinadas por el balance de costos y beneficios para las tortugas y los epibiontes potenciales, y las asociaciones mutuamente beneficiosas son más probables y frecuentes en estas interacciones (Frick & Pfaller, 2013).

Sin embargo, las tortugas marinas son especies altamente migratorias, lo que tiene un papel fundamental en la expansión y distribución de las especies de balanos asociadas con ellas (Rawson *et al.*, 2003). En este sentido, se han realizado análisis filogeográficos sobre varias especies de balanos que han confirmado su pertenencia a un grupo monofilético o parafilético (Hayashi *et al.*, 2013). Por ejemplo, Rawson *et al.* (2003), demostraron, a través de análisis moleculares del balano *Chelonibia testudinaria* (la especie más común de balano asociada a las tortugas marinas), que cinco poblaciones presentaban divergencias significativas entre las poblaciones del Océano Atlántico y del Pacífico, y que incluso las dos poblaciones del Pacífico (Japón y México) mostraban cierto nivel de divergencia entre sí. Estos resultados sugieren que la simbiosis entre los balanos y las tortugas marinas puede tener implicaciones más amplias en términos de diversidad y distribución de especies de balanos, y de epibiontes asociados a las tortugas, en el medio marino.

#### 1.1.4 Salud de tortugas marinas

La salud se define como la condición general de un organismo en un momento dado y la ausencia de enfermedad o anormalidad (Dirckx, 2001; Jacobson, 2003). Para evaluar la salud de los animales, se deben caracterizar los términos objetivos más específicos y llevar a cabo pruebas como biometría hemática,

bioquímica sanguínea, radiografías y análisis de heces (Jacobson, 2003). Estas pruebas, entre otras, son conocidas como marcadores fisiológicos y tienen la ventaja de ser altamente sensibles, siendo la primera respuesta detectable ante una alteración ambiental (Labrada Martagón, 2011).

La biometría hemática y bioquímica sanguínea son indicadores que funcionan como marcadores útiles y rápidos del estado físico y nutricional de los animales (Labrada Martagón, 2011). En el caso de tortugas marinas, estos parámetros han sido evaluados en diversas partes del mundo, incluyendo el océano Atlántico Norte y Sur (Bolten & Bjorndal, 1992; Redondo-Zúñiga, 2008; Deem *et al.*, 2009; Prieto-Torres *et al.*, 2013; Lewbart *et al.*, 2014;), en el océano Pacífico Sur (Hamann *et al.*, 2006; Flint, *et al.*, 2010; Suarez Yana *et al.*, 2016; March *et al.*, 2018; Kophamel *et al.*, 2022) en el océano Pacífico Norte (Aguirre *et al.*, 1995; Aguirre & Balazs, 2000; Anderson *et al.*, 2011; Reséndiz-Morales, 2015), así como en el Golfo Pérsico (Hasbún *et al.*, 1998), el Golfo de Omán (Sinaei *et al.*, 2019) y el océano Índico (Whiting *et al.*, 2007), entre otros lugares. Los estudios realizados revelan que las variaciones en los indicadores sanguíneos de las tortugas marinas están influenciadas por múltiples factores, entre ellos la especie, la ubicación geográfica, el sexo, el estadio ontogénico, el estado migratorio, la dieta y la genética, entre otros. Estos hallazgos resaltan la importancia de considerar estos factores al interpretar los resultados de las mediciones sanguíneas en las tortugas marinas, contribuyendo así a una comprensión más completa de su salud y bienestar.

#### A) Biometría hemática

La biometría hemática, o citometría hemática, permite evaluar información sobre las células presentes en la sangre, incluyendo las características morfológicas de tres líneas celulares: eritroide, leucocitaria y plaquetaria que orientan a patologías y enfermedades de diferentes órganos y sistemas (López-Santiago, 2016).

En el caso de las tortugas marinas, las variaciones en cantidad de eritrocitos pueden indicar deshidratación, infecciones, parasitismo o algún tipo de anemia (Aguirre *et al.*, 1995; Tristan, 2008; Suarez-Yana *et al.*, 2016). Sin embargo, también se ha observado eritrocitosis como respuesta fisiológica a la migración (Stamper *et al.*, 2005; Martínez-Silvestre *et al.*, 2011).

Los leucocitos, forman parte del sistema inmunológico del organismo y en tortugas marinas son clasificados en varios tipos según su función y características. Los heterófilos, monocitos, eosinófilos y basófilos forman parte de la inmunidad innata mientras que los linfocitos corresponden a las células que

participan en la inmunidad adaptativa (Tristan, 2008; López-Santiago, 2016). Los procesos infecciosos locales o sistémicos son la causa principal de modificaciones en el número total y diferencial de leucocitos (Tristan, 2008; López-Santiago, 2016).

En las tortugas marinas, el heterófilo es la célula equivalente al neutrófilo en mamíferos y es el leucocito más frecuentemente encontrado (Tristan, 2008; Labrada Martagón, 2011; Martínez-Silvestre *et al.*, 2011). La heterofilia está relacionada con infecciones, inflamación aguda, estrés, lesiones tisulares, neoplasia y migraciones. Por otro lado, la heteropenia está relacionada con tortugas con infección viral como fibropapiloma, lo que indica una supresión o inhibición en el sistema inmune (Aguirre *et al.*, 1995; Tristan, 2008; Martínez-Silvestre *et al.*, 2011). Los eosinófilos participan en la regulación de respuestas alérgicas y de inflamación (Labrada Martagón, 2011). La eosinofilia está relacionada con cambios de estación, inflamación e infecciones parasitarias, mientras que la eosinopenia con estrés postcaptura y migración (Stamper *et al.*, 2005; Tristan, 2008).

Los monocitos, son los precursores de los macrófagos y participan en la fagocitosis durante los procesos inflamatorios (Labrada Martagón, 2011). La monocitosis ha sido documentada en *C. mydas* con fibropapiloma (Aguirre & Balazs, 2000) y se relaciona con una infección crónica, inflamación, daño renal crónico y en tortugas con edad avanzada (Tristan, 2008). Los basófilos son granulocitos que son poco comunes en la sangre de tortugas marinas (Aguirre *et al.*, 1995; Tristan, 2008; Labrada Martagón, 2011; Suarez-Yana *et al.*, 2016), por lo que se conoce poco de su función y respuesta a enfermedades. Sin embargo, en reptiles se ha relacionado un incremento de basófilos con la presencia de infecciones parasitarias y virales (Martínez-Silvestre *et al.*, 2011).

Las tortugas marinas tienen dos tipos principales de linfocitos (B y T) involucrados en la función inmunológica que están muy influenciadas por el ambiente. Las bajas temperaturas pueden suprimir o inhibir la respuesta inmune (Martínez-Silvestre *et al.*, 2011).

Por lo tanto, el incremento de linfocitos (linfocitosis) se relaciona con cambios de estación, inflamación y en organismos juveniles, mientras que cuando existe linfopenia, indica una supresión del sistema inmunológico relacionado con estrés ambiental, malnutrición o infecciones crónicas (Aguirre *et al.*, 1995; Tristan, 2008; Labrada Martagón, 2011; Martínez-Silvestre *et al.*, 2011).

Además, un aumento en la relación heterófilos/linfocitos (H/L), se ha relacionado con tortugas con fibropapiloma y con una correlación positiva con el incremento de corticosterona, lo que prueba evidencia de un estrés crónico (Aguirre *et al.*, 1995).

## B) Bioquímica sanguínea

La bioquímica sanguínea es una serie de pruebas que analizan los elementos químicos en el suero o plasma sanguíneo (Olay Fuentes *et al.*, 2013). Estas pruebas son útiles para evaluar la función de los órganos y sistemas del cuerpo, incluyendo el metabolismo de carbohidratos, la dislipidemia, la función muscular, pancreática, hepática y renal, y el equilibrio electrolítico (Olay Fuentes *et al.*, 2013). En tortugas marinas, los resultados de esta prueba pueden estar relacionados con el estado fisiológico y nutricional del individuo (Montilla *et al.*, 2008; Labrada Martagón *et al.*, 2010; Brito Carrasco, 2016). A continuación, se describen los parámetros bioquímicos más utilizados en clínica en tortugas marinas junto con sus variaciones fisiológicas y las interpretaciones diagnósticas.

La prueba de glucosa en sangre evalúa el adecuado metabolismo de los carbohidratos (Olay Fuentes *et al.*, 2013). En tortugas marinas, la hiperglucemia está relacionada con estrés post captura (Montilla *et al.*, 2008), mientras que la hipoglucemia puede ser causada por inanición, disfunción hepática y diferentes dietas (Labrada Martagón, 2011), así como el aumento de la temperatura de la superficie del mar (TSM) (Bolten & Bjorndal, 1992). La hiperproteinemia se caracteriza por un aumento de las proteínas en sangre y puede aparecer en cuadros de deshidratación, hiperglobulinemias asociadas a enfermedades inflamatorias crónicas o hemólisis (Ferrando, 2010). Por otro lado, la hipoproteinemia implica una disminución de los niveles de proteínas y puede estar relacionada por malnutrición, pérdidas de sangre, hepatitis crónica o enfermedad renal (Ferrando, 2010).

Las proteínas sanguíneas se dividen en dos grupos principales: la albúmina y la globulina. La albúmina (Alb), sintetizada en el hígado, constituye un 35-40% del total de proteínas (Ferrando, 2010). Un aumento en sus niveles puede verse afectada por deshidratación, inanición, mala absorción de intestino delgado, enfermedades hepáticas, actividad ovárica y traumatismos graves (Ferrando, 2010; Martínez-Silvestre & Cuenca, 2013). La disminución de sus niveles se ha observado en casos de pérdidas protéicas a través de los riñones, el intestino, quemaduras, hemorragias y sepsis (Ferrando, 2010). La hiperglobulinemia, un aumento en los niveles de globulinas (Glob), es una respuesta común del organismo frente a infecciones e inflamaciones. Por otro lado, la hipoglobulinemia, disminución en los niveles de globulinas, se ha observado en estados de inmunosupresión causados por estrés y enfermedades virales (Ferrando, 2010).

La relación entre estas proteínas (A/G) puede indicar la falta de producción de inmunoglobulinas en caso de aumento y la presencia de proteinuria renal en caso de disminución (Ferrando, 2010).

El colesterol (Col) es un lípido fundamental en el organismo que puede provenir tanto de la dieta como de la síntesis hepática. El exceso de colesterol es eliminado a través de la bilis. Un aumento en los niveles de colesterol en la sangre puede estar relacionado con una dieta rica en grasas, pancreatitis aguda, daño hepático, obstrucción del tracto biliar, pérdida renal de proteínas o hemólisis. Por otro lado, la hipocolesterolemia puede ser causada por insuficiencia hepática, dieta baja en grasas, mala absorción intestinal o insuficiencia pancreática exocrina (Ferrando, 2010). La Creatinina (Creat), es una sustancia que se produce durante el metabolismo muscular y se elimina por riñones. Por lo tanto, una disminución en los niveles de creatinina en la sangre puede indicar disfunción renal y cambios en la masa muscular (Ferrando, 2010).

Las enzimas alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST) y fosfatasa alcalina (ALP) se encuentran en diversos tejidos, como el hígado, músculos, huesos y riñones. El aumento de ALT indica daño hepático, infecciones, inflamaciones o ingestión de sustancias tóxicas, mientras que el aumento de AST se relaciona con daño hepático, isquemia, septicemia y hemólisis (Ferrando, 2010; Flint *et al.*, 2010). El aumento de ALP se debe a obstrucción biliar, daño hepático, neoplasia, septicemia, inanición, regeneración hepática y animales en crecimiento (Ferrando, 2010). La creatinincinasa (CK) tiene tres isoenzimas localizadas principalmente en el músculo esquelético, miocardio y cerebro. Elevaciones de esta enzima es frecuentemente observada en reptiles con gran resistencia a la extracción de sangre y en lesiones causadas por traumatismos (Ferrando, 2010).

En reptiles, el ácido úrico (Ac. úrico) se ha relacionado con la dieta y es el producto final catabólico en la eliminación del nitrógeno (Labrada Martagón, 2011). En tortugas marinas, la presencia del ácido úrico puede ser por una mayor ingesta de proteínas en la dieta (Whiting *et al.*, 2007). Los lípidos son importantes como material de reserva energética y también están relacionados con la dieta (Hamann *et al.*, 2006; Labrada Martagón, 2011). Los niveles de triglicéridos (TG) son una herramienta útil para la determinación de la condición corporal general de la tortuga prieta (Aguirre & Balazs, 2000; Labrada Martagón, 2011).

El calcio (Ca) es uno de los principales constituyentes del hueso y cumple las funciones de transmisión de impulso nervioso, permeabilidad y excitabilidad de todas las membranas (Ferrando, 2010), cuando hay hipocalcemia indica deficiencia de minerales en la dieta de los individuos (Labrada Martagón, 2011). Asimismo, el fósforo inorgánico (P) también se deriva de la dieta (Ferrando, 2010).



Los electrolitos son importantes en la regulación de procesos fisiológicos en reptiles. El sodio (Na) es vital en la regulación del volumen sanguíneo y presión osmótica. Su aumento (hipernatremia) indica pérdida excesiva de fluidos y deshidratación, mientras que su disminución (hiponatremia) puede ser causada por insuficiencia renal o desórdenes de la glándula de sal (Ferrando, 2010; Labrada Martagón, 2011; Kophamel *et al.*, 2022). El potasio (K), presente en el líquido intracelular, aumenta en casos de acidosis, insuficiencia renal y daño tisular masivo, mientras que su disminución puede ser causada por alcalosis severa o muestra lipémica (Ferrando, 2010; Labrada Martagón, 2011). El cloro (Cl), principal componente osmótico activo del plasma en reptiles tiene una concentración menos útil que otros electrolitos, pero su aumento (hipercloremia) puede indicar deshidratación o enfermedades tubulares renales o desórdenes de la glándula de sal (Ferrando, 2010; Labrada Martagón, 2011).

En la actualidad, la determinación del estado de salud en tortugas marinas se ha vuelto cada vez más importante para su conservación. La bioquímica sanguínea y la biometría hemática son un conjunto de pruebas que son útiles para evaluar la función de los órganos y sistemas del cuerpo, así como el estado fisiológico y nutricional de las tortugas marinas (Ferrando, 2010; Olay Fuentes *et al.*, 2013).

## 1.2 Justificación

La presencia de balanos en las tortugas marinas podría tener graves consecuencias en su conservación energética, integridad tegumentaria e inmunológica, lo que afectaría negativamente en la salud de esta especie (Zardus & Balazs, 2007; Frick *et al.*, 2011; Stacy *et al.*, 2018). Dado que existe una amplia diversidad de especies de balanos, es importante identificar con precisión las especies que se encuentran en las tortugas que habitan en las zonas de estudio. Con el fin de obtener una comprensión más sólida de la salud de las tortugas marinas, en particular de la especie *C. mydas*, es necesario llevar a cabo estudios que comparen poblaciones y analicen diferentes respuestas en parámetros sanguíneos. Mediante esta aproximación, este trabajo busca obtener una visión más completa y precisa de la fisiología y estado de salud de esta especie en los sitios de estudio de Bahía de los Ángeles (BLA) y el complejo Lagunar Ojo de Liebre (CLOL). Además, las zonas de forrajeo de BLA y CLOL, se encuentran en el límite de distribución septentrional de la tortuga prieta y están inmersas en Áreas Naturales Protegidas (ANP), por lo que es fundamental comprender la interacción entre los balanos y las tortugas para desarrollar programas de investigación y manejo que permitan conservar esta especie en peligro de extinción. Asimismo, la identificación de las especies de balanos presentes en *C. mydas*, podría utilizarse en el futuro como

indicadores de origen geográfico, lo que permitiría una mejor comprensión de la distribución de estas especies.

### 1.3 Hipótesis

En el marco del presente estudio, se plantean las siguientes hipótesis de trabajo:

- Mediante taxonomía clásica y molecular se obtendrán los mismos resultados de identificación y clasificación de las especies de balanos presentes en *C. mydas*.
- El área de cobertura de balanos será igual entre sexos, estadios ontogénicos y zona anatómica de la tortuga prieta.
- La presencia de balanos afectará negativamente la salud de *Chelonia mydas* la cual se establecerá con base en indicadores sanguíneos.

### 1.4 Objetivos

#### 1.4.1 Objetivo general

Analizar el efecto de la presencia de balanos en la salud de ejemplares de tortuga prieta (*Chelonia mydas*) y corroborar la clasificación taxonómica de estos simbioses, en las zonas de forrajeo de Bahía de los Ángeles y el complejo Lagunar Ojo de Liebre.

#### 1.4.2 Objetivos específicos

- Identificar a los balanos presentes en ejemplares de *C. mydas* con base en análisis morfológicos y moleculares (taxonomía moderna con base en análisis filogenéticos).
- Evaluar la cobertura de balanos por sexo, estadio ontogénico y zona anatómica en *C. mydas* entre sitios.
- Analizar el posible efecto en la salud de la tortuga prieta con base en indicadores sanguíneos, dada la presencia de balanos y por zonas de estudio en *C. mydas*.

## Capítulo 2. Metodología

---

### 2.1 Áreas de estudio

El presente estudio fue realizado en dos principales zonas de forrajeo de la tortuga prieta en la península de Baja California. A continuación, se describen los sitios de muestreo.

#### 2.1.1 Bahía de los Ángeles

Bahía de los Ángeles (BLA), (Figura 1) es una bahía semi-cerrada que se ubica en la costa oeste del Golfo de California en Baja California ( $28^{\circ} 75' N$  y  $113^{\circ} 33' O$ ) y forma parte de la Reserva de la Biosfera de Bahía de los Ángeles, Canales de Ballenas y de Salsipuedes (RBBACBS) (CONANP, 2014). Esta región está influenciada por aguas del canal de Ballenas que se caracteriza por presentar una corriente fuerte de marea, circulación termohalina y corrientes de viento que generan zonas de surgencias y alta productividad primaria. La Reserva de la Biosfera constituye un corredor biológico de fauna marina con un alto valor paisajístico (Seminoff, 2000; DOF, 2013; CONANP, 2014).

El clima de la región es árido extremoso con una temperatura media anual de  $22.7^{\circ}C$  y la temperatura de la superficie del mar (TSM) varía de  $14$  a  $30^{\circ}C$  (Avilés Chávez, 2018). La presencia de diversas especies de algas marinas en la región proporciona una importante fuente de alimento para la fauna marina. En particular, las tortugas prietas que se encuentran en BLA se alimentan principalmente de algas marinas, siendo la más común en su dieta el alga roja *Gracilariopsis lemaneiformis*, y de invertebrados marinos (Seminoff *et al.*, 2002).

#### 2.1.2 Complejo Lagunar Ojo de Liebre

El complejo Lagunar Ojo de Liebre (CLOL), es otra región de estudio clave para comprender la ecología de la tortuga prieta, ubicada entre los  $27^{\circ} 59' - 27^{\circ} 54' N$  y los  $113^{\circ} 55' - 114^{\circ} 31' O$ . Esta zona está formada por las lagunas costeras Guerrero Negro, parte de la laguna Manuela y la laguna Ojo de Liebre, que se interconectan a través de canales de mareas (Figura 2). Además, se encuentra dentro de la Reserva de la Biosfera Complejo Lagunar Ojo de Liebre (RBCLOL), que limita con la Reserva de la Biosfera El Vizcaíno al

sur y con el Área de Protección de Flora y Fauna Valle de los Cirios al Norte (CONANP, 2016), lo que la convierte en una zona de importancia ecológica y conservación de la biodiversidad marina.

La Exportadora de Sal, S. A. de C. V., monitorea constantemente la temperatura del mar, y presenta un valor promedio de 20.05° C a lo largo del año, con un intervalo mínimo de 16.4°C y máximo de 20.69° C (López-Castro *et al.*, 2010; CONANP, 2016; DOF, 2016). En este complejo lagunar se desarrollan praderas de pasto marino (*Zostera marina*), una fuente importante de alimento para la tortuga prieta (Nichols *et al.*, 2003; CONANP, 2016).

## 2.2 Captura de tortugas marinas

Durante la captura de las tortugas marinas, se utilizaron dos técnicas diferentes de tendido de red para cada área de estudio. Es importante destacar que en ambos sitios se contó con el apoyo de la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP) presente en cada lugar. Cabe resaltar que en ningún momento se ocasionó la muerte de las tortugas durante el proceso de captura.

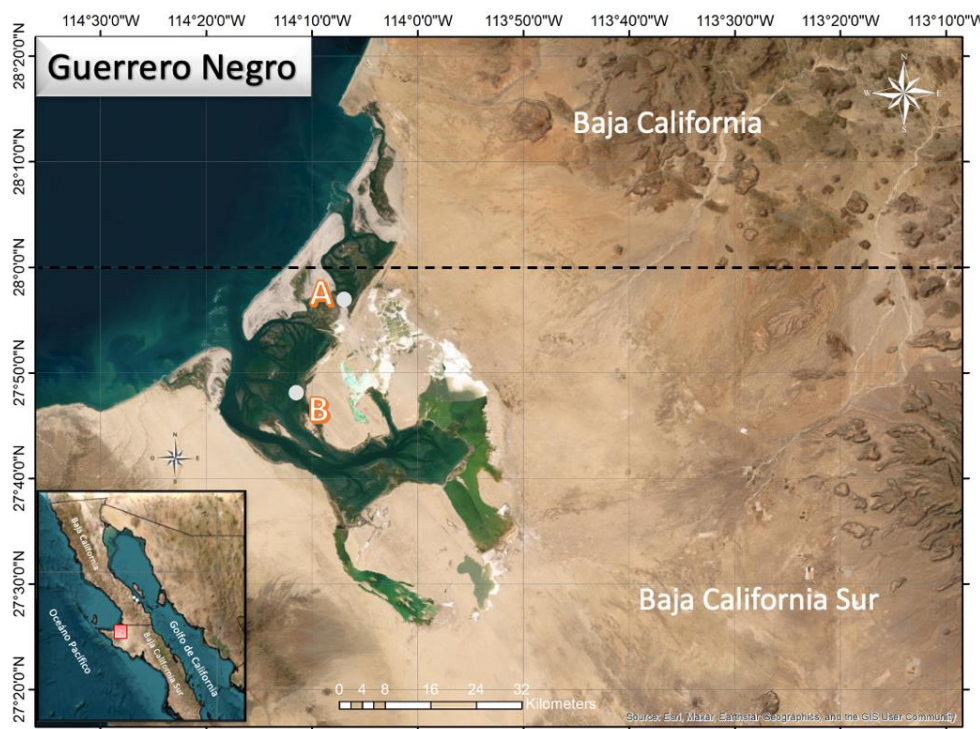
### 2.2.1 Bahía de los Ángeles

En el área de BLA se realizaron un total de cuatro monitoreos, los cuales tuvieron lugar en los meses de junio, octubre, diciembre de 2021 y en octubre de 2022, en los sitios de La Gringa (29° 2' 3" N y 113° 33' 9" O) y El Quemado (28° 55' 57" N y 113° 25' 19" O). Para la captura de los ejemplares de *C. mydas* se utilizaron redes de enmalle del tipo "agalleras" con una longitud de 100 m, una caída de 7 m y una luz de malla de 50 cm. Estas cuentan con una menor cantidad de plomos en la relinga inferior con el objetivo de reducir el riesgo de ahogamiento de las tortugas capturadas.

