

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.

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



**Maestría en Ciencias
en Ciencias de la Vida
con orientación en Biología Ambiental**

**Determinación de la frecuencia de anomalías nucleares en
aves marinas de la península de Baja California**

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

Presenta:

Jorge Andrés Morales Rico

Ensenada, Baja California, México
2023

Tesis defendida por
Jorge Andrés Morales Rico

y aprobada por el siguiente Comité

Dra. Cecilia Soldatini
Directora de tesis

Dra. Carolina Álvarez Delgado

Dra. Carmen Guadalupe Paniagua Chávez

Dra. Vanessa Labrada Martagón

Dr. Yuri Albores Barajas



Dr. Edgardo Alfredo Sepúlveda Sánchez Hidalgo
Coordinador del Posgrado en Ciencias de la Vida

Dra. Ana Denise Re Araujo
Directora de Estudios de Posgrado

Resumen de la tesis que presenta **Jorge Andrés Morales Rico** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Ciencias de la Vida con orientación en Biología Ambiental y Conservación

Determinación de la frecuencia de anomalías nucleares en aves marinas de la península de Baja California

Resumen aprobado por:

Dra. Cecilia Soldatini
Directora de tesis

En la actualidad, la creciente contaminación en los ecosistemas marinos que, derivada de las actividades humanas, ha puesto en riesgo a una gran cantidad de especies. Las aves marinas son un grupo especialmente afectado por la contaminación. Además de que, por sus características ecológicas, como su elevada posición en la cadena trófica y longevidad, se han usado como un grupo de organismos bioindicadores. El objetivo de este trabajo de tesis consistió en determinar la frecuencia de anomalías nucleares (AN) presentes en cuatro especies de aves marinas de la península de Baja California: la fragata tijereta, el albatros de Laysan, la gaviota bajacaliforniana y el pelícano café. Así como identificar posibles diferencias en las frecuencias asociadas al año, la edad y la especie. La frecuencia de anomalías nucleares fue determinada mediante la prueba de micronúcleos y anomalías nucleares, por microscopía de fluorescencia. Posteriormente se empleó la prueba U de Mann-Whitney para determinar diferencias significativas entre dos grupos comparados. No se encontró un efecto de la edad sobre la frecuencia de AN, tampoco se encontraron variaciones interanuales. Sin embargo, se observaron diferencias significativas al comparar la frecuencia de AN de pollos de fragata tijereta con pollos de gaviota bajacaliforniana, siendo mayores en las gaviotas. En aves adultas se encontraron diferencias al comparar las frecuencias de albatros de Laysan con la fragata tijereta, siendo mayor en los albatros. Dentro de los factores que podrían estar implicados en estas diferencias, la zona de forrajeo podría ser el más importante. La prueba de micronúcleos y anomalías nucleares permitió establecer valores de referencia para las cuatro especies analizadas, además el monitoreo de estas aves a través de esta prueba permitirá la detección temprana de contaminantes genotóxicos.

Palabras clave: bioindicador, contaminación, genotoxicidad, micronúcleos

Abstract of the thesis presented by **Jorge Andrés Morales Rico** as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Life Sciences with orientation in Environmental Biology and Conservation

Determination of the frequency of nuclear abnormalities in seabirds of the Baja California peninsula

Abstract approved by:

Dra. Cecilia Soldatini
Thesis Director

Currently, the increasing pollution in marine ecosystems, resulting from human activities, has endangered many species. Seabirds are a group particularly affected by pollution. Moreover, due to their ecological characteristics, such as their high position in the food chain and longevity, they have been used as a group of bioindicator organisms. The objective of this thesis work was to determine the frequency of nuclear abnormalities (NA) present in four species of seabirds from the Baja California Peninsula: the magnificent frigatebird, Laysan albatross, yellow-footed gull, and brown pelican. Additionally, to identify possible differences in the frequencies associated with the year, age, and species. The frequency of nuclear abnormalities was determined using the micronuclei and nuclear abnormalities test, by fluorescence microscopy. Subsequently, the Mann-Whitney U test was used to determine significant differences between two compared groups. No age effect on the frequency of NA was found, nor were there interannual variations. However, significant differences were observed when comparing the frequency of NA in magnificent frigatebird chicks with yellow-footed gull chicks, with higher values in the gulls. In adult birds, differences were found when comparing the frequencies of Laysan albatrosses with frigatebirds, with higher values in the albatrosses. Among the factors that could be involved in these differences, foraging areas could be the most important. The micronuclei and nuclear abnormalities test allowed for the establishment of reference values for the four analyzed species. Furthermore, monitoring these birds through this test will allow for the early detection of genotoxic contaminants.

Keywords: bioindicator, contamination, genotoxicity, micronuclei

Dedicatoria

A mi familia y amigos, especialmente a mi mamá Liliana.

Agradecimientos

Agradezco al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por brindarme la oportunidad de realizar una maestría a través de una beca de manutención (Folio 29364) sin la cual no hubiese sido posible. Así como al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California (CICESE) y al CPP por el apoyo económico, además agradezco a todos mis profesores y profesoras por brindarme una de las mejores experiencias académicas a través de sus excelentes clases.

Al laboratorio de Ecología de la Salud de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP) y al Centro de Investigación en Ciencias de la Salud y Biomedicina (CICSaB), especialmente a la Dra. Vanessa Labrada Martagón, al Dr. Mauricio Comas García y a la M.C. Claudia Lorena Rodríguez Salazar por recibirme en sus instalaciones para realizar el procesado de mis muestras, parte fundamental de este trabajo. Además, les agradezco enormemente su tiempo y disposición brindados.

Al personal de la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP) de la Reserva de la Biosfera Isla Guadalupe, y del Parque Nacional Archipiélago de Espíritu Santo por su labor y por las facilidades brindadas en la obtención de las muestras para este estudio.

Al comité de tesis la Dra. Carolina Álvarez Delgado, la Dra. Carmen Guadalupe Paniagua Chávez, la Dra. Vanessa Labrada Martagón y al Dr. Yuri Albores Barajas, por sus valiosas aportaciones y tiempo empleado que han mejorado en gran medida la calidad de este trabajo.

A todos los integrantes del Laboratorio de Aeroecología Marina por sus enseñanzas y cálido recibimiento, especialmente al Dr. Yuri Albores Barajas y a mi asesora la Dra. Cecilia Soldatini, por brindarme la oportunidad de unirme a su equipo de trabajo, así como por ser tutores ejemplares con una enorme comprensión y pasión por la enseñanza y las aves.

A mis compañeros, amigos y familia por brindarme su amor y apoyo invaluable.

Tabla de contenido

| | Página |
|--|-----------|
| Resumen en español | ii |
| Resumen en inglés | iii |
| Dedicatoria | iv |
| Agradecimientos | v |
| Lista de figuras | viii |
| Lista de tablas..... | ix |
| | |
| Capítulo 1. Introducción | 1 |
| 1.1 Antecedentes | 3 |
| 1.1.1. Prueba de micronúcleos y anormalidades nucleares | 3 |
| 1.1.2. Mecanismos de reparación del ADN y destinos de los MN | 6 |
| 1.1.3 Especies de estudio | 9 |
| 1.1.3.2 Albatros de Laysan (<i>Phoebastria immutabilis</i>)..... | 9 |
| 1.1.3.3 Fragata tijereta (<i>Fregata magnificens</i>)..... | 10 |
| 1.1.3.4 Gaviota bajacaliforniana (<i>Larus livens</i>) | 12 |
| 1.1.3.5 Pelícano café (<i>Pelecanus occidentalis</i>) | 13 |
| 1.2 Justificación | 14 |
| 1.3 Hipótesis..... | 15 |
| 1.4 Objetivos | 16 |
| 1.4.1 Objetivo general | 16 |
| 1.4.2 Objetivos Específicos | 16 |
| | |
| Capítulo 2. Metodología..... | 17 |
| 2.1 Sitios de estudio | 17 |
| 2.2 Obtención y preparación de muestras biológicas..... | 18 |

| | |
|---|-----------|
| 2.3 Identificación y clasificación de anomalías nucleares | 19 |
| 2.4 Análisis estadísticos..... | 22 |
| Capítulo 3. Resultados | 23 |
| 3.1 Variación Interanual | 24 |
| 3.2 Clases de edad..... | 26 |
| 3.3 Diferencias interespecíficas en la frecuencia de AN | 26 |
| Capítulo 4. Discusión | 29 |
| 4.1 Variación interanual | 32 |
| 4.2 Clases de edad..... | 32 |
| 4.3 Diferencias interespecíficas en la frecuencia de AN | 32 |
| Capítulo 5. Conclusiones | 38 |
| Literatura citada | 39 |
| Anexos | 53 |

Lista de figuras

| Figura | Página |
|---|--------|
| 1. Albatros de Laysan (<i>Phoebastria immutabilis</i>)..... | 10 |
| 2. Fragata tijereta (<i>Fregata magnificens</i>)..... | 11 |
| 3. Gaviota bajacaliforniana (<i>Larus livens</i>). | 12 |
| 4. Pelicano café (<i>Pelecanus occidentalis</i>)..... | 14 |
| 5. Mapa de las zonas de estudio.. | 17 |
| 6. Tipos de anomalías nucleares..... | 20 |
| 7. Porcentaje de las anomalías nucleares encontradas por grupo muestral.. | 24 |
| 8. Diagrama de cajas y bigotes de la frecuencia de anomalías nucleares en fragata tijereta..... | 25 |
| 9. Diagrama de cajas y bigotes de la frecuencia de anomalías nucleares en pollos de gaviota bajacaliforniana por año.. | 25 |
| 10. Diagrama de cajas y bigotes de la frecuencia de anomalías nucleares en fragata tijereta por clase de edad.. | 26 |
| 11. Diagrama de cajas y bigotes de la frecuencia de anomalías nucleares en pollos de gaviota bajacaliforniana y pelicano café capturados en 2021..... | 27 |
| 12. Diagrama de cajas y bigotes de la frecuencia de anomalías nucleares en pollos de fragata tijereta y gaviota bajacaliforniana capturados en 2020.. | 28 |
| 13. Diagrama de cajas y bigotes de la frecuencia de anomalías nucleares en adultos de fragata tijereta y albatros de Laysan capturados en 2020..... | 28 |

Lista de tablas

| Tabla | Página |
|---|--------|
| 1. Resumen de datos de los muestreos. | 18 |
| 2. Media de brotes y del total de AN encontradas por especie..... | 23 |
| 3. Valores de probabilidad de las pruebas estadísticas empleadas..... | 53 |
| 4. Media de la frecuencia de anormalidades nucleares por especie..... | 54 |
| 5. Frecuencia de micronúcleos y anormalidades nucleares por $10,000^{-1}$ eritrocitos. | 55 |

Capítulo 1. Introducción

Los ecosistemas marinos son de suma importancia para los humanos y la vida en general. Proveen de una gran cantidad de bienes y servicios. Algunos de ellos son: recursos alimenticios, secuestro de carbono, mitigación de catástrofes naturales, materias primas, recreación, entre otros (Barbier, 2017). Sin embargo, estos bienes y servicios se ven amenazados por factores antropogénicos que actúan sobre los ecosistemas. Uno de ellos es la contaminación, por ejemplo los contaminantes orgánicos persistentes (POPs por sus siglas en inglés), los derrames de hidrocarburos, basura sólida, fertilizantes e incluso residuos radioactivos (Kumar & Prasannamedha, 2021). Estos contaminantes llegan a los océanos al ser vertidos en los efluentes, la escorrentía de los ríos y la precipitación atmosférica. A diferencia de otras problemáticas que afectan a los ecosistemas marinos, su impacto aún no es del todo claro (Wilhelmsson et al., 2013). A su vez, no todas las sustancias liberadas al medio ambiente son igual de preocupantes. El nivel de preocupación radica en la repercusión potencial que tienen sobre la biota y esta varía dependiendo de su persistencia y biodisponibilidad (tasa de eliminación del medio ambiente), potencial bioacumulación (capacidad de acumularse en una mayor concentración dentro del organismos a comparación del medio ambiente) y la toxicidad de las sustancias (Wilhelmsson et al., 2013; Zhu et al., 2020).

En varios estudios se ha reportado que la fauna marina afectada por estos contaminantes es muy diversa. Sin embargo, uno de los grupos más estudiados son las aves, específicamente las marinas (Provencher et al., 2017). Cabe destacar que las aves marinas son un grupo polifilético, el cual más allá de sus adaptaciones a los ambientes marinos, se caracterizan por ser especies que dependen totalmente del medio marino en su ciclo de vida (Croxall et al., 2012). El interés por el estudio de las aves marinas como indicadores de la contaminación oceánica recae en características como: sus colonias se concentran en puntos específicos facilitando su monitoreo anual, es relativamente fácil obtener muestras durante la temporada de reproducción, además su posición como depredadores en la cadena trófica y la gran dispersión en periodo no reproductivo, permite conocer la salud de toda una región (Provencher et al., 2017).

Estas mismas características unidas a la longevidad las hace especialmente vulnerables a la bioacumulación y biomagnificación de contaminantes. Los contaminantes que principalmente afectan a las aves marinas son los metales pesados, pesticidas, hidrocarburos y plásticos. Sin embargo, la exposición a estos contaminantes varía por especie, edad, sexo, fuentes de alimentación, entre otros factores (Burger & Gochfeld, 2004; Roman et al., 2016).

Las aves pueden ser afectadas en diversas formas por los contaminantes marinos, existen daños físicos provocados por piezas plásticas, generando heridas o perforaciones en el tracto digestivo, falsa saciedad que induce una pobre condición corporal lo cual puede causar su muerte (Lavers et al., 2014). Mientras que para las sustancias químicas como lo pueden ser los compuestos orgánicos persistentes o metales pesados, los efectos son diversos, algunos pueden reducir la tasa de eclosión, generar malformaciones, inmunosupresión e incluso alterar el comportamiento de las aves (Grasman et al., 1998; Larson et al., 1996; Ottinger et al., 2009).

Para detectar la exposición de la biota a sustancias tóxicas se usan los biomarcadores. En términos generales, un biomarcador puede ser cualquier respuesta biológica detectable o cuantificable ante la interacción con alguna sustancia externa (Oost et al., 2003). Estas respuestas pueden ser a nivel molecular, celular, fisiológico e incluso conductual (Oost et al., 2003). Los micronúcleos (MN) han sido usados como un biomarcador de la presencia o exposición a sustancias genotóxicas y xenobióticos (de Campos Ventura et al., 2008; Hilgert Jacobsen-Pereira et al., 2018).

Estos micronúcleos son pequeños cuerpos de material genético presentes en el citoplasma, originados durante la mitosis por exposición a contaminantes que ocasionan problemas como la fragmentación o retraso en la división de los cromosomas (Silveira et al., 2022). En el ensayo para su identificación y cuantificación se han observado deformaciones de la forma típica de la membrana nuclear, denominándose “anormalidades nucleares” (AN), las cuales también se han relacionado a la exposición a contaminantes (Canedo et al., 2021).

Estos biomarcadores han sido utilizados ampliamente en diversos taxones como: anfibios, aves, bivalvos, mamíferos y peces (Alimba & Bakare, 2016; Davis & Floyd, 2014; Kim & Hyun, 2006). Además, su formación se ve inducida por una amplia gama de contaminantes (Anbumani & Mohankumar, 2015; Bolognesi et al., 2006; de Faria et al., 2018; de Souza et al., 2017).

En México aún se desconoce mucho sobre cuáles son los principales contaminantes a los que se ven expuestas las aves marinas, su origen y las implicaciones que pueden tener sobre la salud de estas. Por lo tanto, en este estudio se tuvo como objetivo determinar la frecuencia de anormalidades nucleares en muestras sanguíneas, como biomarcador de exposición a sustancias genotóxicas en diferentes especies de aves marinas de la península de Baja California.

1.1 Antecedentes

1.1.1. Prueba de micronúcleos y anomalías nucleares

La prueba de micronúcleos es un método ampliamente usado para detectar genotoxicidad. Fue propuesta por Schmid en 1975 para conocer el efecto toxicológico de una sustancia de interés en pequeños mamíferos de laboratorio. La prueba consiste en contabilizar micronúcleos (MN) los cuales son pequeñas fracciones de material genético depositadas en el citoplasma, presentes en una población celular (Brunetti et al., 1988; Santos et al., 2017). Estos pueden producirse por la exposición a un agente clastógeno, causando la ruptura de cromosomas, o por la acción de un agente aneugénico, impidiendo la unión del huso acromático al cinetocoro durante la anafase (Schmid, 1975; Vanparys et al., 1990). En adición, diversos estudios han encontrado que la exposición a genotóxicos no sólo induce la formación de MN, sino también genera alteraciones en la morfología típica nuclear, las cuales han sido nombradas anomalías nucleares o anomalías nucleares (AN) (Ayllon & Garcia-Vazquez, 2000; Ergene et al., 2007; Serrano-García & Montero-Montoya, 2001). Sin embargo, aún no se conoce con exactitud el mecanismo que hay detrás de la formación de algunas de las anomalías nucleares descritas (Ergene et al., 2007).