El tendido de la red se realizó de forma perpendicular a la costa a una distancia no inferior de 200 m, y se revisó periódicamente cada 2 horas, completando un máximo de 12 o 24 horas. Posteriormente, las tortugas fueron desenmalladas y trasladadas al campamento base.



**Figura 1.** Mapa de la ubicación geográfica de Bahía de los Ángeles, Baja California. Mapa realizado en Arcmap v 10. El punto A pertenece a la ubicación de la bahía "La Gringa" y el punto B pertenece a "El Quemado".



**Figura 2.** Mapa de la ubicación geográfica de Guerrero Negro, Baja California Sur. Mapa realizado en Arcmap v 10. El punto A pertenece a la ubicación de la laguna Guerrero Negro y el punto B pertenece a la laguna Ojo de Liebre.

### 2.2.2 Complejo Lagunar Ojo de Liebre

En cuanto al monitoreo en CLOL, se realizaron dos visitas en abril y junio de 2022 a las lagunas de Ojo de liebre (LOL) (27° 48' 7" N y 114° 11' 28" O) y Guerrero Negro (LGN) (27° 56' 57" N y 114° 6' 56" O). Para la captura de las tortugas se utilizó la técnica de red de encierro con el uso de red de "Castillo" de 300 m y 7 m de caída, con luz de malla de 50 cm.

Esta técnica implica la búsqueda de sitios de agregación de tortugas marinas, seguida de la formación de un círculo con la red para realizar el encierro de los organismos. Los monitoreos en este sitio tuvieron una duración máxima de 12 horas. Luego de la captura, las tortugas fueron desenmalladas y trasladadas al campamento base.

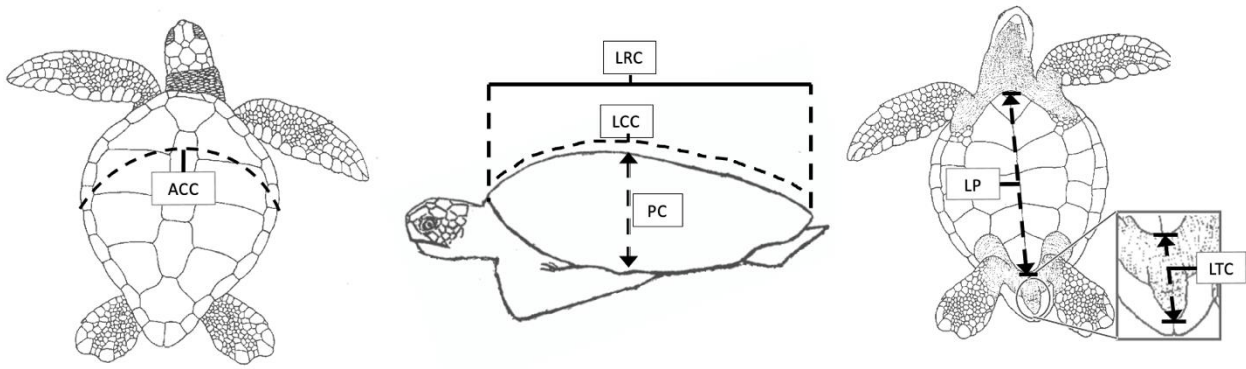
En ambos sitios (BLA y CLOL), las tortugas capturadas fueron marcadas con una placa metálica ubicada entre la primera y la segunda escama proximal en las aletas posteriores.

## 2.3 Morfométricos y clasificación de sexo de *Chelonia mydas*

Se registraron varias medidas morfométricas en centímetros de cada tortuga capturada, incluyendo el Largo Recto del Caparazón (LRC), Largo Curvo del Caparazón (LCC), Ancho Curvo del Caparazón (ACC), Longitud del Plastrón (LP), Profundidad Corporal (PC), Longitud Total de Cola (LTC), Largo Pre-Cloacal (LPreC) y Largo Post-Cloacal. Además, se utilizó una báscula de resorte romana de 0 a 200 kg con intervalos de 10 g para registrar el peso (P) en kilogramos de los organismos capturados.

El LRC se midió de forma recta desde el escudo nual o precentral hasta el escudo supracaudal. La medida LP, se tomó desde el inicio de la placa intergular hasta el final de la placa interanal, y para LTC se midió desde la base hasta la punta de la cola, tal como se muestra en la Figura 3.

Posteriormente, se utilizó el criterio descrito por Solana-Arellano *et al.* (2020), para determinar el sexo y estadio ontogénico, el cual se basa en las medidas morfométricas LRC y LTC (Tabla 1).



**Figura 3.** Esquema de las medidas morfométricas utilizadas en este estudio: Ancho Curvo del Caparazón (ACC), Largo Recto del Caparazón (LRC), Largo Curvo del Caparazón (LCC) y Profundidad Corporal (PC), Largo del Plastrón (LP) y Largo Total de Cola (LTC), (esquema adaptado de Eckert *et al.* (2000)).

**Tabla 1.** Criterios para la asignación de sexo y estadio ontogénico en *Chelonia mydas* con base en Solana-Arellano *et al.* (2020).

Hembra (H)	Macho (M)	Inmaduro (I)	
		LRC < 66 cm	
66 < LRC < 96.7 cm 16.3 < LTC < 25 cm	66.4 < LRC < 112.5 cm LTC > 25 cm	Potencial Hembra (IPH)	Potencial Macho (IPM)
		7.04 < LTC < 17.8 cm	LTC > 17.8 cm

## 2.4 Recolección e identificación taxonómica de balanos

La recolección de los balanos presentes en la tortuga se realizó mediante un raspado con una espátula o con el uso de pinzas de disección. Posteriormente, se depositaron en frascos plásticos y se mantuvieron refrigerados a una temperatura de 4°C hasta su traslado al laboratorio de campo.

Con el uso de pinzas de disección se separó el tejido del balano de la conchilla cónica, almacenando el tejido en crioviales a ultracongelación en nitrógeno líquido (temperatura inferior a -195° C aproximadamente) y trasladados al Laboratorio Multidisciplinario de Facultad de Ciencias en UABC para su análisis molecular. Por otro lado, las conchillas cónicas de los balanos se colocaron en frascos de plástico con alcohol etílico al 70% para su conservación hasta su análisis e identificación en el laboratorio de Ecología Matemática con el uso de guías taxonómicas.

### 2.4.1 Taxonomía clásica

Para la identificación taxonómica de los balanos encontrados en los ejemplares de *C. mydas*, se utilizó un microscopio estereoscópico con un aumento de 25x y 50x en el Laboratorio de Ecología Matemática en el CICESE. Se tomaron en cuenta las guías taxonómicas de Zullo (1979), Moroe & Limpus (1979), Ortíz *et al.* (2002), Celis *et al.* (2007) y Karaa *et al.* (2012) para identificar a los cirrípedos balanomorfos y se consideraron características morfológicas como su adherencia a la tortuga, la forma de la conchilla (ovalada o cónica), la cantidad de placas calcáreas, presencia de muescas, ornamentaciones aserradas, ganchos característicos, entre otras.

Para la corroboración de esta identificación, se tomaron fotografías de los balanos a través de un microscopio estereoscópico Zeiss Stemi 508 y se enviaron con el Dr. Rafael Flores Garza, experto en el área, que se encuentra en la Facultad de Ecología Marina en la Universidad Autónoma de Guerrero.

Además, se midieron las dimensiones de cada balano recolectado con el uso de un vernier, incluyendo su largo, ancho y alto en centímetros (cm), y se registró su peso de cada ejemplar en gramos (g) mediante una balanza analítica.

### 2.4.2 Taxonomía molecular

En el Laboratorio Multidisciplinario de Facultad de Ciencias en la Universidad Autónoma de Baja California (UABC), bajo la dirección del Dr. Carlos Alberto Flores López se llevó a cabo el análisis molecular de los balanos recolectados. A continuación, se detalla la metodología utilizada para el proceso de análisis e identificación molecular.

#### A) Extracción y purificación de ADN

La extracción de Ácido Desoxirribonucleico (ADN) del tejido de los balanos recolectados se realizó utilizando el sistema de extracción comercial Pure Link Genomic DNA (Invitrogen™), que utiliza columnas de sílica de centrifugado para purificar el ADN. La concentración y pureza del material genómico extraído se verificó mediante un espectrofotómetro Thermo NanoDrop 1000, utilizando el intervalo óptimo de pureza de ADN de 1.8 a 2, según Bartlett y Stirling (2003). Se utilizó una cantidad de 50 a 100 ng/μl de ADN para la realización de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés).



## B) Amplificación y secuenciación

En este estudio, se seleccionaron dos marcadores mitocondriales, una sección del gen Citocromo Oxidasa-Subunidad 1 (COI) y una sección del gen de la subunidad 16S ribosomal, para obtener una mayor resolución e identificación en los análisis filogenéticos y contar con una mayor disponibilidad de secuencias de referencia. La amplificación de estos marcadores se realizó mediante PCR utilizando cebadores específicos (conocidos comúnmente como “primers” en inglés).

Los cebadores utilizados para el marcador molecular del gen COI fueron (5'-3') LCO (GCTCAACAAATCATAAAGATATTGG) y (5'-3') HCO (TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA) diseñados por Folmer *et al.* (1994) y utilizados por Rawson *et al.* (2003) para la amplificación en cirrípedos balanomorfos.

En cuanto al marcador mitocondrial 16S, se diseñaron cebadores específicos con el fin de aumentar las posibilidades de la amplificación de dicho marcador. Los cebadores, 16S F (5'-3') (ACTGTGCTAAGGTAGCATAATCA) y 16S R (TCCAACATCGAGGTCGCAAA), se diseñaron a partir de secuencias de otras especies de cirrípedos balanomorfos a través de la plataforma Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI, por sus siglas en inglés) (National Center for Biotechnology Information, 1988).

La identificación de las zonas con mayor índice de conservación para el diseño de los cebadores se realizó al alinear secuencias del 16S catalogadas en GenBank. Para el alineamiento de las secuencias se utilizó el algoritmo de MUSCLE implementado en el programa de Sea View. Los cebadores se adquirieron en la empresa T4 Oligo en Irapuato, Guanajuato.

Se realizaron las amplificaciones por PCR para cada marcador molecular bajo condiciones óptimas específicas. Para el marcador COI, se llevaron a cabo 35 ciclos de una etapa de desnaturalización de 30 segundos a 94° C, seguida de hibridación a 31° C durante 45 segundos y extensión a 72° C durante 2 minutos.

En cuanto al marcador 16S, se llevaron a cabo 35 ciclos de una etapa de desnaturalización de 30 segundos a 94° C, seguida de hibridación a 49° C durante 30 segundos y extensión a 72° C durante 30 segundos. Se confirmó la amplificación de los fragmentos mediante la electroforesis en gel de agarosa al 1%, que fue teñido con SYBR safe y visualizado a través de rayos ultravioleta bajo un transiluminador.

Posteriormente, los amplicones obtenidos, de 308 pb para el 16S y 7210 pb para el COI, se enviaron a secuenciar bidireccionalmente a la empresa Macrogen Inc. en Seúl, Corea. Las secuencias obtenidas se analizaron y editaron en el programa Geneious Prime v. 2022.1.1, utilizando un algoritmo para eliminar las regiones que no cumplieron con los criterios de calidad.

En los casos en que las secuencias contenían nucleótidos polimórficos (es decir, presencia de múltiples picos dobles en el cromatograma), se limpiaron los sitios mediante la comparación y combinación de los amplicones bidireccionales de cada muestra. Posteriormente, se verificó la identificación taxonómica de las secuencias utilizando la herramienta de búsqueda de alineación local (BLAST, por sus siglas en inglés) (Altschul *et al.*, 1990), comparando con las secuencias de referencia para las especies de balanos.

### C) Análisis filogenético

Se construyó una base de datos que incluía las secuencias de las muestras de balanos recolectadas y de especies de referencia de cirrípedos balanomorfos del repositorio Genbank en el NCBI. Estas secuencias fueron alineadas mediante el algoritmo global MUSCLE y se utilizó el programa jModelTest v2.1.10 para obtener el mejor modelo de sustitución de nucleótidos para el análisis de cada marcador molecular, siendo el modelo General Time Reversible (GTR, por sus siglas en inglés) el utilizado.

A continuación, se realizaron análisis bayesianos con el modelo de sustitución de ADN obtenido, utilizando corridas simultáneas con Cadenas de Markov y Monte Carlo (MCMC, por sus siglas en inglés) y tomando árboles cada 1000 iteraciones. Las iteraciones de MCMC se ejecutaron hasta que la desviación estándar ( $\sigma$ ) estuviera por debajo de 0.01.

Se construyó un árbol filogenético consenso a partir de las últimas 75% de las iteraciones, descartando los primeros 25% de los árboles. Finalmente, se utilizó el programa Figtree v1.4.4 para visualizar y editar los árboles filogenéticos finales del gen COI y 16S, utilizando como raíz o “outgroup” a la especie *Astrobalanus imperator*.

## 2.5 Cobertura de balanos

Para determinar la cobertura de balanos en las tortugas capturadas, se tomaron fotografías digitales cenitales del plastrón y caparazón. Se utilizó una cámara réflex digital CANON Eos Rebel T6 para tomar fotografías diurnas y nocturnas. Las fotografías diurnas se capturaron con una longitud focal de 18 mm,

velocidad ISO 100 y un tiempo de exposición 1/1,250 hasta 1/1,600 con un valor de apertura f/3.5 hasta 6.3. Por otro lado, para las fotografías nocturnas se utilizó una longitud focal de 18 mm, velocidad ISO 800, un valor de apertura f/3.5, tiempo de exposición 1/60 y se utilizó el flash sin ninguna otra luz artificial en el ambiente.

Para obtener el área de cobertura de balanos, se utilizó el programa IMAGE-J con la asistencia del Dr. Ricardo Cruz del Instituto de Investigaciones Oceanológicas (IIO) en UABC. El programa nos permitió calcular el área de interés en  $\text{cm}^2$ , que en este estudio es la cobertura de balanos y el área de plastrón o caparazón. La escala fue calibrada utilizando una medida morfométrica; la medida LP se utilizó para las fotografías del plastrón y la medida LRC se utilizó para las fotografías del caparazón de cada tortuga. Una vez que se calibró la escala, se obtuvo el área de cobertura de balanos y el área del plastrón o caparazón según corresponda, para calcular el índice de cobertura de balanos (ICB). La fórmula utilizada para el cálculo del ICB fue la siguiente:

$$ICB = \frac{Acb \text{ (cm}^2\text{)}}{Ap \text{ o } Ac \text{ (cm}^2\text{)}} \quad (1)$$

Donde  $Acb$  es el área de cobertura de balanos,  $Ap$  es el área plastrón y  $Ac$  es el área del caparazón de la tortuga. El resultado se multiplicó por 100 para obtener un porcentaje (%).

## 2.6 Indicadores sanguíneos

Se recolectó sangre de las tortugas capturadas mediante una técnica de punción venosa en el seno cervicodorsal, descrita por Owens & Ruiz (1980). La recolección se llevó a cabo con el uso de una aguja calibre 21 G x1 1/2 con el sistema de vacío BD Vacutainer™ de toma múltiple, que se introdujo perpendicular al cuello de la tortuga. Se recolectaron alrededor de 6 ml de sangre en un tubo estéril con anticoagulante heparina de Lito, el cual se homogeneizó por inversión lenta. Se tomaron medidas de asepsia antes y después de la toma de muestra, a fin de minimizar el riesgo de contaminación. Para el transporte de las muestras sanguíneas, se utilizó una hielera con una temperatura constante de refrigeración (4°C) con el objetivo de preservar las muestras hasta su procesamiento en el laboratorio de campo.

### 2.6.1 Biometría hemática

En cuanto a la biometría hemática (BH), se llevó a cabo un análisis para evaluar la presencia de hemólisis en función del tiempo transcurrido desde la recolecta de la muestra sanguínea hasta el análisis en laboratorio. Con este propósito, se realizaron dos recuentos de eritrocitos (REC). El primero se realizó dentro de un lapso de dos a cuatro horas posteriores a la recolecta, mediante el uso de cámara de Neubauer y tinción de Natt y Herrick, a una dilución 1:200. La concentración de células se calculó mediante la utilización de la siguiente fórmula:

$$cel/\mu l = \frac{Células\ contadas}{(Superficie\ contada\ (mm^2) \times Profundidad\ de\ la\ cámara\ (mm))} \times Dilución \quad (3)$$

Para llevar a cabo el segundo recuento eritrocitario, las muestras sanguíneas fueron transportadas verticalmente en una hielera a una temperatura de aproximadamente 4°C hasta el laboratorio GOVALAB, especializado en diagnósticos veterinarios en Ensenada. El recuento eritrocitario se realizó entre las 96 y 120 horas (cuatro a cinco días) posteriores a la recolección de las muestras. Asimismo, se realizó el recuento leucocitario y se determinó el hematocrito (Hct) en el laboratorio.

Además, se realizaron extendidos sanguíneos en portaobjetos de manera inmediata a la toma de muestra, Estos extendidos fueron fijados con etanol al 70% y posteriormente fueron teñidos en laboratorio utilizando el kit HYCEL Quick para una tinción policromática rápida de tipo Romanowsky. Este kit emplea colorantes ácidos Eosina A (amarillenta) y el azur-azul de metileno como colorante básico.

A partir de estas muestras, se realizó un conteo diferencial de los leucocitos (Leu), identificando eosinófilos (Eos), heterófilos (Het), basófilos (Bas), monocitos (Mon) y linfocitos (Lin), mediante el uso de un microscopio óptico con objetivo de inmersión (1000x) en el que se contaron y clasificaron 100 células leucocitarias siguiendo un patrón de observación en forma de zigzag.

Para la clasificación de estas células leucocitarias, se consideraron las características descritas por Ramírez-Acevedo (2012) y Tristan (2008) (Figura 15, Anexo A). Cabe destacar que el conteo se realizó dos veces con diferentes observadores, en donde se estandarizó la identificación y posteriormente se obtuvo el promedio y porcentaje (%). Asimismo, se calculó la relación Heterófilos/Linfocitos (H/L).

### 2.6.2 Bioquímica sanguínea

Para el análisis de metabolitos en la bioquímica sanguínea (BS), se recolectaron muestras con heparina de Litio y se enviaron al laboratorio GOVALAB para su análisis, el cuál abarcó un periodo de cuatro a cinco días posteriores a la toma de muestra. Las determinaciones se realizaron en plasma mediante la técnica de ion selectivo en un equipo Easylite y espectrofotómetro automatizado Myndray BS-200.

Se evaluaron diversos parámetros bioquímicos, tales como glucosa (Glu), colesterol (Col), triglicéridos (TG), alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), creatin cinasa (CK), fosfatasa alcalina (ALP), amilasa (Ami), proteínas totales (Prot), albúmina (Alb), creatinina (Creat), bilirrubina total (BT), ácido úrico (Ac. úrico), dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), sodio (Na), potasio (K), calcio (Ca), fósforo (P) y cloro (Cl). Además, se calculó la concentración de globulina (Glo), mediante la diferencia entre proteínas totales y albúmina, y se determinó la relación albúmina/globulina (A/G) y Ca/P.

### 2.6.3 Análisis sanguíneo

Para llevar a cabo una valoración clínica precisa es necesario contar con intervalos de referencia confiables. Por esta razón, se realizó una búsqueda bibliográfica de alrededor de 20 artículos y se llevó a cabo una discriminación considerando diferentes factores, tales como la especie de estudio, la región geográfica, el estadio ontogénico y la condición fisiológica. Esta discriminación se llevó a cabo porque diferentes autores, como Stamper *et al.* (2005), Whiting *et al.* (2007), Flint *et al.* (2010) y Rubin *et al.* (2016) han mencionado que los valores de referencia para la biometría hemática (BH) y la bioquímica sanguínea (BS) en tortugas marinas sanas varían según la especie, la región geográfica, el estadio ontogénico y el hábitat, entre otros factores.

Para garantizar la congruencia de los valores en el análisis clínico de biometría hemática y bioquímica sanguínea en las tortugas, se verificaron las unidades descritas. Además, se obtuvieron los intervalos de referencia (IR) con base en la media  $\pm$  2 desviaciones estándar ( $\sigma$ ) para realizar el análisis clínico individual.

## 2.7 Análisis estadísticos

Para el análisis de datos, se empleó estadística bayesiana, debido a que los datos obtenidos en este estudio no cumplían con los supuestos requeridos para cada prueba, como la normalidad y la homocedasticidad. Además, los tamaños de muestra obtenidos (N) no fueron lo suficientemente grandes para una comparación entre sitios con la estadística clásica. Por estas razones, se decidió utilizar la metodología de la estadística bayesiana, la cual se fundamenta en principios probabilísticos y modela la incertidumbre.

Esta metodología se centra en el Teorema de Bayes y el Factor de Bayes, el cual obtiene la razón de las probabilidades de las hipótesis nula y alterna. En otras palabras, supongamos que se tienen las siguientes hipótesis:

**H<sub>0</sub>**: las medias poblacionales son homogéneas (no hay diferencias)

**H<sub>1</sub>**: las medias poblacionales son heterogéneas (si hay diferencias)

El Factor de Bayes<sub>10</sub>, indicaría que estamos dividiendo la probabilidad de la hipótesis alterna sobre la probabilidad de la hipótesis nula.

$$\text{Factor de Bayes} = FB_{10} = \frac{P(\text{Hipotesis alterna})}{P(\text{Hipotesis nula})} \quad (3)$$

Se utilizaron pruebas t de Student bayesiana, a través del programa JASP (v 0.16.3; JASP Team), para comparar los datos entre sitios con la presencia o ausencia de balanos. Asimismo, la forma de discriminación del  $FB_{10}$  se eligió en primer lugar considerando lo que menciona Jeffreys 1961 (Tabla 2).