A nivel celular, los efectos de los MN se han relacionado con estrés, específicamente estrés metabólico a causa de la ruptura de la proteostasis y del incremento de la actividad de glicolisis, además, se sugiere una causalidad mutua con el cáncer, mientras que su relación con la senescencia y muerte celular no es tan clara (Bhatia & Kumar, 2013; Guo et al., 2019). Tanto MN como otras AN, podrían estar implicadas en ciclos de ruptura-fusión-puente (Fenech & Crott, 2002). Estos ciclos implican la ruptura del extremo de un cromosoma (comúnmente en los telómeros), después durante la replicación se genera una cromátida hermana con el mismo segmento faltante, la carencia de estos telómeros genera la fusión de los extremos de una cromátida con la otra. Posteriormente, en el anafase, las cromátidas son arrastradas a los polos celulares formando un puente que será roto por la tensión mecánica generada. Este proceso puede repetirse ya que las cromátidas aún continúan sin telómeros (Lo et al., 2002; McClintock, 1941). A su vez, estos ciclos generan inestabilidad cromosómica y pueden estar implicados en la tumorigénesis (Jallepalli & Lengauer, 2001).

La prueba de micronúcleos ha sido ampliamente usada gracias a su bajo costo, su sencillez y rapidez, así como por su alta sensibilidad, siendo idónea para detectar y monitorear la exposición de la biota a contaminantes ambientales (Canedo et al., 2021). Por ello, los micronúcleos y las anomalías nucleares

se han utilizado como biomarcadores en diferentes taxones de animales como peces, reptiles, anfibios, moluscos, aves, entre otros (Ayllon & Garcia-Vazquez, 2000; Benvindo-Souza et al., 2020; Bolognesi & Hayashi, 2011; Ghaffar et al., 2018; Matter & Schmid, 1971; Strunjak-Perovic et al., 2010).

Entre los contaminantes capaces de generar una respuesta detectable en este ensayo se encuentran diversos genotóxicos como metales pesados, hidrocarburos, agroquímicos, aguas residuales e incluso radiación (Benvindo-Souza et al., 2020; Çavaş & Ergene-Gözükara, 2005). En aves se ha probado su eficacia en estudios experimentales con diferentes contaminantes como son, aguas residuales de tenería (curtido de pieles), compuestos antitumorales (Mitomicina C), insecticidas, lixiviados de vertederos, arsénico y urea, entre otros (Alimba & Bakare, 2016; de Faria et al., 2018; de Souza et al., 2017; Ghaffar et al., 2018; Gómez-Meda et al., 2006). Estos estudios han mostrado la relevancia y seguridad en el uso de este biomarcador, ya que se encontró relación entre la concentración del contaminante y la frecuencia de AN, pudiéndose considerar como un ensayo adecuado para su uso en vida silvestre (Alimba & Bakare, 2016; de Faria et al., 2018).

En los estudios realizados en aves silvestres se han identificado diferentes factores extrínsecos e intrínsecos que pueden influir en las frecuencias de AN presentes en dichos organismos siendo el hábitat el principal factor extrínseco identificado. Las aves presentes en paisajes agrícolas exhiben una mayor frecuencia de AN, en comparación con aquellas encontradas en ambientes prístinos e incluso urbes. Esto como consecuencia de la exposición a los agroquímicos (Mendez et al., 2022; Silveira et al., 2022). A su vez, también las urbes actúan como fuentes de genotóxicos, particularmente por los contaminantes atmosféricos generados por la combustión de vehículos de motor. Por ello, aves en hábitats cercanos a ciudades con un alto tráfico vehicular podrían verse afectadas (Baesse et al., 2019).

Dentro de los aspectos intrínsecos a las aves se encuentra la capacidad de desplazamiento. Las aves migratorias o aquellas que realizan grandes desplazamientos podrían ser más vulnerables a la acumulación de AN, debido al incremento en la posibilidad de exponerse o ingerir contaminantes. Además, este riesgo se incrementa previo y durante el periodo reproductivo, como consecuencia del forrajeo intensivo, así como por las exigencias metabólicas implicadas (Tsarpali et al., 2020). La edad también ha sido un factor de interés ante la acumulación de AN. Zúñiga-González y colaboradores (2000) propusieron a partir de sus resultados que el sistema reticuloendotelial, involucrado en la eliminación de estas anomalías podría pasar por un periodo de maduración, que se da conforme la edad de los organismos avanza. Por lo tanto, individuos adultos serían menos propensos a acumular MN y AN, en comparación con los juveniles. Esta hipótesis se ha visto apoyada por algunos estudios (Quero et al., 2016; Santos et al., 2017; Silveira et al.,

2022). Por último, a pesar de que la dieta se ha identificado como un importante factor ante el consumo de contaminantes (Abbasi et al., 2015; Caldwell et al., 2020; Roman et al., 2016), su influencia sobre la generación de AN ha sido poco abordada. Souto y colaboradores (2018) analizaron la frecuencia de MN en las comunidades de aves presentes en las plantaciones de café en Brasil, sus resultados indican que las aves con una dieta omnívora podrían ser más propensas a la exposición de agroquímicos, debido a la diversificación de su dieta. La mayoría de estos estudios están limitados a unas cuantas especies de los órdenes Ciconiiformes, Passeriformes, Columbiformes y Falconiformes (Frixione & Rodríguez-Estrella, 2020; Quero et al., 2016; Santos et al., 2017), por lo que la influencia de estos factores podría ser diferente para otros grupos de aves, así como en los diferentes ecosistemas. A su vez, la influencia del nivel trófico de las aves sobre la vulnerabilidad ante los genotóxicos no ha sido abordado previamente, sin embargo, diversos estudios de contaminantes indican que las aves en niveles más altos tienen una mayor bioacumulación de contaminantes debido a la biomagnificación de los mismos (Abbasi et al., 2015; Elliott et al., 2015; Sebastiano et al., 2017). Por ello, aves en niveles tróficos altos podrían tener mayores frecuencias de AN.

Respecto a las aves marinas, algunas de las especies que se han analizado son: pingüino de Adelia (*Pygoscelis adeliae*), pingüino de barbijo (*Pygoscelis antarcticus*), pingüino de pico rojo (*Pygoscelis papua*) (De Mas et al., 2015; Olmastroni et al., 2019), págalo sureño (*Stercorarius maccormicki*) (Kursa & Bezrukov, 2008), gaviota meridional (*Larus dominicanus*) (Frixione et al., 2022), gaviota occidental (*Larus occidentalis*) y pardela mexicana (*Puffinus opisthomelas*) (Quintero-Vidales, 2021).

La mayoría de estos estudios son exploratorios, buscando establecer una línea base en la frecuencia de AN, aunque dos de estas publicaciones cuestionan el rol ante la acumulación de daño en el genoma de distintos factores como la edad, dieta, nivel trófico y zonas de forrajeo. De Mas y colaboradores (2015) analizaron las frecuencias de AN en tres especies simpátricas de pingüinos del género *Pygoscelis* y encontraron que el pingüino de Adelia (*Pygoscelis adeliae*), fue la especie con una mayor frecuencia de AN. Aunque no está claro que factores podrían influir en estas diferencias, se sugiere que podrían deberse a la dieta, a las diferentes zonas de invernada o a la sensibilidad específica (De Mas et al., 2015). En nuestro grupo de trabajo, Quintero-Vidales (2021) analizó la frecuencia de MN y AN en dos especies: la gaviota occidental (*L. occidentalis*) y la pardela mexicana (*P. opisthomelas*), tanto en pollos como en aves adultas y observó que existía una mayor frecuencia de AN en los pollos en comparación con los adultos. También encontró que la pardela presentó una mayor frecuencia de AN en ambas clases de edad al comparar con la gaviota. Estos resultados fueron atribuidos al nivel trófico de cada especie y a las diferentes fases de desarrollo (Quintero-Vidales, 2021). Además, recientemente se ha empleado este biomarcador en

embriones de aves marinas de la costa de Sinaloa, donde se observó un decremento en la frecuencia de micronúcleos conforme al desarrollo de los embriones (Ceyca-Contreras et al., 2023).

1.1.2. Mecanismos de reparación del ADN y destinos de los MN

La generación de MN comúnmente se asocia con rupturas de la doble hebra (DSB por sus siglas en inglés) (Terradas et al., 2009). A su vez, las DSB pueden repararse o prevenirse a través de diferentes respuestas de reparación como la recombinación homóloga (HR por sus siglas en inglés), la reparación por escisión de bases (BER por sus siglas en inglés), la unión de extremos no homólogos (NHEJ por sus siglas en inglés) o la reparación por escisión de nucleótidos (NER por sus siglas en inglés) (Mirza-Aghazadeh-Attari et al., 2019).

Recombinación homóloga (HR): esta reparación ocurre durante la replicación del material genético, antes de la mitosis, y a partir de un molde o hebra homóloga intacta (Wyman et al., 2004). Es un mecanismo esencial para la reparación de lesiones en el ADN así como en el mantenimiento de los telómeros (Li & Heyer, 2008). Consta de tres fases: 1) pre-sinapsis: las enzimas generan dos extremos monocatenarios en el sitio donde ocurrió la DSB, 2) sinapsis: una de las cadenas dañadas invade a la doble cadena donde es homóloga. Esto genera un bucle y posteriormente la otra cadena se une a su homólogo o se genera nuevamente una invasión y 3) se realiza la síntesis del ADN y posteriormente se separan las uniones establecidas entre las hebras (resolución). Finalmente, las hebras se unen con sus cadenas originales (ensamblaje) (Krejci et al., 2012; Li & Heyer, 2008; Wyman et al., 2004).