**Tabla 2.** Interpretación del Factor de Bayes sugerido por Jeffreys (1961), tomado de Ellison (1996).

Jeffreys (1961)		
$\log_{10}(B_{10})$	$B_{10}$	Evidencia contra $H_0$
0-0.5	1-3.2	Una simple mención
0.5-1	3.2-10	Sustancial
1-2	10-100	Fuerte
>2	>100	Decisivo

## Capítulo 3. Resultados

---

### 3.1 Capturas de tortugas marinas

En BLA, se realizaron cuatro salidas de campo, en las cuales se lograron capturar nueve tortugas en la bahía “La Gringa” (Figura 1). Se registró una temperatura de la superficie del mar (TSM) de 24° C en junio de 2021 y 29° C en octubre de 2022.

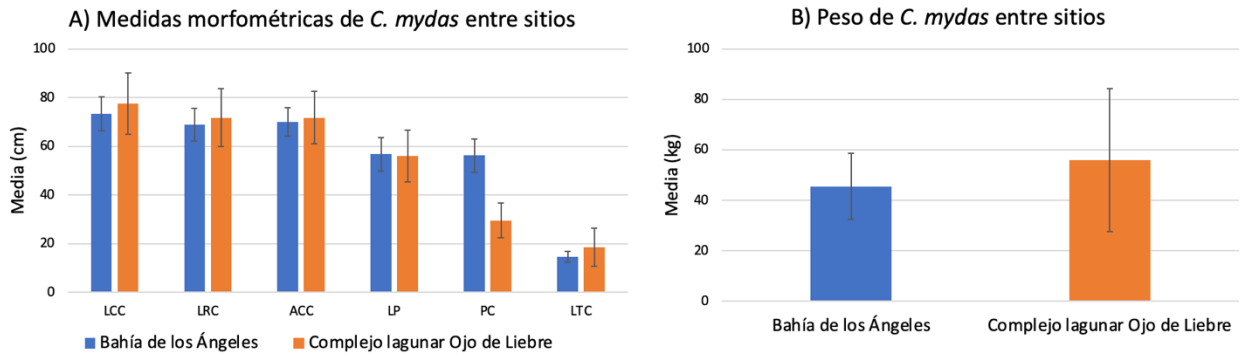
Mientras que en CLOL, se llevaron a cabo dos salidas de campo en las que se capturaron 21 tortugas en la laguna Guerrero Negro y 28 en la laguna Ojo de liebre (Figura 2). Como se mencionó en la metodología, el CLOL está conformado por canales que permiten la movilidad de las tortugas entre lagunas, por lo que se consideró CLOL como un único sitio de estudio. Por lo tanto, se obtuvieron un total de 49 tortugas para los meses de abril y junio de 2022, con una TSM de 18 y 20° C, respectivamente. En ambos sitios de estudio (BLA y CLOL), se capturaron un total de 58 ejemplares de *C. mydas*.

### 3.2 Análisis morfométricos y clasificación de sexo de *Chelonia mydas*

La comparación entre las medidas morfométricas y peso de cada tortuga se muestran en la Figura 4. Tanto las medidas morfométricas de LCC, LRC, ACC, LTC y el peso fueron mayores en el CLOL en comparación con BLA. Por otro lado, las medias de las medidas morfométricas LP y PC, fueron mayores en BLA. No obstante, al realizar una prueba t de Student bayesiana entre ambos sitios, se determinó que no hay suficiente evidencia que sugiera diferencias entre las medias de estas medidas y el peso ( $FB_{10} < 1$ ), excepto para la medida morfométrica Profundidad Corporal, la cual obtuvo un  $FB_{10}$  de  $7.63 \times 10^7$  (Tabla 7, Anexo A).

En BLA de las nueve tortugas que se capturaron, seis fueron identificados como Hembras (H) y tres como Inmaduros Potencial Hembra (IPH). Por otra parte, en CLOL de las 49 tortugas capturadas, 19 fueron clasificadas como Hembras (H), 22 como Inmaduros Potencial Hembra (IPH) y ocho como Machos (M) (

Tabla 3).



**Figura 4.** A) Gráfica de las medias y desviaciones estándar de las medidas morfométricas en cm de *C. mydas* entre sitios. B) Gráfica de la media y desviación estándar del peso en kg de *C. mydas* entre sitios. BLA (N=9) y CLOL (N=49).

**Tabla 3.** Clasificación del sexo de *C. mydas* entre sitios.

Sexo	Sitio de estudio	
	BLA n= 9 TM	CLOL n= 49 TM
Hembras	6	19
Inmaduros PH	3	22
Machos	0	8

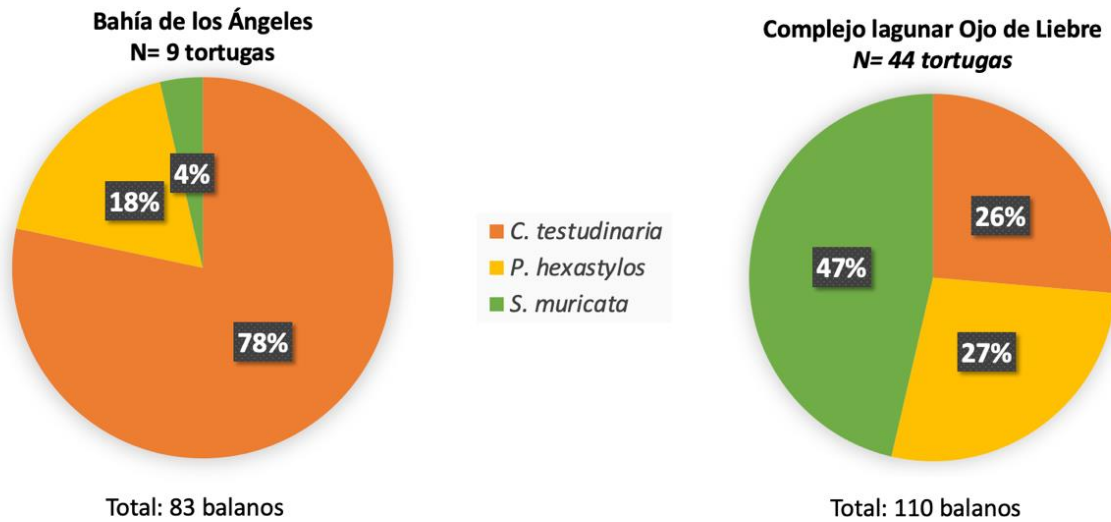
### 3.3 Identificación taxonómica de balanos

#### 3.3.1 Taxonomía clásica

Se identificaron 193 balanos utilizando las guías taxonómicas empleadas en este estudio, de los cuales 94 fueron identificados como *Chelonibia testudinaria*, 45 como *Platylepas hexastylus* y 54 como *Stephanolepas muricata*.

En la Figura 5 se presenta la abundancia de estas especies en los sitios de estudio. En BLA, la especie más abundante fue *C. testudinaria* (78%), seguida de *P. hexastylus* (18%) y *S. muricata* (4%) fue la menos abundante. En cambio, en CLOL, la especie más abundante fue *S. muricata* (47%), seguida de *P. hexastylus* (27%) y *C. testudinaria* (26%).





**Figura 5.** Abundancia relativa de especies de balanos de *C. mydas* en los sitios de estudio.

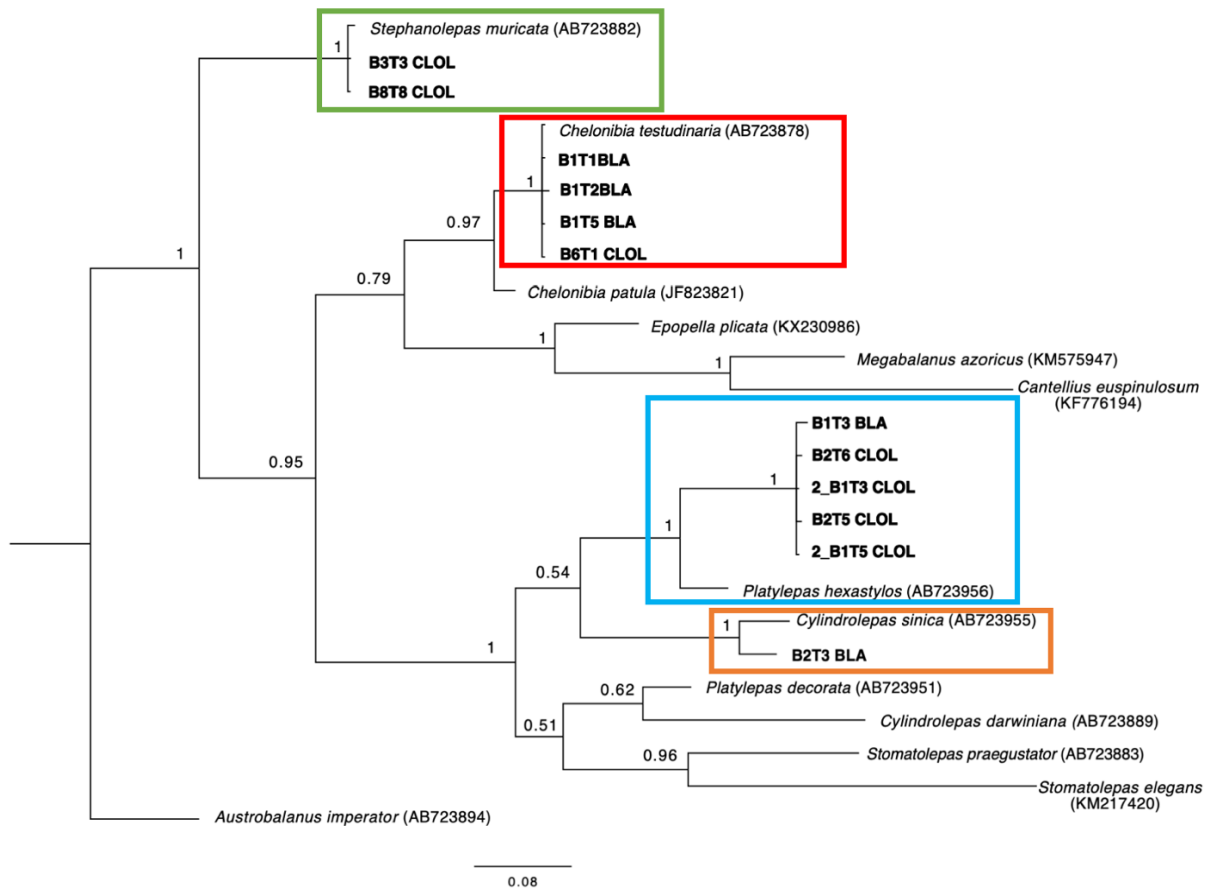
### 3.3.2 Taxonomía molecular

Se obtuvieron secuencias del marcador molecular 16S de un total de 11 individuos con el fin de corroborar la identificación taxonómica. Para la realización del análisis filogenético se descargaron y añadieron 12 secuencias de balanos de la base de datos NCBI. La longitud final del alineamiento de las secuencias homólogas utilizado para los análisis filogenéticos fue de 302 pares de bases. En la Figura 6, se pueden observar en negrita las secuencias obtenidas a partir de este estudio, mientras que las secuencias de referencia se muestran en letra normal y se indican entre paréntesis sus respectivos números de acceso de Genbank.

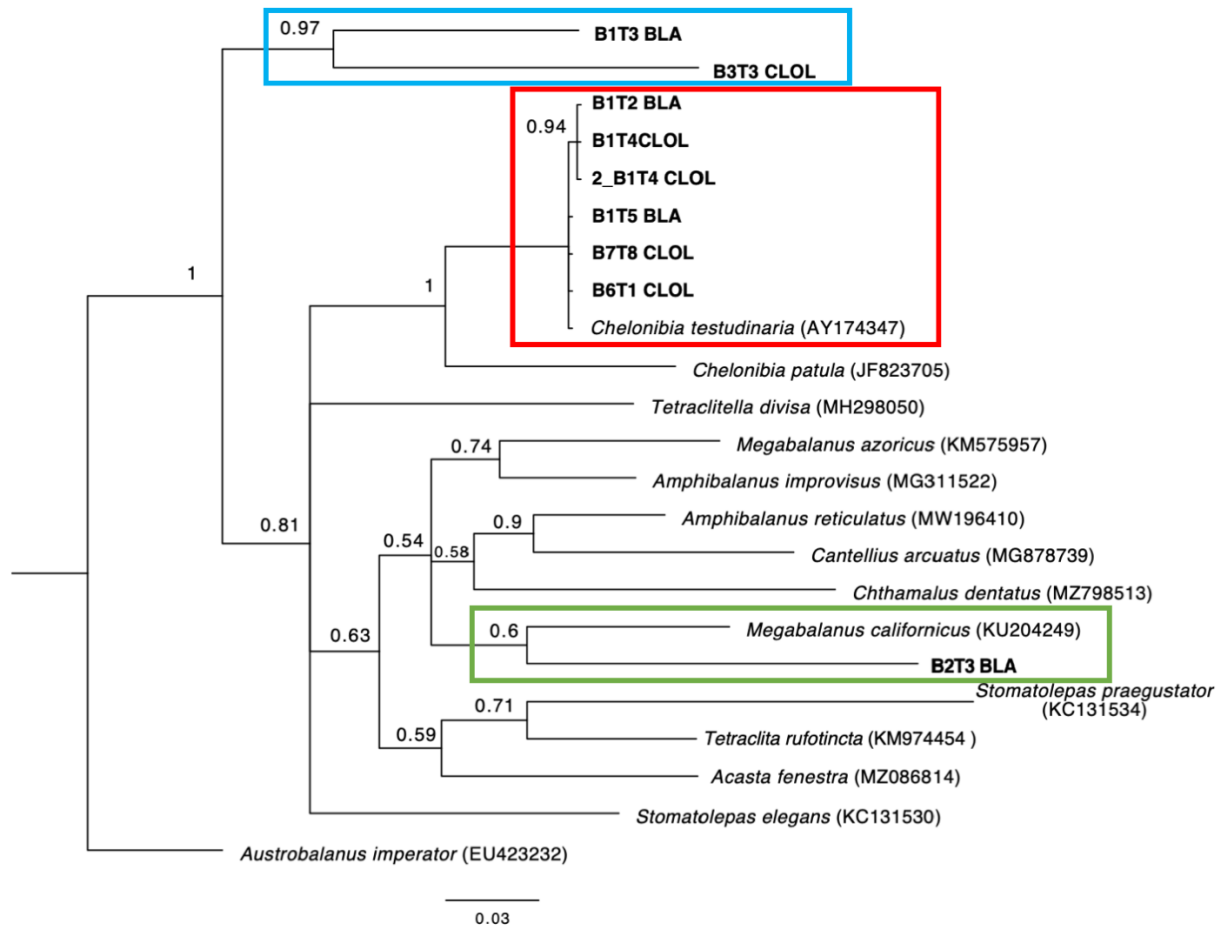
Los análisis filogenéticos corroboraron la presencia de *Stephanolepas muricata* y *Chelonibia testudinaria* (Figura 6), mientras que la confirmación de la especie *Platylepas hexastylus* no fue definitiva. En el recuadro en verde se puede observar que las muestras B3T3CLOL y B8T8CLOL forman un grupo monofilético con la secuencia de referencia de *Stephanolepas muricata* (AB723882) con una probabilidad a posteriori de 1 (Figura 6). Este grupo monofilético no presenta diversidad genética significativa dentro del mismo clado (ausencia de longitud de ramas dentro de ese clado), lo que indica con gran certeza que dichas secuencias pertenecen a la especie en cuestión (*i.e.*, *Stephanolepas muricata*). De igual forma, las muestras B1T1BLA, B1T2BLA, B1T5BLA y B6T1CLOL formaron un mismo clado con la secuencia de referencia de *Chelonibia testudinaria* (AB723878) con una probabilidad a posteriori de 1 (recuadro en rojo Figura 6). Este clado, al igual que el anterior tampoco mostró diversidad genética entre las secuencias que

conformaban dicho grupo monofilético, lo cual apoya el hecho de que efectivamente se tratan de secuencias pertenecientes a la especie *Chelonibia testudinaria*.

Con respecto a la presencia de *Platylepas hexastylus*, el análisis filogenético no pudo corroborar la presencia de dicha especie entre los balanos estudiados. El árbol filogenético, aunque agrupa a las secuencias, B1T3BLA, B2T6CLOL, 2\_B1T3CLOL, B2T5CLOL y 2\_B1T5CLOL en el mismo clado que posee a la secuencia de referencia para *Platylepas hexastylus* (AB723956), con una probabilidad a posteriori de 1, no es certeza de la presencia de *Platylepas hexastylus* en este estudio. Esto debido a que el porcentaje de diferencias nucleotídicas entre las muestras de este estudio con la muestra de referencia es de aproximadamente 8% (recuadro en azul Figura 6). Adicionalmente, el análisis molecular identificó una de las muestras de balanos (B2T3BLA) como una muestra cercanamente emparentada (posee aproximadamente 7% de divergencia) con la especie *Cylindrolepas sinica* (AB723955) (recuadro en naranja Figura 6), lo cual difiere a las tres especies identificadas por taxonomía clásica.



**Figura 6.** Árbol filogenético de balanos para el marcador molecular 16S (longitud de 302 pb): comparación de secuencias obtenidas en este estudio (en negrita) con secuencias de referencia (sin formato resaltado y su número de acceso en paréntesis). Los números en los nodos del árbol indican la probabilidad a posteriori.



**Figura 7.** Árbol filogenético de balanos para el marcador molecular COI (longitud de 414 pb): comparación de secuencias obtenidas en este estudio (en negrita) con secuencias de referencia (sin formato resaltado y su número de acceso en paréntesis). Los números en los nodos del árbol indican la probabilidad de a posteriori.

Con respecto al marcador mitocondrial COI, se obtuvieron secuencias de un total de nueve individuos y se descargaron las secuencias de 14 especies de referencia de balanos. La longitud final del alineamiento fue de 414 pb. El análisis filogenético reconstruido a partir de este marcador molecular se puede apreciar en la Figura 7. Las secuencias de balanos obtenidas en este estudio se muestran en negrita mientras que las secuencias de referencia descargadas de NCBI se muestran en letra normal y se indican en paréntesis el respectivo número de acceso de Genbank.

Los análisis filogenéticos para este marcador corroboran la presencia de *Chelonibia testudinaria* (Figura 7), mientras que la confirmación de las especies *Stephanolepas muricata* y *Platylepas hexastylus* no fue definitiva. En el recuadro en rojo, las seis muestras (B1T2BLA, B1T4CLOL, 2\_B1T4CLOL, B1T5BLA, B7T8CLOL, B6T1CLOL) forman un grupo monofilético con la secuencia de referencia de *C. testudinaria* (AY174347) con una probabilidad a posteriori de 0.94. Este grupo monofilético no presenta diversidad

genética significativa dentro del mismo clado (ausencia de longitud de ramas dentro de ese clado), lo que indica con gran certeza que dichas secuencias pertenecen a la especie en cuestión (*i. e. C. testudinaria*) (Figura 7).

Con respecto a *Platylepas hexastylus* no se pudo corroborar la presencia de esta especie con este marcador mitocondrial. En el árbol filogenético, la muestra B1T3BLA no forma ningún grupo monofilético con ninguna secuencia de referencia, pero se encuentra dentro del clado con la muestra B3T3CLOL, la cual se había clasificado con taxonomía clásica como *Stephanolepas muricata*. Sin embargo, presentan diversidad genética significativa dentro del mismo clado (longitud de ramas dentro de ese clado), el porcentaje de diferencias nucleotídicas entre ellas es de aproximadamente 19% (recuadro en azul en Figura 7).

Adicionalmente a las tres especies identificadas por taxonomía clásica el análisis molecular identificó una de las muestras de balanos como una muestra cercanamente emparentada con *Megabalanus californicus* (KU204249). El árbol filogenético, aunque agrupó a la muestra (B2T3BLA) con la secuencia de referencia de *Megabalanus californicus* (KU204249) presenta diversidad genética significativa dentro del mismo clado (longitud de ramas dentro de ese clado), con una diferencia entre nucleótidos de las secuencias del 19%, y una probabilidad a posteriori de 0.6 (recuadro en verde de Figura 7).

Es importante destacar que, a la fecha de realización de este estudio, no hay secuencias de referencia en GenBank para el marcador molecular de COI de las especies: *Stephanolepas muricata*, *Platylepas hexastylus* y *Cylindrolepas sinica*.

En la Tabla 4, se presenta la comparación entre los resultados de identificación de balanos usando taxonomía clásica y molecular. Algunos especímenes no pudieron ser identificados correctamente utilizando el marcador molecular COI debido a discrepancias en el árbol filogenético. Sin embargo, con el uso del marcador molecular 16S se logró establecer la identificación en contraste.

Por ejemplo, la muestra B1T3BLA, que había sido identificada como *P. hexastylus* a partir de taxonomía clásica, no se logró la identificación con el marcador molecular COI (SD: Sin determinación), pero sí fue identificada como *P. hexastylus* al encontrarse en el mismo clado con el marcador molecular 16S. El mismo patrón se repitió para la muestra B3T3CLOL, que había sido identificada como *S. muricata* por taxonomía clásica, y solo se logró corroborar la identificación con el marcador molecular 16S. En contraste, para la muestra B2T3BLA, que había sido identificada como *S. muricata* por taxonomía clásica, se encontró que con el marcador molecular 16S esta se identificó como *Cylindrolepas sinica*, mientras que con el marcador

molecular COI no fue posible determinar la especie debido a la longitud de las ramas, porcentaje de diferencias entre los nucleótidos de las secuencias comparadas y la probabilidad a posteriori de 0.6.

**Tabla 4.** Contraste entre la identificación de balanos por taxonomía clásica y molecular. NA= No amplificado y SD= Sin determinación.