Reparación por escisión de bases (BER): este sistema de reparación actúa ante lesiones en el ADN como metilaciones, pérdida hidrolítica de bases y oxidación de bases, causadas por mutágenos endógenos y exógenos (Dianov & Hübscher, 2013). A pesar de que el BER no actúa en eventos de ruptura de la doble cadena, es un sistema fundamental para prevenirlos, ya que sin su intervención la horquilla de replicación podría sufrir un colapso al encontrarse con la base dañada (Ensminger et al., 2014). La reparación comienza por el reconocimiento de una ADN glicosilasa específica hacia la base dañada, la cual genera un corte en el enlace glicosídico, posteriormente una endonucleasa actúa sobre el enlace fosfodiéster eliminando la base dañada, para después reclutar una polimerasa que añade la base complementaria y finalmente una ligasa cierra la cadena (Dianov & Hübscher, 2013).

Unión de extremos no homólogos (NHEJ): este mecanismo es capaz de arreglar rupturas de la doble

cadena, restableciendo la continuidad de los cromosomas. Sin embargo, al no tener un molde y solamente unir ambas cadenas, se pueden generar inserciones o deleciones, alterando la secuencia en la zona del daño (Deriano & Roth, 2013). La reparación inicia con el reconocimiento de la ruptura por el complejo Ku, posteriormente una quinasas señala la ruptura activando así a las proteínas reparadoras como Artemis, para finalmente cerrar la cadena mediante una ligasa (Burma et al., 2006).

Reparación por escisión de nucleótidos (NER): este sistema está encargado de arreglar lesiones voluminosas en el ADN (p. ej. dímeros de timina), causados por radiación UV, mutágenos y algunas drogas (Sancar & Tang, 1993; Schärer, 2013). A pesar de que consideraba exclusivo para daños en una sola cadena, recientemente se ha sugerido que algunos de los genes NER tienen un papel fundamental ante rupturas de la doble hebra (Zhang et al., 2009). El sistema de reparación NER tiene dos rutas; la ruta global genómica (GG-NER) y la ruta acoplada a la transcripción (TC-NER) (Marteijn et al., 2014). La ruta GG-NER actúa en cualquier parte del genoma, mientras que la TC-NER ocurre en genes que están siendo transcritos, siendo la ARN polimerasa la iniciadora de esta ruta, mientras que la GG-NER es iniciada por el factor XPC-RAD23B (Schärer, 2013). Después del reconocimiento del daño, el factor de transcripción general IIF, abre el ADN y verifica el daño para que después el complejo proteico genere un corte en el extremo 5', comenzando con la síntesis complementaria del ADN. Una vez realizada la síntesis se realiza el corte en el extremo 3' liberando el fragmento sustituido, y por último una ligasa cierra la secuencia (Schärer, 2013).

Se ha observado que en el núcleo principal la capacidad por efectuar una reparación eficiente es común, mientras que en los MN esto es diferente, a pesar de todos estos mecanismos mencionados anteriormente (Terradas et al., 2009). Por ejemplo, la proteína γ -H2AX se expresa de manera correcta tanto en el núcleo principal como en los MN de células expuestas a radiación (Terradas et al., 2009). Esta proteína es la versión fosforilada de H2AX, una variante de la histona H2A, encontrada en interacción con otras histonas y el ADN, generando nucleosomas, mientras que la versión fosforilada actúa como etiqueta induciendo procesos de reparación del ADN (Kuo & Yang, 2008). A su vez, existen dos patrones de etiquetado por γ -H2AX: el patrón discreto el cual ocurre de manera focalizada al sitio de daño, y el continuo, presente en todo el MN. El patrón de etiquetado dominante varía en función del tiempo; a las pocas horas que ocurre la ruptura de la doble hebra se observa de manera abundante el etiquetado discreto. Sin embargo, si el daño no logra repararse, el etiquetado continuo podría actuar como un marcaje para realizar la apoptosis. Ambos patrones de etiquetado se expresan de igual manera tanto en el núcleo como en el MN (Terradas et al., 2009). A pesar del eficaz etiquetado por γ -H2AX observado en los MN, la expresión de los factores 53BP1 y MRE11 es bastante limitada (Terradas et al., 2009). La proteína MRE11 es parte del complejo MRN, un factor esencial para la reparación de las DSB y uno de los primeros en actuar, está implicado en

el reconocimiento, señalización y posterior reparación del ADN, ya sea por recombinación homóloga (HR) o por unión de extremos no homólogos (NHEJ) (QIU & HUANG, 2021; Terradas et al., 2010). Mientras que la proteína 53BP1, al igual que el ciclo celular, influye en la elección de una vía de reparación ante la DSB, principalmente promoviendo la NHEJ a la vez que suprime la HR. Además tiene diversas interacciones implicadas en la apoptosis y autofagia (Mirza-Aghazadeh-Attari et al., 2019). A su vez, el sistema de reparación a usar puede depender de diversos factores como el ciclo celular, la reparación por HR puede ocurrir en la fase de síntesis (Fase S) o en la fase Gap 2 (Fase G2) del ciclo celular, debido al requerimiento de una cromátida hermana, mientras que la NHEJ puede actuar en cualquier fase (QIU & HUANG, 2021). Estos resultados sugieren que sólo algunos MN son capaces de generar una respuesta completa y eficiente para la reparación del ADN (Terradas et al., 2009, 2010).

Cuando se reparan los daños del núcleo principal originados por la formación de MN, se puede evitar la apoptosis o la senescencia; sin embargo, el MN podría tener diferentes destinos (Terradas et al., 2010). De acuerdo con Guo y colaboradores (2019), los MN podrían tener al menos cinco posibles destinos: persistencia, reincorporación, disrupción, degradación y extrusión.

Persistencia: El micronúcleo persiste o se conserva en el citoplasma durante uno o más ciclos celulares. Esto podría ocurrir debido a daños en el centrómero que imposibilitan su alineación del cromosoma o fragmento a la placa metafásica; por lo cual, el MN es heredado a las células hijas (Guo et al., 2019; Hintzsche et al., 2017; Yasui et al., 2010).

Reincorporación: El MN puede reincorporarse en el núcleo principal durante la siguiente mitosis, esto puede ocurrir de dos formas: 1) Cuando el MN contiene un cromosoma replicado que es capaz de ensamblar el cinetocoro. Este puede alinearse en la placa metafásica y continuar con el proceso de mitosis de manera normal, o 2) el MN puede incorporarse en la periferia del núcleo de la célula hija durante la mitosis, gracias a la cercanía física de ambos (Cresta et al., 2012; Guo et al., 2019).

Disrupción: Algunos MN tienen una envoltura nuclear “defectuosa” carente de algunos componentes de la membrana, por ello la envoltura puede colapsar exponiendo el ADN a la degradación por nucleasas, o en su ausencia esto podría llevar a la cromotripsis (Guo et al., 2019; Hatch et al., 2013).

Degradación: Los MN son envueltos por vesículas (autofagosomas) y transportados a los lisosomas para su reciclaje. Los mecanismos de señalamiento de los MN para su degradación aún no son del todo claros (Guo et al., 2019; Rello-Varona et al., 2012).

Extrusión: En este proceso el MN es expulsado de la célula, siendo cubierto por la membrana citoplasmática, formando una “pequeña célula”. Parece ser un proceso aleatorio y poco común, que además, podría permitir la transferencia del MN a otra célula, así como de otros elementos extracromosómicos como los genes virales, pero su comprensión es muy limitada (Guo et al., 2019; Shimizu, 2011).

1.1.3 Especies de estudio

1.1.3.2 Albatros de Laysan (*Phoebastria immutabilis*)

El albatros de Laysan es una especie perteneciente al orden Procellariiformes que se distribuye ampliamente en el hemisferio norte del océano Pacífico. Esta especie cuenta con colonias en la isla japonesa Chichi-jima, en el archipiélago hawaiano; así como en las islas mexicanas Guadalupe, Clarión y San Benedicto (Fig. 1) (Awkerman et al., 2020; Cousins et al., 2001; Howell & Webb, 1995). Respecto a su estado de conservación de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (NOM-059-SEMARNAT-2010), la especie se encuentra clasificada como “amenazada”, mientras que para la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN por sus siglas en inglés) se encuentra como “casi amenazada”.