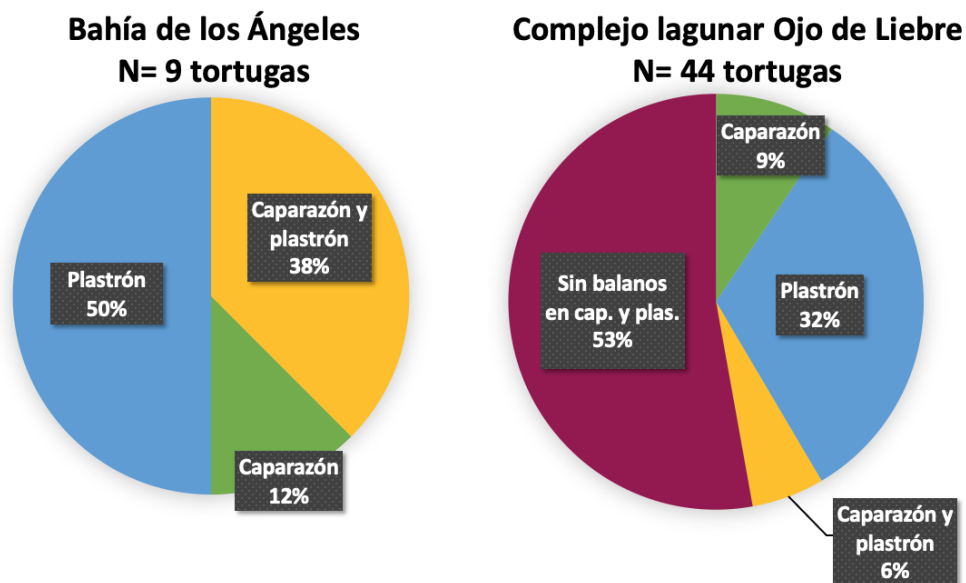
ID	Taxonomía clásica	Taxonomía molecular	
		COI	16S
B1T1BLA	<i>C. testudinaria</i>	NA	<i>C. testudinaria</i>
B1T2BLA	<i>C. testudinaria</i>	<i>C. testudinaria</i>	<i>C. testudinaria</i>
B1T3BLA	<i>P. hexastylus</i>	SD	<i>P. hexastylus</i>
B2T3BLA	<i>S. muricata</i>	SD	<i>Cylindrolepas sinica</i>
B1T5BLA	<i>C. testudinaria</i>	<i>C. testudinaria</i>	<i>C. testudinaria</i>
B6T1CLOL	<i>C. testudinaria</i>	<i>C. testudinaria</i>	<i>C. testudinaria</i>
2_B1T3CLOL	<i>P. hexastylus</i>	NA	<i>P. hexastylus</i>
B3T3CLOL	<i>S. muricata</i>	SD	<i>S. muricata</i>
B1T4CLOL	<i>C. testudinaria</i>	<i>C. testudinaria</i>	NA
2_B1T4CLOL	<i>C. testudinaria</i>	<i>C. testudinaria</i>	NA
2_B1T5CLOL	<i>P. hexastylus</i>	NA	<i>P. hexastylus</i>
B2T5CLOL	<i>P. hexastylus</i>	NA	<i>P. hexastylus</i>
B2T6CLOL	<i>P. hexastylus</i>	NA	<i>P. hexastylus</i>
B7T8CLOL	<i>C. testudinaria</i>	<i>C. testudinaria</i>	NA
B8T8CLOL	<i>S. muricata</i>	NA	<i>S. muricata</i>

### 3.4 Análisis de cobertura de balanos

Para el análisis de cobertura de balanos, se consideraron únicamente las especies de *Chelonibia testudinaria* y *Platylepas hexastylus*, debido a que estas dos especies son las únicas que se encuentran adheridas externamente al plastrón o caparazón de las tortugas marinas (ejemplo en Figura 16, Anexo B).

La especie *Stephanolepas* sp., se encuentra incrustada en el borde las aletas anteriores, por lo que no fue tomada en cuenta para este análisis, debido a que era más complicado estimar la cobertura de balanos en esta zona.

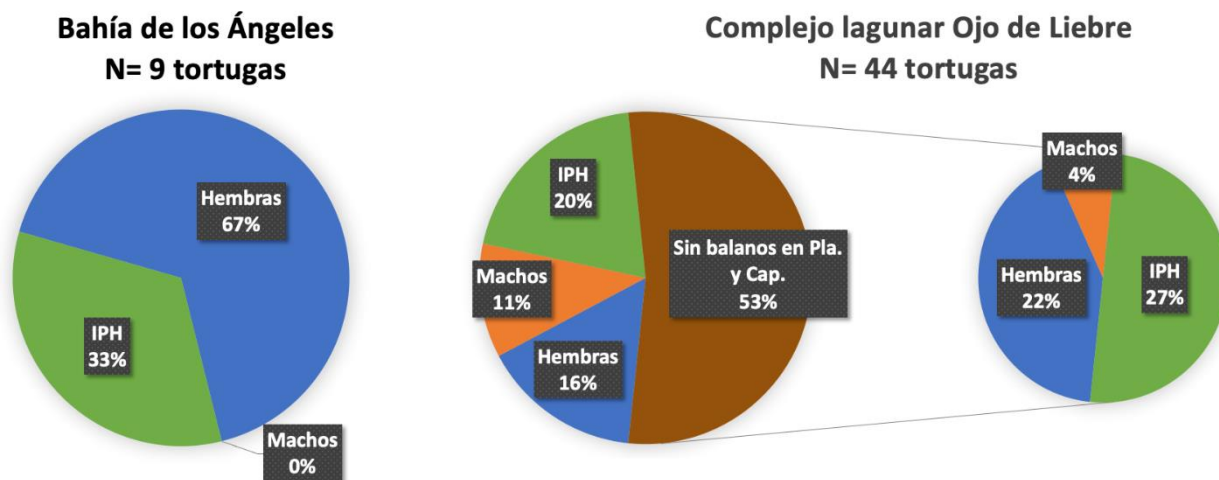
La cobertura de balanos presentes en las tortugas marinas se clasificó tomando en cuenta si se encontraban solo en el plastrón, en el caparazón, en ambos sitios anatómicos y sin cobertura alguna en estos sitios. En BLA (N=9 TM), todas las tortugas presentaron presencia de balanos, de las cuales el 50% presentaron balanos únicamente en el plastrón, el 38% presentaron balanos en ambos sitios anatómicos y 12% solamente en el caparazón (Figura 8). Para el caso de CLOL, de las 49 tortugas capturadas, cinco tortugas no presentaron balanos en ninguna parte de su cuerpo. Por lo que, de las 44 tortugas restantes el 53% no presentaron balanos en caparazón ni en plastrón. Las tortugas que sí presentaron balanos en estas zonas, el 32% los presentaron solamente en el plastrón, el 9% únicamente en el caparazón y el 6% en ambas zonas corporales (Figura 8).



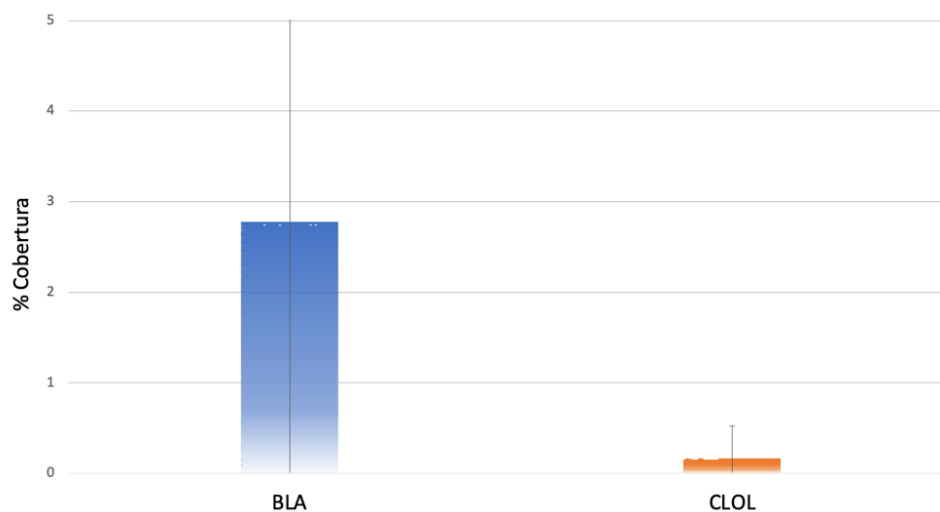
**Figura 8.** Porcentaje (%) de *C. mydas* con balanos en algún sitio anatómico en los sitios de estudio.

Con respecto a la proporción de sexos de tortugas marinas con balanos, en BLA el 100% de las tortugas capturadas presentaron cobertura de balanos, siendo el 67% de ellas hembras (H) y el 33% Inmaduros Potencial Hembras (IPH) (Figura 9). En CLOL, el porcentaje de tortugas que presentaron balanos en las zonas corporales evaluadas (caparazón y plastrón) fue el 47%, el 20% fueron IPH, el 16% fueron H y el 11% fueron M. Con respecto al porcentaje de las tortugas que no presentaron cobertura de balanos en las zonas evaluadas fue el 53%, en donde el 27% representó a IPH, el 22% a H y el 4% M.

El índice de cobertura de balanos (ICB), reveló que las tortugas que presentaron un mayor porcentaje fueron las de BLA con un 2.7% del cuerpo cubierto de balanos (media  $2.77 \pm 2.96$ ), mientras que CLOL presentó un porcentaje de solo 0.16% (media  $0.16 \pm 0.35$ ) (Figura 10). Una prueba t de Student bayesiana ( $FB_{10}=20.6 \times 10^4$ ) indicó que, sí existen diferencias entre las medias del ICB entre sitios.



**Figura 9.** Distribución porcentual de *C. mydas* con balanos, según sexo y sitio de muestreo. IPH: Inmaduros Potencial Hembra.



**Figura 10.** Porcentaje (%) de cobertura de balanos en el cuerpo de las tortugas entre sitios de muestreo en Bahía de los Ángeles (BLA) y el Complejo lagunar Ojo de Liebre (CLOL).

### 3.5 Determinación hematológica

#### 3.5.1 Análisis sanguíneo

##### a) Biometría hemática

Para determinar si había diferencias en el conteo eritrocitario debido al tiempo transcurrido desde el conteo en campo hasta el realizado cuatro a cinco días después en el laboratorio GOVALAB, se realizó una prueba t de Student bayesiana. Dichos análisis arrojaron un  $FB_{10} < 1$ , lo que indica que no hay evidencia de una hemólisis durante el tiempo de análisis después de la recolecta. Además, se realizaron pruebas t de Student bayesianas para evaluar si hubo diferencias en los parámetros hemáticos entre tortugas con balanos entre sitios. Este análisis arrojó un  $FB_{10} > 1$  para eritrocitos, eosinófilos y basófilos (Tabla 9, Anexo C), lo que indica que existen diferencias probabilísticas entre estos parámetros, por lo tanto, se llevaron a cabo análisis clínicos por separado entre sitios.

Por otro lado, de los parámetros hemáticos obtenidos de este estudio se realizó una comparación con los obtenidos del trabajo de Aguirre *et al.* (1995) al ser el más cercano a los sitios del presente trabajo (BLA y CLOL). El trabajo de Aguirre *et al.* (1995) evaluó el estrés en tortugas prietas en Hawái, tanto con presencia como sin presencia de fibropapilomas. Sin embargo, al realizar los análisis clínicos correspondientes con las tortugas sanas de su estudio y compararlos con los nuestros, se observaron diferencias en los porcentajes (

#### Anexo G

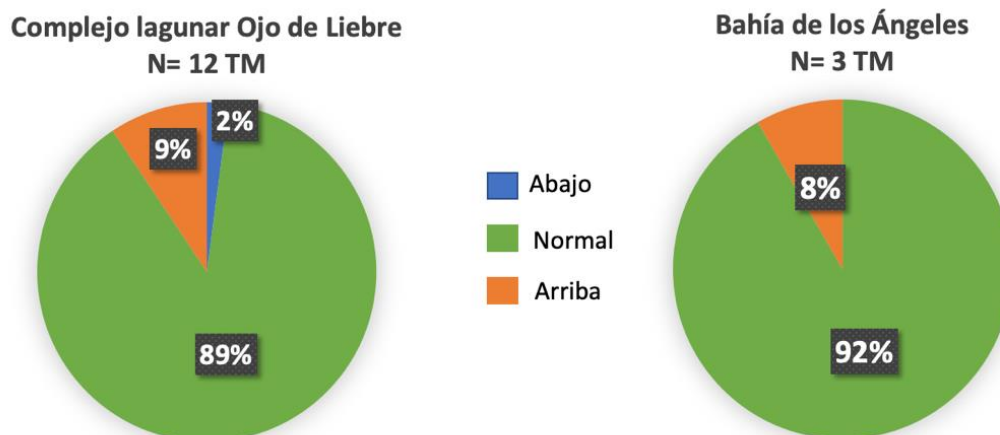
Tabla 13, Figura 17 y 18, Anexo G y H). Por lo tanto, teniendo en cuenta que diferentes autores han mencionado que estas diferencias pueden estar relacionadas con la ubicación geográfica (Flint *et al.*, 2010; Campbell, 2015), se tomó la decisión de utilizar un grupo control de cinco tortugas de CLOL que no presentaron ningún balano en el cuerpo para la obtención de los intervalos de referencia (IR) de los parámetros hemáticos evaluados (Tabla 5). Además, se obtuvieron las estadísticas básicas (Tabla 7, Anexo E) y se realizaron análisis clínicos por individuo para determinar si los valores se encontraban dentro o fuera de estos IR.



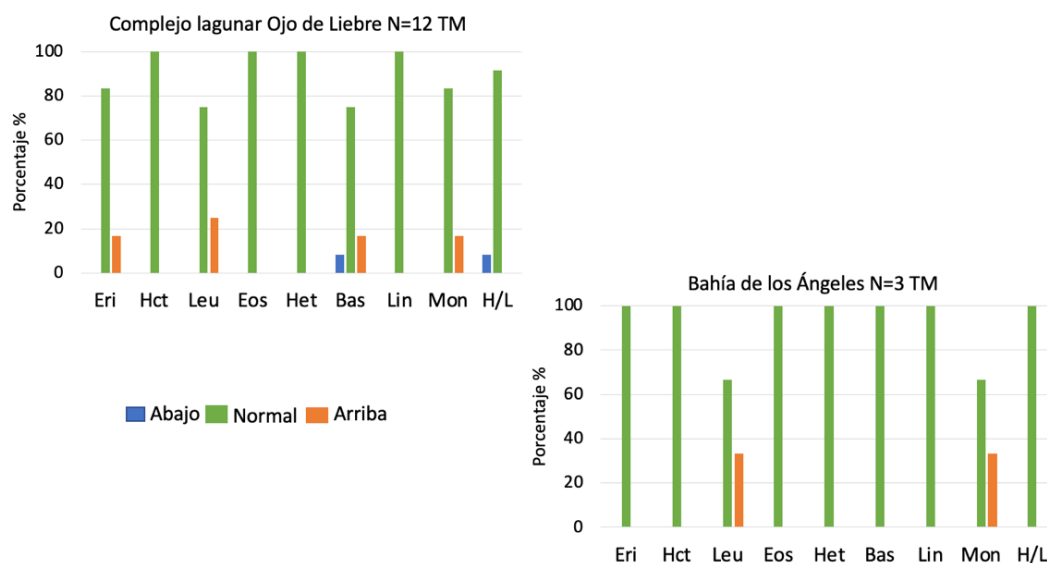
El 89% de la población de *C. mydas* en CLOL se encontró dentro de los IR normales, mientras que el 11% se encontró por arriba o por debajo de los IR (Figura 11). Para BLA, el 92% de las tortugas se encontró dentro de los IR y el 8% restante estuvo por encima de los IR (Figura 11). En resumen, la mayoría de los parámetros hemáticos para ambos sitios se encontraron dentro de los IR normales (Figura 12). En CLOL, menos del 30% de las tortugas marinas (TM) mostraron variaciones en eritrocitos, leucocitos, basófilos, monocitos y H/L. Por otro lado, en BLA, menos del 40% de las TM presentaron un aumento en leucocitos y monocitos (Figura 12).

**Tabla 5.** Intervalos de referencia de los parámetros de biometría hemática en *C. mydas* con balanos entre sitios (CLOL y BLA) y sin balanos de este estudio.

Parámetro	IR CLOL N= 12 TM	IR BLA N=3 TM	IR ausencia de balanos N= 5 TM
Eritrocitos (cels/ $\mu$ l)	$1.35 \times 10^5$ — $5.02 \times 10^5$	$3.66 \times 10^5$ — $5.67 \times 10^5$	$1.48 \times 10^5$ — $5.6 \times 10^5$
Hematocrito (%)	0.18—0.51	0.10—0.50	0.08—0.86
Leucocitos (cels/ $\mu$ l)	0— $7.49 \times 10^4$	$1.71 \times 10^4$ — $5.42 \times 10^4$	$5.94 \times 10^3$ — $4.57 \times 10^4$
Eosinófilos (%)	12.38—33.7	22.7—33.29	0.5—46.7
Heterófilos (%)	11.08—31.25	18.51—20.82	11.68—38.72
Basófilos (%)	15.49—38.17	17—25	18.7—34.1
Linfocitos (%)	6.57—25.09	7.78—22.21	3.68—27.92
Monocitos (%)	6.93—22.23	3.01—29.64	5.36—18.64
H/L	0.56—2.28	0.68—2.04	0.88—2.48



**Figura 11.** Porcentaje (%) de *C. mydas* con valores por arriba y debajo de los intervalos de referencia de parámetros hemáticos obtenidos de tortugas sanas, entre los sitios de estudio.



**Figura 12.** Porcentaje (%) de *C. mydas* por parámetro hemático que presentaron valores por arriba y abajo de lo normal establecido con los intervalos de referencia.

## b) Bioquímica sanguínea

Los resultados obtenidos para bioquímica sanguínea de GOVALAB fueron analizados con 22 pruebas t de Student bayesianas para determinar si existían diferencias entre las medias de cada analito entre los sitios

de BLA y CLOL, y se obtuvo que 15 analitos presentaron un  $FB_{10} > 1$  (Tabla 10, Anexo D). Esta diferencia probabilística entre los sitios BLA y CLOL llevó a realizar los análisis clínicos por separado para cada uno de ellos.

Se utilizaron los trabajos de Labrada Martagón (2011) y Aguirre & Balasz (2000) para la obtención de los intervalos de referencia a partir de sus valores. El trabajo de Labrada Martagón (2011), realizó un estudio sobre la salud de *Chelonia mydas* sanas y lesionadas en Punta Abreojos, laguna San Ignacio y Bahía Magdalena, en Baja California Sur (BCS). Debido a la cercanía de Punta Abreojos con los sitios de estudio de este trabajo, se optó por elegir los valores de referencia de este sitio de una muestra de 20 *C. mydas* sanas, en donde menciona que consideró sanas como la ausencia de enfermedad aparente y sin presencia de balanos.

Por otro lado, Aguirre & Balasz (2000), realizaron un estudio en Hawái, con una muestra de 57 tortugas *C. mydas* con o sin fibropapiloma. Para evaluar si se podían utilizar indistintamente los valores de referencia de ambos trabajos para el presente estudio, se realizaron 14 pruebas t de Student de muestras independientes entre analitos. Los resultados mostraron que solo cinco analitos no presentaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) (

## Anexo C

Tabla 8, Anexo C), por lo que se decidió utilizar los valores de referencia obtenidos por Labrada Martagón (2011) de *C. mydas* sanas como punto de comparación y contraste, considerando su proximidad geográfica con los sitios de estudio de este trabajo.

En la Tabla 6, se presentan los intervalos de referencia de cada analito entre los sitios de estudio y los intervalos de referencia propuestos por Labrada Martagón (2011). Asimismo, se calcularon las estadísticas básicas y el rango de cada analito obtenido (Tabla 12, Anexo F).

Se realizó un análisis clínico utilizando los IR de Labrada Martagón (2011) para cada analito y determinar si los valores obtenidos se encontraban por arriba, por abajo o dentro de los IR. En este estudio, se excluyeron los analitos CK, Ami., BT, CO<sub>2</sub> y Cl del análisis clínico debido a la ausencia de esta información en el estudio de Labrada Martagón (2011), por lo que no se cuenta con IR para estos parámetros. No obstante, se presentan las estadísticas básicas de estos analitos (Tabla 12, Anexo F).

Considerando que al menos un analito de cada tortuga estuviera fuera de los IR, la población de *C. mydas* en CLOL mostraron que el 84% se encontró dentro de los IR normales, mientras que el 10% se encontró por arriba y el 6% por abajo de los IR (Figura 13). En BLA, el 68% de las tortugas se encontraron dentro de los IR normales, el 18% por arriba y el 14% restante por debajo de los IR (Figura 13).

Del total de analito analizados se encontró que, en CLOL cuatro analitos tuvieron una variación con respecto a los IR. El 33% presentaron hiperglucemia y el 67% presentaron aumento en la enzima ALP e hiperalbuminemia y el 100% presentó disminución en creatinina (Figura 13. Porcentaje (%) de tortugas por sitio de estudio que están dentro de los intervalos de referencia de bioquímica sanguínea con base en el estudio de Labrada Martagón (2011).

Figura 14).

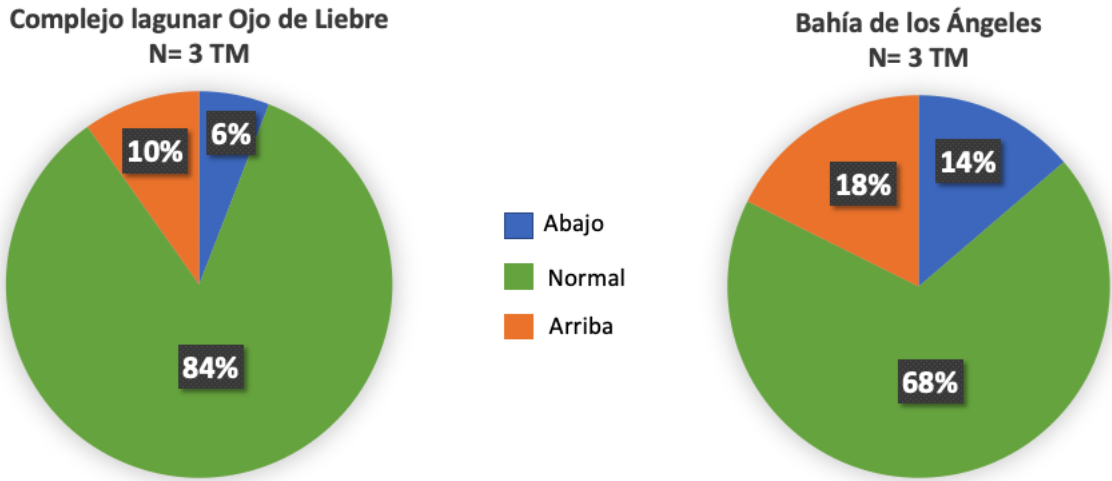
En BLA, las tortugas marinas analizadas presentaron variaciones en diez analitos. El 100% de ellas presentaron hipoglucemia y disminución en creatinina, mientras que el 33% presentó aumento en la enzima AST, en proteínas totales, globulina, la relación A/G y en K; el 67% presentó hiperalbuminemia y elevaciones en la enzima ALT; y el 33% tuvo disminución en los niveles de sodio (Figura 13. Porcentaje (%))

de tortugas por sitio de estudio que están dentro de los intervalos de referencia de bioquímica sanguínea con base en el estudio de Labrada Martagón (2011).

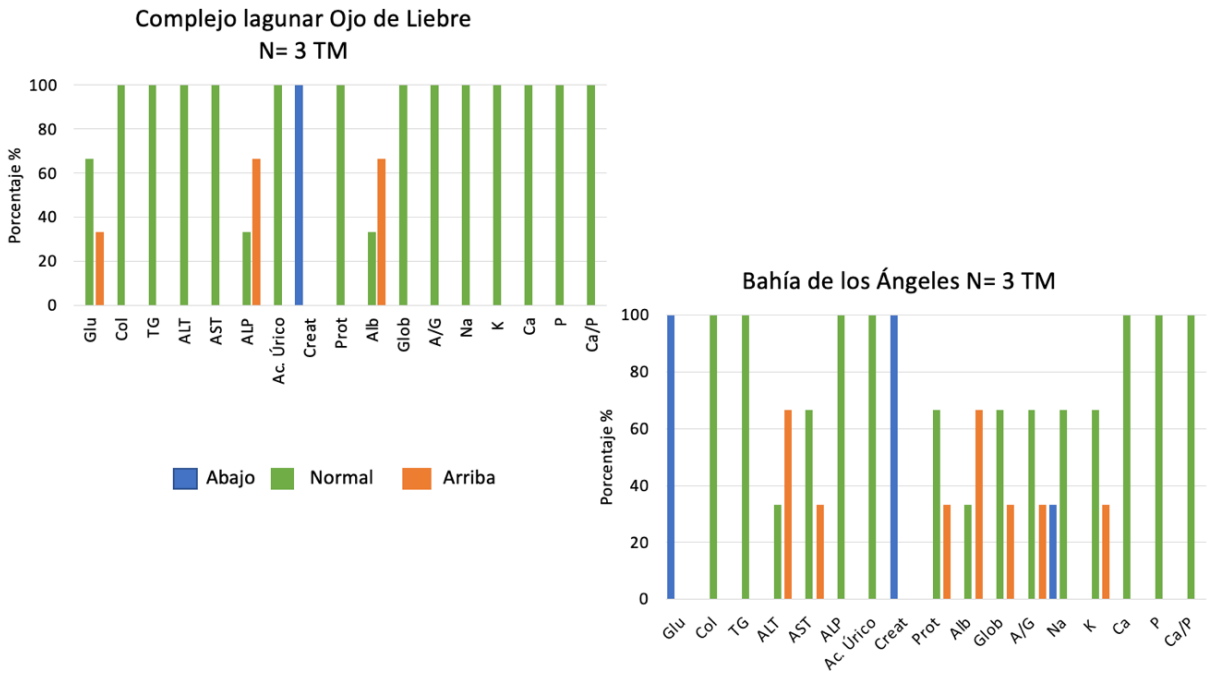
Figura 14).

**Tabla 6.** Intervalos de referencia entre sitios de este estudio por analito (obtenidos de la media  $\pm 2 \sigma$ ) y los IR de Labrada Martagón (2011). NA: No aplica debido a que no se obtuvieron los IR.

Analito	IR's CLOL	IR's BLA	IR's Labrada Martagón, 2011
	N= 3 TM	N= 3 TM	N=20 TM
Glu (mmol/L)	1.47—7.28	1.74—3.41	3.89—8.77
Col (mmol/L)	3.73—6.1	0—7.7	2—6.8
TG (mmol/L)	2.55—4.17	0.56—1.96	0—3.72
ALT (U/L)	0.61—6.72	0—157.24	0—44.66
AST (U/L)	129.22—359.43	0—797.78	29.5—388.5
ALP (U/L)	66.32—92.34	26.35—104.97	0.49—92.05
CK (U/L)	340.46—608.86	0—2055	NA
Ac. úrico ( $\mu\text{mol/L}$ )	45.49—168.42	105.14—370.52	0—427.66
Creat ( $\mu\text{mol/L}$ )	19.24—58.09	26.12—31.34	156.5—198.94
Ami (U/L)	263.29—1418.04	0—2056	NA
Prot (g/L)	58.39—70.20	42.87—100.25	29.3—81.3
Alb (g/L)	20.43—23.09	12.56—25.50	5.34—18.6
Glo (g/L)	35.29—49.77	29.4—75.65	23.9—62.7
A/G (g/L)	0.39—0.63	0.28—0.44	0—1.52
BT ( $\mu\text{mol/L}$ )	1.73—5.24	1.37—7.96	NA
CO <sub>2</sub> (mmol/L)	8.90—21.76	11—15	NA
Cl (mmol/L)	109.31—131.34	108.09—123.23	NA
Na (mmol/L)	147.17—149.48	130.32—156.34	137.22—182.78
K (mmol/L)	4.20—7.92	3.43—10.43	2.1—8.62
Ca (mmol/L)	1.74—2.34	0.91—2.84	1.3—3.14
P (mmol/L)	2.34—3.20	1.78—5.44	0.35—8.27
Ca/P (mmol/L)	0.51—0.96	0—1.21	0.05—0.97



**Figura 13.** Porcentaje (%) de tortugas por sitio de estudio que están dentro de los intervalos de referencia de bioquímica sanguínea con base en el estudio de Labrada Martagón (2011).



**Figura 14.** Porcentaje de tortugas marinas por sitio cuyo resultado por analito estuvo por abajo, normal o arriba de los IR de Labrada Martagón (2011).

## Capítulo 4. Discusión

---

### 4.1 Identificación de balanos

En este estudio se analizaron muestras de tres especies de balanos: *Chelonibia testudinaria*, *Platylepas hexastylus* y *Stephanolepas muricata* empleando guías taxonómicas y dos marcadores moleculares (16S y COI). Los resultados obtenidos confirmaron la presencia de estas tres especies en las tortugas examinadas. Además, mediante el análisis molecular, se identificó una cuarta especie, *Cylindrolepas sinica*. En cuanto al uso de los marcadores moleculares, el marcador mitocondrial 16S demostró ser el más efectivo para lograr una mayor resolución en la identificación taxonómica de los balanos.

En cuanto a la concordancia entre la identificación clásica con la molecular, se encontró una alta congruencia entre ambas. Con relación a la identificación del balano *Chelonibia testudinaria*, ambas identificaciones, así como ambos marcadores moleculares utilizados confirmaron la presencia de dicha especie (Tabla 4). Los árboles filogenéticos agruparon las cuatro secuencias generadas en este estudio con las secuencias de referencia de *Chelonibia testudinaria* en grupos monofiléticos con una probabilidad a posteriori de 1, lo que demuestra robustez en la identificación molecular. Las secuencias de referencia de *Chelonibia testudinaria* que fueron utilizadas en el árbol filogenético del marcador 16S, fueron obtenidas del trabajo de Hayashi *et al.* (2013) el cual se realizó con la misma especie de tortuga marina de este estudio (i.e., *C. mydas*). En el árbol filogenético construido a partir del marcador COI, seis muestras generadas en este estudio formaron un grupo monofilético de alta robustez con la secuencia de referencia de *C. testudinaria* obtenida en el trabajo de Rawson *et al.* (2003) que se realizó en tortuga marina *Caretta caretta*. Por lo cual el análisis filogenético corrobora la identificación de esta especie de balano (*Chelonibia testudinaria*) con ambos marcadores en la tortuga *C. mydas*.

En el caso de la identificación de la especie *Platylepas hexastylus*, las muestras generadas en este estudio formaron un grupo monofilético con la secuencia de referencia de *Platylepas hexastylus* obtenida del trabajo de Rawson *et al.* (2003) con los análisis del marcador 16S. Sin embargo, dicho clado mostro cierta diversidad genética entre las secuencias generadas en este estudio y la secuencia de referencia. La probabilidad a posteriori en el nodo interno que apoya la monofilia del mismo fue de 1, por lo que, la cercanía genética entre las muestras de este estudio y la secuencia de referencia parecieran indicar que efectivamente sí se trata de *Platylepas hexastylus*. En contraste, para el caso del marcador mitocondrial COI, la muestra B1T3BLA identificada como *Platylepas hexastylus* por taxonomía clásica, no fue posible



obtener una identificación molecular debido a que no formó ningún grupo monofilético con ninguna secuencia de referencia. Sin embargo, esta misma muestra se identificó como *Platylepas hexastylus* con el marcador molecular 16S. En resumen, la muestra B1T3BLA, fue identificada por taxonomía clásica y por el marcador molecular 16S como *Platylepas hexastylus*, para el marcador molecular COI la identificación fue inconclusa.

Con respecto a la identificación de la especie *Stephanolepas muricata*, dos de las muestras generadas en este estudio formaron un grupo monofilético con la secuencia de referencia de *Stephanolepas muricata* del trabajo de Hayashi *et al.* (2013), utilizando el marcador mitocondrial 16S. A diferencia del clado con *Platylepas hexastylus*, este grupo monofilético no presentó diversidad genética entre sí y la probabilidad a posteriori fue de 1, por lo que se tiene gran certidumbre en la identificación. En contraste, una muestra (B2T3BLA) identificada como *Stephanolepas muricata* por taxonomía clásica, se identificó como *Cylindrolepas sinica* mediante el análisis filogenético del marcador mitocondrial 16S. Desafortunadamente para el marcador COI, esta misma muestra no pudo ser identificada de manera concluyente y se encontró dentro de un clado con la especie *Megabalanus californicus* obtenida del trabajo de Ashton *et al.* (2016) con una diferencia entre nucleótidos del 19% y una probabilidad a posteriori de 0.6., por lo que esta identificación no es certera. En resumen, la muestra B2T3BLA fue identificada por taxonomía clásica como *Stephanolepas muricata*, por el marcador mitocondrial 16S como *Cylindrolepas sinica* y por COI la identificación fue inconclusa. Dado que el estado de esta particular muestra se encontraba parcialmente destruida, la identificación con taxonomía clásica no fue conclusiva, lo que apoyaría el hecho de que el marcador 16S sí llegó a una identificación más robusta y por ende asumimos es la correcta.

En la muestra B3T3CLOL ocurrió algo similar, la cual se identificó por taxonomía clásica como *Stephanolepas muricata*, al igual que para el marcador mitocondrial 16S al formar un grupo monofilético con la secuencia de referencia del trabajo de Hayashi *et al.* (2013). Sin embargo, para el COI no formó ningún grupo monofilético con ninguna secuencia de referencia. Por lo tanto, el hecho de que con taxonomía clásica y con el marcador 16S se identificó la misma especie, entonces se asume que para esta muestra la identificación corresponde a la especie *Stephanolepas muricata*.

Las discrepancias generadas entre la taxonomía clásica y molecular pueden deberse en parte a la falta de secuencias de referencia para el marcador molecular COI de las especies *Platylepas hexastylus*, *Stephanolepas muricata* y *Cylindrolepas sinica*. Este estudio proporciona estas secuencias para futuros estudios, lo cual es importante para una correcta identificación y análisis de las mismas. Cabe resaltar que la utilización de más de un marcador molecular es importante para corroborar las identificaciones

taxonómicas y así obtener una mayor precisión y certidumbre en la identificación de los grupos taxonómicos.

Las especies de balanos identificadas en este estudio, habían sido reportadas en diversos estudios como epibiontes en la misma especie de tortuga marina, *Chelonia mydas*, usando taxonomía clásica o molecular (Pereira *et al.*, 2006; Alonso, 2007; Celis *et al.*, 2007; Zardus & Balazs, 2007; Hayashi & Tsuji, 2008; Corrales-Gómez & Herrera-Ulloa, 2012; Hayashi *et al.*, 2013; Cheang *et al.*, 2013; Pérez-Losada *et al.*, 2014). Sin embargo, hasta la fecha, solo se ha encontrado un estudio que aborda la identificación de estos epibiontes en proximidad a los sitios de investigación de este trabajo. En el estudio de Gallego *et al.* (2019) se realizó la identificación de los balanos mediante taxonomía clásica en Baja California Sur. Sin embargo, con referente a la identificación de balanos a través de análisis moleculares, no se ha realizado en México, y por lo tanto, en las áreas de estudio de este trabajo. Por lo tanto, el presente estudio representa el primero en llevar a cabo la identificación de los balanos mediante análisis moleculares en BLA y CLOL, así como en México.

## 4.2 Morfométricos, abundancia y cobertura de balanos

Los resultados de este estudio demuestran que existen diferencias en la abundancia de los balanos en *C. mydas* de los sitios BLA y CLOL. En BLA, se observó una mayor abundancia del balano *Chelonibia testudinaria*, mientras que en CLOL predominó la especie *Stephanolepas muricata*. Estas diferencias podrían estar relacionadas con las condiciones ambientales de cada sitio, debido a que durante el monitoreo realizado en CLOL, se registraron temperaturas en la superficie del mar (TSM) más bajas en comparación con BLA. En abril y junio de 2021, la TSM en CLOL fue de 18°C y 20°C, respectivamente, mientras que en BLA en junio de 2021 y octubre de 2022, fue de 24°C y 29°C. En relación con este hallazgo, Kim *et al.* (2022) indicaron que una temperatura más baja en la columna de agua puede disminuir la incidencia de *Chelonibia testudinaria* en *Chelonia mydas*. Además, investigaciones previas realizadas por Zardus & Hadfield (2004), indican que el periodo larval de algunas especies de balanos en regiones templadas es más prolongado en comparación con regiones cálidas, tal como lo menciona Anil *et al.* (2001). Asimismo, las larvas de estas especies de balanos pueden requerir una mayor cantidad de alimento y nutrientes para su desarrollo completo en zonas de temperaturas más bajas y la disponibilidad de estos puede estar limitada (Zardus & Hadfield, 2004).

Por otra parte, se observó que las tortugas de BLA presentaron un mayor porcentaje de índice de cobertura de balanos ( $3.12 \pm 2.96$ ) en comparación con CLOL ( $0.38 \pm 0.46$ ), respaldando la idea de las diferencias en las TSM entre los sitios. Además, se encontraron diferencias significativas en los promedios de las medidas morfométricas de las tortugas entre los sitios. La Profundidad Corporal (PC) en CLOL fue menor ( $29.4 \pm 7.11$ ) en comparación con BLA ( $56.2 \pm 6.79$ ), mientras que el Largo Recto del Caparazón (LRC) en CLOL fue mayor ( $71.74 \pm 11.85$ ) que en BLA ( $68.82 \pm 6.59$ ). Estos resultados indican que las tortugas de CLOL presentan una forma más plana en comparación con las de BLA. Esto sugiere la posibilidad de que exista un efecto hidrodinámico que influya en los patrones de colonización de los balanos, las tortugas de CLOL al presentar una morfología más plana entonces podrían tener un menor asentamiento de los balanos al haber una menor área en la cual colapsar. Estos hallazgos respaldan la idea de que el reclutamiento y la persistencia de los balanos en diferentes sitios anatómicos de la tortuga marina están influenciados por los patrones diferenciales del flujo de agua (Pfaller *et al.*, 2008; Nájera Hillman *et al.*, 2012).

Existen diversos factores que podrían influir en las diferencias observadas en la forma más aplanada de las tortugas de CLOL en comparación con las de BLA. Una posible explicación radica en que las tortugas tienen una tasa de crecimiento más lenta en temperaturas más bajas (Eguchi *et al.*, 2012). Dado que las aguas del Pacífico son generalmente más frías que las del Golfo de California, esta diferencia de temperatura podría respaldar esta hipótesis. Además, se ha observado que las poblaciones de tortugas marinas en estas áreas presentan una composición genética de diferentes orígenes, específicamente de Michoacán y Revillagigedo (Nichols *et al.*, 2003; Dutton *et al.*, 2008; Avilés Chávez, 2018). Sin embargo, aún no se conoce con precisión el porcentaje exacto de la composición genética de cada origen en cada sitio de estudio. Para comprender de manera más específica qué factor o factores podrían estar contribuyendo a estas diferencias observadas, se requiere llevar a cabo un estudio más detallado en las áreas de investigación proporcionando una visión más completa y precisa de las razones detrás de las diferencias observadas en la forma de las tortugas marinas de CLOL y BLA.

En ambos sitios estudiados, se observó que la mayor incidencia de balanos fue en el plastrón de las tortugas marinas; esta tendencia puede estar relacionada con varios factores. Se ha documentado que las tortugas marinas visitan estaciones de limpieza donde peces y camarones les proporcionan servicios de limpieza para deshacerse de epibiontes y parásitos, lo que se conoce como limpieza exógena (Sazima *et al.*, 2010; Schofield *et al.*, 2017; Lim *et al.*, 2020). La mayoría de los peces de arrecife se centran en limpiar el caparazón y la piel de las tortugas mientras estas reposan en el fondo, sin exponer el plastrón (Sazima *et al.*, 2010; Lim *et al.*, 2020).

Además, se ha observado que las tortugas marinas llevan a cabo la autolimpieza utilizando diversos objetos como esponjas y corales (Frick & Mcfall, 2007; Frick & Pfaller, 2013) y esta limpieza tiende a enfocarse más en el caparazón que en otros sitios anatómicos. También se ha demostrado que los balanos tienen preferencia por asentarse en el plastrón de las tortugas, considerando características físicas y bioquímicas en el proceso de selección de su asentamiento larval para facilitar la alimentación filtradora que realizan estos organismos (Yule & Walker, 1987; Alonso, 2007). Por lo tanto, estos factores coinciden con la mayor incidencia observada en el plastrón de las tortugas marinas en este estudio.

En cuanto a la proporción de sexo de las tortugas, en BLA se capturaron más hembras (N=6) que IPH (N=3), y las hembras presentaron una mayor cobertura de balanos. Por otro lado, en CLOL se capturaron más IPH (N=22) que hembras (N=19) y machos (N=8), y fueron los IPH los que presentaron una mayor cobertura de balanos. Estos resultados concuerdan con un estudio previo realizado por Lim *et al.* (2020), donde se encontró que las hembras presentaban una mayor cobertura de balanos, seguidas en segundo lugar por los juveniles. En dicho estudio se mencionó que el número de balanos incrementa con relación al tamaño de la tortuga, debido a la disponibilidad de espacio libre para su asentamiento. Esto respalda los resultados obtenidos en el presente estudio, donde las hembras son más grandes en comparación con los inmaduros potencial hembra.

Además, como se mencionó anteriormente, se ha documentado que las larvas de balanos consideran características físicas y bioquímicas para su asentamiento en diferentes zonas corporales de las tortugas en relación a la competencia interespecífica y la practicidad de facilitar su alimentación filtradora (Yule & Walker, 1987; Alonso, 2007; Lim *et al.*, 2020). Este proceso de selección también podría estar relacionado con el sexo y el estadio ontogénico de las tortugas. Asimismo, al considerar la proporción entre machos y hembras (M:H), se ha encontrado que para estos sitios la proporción está fuertemente sesgada hacia las hembras (1:3) (Hernández-Cruz, 2013; Avilés Chávez, 2018). Por lo tanto, al haber más hembras que machos, es posible que exista una mayor presencia de balanos en las hembras. Sin embargo, hasta la realización de este trabajo, no se ha encontrado información que respalde de manera concluyente estas ideas.

### **4.3 Parámetros sanguíneos**

Copete-Sierra (2013), menciona que los recuentos celulares en sangre no deben realizarse después de cuatro días de almacenamiento, debido al riesgo de ocasionar hemólisis en eritrocitos. Otros autores

reportan la realización del conteo eritrocitario en un plazo no mayor a seis horas después de la toma de muestra (Bolten & Bjorndal, 1992; Aguirre & Balazs, 2000). Los resultados de este estudio indicaron que no se observó una hemólisis considerable en relación con el conteo eritrocitario, incluso después del tiempo transcurrido desde la toma de muestra hasta el análisis en laboratorio (cuatro a cinco días), el cual fue respaldado por el análisis estadístico bayesiano ( $FB_{10} < 1$ ).

Con relación a la presencia de balanos, se observaron variaciones en los parámetros analizados para la biometría hemática en comparación con el grupo control (sin presencia de balanos). Específicamente se encontraron mayores variaciones en los parámetros de las tortugas del CLOL en comparación con BLA, aunque estas variaciones fueron mínimas en términos de porcentaje considerando el tamaño de la muestra analizada en cada sitio. Sin embargo, un porcentaje de la población de tortugas en CLOL presentó eritrocitosis, leucocitosis, basopenia, basofilia, monocitosis y una disminución en la relación H/L. Aunque este porcentaje es bajo (20% aproximadamente), representando únicamente dos tortugas de un total de 12 examinadas. En el caso de BLA, solo un porcentaje reducido de la población presentó leucocitosis, específicamente monocitosis, lo cual corresponde a una tortuga de un tamaño de muestra de tres. Estos resultados podrían estar relacionados con la mayor presencia de la especie *Stephanolepas muricata* en CLOL.

Estudios previos han mencionado que esta especie puede causar mayor daño a la salud de las tortugas (*i.e.*, picaduras, laceraciones y sangrado) (Frick *et al.*, 2002). Aunque las variaciones observadas no fueron significativas en magnitud, podría ser que estas diferencias en la salud de las tortugas están relacionadas con la presencia de balanos. Sin embargo, es importante destacar que existen otros factores, que también pueden contribuir a las variaciones en estos parámetros. Por ejemplo, se ha documentado monocitosis en tortugas que presentan una infección crónica (*e.g.*, fibropapiloma), daño renal o en organismos de edad avanzada (Aguirre & Balazs, 2000; Tristan, 2008).

En el caso de las tortugas analizadas en este estudio, no presentaron tumores característicos de fibropapiloma, por lo que se podría descartar esta opción, sin embargo, la edad, daño renal u otros factores adicionales a la presencia de balanos no pueden ser descartados. En relación con la eritrocitosis se ha documentado en cuadros de deshidratación, parasitismo, migración e infecciones (Aguirre *et al.*, 1995; Tristan, 2008; Suarez-Yana *et al.*, 2016). Además, la eritrocitosis en tortugas marinas puede ser multifactorial y estar influenciada por la sinergia de diversos factores (Aguirre *et al.*, 1995).

En los analitos analizados en la bioquímica sanguínea, se observaron variaciones en diez de ellos en BLA y cuatro en CLOL en comparación con los valores de referencia de *C. mydas* sanas obtenidos de Labrada Martagón (2011) en Punta Abreojos, BCS (Figura 13. Porcentaje (%) de tortugas por sitio de estudio que están dentro de los intervalos de referencia de bioquímica sanguínea con base en el estudio de Labrada Martagón (2011).

Figura 14). Ambos sitios presentaron una disminución en los niveles de creatinina e hiperalbunemia. Sin embargo, hubo hiperglicemia y aumento en la enzima ALP en CLOL. En BLA se observó un aumento en las enzimas AST y ALT, en las globulinas, en la relación A/G y en los niveles de potasio, así como una disminución en los niveles de Na y de glucosa. Estas variaciones podrían estar relacionadas con la mayor cobertura de balanos en el sitio BLA, especialmente la especie *Chelonibia testudinaria*.

Aunque la cobertura de balanos en las tortugas de ambos sitios no se considera grande, se observaron variaciones mínimas en los analitos analizados. Por lo tanto, es posible que exista una correlación entre la presencia de balanos, aunque es necesario considerar otros factores tanto intrínsecos como extrínsecos que podrían estar involucrados en estas variaciones. Entre los factores intrínsecos se incluyen la especie, el sexo, la genética, la edad y estadio ontogénico (Campbell, 2015). Por otro lado, los factores extrínsecos incluyen la estación, la temperatura, el hábitat, la dieta, el sitio de venopunción y el estrés asociado con el cautiverio (Campbell, 2015).