Su dieta se especializa en calamares, aunque también se puede alimentar de diversas especies de peces teleósteos (Gagne et al., 2018; Nakatsuka et al., 2021; Pitman et al., 2004). Debido a la evidencia contrastante, parece que el albatros de Laysan es una especie oportunista, que puede alimentarse tanto de carroña como de presas que él mismo captura (Nakatsuka et al., 2021; Nishizawa et al., 2018; Pitman et al., 2004). Su gran capacidad de vuelo le permite desplazarse por grandes distancias en busca de alimento, durante la temporada de reproducción pueden realizar viajes de forrajeo de hasta 420 km lejos de la colonia (Hernández-Montoya et al., 2019).

Estas características se ven reflejadas en el análisis de isotopos estables, teniendo valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre 13.7 a 14.5, y de $\delta^{13}\text{C}$ entre -19.8 a -18.9 (Finkelstein et al., 2006; Suryan & Fischer, 2010).

En México la temporada de reproducción ocurre entre noviembre y mayo (Howell & Webb, 1995). La hembra pone un solo huevo el cual es incubado por 64 días hasta su eclosión. Ambos progenitores participan en la construcción del nido, incubación y alimentación de la cría hasta que esta sea capaz de

volar (Rice & Kenyon, 1962). El pollo abandona la colonia aproximadamente a los 165 días de edad y regresará hasta alcanzar los 3 años; sin embargo, hasta los 8 años cuando haya alcanzado la madurez sexual buscará pareja, con la cual se reproducirá cada temporada en el mismo lugar donde una vez nacieron (filopatría) (Fisher, 1976; Rice & Kenyon, 1962).



Figura 1. Albatros de Laysan (*Phoebastria immutabilis*). Fotografía: Yuri Albores.

1.1.3.3 Fragata tijereta (*Fregata magnificens*)

La fragata tijereta es un ave marina suliforme que habita las regiones tropicales y subtropicales de América, así como una pequeña región cercana a África Occidental (Diamond & Schreiber, 2020) (Fig. 2). Esta ave y sus congéneres no cuentan con plumas que repelan el agua, lo que las hace diferentes a otras aves marinas y por ello han desarrollado estrategias de alimentación particulares (Carlos et al., 2017). Respecto a su estado de conservación esta especie no se encuentra dentro de la Norma Oficial Mexicana (NOM-059-SEMARNAT-2010), mientras que para la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN por sus siglas en inglés) se encuentra en “preocupación menor”.

Es una especie especialista que basa su dieta principalmente en peces (96.8 %), pertenecientes a las familias Serranidae, Triglidae, Bothidae, etc. Seguido por cefalópodos (2.3 %) y crustáceos (0.9 %) (Calixto-

Albarrán & Osorno, 2000). A través del análisis de regurgitaciones, se ha sugerido que estas aves son oportunistas; obteniendo hasta más del 65% de sus presas de los descartes de barcos camaroneros, mientras que por depredación obtienen un 26 % de su dieta, que son peces capturados en la superficie, y sólo el 6.4 % restante proviene del cleptoparasitismo hacia otras aves marinas, sin embargo la proporción de su dieta varía en cada colonia (Calixto-Albarrán & Osorno, 2000).



Figura 2. Fragata tijereta (*Fregata magnificens*). Fotografía: Jorge Andrés Morales.

Durante la temporada de anidación, las fragatas pueden realizar vuelos cortos por la costa o grandes recorridos pelágicos de hasta casi 1,000 kilómetros del nido para buscar alimento (Austin et al., 2019). Los machos realizan en su mayoría vuelos pelágicos, mientras las hembras optan por vuelos costeros más cercanos a la colonia, generando así una segregación sexual (Austin et al., 2019; Giambalvo et al., 2022). El análisis de sus isotopos estables tiene valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre 13.7 y 14.5, y valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre -15.1 a -15, estos valores pueden ser comúnmente influenciados por la dieta oportunista, al alimentarse de descartes (Sebastiano et al., 2016, 2017).

En México la temporada de reproducción ocurre entre noviembre y julio (Osorno, 1996). La hembra pone un sólo huevo el cual ambos padres incubarán y alimentarán una vez que este eclosione. Sin embargo, en un periodo muy amplio que va desde los 19 a los 160 días de edad, el pollo es abandonado por el macho, dejando a la hembra a cargo (Osorno, 1999; Trivelpiece & Ferraris, 1987). La hembra cuidará al pollo hasta

ser un volantón e inclusive puede seguir alimentando al individuo juvenil por varios meses (Diamond & Schreiber, 2020; Trivelpiece & Ferraris, 1987).

1.1.3.4 Gaviota bajacaliforniana (*Larus livens*)

Esta especie de charadriiforme se distribuye a lo largo del golfo de California, siendo la única ave marina endémica de esta región (Fig. 3) (Patten, 2020). Respecto a su estado de conservación de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (NOM-059-SEMARNAT-2010), la especie se encuentra clasificada como “sujeta a protección especial”, mientras que para la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN por sus siglas en inglés) se encuentra en “preocupación menor”.



Figura 3. Gaviota bajacaliforniana (*Larus livens*). Fotografía: Jorge Andrés Morales.

Es una especie generalista y oportunista, por lo que su dieta puede variar en escala temporal y espacial; sin embargo, se ha identificado que gran parte de su dieta se basa en la depredación del petrel mínimo (*Hydrobates microsoma*), huevos de otras aves marinas, así como de crustáceos y peces, e incluso del canibalismo (Flores-Martínez et al., 2015; Hand et al., 1981). Estas presas son obtenidas de la zona intermareal, de la superficie del agua o de aguas poco profundas (Hand et al., 1981; Patten, 2020). Estos hábitos se ven reflejados en los valores de isotopos estables: $\delta^{15}\text{N}$ entre 20.6 y 21.2, mientras que los

valores de $\delta^{13}\text{C}$ están entre -14.8 y -13.8 (Auriolles-Gamboa et al., 2013; Blázquez et al., 2016).

En México la temporada de reproducción ocurre entre marzo y junio (Zarate-Ovando, 2001). Durante la reproducción pueden poner hasta 3 huevos de manera asincrónica, en algunas colonias se tiene un éxito de 0.5 ± 0.50 volantones por nido (Lozano et al., 2004). La incubación de los huevos dura un período de 30 días y a los 56 días después de la eclosión los volantones alcanzan el vuelo (Zarate-Ovando, 2001).

1.1.3.5 Pelicano café (*Pelecanus occidentalis*)

El pelicano café es una especie costera perteneciente al orden Pelecaniformes. Se distribuye en el continente americano donde habita ambientes principalmente cálidos, encontrándose en las costas del Pacífico; desde el norte de Estados Unidos, hasta el sur de Ecuador, así como en las costas colindantes al (Fig. 4) (Shields, 2020). Respecto a su estado de conservación de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (NOM-059-SEMARNAT-2010), la especie se encuentra clasificada como “amenazada”, mientras que para la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN por sus siglas en inglés) se encuentra en “preocupación menor”.

Su dieta es piscívora, aunque puede variar dependiendo de la región geográfica, por ejemplo; en la parte norte del golfo de México se alimenta principalmente de la lacha escamuda (*Brevoortia patronus*), mientras que en California su principal presa es la anchoveta norteña (*Engraulis mordax*) (Anderson et al., 1975; Lamb et al., 2018). Ambas especies de peces se pueden encontrar en la superficie del mar, donde el pelicano es capaz de atraparlas dentro de su saco gular al lanzarse en picada desde hasta 15 metros de altura (Carl, 1987; Schreiber et al., 1975). El análisis de isótopos estables tiene valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre 13.9 y 17.4, y valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre -17.4 a -14.5, esta gran diferencia podría deberse a disparidades en los sitios de estudio, así como por el periodo dentro del ciclo de vida de las aves en la que se realizaron los muestreo (Newtoff & Emslie, 2017; Schoeninger & DeNiro, 1984).

En México la temporada de reproducción ocurre entre diciembre y julio (Hernandez-Vazquez et al., 2011). El tamaño de puesta puede variar entre 1 hasta 4 huevos, aunque comúnmente sólo uno de los pollos sobrevive (Pinson & Drummond, 1993; Schreiber, 1977). Tienen cuidado biparental; incuban el huevo por un periodo de 30 días alcanzando la eclosión, para posteriormente alimentar al pollo hasta que es capaz de volar después de las 11 semanas (Schreiber, 1977).



Figura 4. Pelicano café (*Pelecanus occidentalis*). Fotografía: Jorge Andrés Morales.

1.2 Justificación

Las aves marinas son el grupo de aves más amenazadas en el mundo, de acuerdo con la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN por sus siglas en inglés). El 28% de ellas se encuentran clasificadas como amenazadas, el 10% como casi amenazadas y el 5% se encuentran en peligro crítico de extinción. Las principales causales de esto son la introducción de especies exóticas invasoras, la captura incidental, el cambio climático, las condiciones meteorológicas atípicas y la contaminación antropogénica (Croxall et al., 2012).