En lo referente a los factores intrínsecos, los resultados de este estudio se contrastaron con IR de la misma especie de tortuga marina (*C. mydas*). Sin embargo, debido al tamaño reducido de la muestra obtenida para el análisis sanguíneo, no se llevó a cabo una comparación entre el sexo y el estadio ontogénico de esta especie.

En cuanto a los factores extrínsecos, en el caso de CLOL, se ha mencionado que la dieta de esta especie de tortuga marina es de algas y pastos marinos como *Zostera marina* (CONANP, 2016; DOF, 2016). Por otro lado, en BLA se ha documentado que se alimentan principalmente de algas rojas e invertebrados marinos como cefalópodos o esponjas (Seminoff, 2000; Seminoff *et al.*, 2002; CONANP, 2014). Sin embargo, la dieta de *C. mydas* está fuertemente influenciada por la disponibilidad y calidad del alimento (Labrada Martagón *et al.*, 2010; Avilés Chávez, 2018). Esto implica que la composición de su dieta puede fluctuar en respuesta a cambios estacionales, cambios en la disponibilidad de especies alimenticias y alteraciones en los ecosistemas costeros (Seminoff *et al.*, 2002; Flint *et al.*, 2010; Labrada Martagón, 2011) .

Por ejemplo, existen diferencias en el valor nutricional entre pastos e invertebrados marinos, en el caso de los cefalópodos, como el pulpo, son una excelente fuente de proteínas, con aproximadamente un 16% de contenido proteico (Domínguez *et al.*, 2004). En contraste, los pastos marinos, como la especie *Zostera marina*, presentan un contenido proteico máximo de tan solo el 2%, predominando en su composición los carbohidratos (Cabello-Pasini *et al.*, 2004). Por lo tanto, las variaciones encontradas en el análisis sanguíneo de las tortugas de este estudio también podrían estar relacionadas con este factor extrínseco, es decir, las variaciones en la composición y calidad del alimento. Estas fluctuaciones en la dieta pueden tener un impacto directo en la fisiología y los perfiles sanguíneos de *C. mydas*.

Otro factor extrínseco son las condiciones ambientales de cada sitio. Por ejemplo, en este estudio se encontró una temperatura de la superficie del mar más elevada en BLA (24°C y 29°C) en comparación con CLOL (18°C y 20°C). Esta diferencia de temperatura puede tener un impacto en el metabolismo de las tortugas marinas, debido a que estas especies son organismos ectotérmicos, lo que implica que su temperatura corporal está determinada por el entorno en el que se encuentran (Lutz & Musick, 1997; Seminoff, 2000). En consecuencia, se han observado cambios en los parámetros bioquímicos analizados que pueden estar relacionados con las fluctuaciones en este factor extrínseco. Por ejemplo, se ha registrado hipoglucemia, aumento de potasio (K) y disminución de sodio (Na) en relación con fluctuaciones en la temperatura del mar (Montilla *et al.*, 2008). Estas observaciones concuerdan con los resultados obtenidos en el sitio BLA, donde se encontraron tortugas con estas condiciones específicas.

Hasta la realización de este estudio, el único trabajo que aborda el efecto de la salud en tortugas marinas en relación con los balanos utilizando parámetros hematológicos es realizado por Stamper *et al.* (2005) en Carolina del Norte (EUA). Dicha investigación, no encontró una correlación significativa entre la carga de balanos y algún parámetro hematológico, por lo que se sugirió que las variaciones identificadas podrían estar relacionadas con la migración de las tortugas. Es importante destacar que dicha investigación se centró exclusivamente en la cobertura epibiótica del caparazón de las tortugas. Además, Frick *et al.* (2011), mencionan la posibilidad de una mediación química asociada entre las tortugas y la especie *Stephanolepas muricata*, sin embargo, no se han realizado estudios que respalden esta hipótesis.

Los resultados de este estudio indican que, incluso dentro de la misma especie (*C. mydas*) y el mismo estadio ontogénico (juveniles), existen diferencias en los valores de referencia. Por ejemplo, se han observado discrepancias entre los resultados obtenidos en el estudio de Aguirre & Balasz (2000) en Hawái y el trabajo de Labrada Martagón (2011) en Punta Abreojos, BCS. Esta variabilidad en los valores de

referencia en las tortugas marinas está asociada diversos factores intrínsecos y extrínsecos como se había mencionado anteriormente (Flint *et al.*, 2010; Labrada Martagón, 2011; Campbell, 2015).

Para el contraste de los resultados de biometría hemática, inicialmente se decidió utilizar los intervalos de referencia proporcionados por Aguirre *et al.* (1995). Sin embargo, al llevar a cabo el análisis, se observó que la mayoría de los resultados de los parámetros se encontraban por arriba de estos intervalos en ambos sitios (Figura 17 y 18, Anexo G y H). Considerando los factores que influyen en las variabilidades, el estudio de Aguirre *et al.* (1995) se llevó a cabo en Hawái, una ubicación geográficamente distante de la zona de estudio en este trabajo. Por lo tanto, las diferencias en el tipo de hábitat entre los dos lugares, podrían estar relacionadas con estas variaciones, lo cual genera una gran complejidad y variabilidad en la determinación de los intervalos de referencia.

Además, otra discrepancia encontrada durante la revisión de la literatura se refiere a la clasificación de los leucocitos, debido a que existe una gran variabilidad en las características de estas células en las tortugas marinas, lo que pudo observarse en *C. mydas*. Esto conduce a diferentes resultados y, por lo tanto, a diferentes análisis y diagnósticos clínicos en las tortugas marinas. También se observaron discrepancias en los criterios utilizados para asignar el estadio ontogénico.

Por ejemplo, el punto de corte para definir las categorías de juveniles e inmaduros difiere entre diversos autores, lo que destaca la necesidad de estandarizar estos criterios. Además, es importante realizar un mayor número de parámetros de biometría hemática (*e.g.*, hemoglobina, volumen corpuscular medio, recuento plaquetario), de bioquímica sanguínea (*e.g.*, amilasa, cloro, creatin cinasa, bilirrubina) u otros análisis (*e.g.*, análisis de heces, radiografías) en las tortugas marinas, especialmente en *C. mydas*, para establecer los valores de referencia tomando en cuenta un mayor número de organismos, lo que permitiría una evaluación más precisa de la salud de estos organismos.

En resumen, dada la notable variabilidad con los parámetros sanguíneos observada en esta especie, resulta necesario llevar a cabo estudios que comparen poblaciones con un alto grado de similitud en los parámetros mencionados previamente. Esto permitiría obtener conclusiones más sólidas y generalizadas sobre la salud de las tortugas marinas. Además, se destaca la importancia de aumentar el tamaño de muestra para obtener un intervalo de referencia más representativo de la población en los sitios de estudio siendo fundamental fomentar la realización de investigaciones más especializadas en estos sitios.



## Capítulo 5. Conclusiones

---

En este estudio se analizó la presencia de cuatro especies de balanos (*Chelonibia testudinaria*, *Platylepas hexastylus*, *Stephanolepas muricata* y *Cylindrolepas sinica*) en tortugas marinas, utilizando guías taxonómicas y marcadores moleculares (16S y COI). Los resultados confirmaron la presencia de estas especies en las tortugas examinadas y demostraron la eficacia del marcador molecular 16S para una identificación taxonómica más precisa. Hubo una alta concordancia entre la identificación clásica y molecular en el caso de *Chelonibia testudinaria* y *Stephanolepas muricata*, sin embargo, se encontraron algunas discrepancias en la identificación de *Platylepas hexastylus* y *Cylindrolepas sinica*, especialmente con el marcador COI debido a la falta de secuencias de referencia. Se destaca la importancia de utilizar múltiples marcadores moleculares y obtener más secuencias de referencia para mejorar la precisión en la identificación taxonómica. Este estudio proporciona 20 nuevas secuencias de referencia para futuras investigaciones de las especies de balanos *Chelonibia testudinaria*, *Platylepas hexastylus*, *Stephanolepas muricata* y *Cylindrolepas sinica*, las cuales serán añadidas al repositorio genético GenBank. Además, se resalta que, aunque algunas de estas especies han sido reportadas previamente en otros estudios, este trabajo representa el primero en aplicar la identificación molecular de estos balanos en los sitios específicos de investigación y de México.

Este estudio reveló que existen diferencias en la abundancia de balanos en tortugas marinas verdes (*C. mydas*) entre los sitios de estudio BLA y CLOL. En BLA, se encontró una mayor abundancia de la especie *Chelonibia testudinaria*, mientras que en CLOL predominó la especie *Stephanolepas muricata*. Estas diferencias pueden estar relacionadas con las diferentes condiciones ambientales de cada sitio, como la temperatura de la superficie del mar registradas durante el monitoreo. Las temperaturas más bajas en CLOL podrían haber disminuido la incidencia de *Chelonibia testudinaria*. Además, se observaron diferencias en las medidas morfométricas de las tortugas entre los sitios, lo que sugiere que la forma corporal puede influir en los patrones de colonización de los balanos. Las tortugas de CLOL presentaron una forma más plana, lo que podría resultar en un menor asentamiento de los balanos en comparación con las tortugas de BLA. Es importante resaltar que este estudio representa el primero en México en demostrar un análisis comparativo entre ambos sitios sobre la incidencia de especies de balanos, considerando la TSM y la forma de las tortugas.

La mayor incidencia de balanos se encontró en el plastrón de las tortugas marinas en ambos sitios de estudio. Esto puede estar relacionado con la preferencia de los balanos por asentarse en el plastrón, así

como con la falta de exposición de esta área durante la limpieza exógena y la autolimpieza de las tortugas, lo cual es un patrón que ya se ha documentado.

Respecto a la proporción de sexo de las tortugas, se observó que las hembras presentaban una mayor cobertura de balanos en ambos sitios. Esto puede estar relacionado con el tamaño de las tortugas, debido a que las hembras son generalmente más grandes y proporcionan más espacio para el asentamiento de los balanos. Además, la mayor incidencia de balanos en hembras podría estar relacionado con la mayor proporción de hembras frente a los machos (3:1) en los sitios de estudio. No obstante, se necesitan realizar más investigaciones para respaldar de manera concluyente estas ideas.

Los resultados de este estudio evidencian la ausencia de una hemólisis con relación al recuento eritrocitario, así como variaciones en los parámetros analizados para la biometría hemática y la bioquímica sanguínea con la presencia de balanos en las tortugas. Sin embargo, también estas variaciones pueden ser influenciadas por factores como la dieta de las tortugas, las condiciones ambientales y otros factores intrínsecos y extrínsecos.

Para una comprensión más sólida de la salud de las tortugas marinas, especialmente de la especie *C. mydas*, se requiere llevar a cabo más estudios que contrasten poblaciones similares y analicen un mayor número de parámetros tratando de contrarrestar factores intrínsecos y extrínsecos que pueden estar relacionados. Esto permitirá obtener una visión más completa y precisa de la fisiología de estas especies. Además, es necesario realizar estudios adicionales sobre la composición y variabilidad de la dieta en diferentes poblaciones de *C. mydas* para comprender mejor su ecología trófica y su relación con la salud y el bienestar de las poblaciones locales.

Asimismo, se destaca la importancia de considerar las condiciones ambientales, como la TSM, que pueden tener un impacto en los perfiles bioquímicos y fisiológicos de las tortugas marinas. Estos hallazgos resaltan la necesidad de investigaciones adicionales para comprender mejor las respuestas adaptativas de las tortugas marinas a los cambios ambientales y cómo estos cambios pueden afectar su fisiología y bienestar.

En conclusión, este estudio proporciona una base inicial para comprender la salud de las tortugas marinas y se proporcionan valores de referencia para los sitios de estudio, teniendo en cuenta la presencia o ausencia de balanos. No obstante, se requiere de un mayor esfuerzo de investigación para profundizar en estos aspectos y abordar las complejidades de la fisiología y ecología de estas especies icónicas.

## Literatura citada

---

- Aguirre, A. A., & Balazs, G. H. (2000). Blood biochemistry values of green turtles, *Chelonia mydas*, with and without fibropapillomatosis. *Comparative Haematology International*, 10, 132–137. <https://doi.org/10.1007/s005800070004>
- Aguirre, A. A., Balazs, G. H., Spraker, T. R., & Gross, T. S. (1995). Adrenal and hematological responses to stress in juvenile green turtles (*Chelonia mydas*) with and without fibropapilloma. *Physiological Zoology*, 68(5), 831–854. <https://doi.org/10.1086/physzool.68.5.30163934>
- Aguirre, A. A., & Lutz, P. L. (2004). Marine turtles as sentinels of ecosystem health: Is fibropapillomatosis an Indicator? *EcoHealth*, 1(3), 275–283. <https://doi.org/10.1007/s10393-004-0097-3>
- Alonso, L. (2007). *Epibiontes asociados a la tortuga verde juvenil (Chelonia mydas) en el área de alimentación y desarrollo de cerro verde, Uruguay* [Tesis de Licenciatura en Ciencias Biológicas]. Universidad de Buenos Aires. [http://www.seaturtle.org/PDF/AlonsoL\\_2007\\_Thesis.pdf](http://www.seaturtle.org/PDF/AlonsoL_2007_Thesis.pdf)
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215(3), 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Anderson, E. T., Harms, C. A., Stringer, E. M., & Cluse, W. M. (2011). Evaluation of hematology and serum biochemistry of cold-stunned green sea turtles (*Chelonia mydas*) in North Carolina, USA. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 42(2), 247–255. <https://doi.org/10.1638/2010-0217.1>
- Anil, A. C., Desai, D., & Khandeparker, L. (2001). Larval development and metamorphosis in *Balanus amphitrite* Darwin (Cirripedia; Thoracica): significance of food concentration, temperature and nucleic acids. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* Ž, 263, 125–141. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(01\)00280-5](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(01)00280-5)
- Anil, A. C., Desai, D. V., Khandeparker, L., & Gaonkar, ChetanA. (2012). Barnacles and their significance in biofouling. *Operational and Environmental Consequences of Large Industrial Cooling Water Systems*, 65–93. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-1698-2>
- Ashton, G. V., Davidson, I. C., Geller, J., & Ruiz, G. M. (2016). Disentangling the biogeography of ship biofouling: barnacles in the Northeast Pacific. *Global Ecology and Biogeography*, 25(6), 739–750. <https://doi.org/10.1111/geb.12450>
- Avilés Chávez, J. A. (2018). *Ecología poblacional de la tortuga verde (Chelonia mydas) en dos zonas de alimentación de la península de Baja California, México* [Tesis de Maestría en Ciencias]. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. [https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/2077/1/Tesis\\_Avil%C3%A9s\\_Ch%C3%A1vez\\_Jos%C3%A9\\_Ad%C3%A1n\\_17\\_abril\\_2018.pdf](https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/2077/1/Tesis_Avil%C3%A9s_Ch%C3%A1vez_Jos%C3%A9_Ad%C3%A1n_17_abril_2018.pdf)
- Bartlett, J. M. S., & Stirling, D. (2003). PCR Protocols. En *Methods in Molecular Biology* (2a ed., Vol. 226). Humana Press. <https://link.springer.com/book/10.1385/1592593844>
- Beden, E., & Karahan, A. (2021). Phylogeographic resolution of the barnacle (*Chelonibia testudinaria*) from the north-eastern Mediterranean loggerhead sea turtles epibiont community. *Genetics of Aquatic Organisms*, 5(1), 1–8. [https://doi.org/10.4194/2459-1831-v5\\_1\\_01](https://doi.org/10.4194/2459-1831-v5_1_01)

- Bolten, A. B., & Bjorndal, K. A. (1992). Blood profiles for a wild population of green turtles (*Chelonia mydas*) in the southern Bahamas: size-specific and sex-specific relationships. *Journal of wildlife diseases*, 28(3), 407–413. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-28.3.407>
- Brito Carrasco, B. D. (2016). *Descripción de algunos aspectos hematológicos y bioquímicos sanguíneos de la colonia de tortuga negra (Chelonia mydas) establecida en Bahía Salado, región de Atacama*. [Tesis de Licenciatura de Médico Veterinario]. Universidad de Chile. <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/142729/Descripcion-de-algunos-aspectos-hematologicos-y-bioquimicos-sanguineos-de-la-colonia-de-tortuga-negra-%28Chelonia-mydas%29-establecida-en-Bahia-Salado-region-de-Atacama.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- Cabello-Pasini, A., Muñoz-Salazar, R., & Ward, D. H. (2004). Caracterización bioquímica del pasto marino *Zostera marina* en el límite sur de su distribución en el Pacífico Norte. *Ciencias Marinas*, 30(1A), 21–34. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-38802004000100002&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-38802004000100002&lng=es&tlng=es).
- Camiñas, J. A., Kaska, Y., Hochscheid, S., Casale, P., Panagopoulou, A., Báez, J. C., Otero, M. M., Numa, C., & Alcázar, E. (2020). Conservation of marine turtles in the Mediterranean Sea. En *International Union for Conservation of Nature*. [https://www.iucn.org/sites/default/files/2022-06/conservation\\_of\\_mediterranean\\_turtles\\_in\\_the\\_mediterranean\\_sea\\_en.pdf](https://www.iucn.org/sites/default/files/2022-06/conservation_of_mediterranean_turtles_in_the_mediterranean_sea_en.pdf)
- Campbell, T. W. (2015). *Exotic animal hematology and cytology* (Fourth). Wiley Blackwell. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/9781119660293.fmatter>
- Celis, A., Rodríguez-Almaráz, G. & Álvarez, F. (2007). Los cirrípedos torácicos (Crustacea) de aguas someras de Tamaulipas, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 78(002), 325–337. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S187034532007000200010&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S187034532007000200010&lng=es&tlng=es)
- Cheang, C. C., Tsang, L. M., Chu, K. H., Cheng, I. J., & Chan, B. K. K. (2013). Host-Specific phenotypic plasticity of the turtle barnacle *Chelonibia testudinaria*: a widespread generalist rather than a specialist. *PLoS ONE*, 8(3), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057592>
- Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP). (2014). Programa de manejo Reserva de la Biosfera Zona Marina Bahía de Los Ángeles, Canales de Ballenas y de Salsipuedes. Comisión de Áreas Naturales Protegidas. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, México. [https://www.bajacalifornia.gob.mx/Documentos/sest/desarrollo\\_sustentable/Programas\\_Proyectos/Manejo\\_areas\\_naturales\\_protegidas/BAHIA\\_LOS\\_ANGELES/Libro\\_Programa\\_Manejo\\_2014\\_RB.pdf](https://www.bajacalifornia.gob.mx/Documentos/sest/desarrollo_sustentable/Programas_Proyectos/Manejo_areas_naturales_protegidas/BAHIA_LOS_ANGELES/Libro_Programa_Manejo_2014_RB.pdf)
- Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP). (2016). Programa de manejo Reserva de la Biosfera Complejo Lagunar Ojo de Liebre. Comisión de Áreas Naturales Protegidas. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, México. [https://simec.conanp.gob.mx/pdf\\_libro\\_pm/114\\_libro\\_pm.pdf](https://simec.conanp.gob.mx/pdf_libro_pm/114_libro_pm.pdf)
- Copete-Sierra, M. (2013). Aspectos generales de la evaluación hematológica en fauna silvestre y no convencional. *Memorias de las Conferencia Interna en Medicina y Aprovechamiento de Fauna Silvestre, Exótica y no Convencional*, 1, 17–55. <https://www.revistas.veterinariosvs.org/index.php/cima/article/view/126>
- Cornejo-Romero, A., Serrato-Díaz, A., Rendón-Aguilar, B., & Rocha-Munive, M. G. (2014). *Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos* (1a ed.). Secretaría de Medio

Ambiente y Recursos Naturales. Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.  
[https://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con4\\_uibd.nsf/770DBBBD5ADF759505257D4900580FE6/\\$FILE/HerramientasMolecularesAplicadasEcolog%C3%ADa.pdf](https://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con4_uibd.nsf/770DBBBD5ADF759505257D4900580FE6/$FILE/HerramientasMolecularesAplicadasEcolog%C3%ADa.pdf)

- Corrales-Gómez, N., & Herrera-Ulloa, A. (2012). First record of the turtle barnacle *Stephanolepas muricata* from the pacific coast of Costa Rica. *Marine Turtle Newsletter*, 135, 1–9.  
[https://www.researchgate.net/publication/292607680\\_First\\_Record\\_of\\_the\\_Turtle\\_Barnacle\\_Stephanolepas\\_muricata\\_from\\_the\\_Pacific\\_Coast\\_of\\_Costa\\_Rica](https://www.researchgate.net/publication/292607680_First_Record_of_the_Turtle_Barnacle_Stephanolepas_muricata_from_the_Pacific_Coast_of_Costa_Rica)
- Da Silva, S. A., Kavalco, K. F., & Pazza, R. (2012). Uso do sequenciamento de genes mitocondriais na identificação de espécies. En *Evolução e Conservação da Biodiversidade* (1a ed., Vol. 2, Número 2, pp. 104–109). Araucaria Comunicacao Integrada. <https://doi.org/10.7902/ecb.v3i2.8>
- Deem, S. L., Norton, T. M., Mitchell, M., Segars, A., Alleman, A. R., Cray, C., Poppenga, R. H., Dodd, M., & Karesh, W. B. (2009). Comparison of blood values in foraging, nesting, and stranded loggerhead turtles (*Caretta caretta*) along the coast of Georgia, USA. *Journal of Wildlife Diseases*, 45(1), 41–56.  
<https://doi.org/10.7589/0090-3558-45.1.41>
- Dirckx, J. H. (2001). *Stedman's concise medical dictionary for the health professions* (4a ed.). Lippincott Williams & Wilkins. <https://doi.org/10.1177/011542650201700145>
- Diario Oficial de la Federación (DOF). (2013). Programa de Manejo del Área Natural Protegida Reserva de la Biosfera, la zona marina conocida como Bahía de los Ángeles, Canales de Ballenas y Salsipuedes. En *la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales*.  
[https://dof.gob.mx/nota\\_detalle\\_popup.php?codigo=5320669](https://dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5320669)
- Diario Oficial de la Federación (DOF). (2016). Programa de Manejo del Área Natural Protegida con carácter de Reserva de la Biosfera Complejo Lagunar Ojo de Liebre. *Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales*, México.  
[https://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5447072&fecha=08/08/2016#gsc.tab=0](https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5447072&fecha=08/08/2016#gsc.tab=0)
- Domínguez, P. M., Gaxiola Cortés, G., & Rosas Vázquez, C. (2004). Alimentación y nutrición de moluscos cefalópodos: avances recientes y perspectivas futuras. *Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*, 575–616.  
[https://www.uanl.mx/utilerias/nutricion\\_acuicola/VII/archivos/30PedroDomingues.pdf](https://www.uanl.mx/utilerias/nutricion_acuicola/VII/archivos/30PedroDomingues.pdf)
- Dutton, P. H., LeRoux, R., Murakawa, S., Zarate, P., & Sarti-Martíne, L. (2008). Composition of Hawaiian green turtle foraging aggregations: mtDNA evidence for a distinct regional population. *Endangered Species Research*, 5, 37–44. <https://doi.org/10.3354/esr00101>
- Eckert, K. L., Bjorndal, K. A., Abreu-Grobois, F. A., & Donnelly, M. (2000). *Técnicas de investigación y manejo para la conservación de las tortugas marinas* (4a ed.). Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/CSE. <https://portals.iucn.org/library/sites/library/files/documents/1999-076-Es.pdf>
- Eguchi, T., Seminoff, J. A., LeRoux, R. A., Prosperi, D., Dutton, D. L., & Dutton, P. H. (2012). Morphology and growth rates of the Green Sea Turtle (*Chelonia mydas*) in a northern-most temperate foraging ground. *Herpetológica*, 68(1), 76–87. <https://doi.org/10.1655/HERPETOLOGICA-D-11-00050.1>
- Ellison, A. M. (1996). An introduction to bayesian inference for ecological research and environmental decision-making. *Ecological Applications*, 6(4), 1036–1046.  
[https://harvardforest.fas.harvard.edu/sites/default/files/ellison-pubs/1996/ellison\\_1996.pdf](https://harvardforest.fas.harvard.edu/sites/default/files/ellison-pubs/1996/ellison_1996.pdf)