Para el caso particular de México, este es el octavo país con un mayor número de especies protegidas, el tercero con mayor riqueza de especies y el cuarto en número de endemismos (Croxall et al., 2012). Gracias a su amplia franja costera y a sus más de 3,000 islas, México cuenta con 109 especies de aves marinas de las cuales, 25 de ellas se reproducen en territorio nacional (Albores-Barajas et al., 2020).

A pesar de la importancia que representa México para la conservación de las aves marinas, la información necesaria para establecer medidas de protección oportunas es insuficiente, ya sea por su ausencia o porque está desactualizada. Para ello se requiere realizar investigación sobre aspectos básicos como su

estado de salud, demografía y movimientos, además es primordial identificar cuáles son las problemáticas locales y específicas a las que se enfrentan las especies aquí estudiadas. En este estudio abordamos una de las amenazas más comunes para las aves marinas: la contaminación. Para indagar en esto, se empleó la prueba de micronúcleos y anormalidades nucleares para así determinar si existe una exposición a sustancias genotóxicas.

La selección de fragata tijereta, la gaviota bajacaliforniana y el pelícano café se debe a que son especies abundantes que anidan en el archipiélago Espíritu Santo, lo que facilita su captura y obtención de muestras. Además, durante la temporada reproductiva se alimentan dentro de la bahía de La Paz, así como en zonas aledañas, esto los hace adecuados bioindicadores para este parque nacional. Asimismo, el albatros de Laysan es una especie ideal como bioindicador, ya que tiene un alto nivel trófico, es longevo y forrajea en grandes áreas, recabando información representativa de una vasta región geográfica. Al encontrarse en una locación completamente diferente a las especies anteriores, brinda una perspectiva más amplia sobre la genotoxicidad en las aves marinas. En adición, basándonos en el número de parejas reproductoras presentes, la población de albatros de isla Guadalupe es la más importante en México (Pitman et al., 2004). De manera general, no se han realizado estudios previos enfocados a la exposición de contaminantes, por lo que se desconoce la preocupación que podría representar esta amenaza para estas cuatro especies y poblaciones.

En el presente estudio se determinó la frecuencia de anormalidades nucleares en cada una de las especies analizadas. Posteriormente, se realizaron comparaciones de las frecuencias de AN entre clases de edad, así como entre diferentes años y especies. Cabe mencionar que son pocos los estudios que han analizado estos biomarcadores en especies simpátricas, lo cual permite identificar las características ecológicas que hacen más susceptible a una especie que otra ante la exposición a contaminantes.

Este estudio generó una referencia de daño genotóxico para futuros monitoreos de contaminantes en la península de Baja California. Esto permitirá detectar posibles cambios en las frecuencias de AN a través del tiempo, siendo el primer análisis de su tipo para estas especies de aves en México. Asimismo, servirá como referencia para otros estudios.

1.3 Hipótesis

H₁: La frecuencia de AN se asociará con el nivel trófico de las aves, es decir las aves con un nivel trófico más alto presentarán una mayor frecuencia de AN, debido a la biomagnificación.

H₂: Los pollos de fragata tijereta tendrán una mayor frecuencia de AN en comparación a los adultos, debido a la maduración del sistema reticuloendotelial implicado en la eliminación de AN.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

Determinar la frecuencia de anomalías nucleares en muestras sanguíneas de albatros de Laysan (*P. immutabilis*) de la colonia ubicada en la Reserva de la Biosfera Isla Guadalupe. Así como en la fragata tijereta (*F. magnificens*), la gaviota bajacaliforniana (*L. livens*) y el pelícano café (*P. occidentalis*) del Parque Nacional Archipiélago de Espíritu Santo, en la península de Baja California, durante sus respectivas temporadas de reproducción en los años 2020 y 2021.

1.4.2 Objetivos Específicos

- 1.- Determinar si existe una variación intraespecífica en la frecuencia de AN en la fragata tijereta y la gaviota bajacaliforniana entre los años 2020 y 2021.
- 2.- Comparar la frecuencia de AN entre pollos y adultos de fragata tijereta.
- 3.- Comparar la frecuencia de AN entre especies de aves marinas de la península de Baja California.

Capítulo 2. Metodología

2.1 Sitios de estudio

Durante el mes de febrero de 2020 se obtuvieron muestras sanguíneas de individuos adultos de albatros de Laysan ($n = 19$) pertenecientes a la colonia de la Reserva de la Biosfera Isla Guadalupe ($29^{\circ}01'13.9''N$ $118^{\circ}16'30.3''W$). Esta isla se ubica en el Pacífico al noroeste de México, a 260 km de las costas del estado de Baja California. Las muestras sanguíneas de fragata tijereta ($n = 51$), gaviota bajacaliforniana ($n = 32$) y de pelícano café ($n = 19$) fueron obtenidas en sus colonias ubicadas en el Parque Nacional Archipiélago de Espíritu Santo, al noreste de la ciudad de La Paz (Fig. 6) (Tabla 1). Específicamente las muestras de fragata se obtuvieron el 22 de junio de 2020 y el 3 de mayo del 2021, en la colonia ubicada en Bahía San Gabriel ($24^{\circ}25'35.8''N$ $110^{\circ}20'54.8''W$). Las muestras de gaviota se obtuvieron los días 15, 18, 24 y 26 de mayo de 2020, y el 21 y 26 mayo de 2021 en la isla San Juan Nepomuceno ($24^{\circ}17'15.5''N$ $110^{\circ}20'21.8''W$). Las muestras de pelícano se obtuvieron el 29 de abril y 26 de mayo del 2021 en islote Ballena ($24^{\circ}28'59.0''N$ $110^{\circ}24'11.9''W$). La edad aproximada en la que los pollos fueron muestreados fue de 2 - 3 semanas en fragatas, 3 - 4 semanas en gaviotas y 5 - 7 semanas en pelícanos.

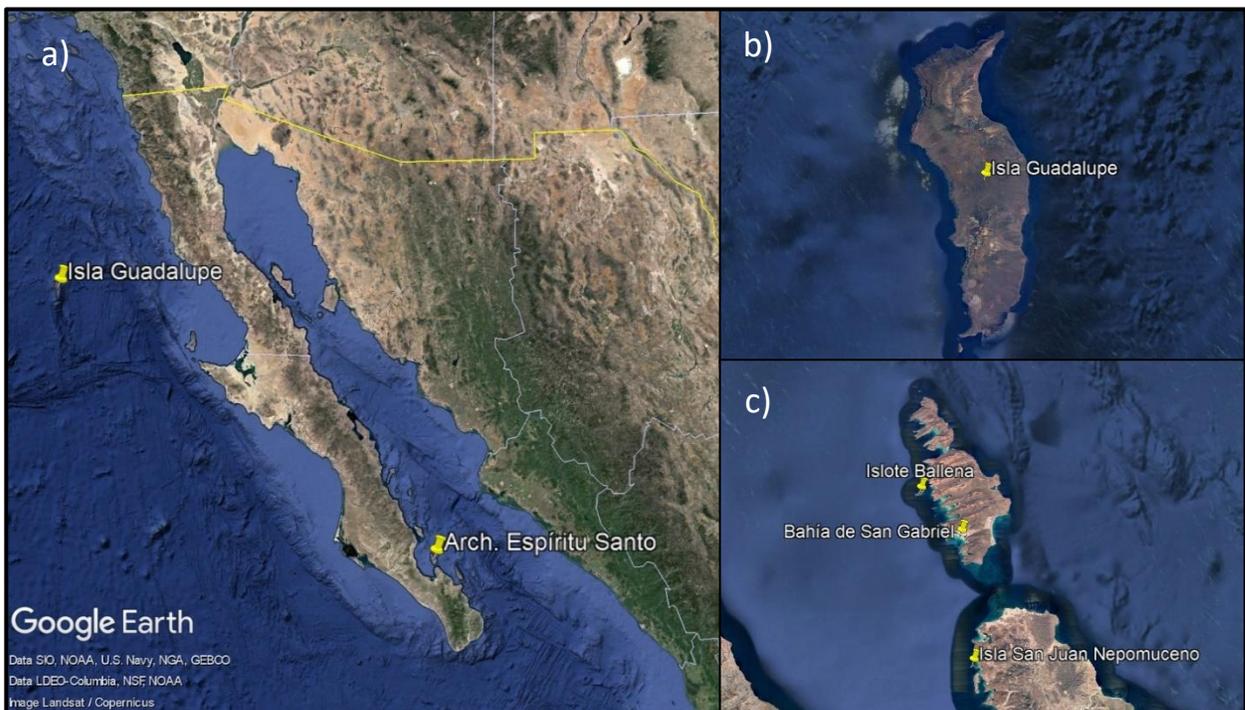


Figura 5. Mapa de las zonas de estudio. a) Península de Baja California, b) Isla Guadalupe y c) Archipiélago Espíritu Santo.

Todas las aves fueron capturadas a mano durante el día, a excepción de las fragatas que fueron capturadas por la noche. Las aves fueron capturadas y manipuladas bajo el permiso de colecta SGPA/DGVS/11942/19, su prorrogación SGPA/DGVS/05216/20, y su renovación SGPA/DGVS/06533/21.

Tabla 1. Resumen de datos de los muestreos.

| Especie | Sitio | Año | Edad | n | Abreviatura |
|------------------------|-----------------------------|------------|-------------|----------|--------------------|
| <i>F. magnificens</i> | Archipiélago Espíritu Santo | 2020 | Adultos | 15 | FRMA2020A |
| <i>F. magnificens</i> | Archipiélago Espíritu Santo | 2020 | Pollos | 21 | FRMA2020P |
| <i>F. magnificens</i> | Archipiélago Espíritu Santo | 2021 | Adultos | 15 | FRMA2021A |
| <i>L. livens</i> | Archipiélago Espíritu Santo | 2020 | Pollos | 20 | LALI2020P |
| <i>L. livens</i> | Archipiélago Espíritu Santo | 2021 | Pollos | 12 | LALI2021P |
| <i>P. occidentalis</i> | Archipiélago Espíritu Santo | 2021 | Pollos | 19 | PEOC2021P |
| <i>P. immutabilis</i> | Isla Guadalupe | 2020 | Adultos | 19 | PHIM2020A |

Para la obtención de muestras de sangre en pollos, se perforó la vena tarsal, mientras que para los adultos se optó por la vena braquial. Ambos procedimientos se realizaron con agujas de 0.45 mm, limpiado previamente la zona de punción con alcohol al 70%. Posterior a la perforación, con un tubo capilar con anticoagulante de heparina de litio, se tomó la sangre resultante de la punción, esto para el procedimiento en pollos. Mientras que, para los adultos la sangre se extrajo usando una jeringa. Se prepararon laminillas sanguíneas siguiendo el método de barrido (Vives Corrons et al., 2004). En el extremo de un portaobjetos de cristal, se colocó una gota de sangre, posteriormente con la ayuda de otro portaobjetos se extendió la muestra. Los frotis se secaron al aire y se marcaron con los datos correspondientes para la identificación de la muestra (Labrada-Martagón et al., 2019; Quintero-Vidales, 2021).

2.2 Obtención y preparación de muestras biológicas

Para la obtención de muestras de sangre en pollos se perforó la vena tarsal-metatarsal, con una aguja de 0.45 mm, limpiado previamente la zona de punción con alcohol al 70%. Posterior a la perforación, en un tubo capilar con anticoagulante de heparina de litio, se tomó la sangre resultante de la punción. Para las aves adultas se siguió el mismo procedimiento, pero la sangre se extrajo de la vena braquial usando una jeringa. Se prepararon laminillas siguiendo el método de barrido (Vives Corrons et al., 2004). En el extremo de un portaobjetos de cristal, se colocó una gota de sangre, posteriormente con la ayuda de otro portaobjetos se extendió la muestra. Los frotis se secaron al aire y se marcaron con los datos correspondientes para la identificación de la muestra.

El procedimiento de tinción de las laminillas y obtención de imágenes se realizó en los laboratorios de “Ecología de la Salud” perteneciente a la Facultad de Ciencias en la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP) en colaboración con la Dra. Vanessa Labrada Martagón y en el “Laboratorio de Ensamblaje Viral y Sistemas Biológicos” a cargo del Dr. Mauricio Comas García, en el Centro de Investigación en Ciencias de la Salud y Biomedicina. Se utilizó el protocolo de tinción para la prueba de micronúcleos para muestras de sangre periférica de tortugas marinas, establecido por Labrada-Martagón y colaboradores (2019), el cual fue posteriormente estandarizado para muestras sanguíneas de aves marinas por Quintero-Vidales (2021). Brevemente, las laminillas fueron fijadas con etanol al 80% durante 5 minutos en vasos coplin. Después se tiñeron por 5 minutos en una solución de naranja de acridina (Sigma CAS No. 10127-02-3) disuelta en buffer de fosfatos en una relación de 0.01 g por cada 100 ml y un pH final de 7.4. Posteriormente las laminillas fueron transferidas a una solución buffer de fosfatos durante otros 5 minutos para su lavado. Finalmente se escurrieron en una charola con papel absorbente, para después secarse en un horno a oscuridad a 45°C durante 20 minutos. Durante el proceso de tinción se evitó la exposición a la luz ambiental tanto del colorante como de las laminillas teñidas para prevenir la fotodegradación del colorante. Posteriormente, se tomaron fotografías digitales de las laminillas para lo cual se utilizó un microscopio de fluorescencia equipado con cámara (BioTek Lionheart FX Automated Microscope). Las fotos fueron tomadas con una magnificación de 60x y una longitud de onda de 490 nm. Previo a la observación de cada muestra en el microscopio, se agregó una gota de solución buffer de fosfatos al frotis y posteriormente se colocó un cubreobjetos. Se obtuvieron 25 fotografías por cada laminilla analizada haciendo un patrón de zigzag para evitar obtener fotografías de un campo repetido. El conteo y la estimación de la frecuencia de micronúcleos y anormalidades nucleares se realizó de manera manual con las fotografías tomadas hasta alcanzar un conteo de 1,000 eritrocitos por individuo (Labrada-Martagón et al., 2019). Las unidades se presentan como número de anormalidades en 1000 eritrocitos.

2.3 Identificación y clasificación de anormalidades nucleares

Previo a los conteos, para identificar las anormalidades nucleares consideradas en este estudio se realizó una revisión bibliografía específicamente sobre micronúcleos y anormalidades nucleares en aves, debido a las particularidades morfológicas de sus eritrocitos. Estas células son característicamente ovoides en la mayoría de las especies de aves, aunque en algunas especies pueden ser más redondos a su vez el núcleo es también ovoide (Clark et al., 2009). Se seleccionaron dos trabajos por contener el mayor número de AN descritas en aves: Quero y colaboradores (2016) y Santos y colaboradores (2017), y se incluyeron todos los tipos de AN descritos previamente sin que estas fueran redundantes (Fig. 6). Los criterios de

identificación y clasificación de las anomalías consideradas fueron las siguientes:

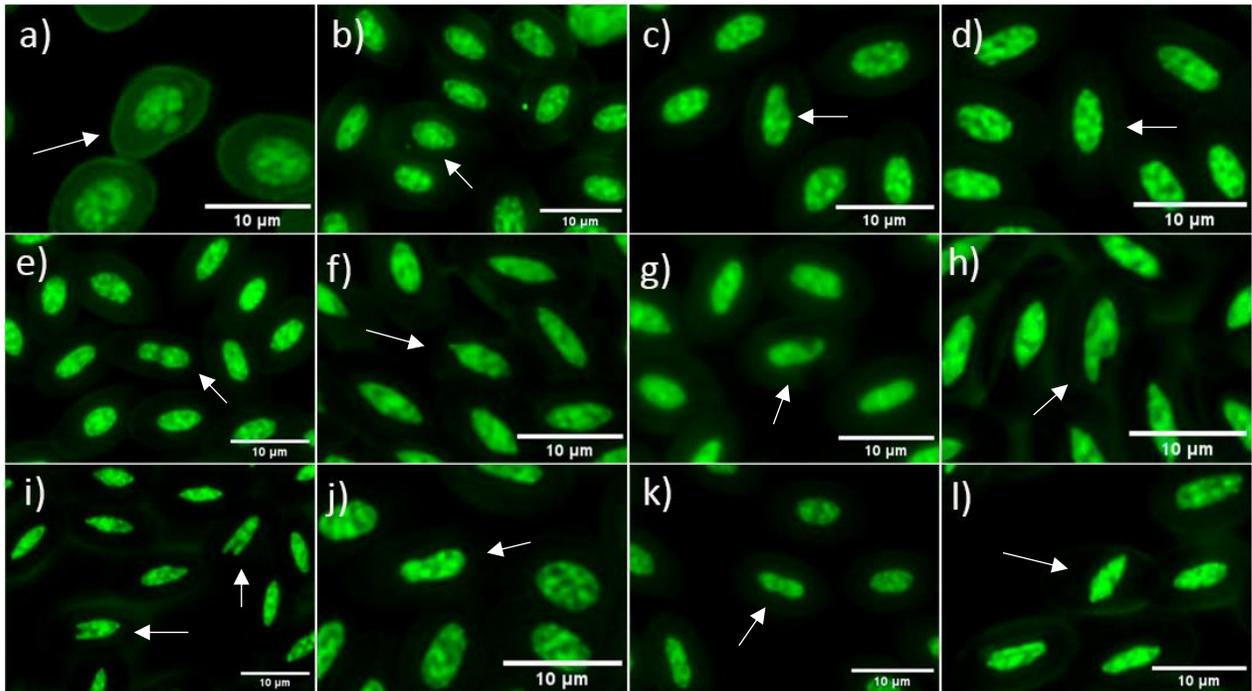


Figura 6. Tipos de anomalías nucleares. a) y b) micronúcleos, c) y d) brotes nucleares, e) célula binucleada, f) cola nuclear, g) Puente nucleoplasmático, h) y i) muescas, j) núcleo dentado, k) núcleo segmentado y l) otra. Las flechas indican la célula con la anomalía.