- Ferrando, V. (2010). *Bioquímica sanguínea de la tortuga verde juvenil (Chelonia mydas) en Cerro Verde, Rocha, Uruguay* [Tesis de Doctor en Ciencias Veterinarias]. Universidad de la República de Uruguay. <https://hdl.handle.net/20.500.12008/19880>
- Flint, M., Morton, J. M., Limpus, C. J., Patterson-Kane, J. C., & Mills, P. C. (2010). Reference intervals for plasma biochemical and hematologic measures in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) from Moreton bay Australia. *Journal of Wildlife Diseases*, 46(3), 731–741. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-46.3.731>
- Flint, M., Morton, J. M., Limpus, C. J., Patterson-Kane, J. C., Murray, P. J., & Mills, P. C. (2010). Development and application of biochemical and hematological reference intervals to identify unhealthy green sea turtles (*Chelonia mydas*). *Veterinary Journal*, 185(3), 299–304. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.06.011>
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial Cytochrome C oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular marine biology and biotechnology*, 3(5), 294–299. <https://doi.org/10.1071/ZO9660275>
- Frick, M. G., & Mcfall, G. (2007). Self-grooming by loggerhead turtles in Georgia, USA. *Marine Turtle Newsletter*, 118, 1–15. <http://www.seaturtle.org/mtn/archives/mtn118/mtn118p15.shtml>
- Frick, M. G., Williams, K. L., & Veljacic, D. C. (2002). New records of epibionts from loggerhead sea turtles *Caretta caretta* (L.). *Bulletin of Marine Science*, 70(3), 953–956. [https://www.researchgate.net/publication/263248295\\_New\\_records\\_of\\_epibionts\\_from\\_loggerhead\\_sea\\_turtles\\_Caretta\\_caretta\\_L](https://www.researchgate.net/publication/263248295_New_records_of_epibionts_from_loggerhead_sea_turtles_Caretta_caretta_L)
- Frick, M. G., Zardus, J. D., Ross, A., Senko, J., Montano Valdez, D., Bucio Pacheco, M., & Sosa Cornejo, I. (2011). Novel records and observations of the barnacle *Stephanolepas muricata* (Cirripedia: Balanomorpha: Coronuloidea); including a case for chemical mediation in turtle and whale barnacles. *Journal of Natural History*, 45(11), 629–640. <https://doi.org/10.1080/00222933.2010.534563>
- Frick, M., & Pfaller, J. (2013). Sea Turtle Epibiosis. En *The Biology of Sea Turtles* (Vol. 3, pp. 304–347). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b13895-16>
- Furman, E. R., & Yule, A. B. (1990). Self-fertilisation in *Balanus improvisus* Darwin. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 144(2–3), 235–239. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(90\)90030-G](https://doi.org/10.1016/0022-0981(90)90030-G)
- Grahame, J., & Avise, J. C. (1995). Molecular markers, natural history and evolution. En *The Journal of Animal Ecology* (Vol. 64, Número 4). <https://doi.org/10.2307/5656>
- Hamann, M., Schäuble, C. S., Simon, T., & Evans, S. (2006). Demographic and health parameters of green sea turtles *Chelonia mydas* foraging in the Gulf of Carpentaria, Australia. *Endangered Species Research*, 2, 81–88. <https://www.int-res.com/articles/esr2006/2/n002p081.pdf>
- Harding, J. M., Walton, W. J., Trapani, C. M., Frick, M. G., & Mann, R. (2011). Sea turtles as potential dispersal vectors for non-indigenous species: The veined rapa whelk as an epibiont of loggerhead sea turtles. *Southeastern Naturalist*, 10 (2), 233–244. <https://doi.org/10.1656/058.010.0204>
- Hart, C. E., Blanco, G. S., Coyne, M. S., Delgado-Trejo, C., Godley, B. J., Todd Jones, T., Reséndiz, A., Seminoff, J. A., Witt, M. J., & Nichols, W. J. (2015). Multinational tagging efforts illustrate regional

- scale of distribution and threats for east pacific green turtles (*Chelonia mydas agassizii*). *PLoS ONE*, 10(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116225>
- Hasbún, C. R., Lawrence, A. J., Naldo, J., Samour, J. H., & Al-Ghais, M. (1998). Normal blood chemistry of free-living green sea turtles (*Chelonia mydas*) from the United Arab Emirates. *Comparative Clinical Pathology*, 8(2), 174–177. <https://doi.org/10.1007/BF02642510>
- Hayashi, R., Chan, B. K. K., Simon-Blecher, N., Watanabe, H., Guy-Haim, T., Yonezawa, T., Levy, Y., Shuto, T., & Achituv, Y. (2013). Phylogenetic position and evolutionary history of the turtle and whale barnacles (Cirripedia: Balanomorpha: Coronuloidea). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 67 (1), 9–14. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.12.018>
- Hayashi, R., & Tsuji, K. (2008). Spatial distribution of turtle barnacles on the green sea turtle, *Chelonia mydas*. *Ecological Research*, 23(1), 121–125. <https://doi.org/10.1007/s11284-007-0349-0>
- Hernández Cruz, G. (2013). *Análisis de la captura diurna y nocturna y estadode la población de tortuga prieta (Chelonia mydas) en Laguna Ojo de Liebre, Baja California Sur: 2009-2012* [Tesis de Maestría en Ciencias]. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. <http://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/687>
- Hillis, D. M., & Wiens, J. J. (2000). *Molecular versus morphology in systematics* (J. J. Wiens, Ed.). Smithsonian Institution Press. <https://www.jstor.org/stable/2097123>
- Hoeg, J. T., Noever, C., Rees, D. J., Crandall, K. A., & Glenner, H. (2020). A new molecular phylogeny-based taxonomy of parasitic barnacles (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 190(2), 632–653. <https://doi.org/10.1093/zoolinlean/zlz140>
- Horton, T., Kroh, A., Ahyong, S., Bailly, N., Boyko, C. B., Brandão, S. N., Gofas, S., Hooper, J. N. A., Hernandez, F., Holovachov, O., Mees, J., Molodtsova, T. N., Paulay, G., Decock, W., Dekeyzer, S., Poffyn, G., Vandepitte, L., Vanhoorne, B., Adlard, R., ... Zhao, Z. (2021). *World Register of Marine Species (WoRMS)*. WoRMS Editorial Board. <https://www.marinespecies.org>
- Jacobson, E. R. (2003). Practical approaches for studying sea turtle health and disease. En *The biology of sea turtles* (Vol. 2, pp. 386–408). LLC, CRC Press. <https://www.researchgate.net/publication/258140973> [Practical approaches for studying sea turtle health and disease](https://www.researchgate.net/publication/258140973)
- Karaa, S., Jribi, I., Bouain, A., & Nejmeddine BRADAI, M. (2012). The cirripedia associated with loggerhead sea turtles, *Caretta*, in the Gulf of Gabès, Tunisia. *Cahiers de Biologie Marine*, 53, 169–176. <https://www.researchgate.net/publication/260248091> [The Cirripedia associated with Loggerhead Sea Turtles \*Caretta caretta\* in the Gulf of Gabes Tunisia](https://www.researchgate.net/publication/260248091)
- Kim, H. K., Chan, B. K. K., Yi, C., Kim, I. H., & Choi, Y. N. (2022). Barnacle Epibiosis on sea turtles in Korea: A west pacific region with low occurrence and intensity of *Chelonibia testudinaria* (Cirripedia: Chelonibiidae). *Frontiers in Ecology and Evolution*, 10, 1–8. <https://doi.org/10.3389/fevo.2022.785692>
- Kophamel, S., Rudd, D., Ward, L. C., Shum, E., Ariel, E., Mendez, D., Starling, J., Mellers, R., Burchell, R. K., & Munns, S. L. (2022). Hematological and biochemical reference intervals for wild green turtles (*Chelonia mydas*): a Bayesian approach for small sample sizes. *Conservation Physiology*, 10(1), 1–18. <https://doi.org/10.1093/conphys/coac043>



- Labrada Martagón, V. (2011). *Evaluación del estado de salud de la tortuga verde del Pacífico Oriental a través de biomarcadores fisiológicos* [Tesis de Doctor en Ciencias]. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. <http://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1001/278>
- Labrada Martagón, V., Méndez-Rodríguez, L. C., Gardner, S. C., Cruz-Escalona, V. H., & Zenteno-Saívn, T. (2010). Health indices of the green turtle (*Chelonia mydas*) along the pacific coast of Baja California Sur, Mexico. II. body condition index. *Chelonian Conservation and Biology*, 9(2), 173–183. <https://doi.org/10.2744/CCB-0807.1>
- Lazo Wasem, E. A., Pinou, T., De Niz, A. P., & Feuerstein, A. (2011). Epibionts associated with the nesting marine turtles *Lepidochelys olivacea* and *Chelonia mydas* in Jalisco, Mexico: A review and field guide. *Bulletin of the Peabody Museum of Natural History*, 52(2), 221–240. <https://doi.org/10.3374/014.052.0203>
- Leung, T. L. F., & Poulin, R. (2008). Parasitism, commensalism, and mutualism: Exploring the many shades of symbioses. *Vie et Milieu*, 58(2), 107–115. [https://www.researchgate.net/publication/281272130\\_Parasitism\\_commensalism\\_and\\_mutualism\\_Exploring\\_the\\_many\\_shades\\_of\\_symbioses](https://www.researchgate.net/publication/281272130_Parasitism_commensalism_and_mutualism_Exploring_the_many_shades_of_symbioses)
- Lewbart, G. A., Hirschfeld, M., Denkinger, J., Vasco, K., Guevara, N., García, J., Muñoz, J., & Lohmann, K. J. (2014). Blood gases, biochemistry, and hematology of Galapagos green turtles (*Chelonia mydas*). *PLoS ONE*, 9(5), 1–7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096487>
- Lim, K. K., Syed Hussein, M. A., & Palaniappan, P. (2020). Abundance, placement and sexual identity of the epizoid barnacle *Chelonibia testudinaria* relative to the size and species of host turtles in Mabul Island, Malaysia. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 100(8), 1299–1309. <https://doi.org/10.1017/S0025315420001198>
- López-Castro, M. C., Koch, V., Mariscal-Loza, A., & Nichols, W. J. (2010). Long-term monitoring of black turtles *Chelonia mydas* at coastal foraging areas off the Baja California Peninsula. *Endangered Species Research*, 11(1), 35–45. <https://doi.org/10.3354/esr00264>
- López-Santiago, N. (2016). La biometría hemática. *Acta Pediátrica de México*. 37(4), 241–246. <https://doi.org/10.18233/APM37No4pp246-249>
- Lutcavage, M. E., Plotkin, P., Witherington, B., & Lutz, P. L. (1997). Human impacts on sea turtle survival. *The biology of sea turtles* (Vol. 1). [http://www.seaturtle.org/PDF/LutcavageME\\_1997\\_InTheBiologyofSeaTurtles\\_p387-409.pdf](http://www.seaturtle.org/PDF/LutcavageME_1997_InTheBiologyofSeaTurtles_p387-409.pdf)
- Lutz, P. L., & Musick, J. A. (1997). *The biology of sea turtles* (Vol. 1). LLC, CRC Press. [https://books.google.com/cu/books?id=fhm2yGTBiN8C&pg=PA51&hl=es&source=gbs\\_toc\\_r&cad=4#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com/cu/books?id=fhm2yGTBiN8C&pg=PA51&hl=es&source=gbs_toc_r&cad=4#v=onepage&q&f=false)
- Lutz, P. L., Musick, J. A., & Wyneken, J. (2003). *The biology of sea turtles*. (Vol. 2). LLC, CRC Press. [https://books.google.com.mx/books?id=9H\\_LBQAAQBAJ&pg=PA1&source=gbs\\_toc\\_r&cad=4#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.mx/books?id=9H_LBQAAQBAJ&pg=PA1&source=gbs_toc_r&cad=4#v=onepage&q&f=false)
- March, D. T., Vinette Herrin, K., Peters, A., Ariel, E., Blyde, D., Hayward, D., Christidis, L., & Kelaher, B. P. (2018). Hematologic and biochemical characteristics of stranded green sea turtles. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 30(3), 423–429. <https://doi.org/10.1177/1040638718757819>



- Martin, J., & Davis, G. (2001). An updated classification of the recent crustacea. En *Journal of Crustacean Biology* (Vol. 39, Número 2). Natural History Museum of Los Angeles Country. [https://doi.org/10.1651/0278-0372\(2003\)023\[0495:br\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1651/0278-0372(2003)023[0495:br]2.0.co;2)
- Martínez-Goss, M. R., & Arguelles, E. (2020). *Classical taxonomy*. Philippine Science Letters. 15, 145-153. [https://www.researchgate.net/publication/351097930\\_Classical\\_Taxonomy](https://www.researchgate.net/publication/351097930_Classical_Taxonomy)
- Martínez-Silvestre, A., & Cuenca, R. (2013). La bioquímica sanguínea en clínica de reptiles. *Consulta de difusión veterinaria*, 200, 31-40. [http://www.amasquefa.com/uploads/136\\_La\\_bioquimica\\_sanguinea\\_en\\_la\\_clinica\\_de\\_reptiles\\_36.pdf](http://www.amasquefa.com/uploads/136_La_bioquimica_sanguinea_en_la_clinica_de_reptiles_36.pdf)
- Martínez-Silvestre, A., Lavín, S., & Cuenca, R. (2011). Hematología y citología sanguínea en reptiles. *Clínica Veterinaria Pequeños Animales*, 31(3), 131-141. [https://ddd.uab.cat/pub/clivetpeqani/clivetpeqani\\_a2011v31n3/clivetpeqaniv31n3p131.pdf](https://ddd.uab.cat/pub/clivetpeqani/clivetpeqani_a2011v31n3/clivetpeqaniv31n3p131.pdf)
- Moncada-Gavilán, F. G. (2005). *Migración de la tortuga verde (Chelonia mydas), la tortuga caguama (Caretta caretta) y la tortuga carey (Eretmochelys imbricata), en la plataforma cubana y aguas adyacentes* [Tesis de Doctor en Ciencias]. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. <http://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/109>
- Monroe, R., & Limpus, C. J. (1979). Barnacles on turtles in Queensland waters with descriptions of three new species. *Memoirs of the Queensland Museum*, 19(3), 197-223. <https://biostor.org/reference/205232>
- Montilla, A. J., Hernández, J. L., Bravo, A. R., Vera, V. J., & Mesa, J. F. (2008). Valores bioquímicos de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) presentes en la Alta Guajira, Venezuela. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia*, 18(4), 351-357. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-22592008000400002&lng=es&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592008000400002&lng=es&tlng=es).
- Nájera-Hillman, E., Bass, J. B., & Buckham, S. (2012). Distribution patterns of the barnacle, *Chelonibia testudinaria*, on juvenile green turtles (*Chelonia mydas*) in Bahía Magdalena, Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 83(4), 1171-1179. <https://doi.org/10.7550/rmb.27444>
- National Center for Biotechnology Information. (1988). *Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Newman, W. A., & Ross, A. (1976). Revision of the balanomorph barnacles: including a catalog of the species. *San Diego Society of Natural History Memoirs*, 9, 1-108. <https://biostor.org/reference/137118>
- Nichols, W. J., Thompson, D., Schwalbe, C., & Hendrickson, J. (2003). Biology and conservation of sea turtles in Baja California, México [Tesis de Doctor en Ciencias]. En *School of renewable natural resources*. University of Arizona. <http://hdl.handle.net/10150/280439>
- Odum, E., & Barrett, G. (2008). *Fundamentos de ecología* (5a ed.). Cengage Learning Editores. <https://drive.google.com/file/d/1PK7Ko4VaBIWXSkspxi09hDYTvFuy23kM/view>
- Olay Fuentes, G., Díaz Piedra, P., Hernández Gómez, R., Cervantes-Villagrana, R. D., Presno-Bernal, J. M., & Alcántara Gómez, L. E. (2013). Determinación de intervalos de referencia para química sanguínea

- en población mexicana. *Revista Latinoamericana Patología Clínica*, 60(1), 43–41. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=40361>
- Olivieira, A. J., Crispim, A. B., Martins, N. M., Silva, A. O., Dourado, P. L. R., Rocha, M. P., & Grisola, A. B. (2013). Secuencias del gen mitocondrial para la identificación de especies animales. *Colombiana ciencias Animales*, 5(2), 396–407. <https://doi.org/10.24188/recia.v5.n2.2013.451>
- Ortíz, M., Lalana, R., & Varela, C. (2002). Lista de especies y clave ilustrada para la identificación de los escaramujos (Crustacea, Cirripedia), del Archipiélago cubano. *Revista de Investigaciones Marinas*, 23(2), 85–95. [https://www.researchgate.net/publication/267403532\\_LISTA\\_DE\\_ESPECIES\\_Y\\_CLAVE\\_ILUSTRADA\\_PARA\\_LA\\_IDENTIFICACION\\_DE\\_LOS\\_ESCARAMUJOS\\_CRUSTACEA\\_CIRRIPIEDIA\\_DEL\\_ARCHIPIELAGO\\_CUBANO](https://www.researchgate.net/publication/267403532_LISTA_DE_ESPECIES_Y_CLAVE_ILUSTRADA_PARA_LA_IDENTIFICACION_DE_LOS_ESCARAMUJOS_CRUSTACEA_CIRRIPIEDIA_DEL_ARCHIPIELAGO_CUBANO)
- Owens, D. W., & Ruiz, G. J. (1980). New methods of obtaining blood and cerebrospinal fluid from marine turtles. *Herpetologica*, 36(1), 17–20. <https://www.jstor.org/stable/3891847>
- Pereira, S., Lima, E. H. S. M., Ernesto, L., Mathews, H., & Ventura, A. (2006). Epibionts associated with *Chelonia mydas* from northern Brazil. *Marine Turtle Newsletter*, 111, 17–18. [https://www.researchgate.net/publication/235570737\\_Epibionts\\_Associated\\_with\\_Chelonia\\_mydas\\_from\\_Northern\\_Brazil](https://www.researchgate.net/publication/235570737_Epibionts_Associated_with_Chelonia_mydas_from_Northern_Brazil)
- Pérez-Losada, M., Høeg, J. T., Simon Blecher, N., Achituv, Y., Jones, D., & Crandall, K. A. (2014). Molecular phylogeny, systematics and morphological evolution of the acorn barnacles (Thoracica: Sessilia: Balanomorpha). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 81, 147–158. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.09.013>
- Pfaller, J. B., Bjørndal, K. A., Reich, K. J., Williams, K. L., & Frick, M. G. (2008). Distribution patterns of epibionts on the carapace of loggerhead turtles, *Caretta caretta*. *Marine Biodiversity Records*, 1. <https://doi.org/10.1017/s1755267206003812>
- Prieto-Torres, D. A., Hernández, J. L., Bravo-Henríquez, A. R., Alvarado, M. C., & Dávila, M. J. (2013). Blood biochemistry of the breeding population of green turtles (*Chelonia mydas*) in the Aves Island Wildlife Refuge, Venezuela. *South American Journal of Herpetology*, 8(3), 147–154. <https://doi.org/10.2994/sajh-d-13-00010.1>
- Ramírez Acevedo, L. M., Martínez Blas, S. S., & Fuentes Mascorro, G. (2012). Hemograma y características morfológicas de las células sanguíneas de tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*) de Oaxaca, México. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia*, 22(5), 468–476. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95923384011>
- Rawson, P. D., Macnamee, R., Frick, M. G., & Williams, K. L. (2003). Phylogeography of the coronulid barnacle, *Chelonibia testudinaria*, from loggerhead sea turtles, *Caretta caretta*. *Molecular Ecology*, 12(10), 2697–2706. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2003.01940.x>
- Read, T. C., Wantiez, L., Werry, J. M., Farman, R., Petro, G., & Limpus, C. J. (2014). Migrations of green turtles (*Chelonia mydas*) between nesting and foraging grounds across the Coral Sea. *PLoS ONE*, 9(6), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100083>
- Redondo-Zúñiga, A. (2008). *Evaluación del perfil sanguíneo de una población de hembras adultas de tortugas marinas (Chelonia mydas)*. [Tesis de Licenciatura]. Universidad Nacional Escuela de Medicina Veterinaria. <http://hdl.handle.net/11056/13009>

- Rentería-Alcántara, M. (2007). Breve revisión de los marcadores moleculares. En *Ecología molecular* (Vol. 23, Número 1, pp. 541–566). <https://doi.org/10.1007/s12298-016-0401-z>
- Reséndiz-Morales, J. E. (2015). *Estado de salud y mortalidad- patología y medicina forense de las tortugas marinas del Pacífico de Baja California Sur* (Vol. 151). <https://doi.org/10.1145/3132847.3132886>
- Roig-Juñent, S., Claps, L. E., & Morrone, J. J. (2014). Biodiversidad de artrópodos. En *Instituto Superior de Entomología* (1a ed., Vol. 3, Número May). INSUE-UNT. [https://www.researchgate.net/publication/287332232\\_Biodiversidad\\_de\\_Artrópodos\\_Argentinos\\_vol\\_4](https://www.researchgate.net/publication/287332232_Biodiversidad_de_Artrópodos_Argentinos_vol_4)
- Rubin, A., Hamman, E., Frick, M., Mott, C., & Frazer, T. (2016). The relationship between barnacles and green sea turtle health. *Journal of Undergraduate Research*, 17(3), 2–6. [https://ufdcimages.uflib.ufl.edu/UF/00/09/15/23/00785/Rubin\\_Alissa-Final.pdf](https://ufdcimages.uflib.ufl.edu/UF/00/09/15/23/00785/Rubin_Alissa-Final.pdf)
- Sazima, C., Grossman, A., & Sazima, I. (2010). Turtle cleaners: reef fishes foraging on epibionts of sea turtles in the tropical Southwestern Atlantic, with a summary of this association type. *Sociedade Brasileira de Ictiologia*. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252010005000003>
- Schofield, G., Papafitsoros, K., Haughey, R., & Katselidis, K. (2017). Aerial and underwater surveys reveal temporal variation in cleaning-station use by sea turtles at a temperate breeding area. *Marine Ecology Progress Series*, 575, 153–164. <https://doi.org/10.3354/meps12193>
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (2018). *Programa de acción para la conservación de la especie tortuga verde/negra Chelonia mydas*. 62. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/471546/PACE\\_Tortuga\\_Verde\\_VF.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/471546/PACE_Tortuga_Verde_VF.pdf)
- Seminoff, J. A. (2000). Biology of the east Pacific green turtle, *Chelonia mydas agassizii*, at a warm temperate feeding area in the Gulf of California, Mexico. [Tesis de Doctor en Ciencias]. En *University of Arizona*. The University of Arizona. <http://hdl.handle.net/10150/284231>
- Seminoff, J. A., Reséndiz, A., & Nichols, W. J. (2002). Diet of east Pacific green turtles (*Chelonia mydas*) in the central Gulf of California, México. *Journal of Herpetology*, 36(3), 447–453. [https://doi.org/10.1670/0022-1511\(2002\)036\[0447:DOEPGT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1670/0022-1511(2002)036[0447:DOEPGT]2.0.CO;2)
- Seminoff, J.A. (Southwest Fisheries Science Center, U.S.). (2004). *Chelonia mydas*. *The International Union for Conservation Nature's Red List of Threatened Species* 2004. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2004.RLTS.T4615A11037468.e>
- Sinaei, M., Bolouki, M., Ghorbanzadeh, S., & Talebi Matin, M. (2019). Evaluation of hematological and plasma biochemical parameters in green sea turtle (*Chelonia mydas* Linnaeus, 1758) from nesting colonies of the northern coast of the Sea of Oman. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 18(4), 891–902. <https://doi.org/10.22092/ijfs.2019.118320>
- Solana-Arellano, E., Ramírez-Delgado, D., & Santacruz-López, E. (2020). Allometric models for sex ratio determination in all stages of ontogeny of *Chelonia mydas* from Bahía de los Ángeles, México. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 100(5), 825–830. <https://doi.org/10.1017/S0025315420000685>
- Stacy, N. I., Lynch, J. M., Arendt, M. D., Avens, L., McNeill, J. B., Cray, C., Day, R. D., Harms, C. A., Michelle Lee, A., Peden Adams, M. M., Thorvalson, K., Segars, A. L., & Norton, T. M. (2018). Chronic debilitation in stranded loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) in the southeastern United States:

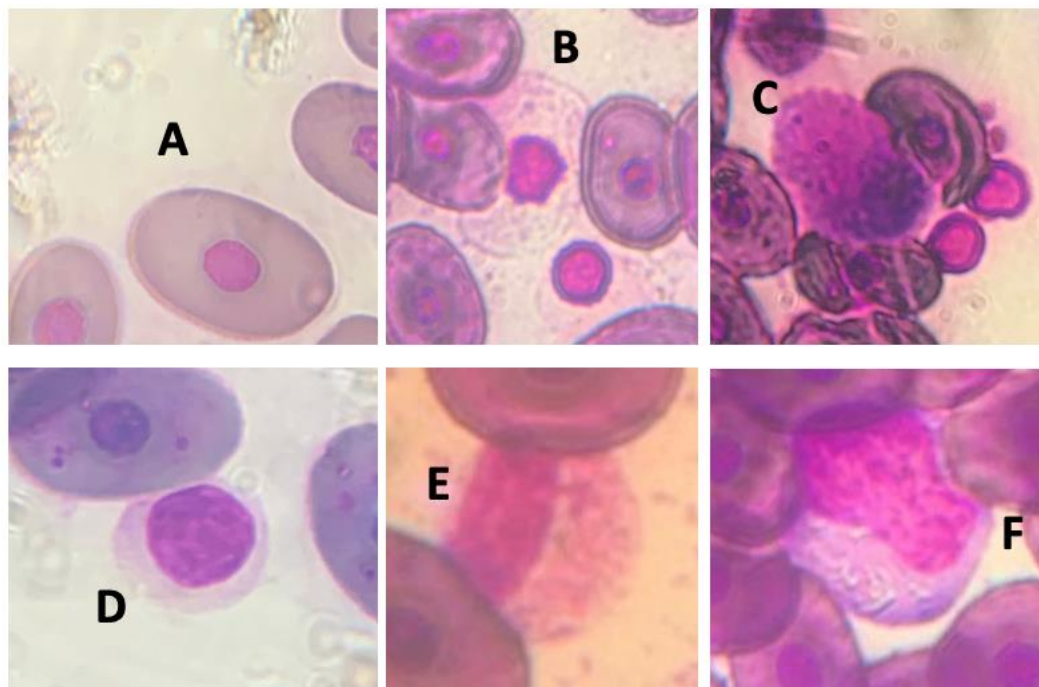
- Morphometrics and clinicopathological findings. *PLoS ONE*, 13(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200355>
- Stamper, M. A., Harms, C., Epperly, S. P., Braun McNeill, J., Avens, L., & Stoskopf, M. K. (2005). Relationship between barnacle epibiotic load and hematologic parameters in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*), a comparison between migratory and residential animals in Pamlico Sound, North Carolina. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 36(4), 635–641. <https://doi.org/10.1638/04-074.1>
- Suarez-Yana, T., Montes-I., D., Zuñiga, R., Mangel, J., & Alfaro-Shigueto, J. (2016). Hematologic, morphometric, and biochemical analytes of clinically healthy green sea turtles (*Chelonia mydas*) in Peru. *Chelonian Conservation and Biology*, 15(1), 153–157. <https://hdl.handle.net/20.500.12866/5738>
- Tristan, T. (2008). Introduction to hematology and biochemistry in sea turtles. *IVIS*, 1–6. <https://doi.org/10.1177/1040638718757819>
- Whiting, S. D., Guinea, M. L., Limpus, C. J., & Fomiatti, K. (2007). Blood chemistry reference values for two ecologically distinct populations of foraging green turtles, eastern Indian Ocean. *Comparative Clinical Pathology*, 16(2), 109–118. <https://doi.org/10.1007/s00580-006-0646-y>
- Wyneken, J., Lohmann, K. J., & Musick, J. A. (2013). *The biology of sea turtles* (Vol. 3). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b13895>
- Yule, A. B., & Walker, G. (1987). Adhesion in barnacles. En *Barnacles biology* (1a ed.). Routledge. <https://doi.org/10.1201/9781315138053>
- Zardus, J. D., & Balazs, G. H. (2007). Two previously unreported barnacles commensal with green sea turtle, *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758), in Hawaii and a comparison of their attachment modes. *Crustaceana*, 11, 1303–1315. [www.brill.nl/cr](http://www.brill.nl/cr)
- Zardus, J. D., & Hadfield, M. G. (2004). Larval development and complementary males in *Chelonibia testudinaria*, a barnacle commensal with sea turtles. *Journal of Crustacean Biology*, 24(3), 409–421. <https://doi.org/10.1651/C-2476>
- Zullo, V. A. (1979). Marine flora and fauna of the northeastern United States. En *NOAA Technical Report NMFS Circular* (Vol. 14, Número 4). <https://doi.org/10.2307/1350767>

## Anexos

### Anexo A

**Tabla 7.** Resultados de la prueba t de Student bayesiana de las medidas morfométricas y peso de *C. mydas* entre sitios.

Parámetro	FB <sub>10</sub>
Largo Curvo del Caparazón (LCC)	0.78
Largo Recto del Caparazón (LRC)	0.606
Ancho Curvo del Caparazón (ACC)	0.48
Largo de Plastrón (LP)	0.389
Profundidad Corporal (PC)	7.63x10 <sup>7</sup>
Largo Total de Cola (LTC)	1.321
Peso	0.88



**Figura 15.** Identificación de las células sanguíneas encontradas en *C. mydas* de este estudio con base en las características que mencionan Ramírez-Acevedo (2012) y Tristan (2008). A: Eritrocito, B: Eosinófilo, C: Basófilo, D: Linfocito, E: Heterófilo y F: Monocito. Fotos tomadas a través de objetivo de inmersión (1000x).

## Anexo B

## Bahía de los Ángeles

Área de plastrón



Cobertura de balanos



## Complejo lagunar Ojo de Liebre

Área de plastrón



Cobertura de balanos



**Figura 16.** Ejemplo de la cobertura de balanos de dos tortugas entre sitios. El área marcada en naranja es la cobertura de balanos.



## Anexo C

**Tabla 8.** Resultados de la prueba t de Student de muestras independientes entre las medias de analitos de los trabajos de Labrada Martagón (2011) y Aguirre & Balasz, (2000).

<b>Labrada Martagon 2011 vs Aguirre &amp; Balasz, 2000</b>	
<b>Analito</b>	<b>Valor p (<math>\alpha=0.95</math>)</b>
Glucosa (mmol/L)	0.142
Colesterol (mmol/L)	0.007
Triglicéridos (mmol/L)	0.135
Proteínas totales (g/L)	<0.001
Alanina aminotransferasa (U/L)	<0.001
Calcio (mmol/L)	<0.001
Fósforo (mmol/L)	0.003
Aspartato aminotransferasa (U/L)	0.068
Fosfatasa alcalina (U/L)	0.052
Albúmina (g/L)	<0.001
Ácido úrico ( $\mu\text{mol/L}$ )	0.0056
Creatinina ( $\mu\text{mol/L}$ )	<0.001
Sodio (mmol/L)	0.101
Potasio (mmol/L)	0.067

**Tabla 9.** Resultados de la prueba t de Student bayesiana de los parámetros para biometría hemática de *C. mydas* con balanos entre sitios.

<b>Parámetro</b>	<b>FB<sub>10</sub> TM con balanos entre sitios</b>
Eritrocitos	5.925
Hematocrito	0.91
Leucocitos	0.625
Eosinófilos	1.646
Heterófilos	0.691
Basófilos	2.016
Linfocitos	0.597
Monocitos	0.754
H/L	0.57

## Anexo D

**Tabla 10.** Resultados de prueba de t de Student bayesiana por analito de la bioquímica sanguínea de *C. mydas* con balanos entre sitios.

<b>Analito</b>	<b>FB<sub>10</sub> entre sitios</b>
Glucosa	2.331
Colesterol	1.034
Triglicéridos	24.887
ALT	0.933
ASP	0.998
Fos. Alcalina	1.210
Creatin cinasa	1.290
Á. úrico	4.490
Creatinina	1.890
Amilasa	0.616
Prot. total	0.990
Albúmina	1.503
Globulina	1.498
A/G	6.650
Bilirrubina	1.178
CO <sub>2</sub>	1.269
Na	1.390
K	0.921
Cl	1.277
Ca	0.807
P	1.633
Ca/P	0.993



## Anexo E

**Tabla 11.** Estadísticas básicas de parámetros de biometría hemática en *C. mydas* con balanos entre sitios (CLOL y BLA) y de *C. mydas* sin balanos de este estudio.

Parámetro	CLOL N= 12 TM		BLA N=3 TM		Ausencia de balanos N= 5 TM	
	Media $\pm \sigma$	Min.—Máx.	Media $\pm \sigma$	Min.—Máx.	Media $\pm \sigma$	Min.—Máx.
Eri. (cels/ $\mu$ l)	$3.18 \times 10^5 \pm 9.18 \times 10^4$	$1.9 \times 10^5$ $-5 \times 10^5$	$4.67 \times 10^5 \pm 5.03 \times 10^4$	$4.2 \times 10^5$ $-5.2 \times 10^5$	$3.58 \times 10^5 \pm 1.05 \times 10^5$	$2.2 \times 10^5$ $-4.8 \times 10^5$
Hematocrito (%)	$0.35 \pm 0.08$	0.12—0.44	$0.30 \pm 0.1$	0.24—0.42	$0.47 \pm 0.19$	0.33—0.81
Leu. (cels/ $\mu$ l)	$3.10 \times 10^4 \pm 2.20 \times 10^4$	$1.32 \times 10^4 - 9.8 \times 10^4$	$3.57 \times 10^4 \pm 9.29 \times 10^3$	$2.8 \times 10^4 - 4.6 \times 10^4$	$2.58 \times 10^4 \pm 9.93 \times 10^3$	$1.2 \times 10^4 - 3.72 \times 10^4$
Eos. (%)	$23.08 \pm 5.35$	16—36	$28.00 \pm 2.65$	25—30	$23.6 \pm 11.55$	9—36
Het. (%)	$21.16 \pm 5.04$	12—27	$19.67 \pm 0.58$	19—20	$25.2 \pm 6.76$	16—31
Bas. (%)	$26.83 \pm 5.67$	17—37	$21 \pm 2$	19—23	$26.4 \pm 3.85$	22—32
Lin. (%)	$15.83 \pm 4.62$	6—24	$15 \pm 3.61$	12—19	$15.8 \pm 6.06$	9—25
Mon. (%)	$14.58 \pm 3.82$	6—20	$16.33 \pm 6.66$	9—22	$12 \pm 3.32$	9—16
H/L	$1.42 \pm 0.43$	0.79—2.07	$1.37 \pm 0.43$	1—1.6	$1.68 \pm 0.40$	1.24—2.22

## Anexo F

**Tabla 12.** Estadísticas básicas por analito de bioquímica sanguínea entre sitios y los obtenidos por Labrada Martagón (2011).

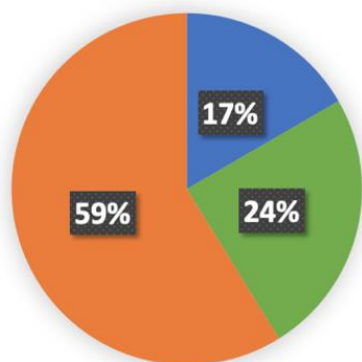
Analito	CLOL N= 3 TM		BLA N= 3 TM		Labrada Martagón, 2011 N= 20 TM	
	Media $\pm \sigma$	Min. —Máx.	Media $\pm \sigma$	Min. —Máx.	Media $\pm \sigma$	Min. —Máx.
Glu. (mmol/L)	4.38 $\pm$ 1.45	2.8—5.66	2.58 $\pm$ 0.42	2.1—2.85	6.33 $\pm$ 1.22	4.47—9.66
Col. (mmol/L)	4.92 $\pm$ 0.59	4.57—5.6	3.85 $\pm$ 1.93	2.11—5.92	4.4 $\pm$ 1.2	2.5—6.19
TG (mmol/L)	3.37 $\pm$ 0.4	3—3.8	1.27 $\pm$ 0.35	0.90—1.6	1.66 $\pm$ 1.03	0.41—4.1
ALT (U/L)	3.67 $\pm$ 1.53	2—5	59.67 $\pm$ 48.79	4—95	13.86 $\pm$ 15.4	1.5—70.5
AST (U/L)	244.33 $\pm$ 57.55	178—281	358.33 $\pm$ 219.73	227—612	209 $\pm$ 89.75	10.14—339
ALP (U/L)	79.33 $\pm$ 6.51	73—86	65.67 $\pm$ 19.66	43—78	46.27 $\pm$ 22.89	5.25—112
CK (U/L)	474.67 $\pm$ 67.1	425—551	889 $\pm$ 583.11	439—1548	NA	NA
A. úrico ( $\mu$ mol/L)	106.96 $\pm$ 30.73	89.22—142.45	237.83 $\pm$ 66.35	178.2—309.3	120.74 $\pm$ 153.46	32.71—701.86
Creat. ( $\mu$ mol/L)	38.67 $\pm$ 9.71	28—47	28.73 $\pm$ 1.31	27.7—30.2	177.72 $\pm$ 10.61	156.5—197.18
Ami. (U/L)	840.67 $\pm$ 288.69	523—1087	777.33 $\pm$ 639.5	281—1499	NA	NA
Prot. (g/L)	64.3 $\pm$ 2.95	61—66.7	71.57 $\pm$ 14.35	56.6—85.2	55.3 $\pm$ 13	11.6—73.9
Alb. (g/L)	21.77 $\pm$ 0.67	21.2—22.5	19.03 $\pm$ 3.23	15.3—21	12 $\pm$ 3.3	7.9—20
Glo. (g/L)	42.53 $\pm$ 3.62	38.5—45.5	52.53 $\pm$ 11.56	41.3—64.4	43.3 $\pm$ 9.7	3.2—60.7
A/G (g/L)	0.52 $\pm$ 0.06	0.47—0.58	0.37 $\pm$ 0.04	0.32—0.4	0.4 $\pm$ 0.56	0.15—2.61
Bil. ( $\mu$ mol/L)	3.49 $\pm$ 0.88	2.5—4.17	4.67 $\pm$ 1.65	2.78—5.78	NA	NA
CO <sub>2</sub> (mmol/L)	15.33 $\pm$ 3.21	13—19	13 $\pm$ 1	12—14	NA	NA
Cl (mmol/L)	120.33 $\pm$ 5.51	115—126	115.67 $\pm$ 3.79	113—120	NA	NA
Na (mmol/L)	148.33 $\pm$ 0.58	148—149	143.33 $\pm$ 6.51	137—150	160 $\pm$ 11.39	144—184
K (mmol/L)	6.07 $\pm$ 0.93	5.3—7.1	6.93 $\pm$ 1.75	5.2—8.7	5.36 $\pm$ 1.63	3.05—8.95
Ca (mmol/L)	2.05 $\pm$ 0.15	1.94—2.22	1.88 $\pm$ 0.48	1.46—2.41	2.22 $\pm$ 0.46	1.43—3.11
P (mmol/L)	2.78 $\pm$ 0.22	2.56—2.99	3.62 $\pm$ 0.91	2.57—4.26	4.31 $\pm$ 1.98	0.21—8.91
Ca/P (mmol/L)	0.74 $\pm$ 0.11	0.65—0.87	0.57 $\pm$ 0.32	0.34—0.94	0.52 $\pm$ 0.23	0.43—6.81

## Anexo G

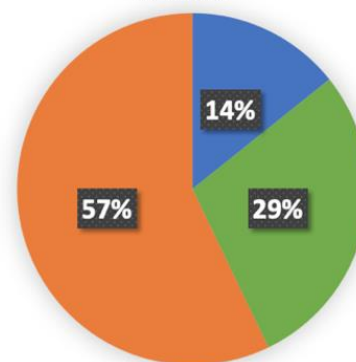
**Tabla 13.** Intervalos de referencia (IR) de Aguirre *et al.*, (1995) para parámetros evaluados de biometría hemática; NA: No Aplica porque no se obtuvieron los IR.

Parámetro	IR's Aguirre <i>et al.</i> , 1995	
Eri. (cels/ $\mu$ l)	$2.10 \times 10^3$	$7.3 \times 10^3$
Hematocrito	NA	NA
Leu. (cels/ $\mu$ l)	$4.60 \times 10^2$	$1.82 \times 10^4$
Eos. (%)	0	37.54
Het. (%)	1	19.74
Bas. (%)	3.33	10.17
Lin. (%)	37	98.6
Mon. (%)	NA	NA
H/L	0.02	0.3

Complejo lagunar Ojo de Liebre  
N=17 TM

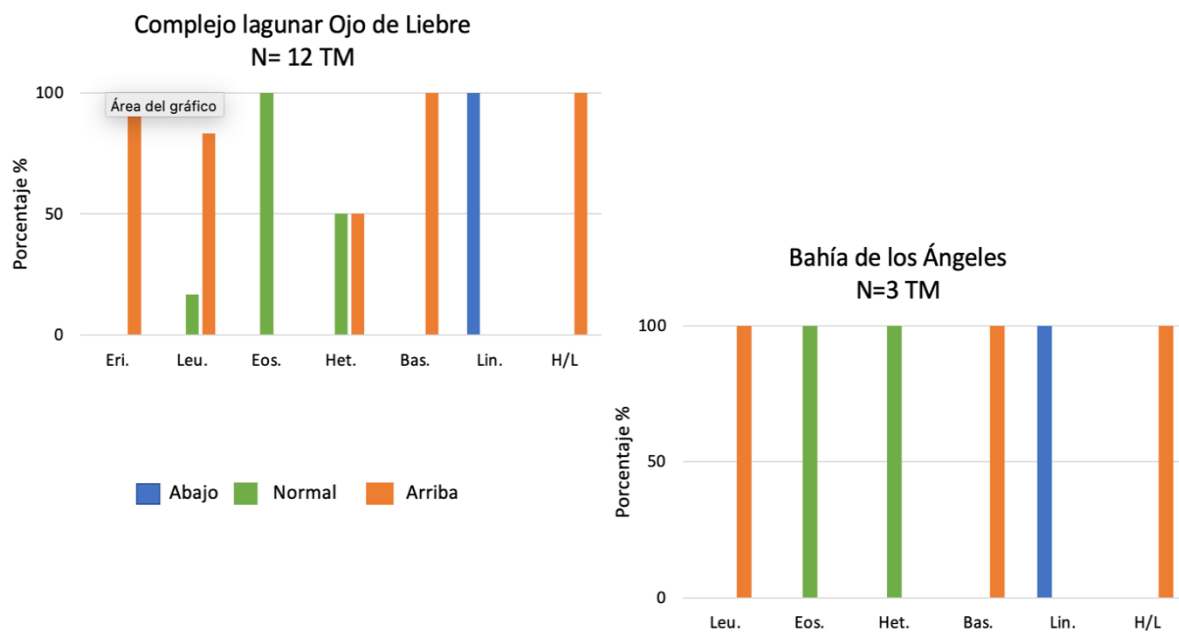


Bahía de los Ángeles  
N=3 TM



**Figura 17.** Distribución porcentual de *C. mydas* por abajo, normal o arriba en biometría hemática con base en los intervalos de referencia de Aguirre *et al.*, (1995) entre sitios de estudio.

## Anexo H



**Figura 18.** Distribución porcentual de *C. mydas* con base en la clasificación de sus resultados de biometría hemática por parámetro por abajo, normal o arriba en comparación con los intervalos de referencia (IR) de Aguirre *et al.*, (1995).