Micronúcleo: partícula redonda la cual tiene la misma textura, coloración e intensidad a la del núcleo. Puede representar entre 1/3 a 1/16 del tamaño del núcleo, además de que se encuentra totalmente separado de éste (Bolognesi et al., 2013).

Brote (Bud): Constricción en el núcleo que puede tener un diámetro entre 1/2 a 1/4 del núcleo principal (Quero et al., 2016; Santos et al., 2017). Su origen no es del todo claro; sin embargo, se sugiere que el mecanismo detrás de su formación es diferente al de los micronúcleos. Estos podrían originarse a partir de la integración de porciones de ADN previamente depositadas en el citoplasma, o de manera contraria, por el exceso de material genético presente en el núcleo siendo expulsado al citoplasma (Fenech et al., 2011; Lindberg et al., 2007). A diferencia de los MN compuestos principalmente de secuencias de telómeros y centrómeros, el material genético contenido en estos brotes proviene de regiones intersticiales o terminales de los cromosomas (Lindberg et al., 2007). Algunos estudios se han observado que tanto los MN como los brotes se inducen de manera similar ante la exposición a diferentes drogas como: demecolcina, mitomicina C, tabaco, e incluso por infecciones parasitarias (Serrano-García &

Montero-Montoya, 2001), así como por deficiencias de folato (Fenech & Crott, 2002).

Células binucleadas: dos núcleos del mismo tamaño en una misma célula. Pueden tener o no contacto entre sí (Quero et al., 2016; Thomas et al., 2009). Su importancia como biomarcador genotóxico no ha sido comprobada. Se sabe que son originadas durante la citocinesis, debido a errores producidos en los microfilamentos encargados de formar el anillo contráctil, así como a una segregación disfuncional de los cromosomas o alteraciones en los telómeros (Bolognesi et al., 2013; Shi & King, 2005).

Cola nuclear: se observa como una reducción gradual, estrechamiento y alargamiento de un extremo nuclear (Quero et al., 2016). Se han indicado como marcadores de exposición a la radiación gamma, se originan a partir de la ruptura del material genético en núcleos con puentes, por ello existe una correlación entre ambas AN (Anbumani & Mohankumar, 2015).

Puente nucleoplasmático: dos fracciones nucleares de igual o diferente tamaño unidas por un puente o estrechamiento del material genético (Quero et al., 2016). Son originados durante la anafase, cuando las dos cromatinas hermanas de cromosomas dicéntricos son llevados a cada uno de los polos de la célula, pero no ocurre la rotura del puente anafásico (Fenech, 2007). Sin embargo, este tipo de anomalía es poco frecuente ya que comúnmente los dos núcleos unidos por el puente son separados al finalizar la citocinesis (Fenech et al., 2011). Al igual que las colas nucleares se ha visto su incremento debido a la exposición de radiación gamma (Anbumani & Mohankumar, 2015).

Muesca (notch): hendidura o fracción faltante del núcleo. Tamaño y forma variables (Quero et al., 2016; Santos et al., 2017). Su mecanismo de formación es completamente desconocido; sin embargo, se ha sugerido como un posible biomarcador de genotoxicidad debido a que se ha encontrado persistentemente en diversos taxones, siendo una de las anomalías más frecuentes, además de correlacionarse positivamente con la presencia de MN (Canedo et al., 2021; Frixione et al., 2022; Mendonça et al., 2023; Quero et al., 2016). La exposición a metales tóxicos y agroquímicos como la abamectina y atracina puede inducirlos (de Faria et al., 2018; Frixione et al., 2022; Hussain et al., 2012).

Núcleo dentado (indented): núcleo en forma de riñón o curvado hacia uno de sus lados (de Souza et al., 2017; Santos et al., 2017). Son otro tipo de AN de la cual se desconocen sus mecanismos de formación; sin embargo, esta anomalía se ha reportado en diversos estudios relacionándose a contaminación ambiental (de Souza et al., 2017; Lajmanovich et al., 2014; Marques et al., 2009).

Núcleo segmentado: Constricción simétrica en el centro del núcleo (Santos et al., 2017). De igual manera no se ha descrito su mecanismo de formación, aunque estos han sido reportados en diversos estudios (Guilherme et al., 2008; Oliveira et al., 2010; Santos et al., 2017).

Otra: Cualquier otra anomalía no descrita anteriormente o aquellas células que muestren más de una AN de manera simultánea.

2.4 Análisis estadísticos

Para contrastar la normalidad de los datos de los MN y las AN de los grupos a comparar, se realizó una prueba de Shapiro-Wilk. Al ser datos con una distribución no normal, se utilizó la prueba de Levene para conocer la homocedasticidad de varianzas. Una vez confirmada la homocedasticidad, se utilizó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney para comparar la frecuencia de las AN entre los diferentes grupos. Se realizaron las evaluaciones estadísticas tratando de evitar variabilidad adicional dada por diferencias bióticas y abióticas derivadas del muestreo, de la forma siguiente: 1) se determinó si existe una variación interanual intraespecífica de las AN, para lo cual se compararon pollos de gaviotas del 2020 y 2021, y fragatas adultas de los mismos años por separado; 2) se determinó si existe un efecto de la edad sobre la acumulación de AN comparando pollos y adultos de fragatas capturadas en el mismo año (2020); y 3) se determinó si existen diferencias interespecíficas en la frecuencia las AN, para lo cual se compararon por separado los pollos de gaviotas contra pollos de pelícano, pollos de fragata contra pollos de gaviota y los adultos de fragata y de albatros. Solamente se realizaron estas comparaciones para evitar la posible influencia de otros factores sobre los resultados. Para este estudio se fijó una significancia de $p < 0.05$. Los valores obtenidos de las pruebas estadísticas empleadas se encuentran en el Anexo A. Todas las pruebas, análisis y gráficos fueron realizados en el software R (R version 4.2.3 - 2023-03-15 ucrt).

Capítulo 3. Resultados

Del total de muestras analizadas ($n = 121$), el 100 % presentaron algún tipo de anomalía nuclear, con un rango de 37 - 233 AN de 1000 eritrocitos (Tabla 2). De acuerdo con la media del total de anomalías nucleares y de manera descendente, las especies con un mayor número de anomalías fueron: el albatros de Laysan, el pelícano café, la gaviota bajacaliforniana y la fragata tijereta (Tabla 2). Los brotes nucleares fueron el principal tipo de AN encontrada en todas las especies, representando cerca del 90 % de las AN observadas, seguido por las muescas y núcleos dentados (Fig. 7). Además, los brotes fueron la única AN que estuvo presente en todas las muestras, por ello fueron seleccionadas para comparar su frecuencia entre los diferentes grupos analizados. En el Anexo B se muestran las medias para cada AN en cada especie.

Tabla 2. Media de brotes y del total de AN encontradas por especie.

| Especie | n | Anormalidad | Media \pm DE | Rango | IC |
|-----------|----|-------------|------------------|-----------|---------------|
| FRMA2020A | 15 | Brote | 83 \pm 31.3 | 38 - 159 | 67.1 - 98.8 |
| | | Total | 92.8 \pm 29.9 | 51 - 163 | 77.6 - 107.9 |
| FRMA2020P | 21 | Brote | 80.5 \pm 39.9 | 31 - 181 | 63.4 - 97.5 |
| | | Total | 87.9 \pm 41.8 | 37 - 189 | 70.0 - 105.8 |
| FRMA2021A | 15 | Brote | 80.8 \pm 27.0 | 47 - 157 | 67.1 - 94.4 |
| | | Total | 86.1 \pm 26.3 | 50 - 158 | 72.7 - 99.4 |
| LALI2020P | 20 | Brote | 101.3 \pm 20.5 | 64 - 136 | 92.3 - 110.3 |
| | | Total | 107.6 \pm 20.7 | 71 - 146 | 98.5 - 116.7 |
| LALI2021P | 12 | Brote | 106 \pm 17.5 | 77 - 134 | 96.1 - 115.9 |
| | | Total | 111.6 \pm 18.5 | 81 - 141 | 101.1 - 122.1 |
| PEOC2020P | 19 | Brote | 116.2 \pm 23.9 | 76 - 164 | 105.5 - 126.9 |
| | | Total | 121.7 \pm 23.2 | 82 - 166 | 111.3 - 132.1 |
| PHIM2020A | 19 | Brote | 150.8 \pm 37.9 | 85 - 220 | 133.8 - 167.8 |
| | | Total | 169.5 \pm 40.3 | 101 - 233 | 151.4 - 187.6 |

Se reporta la media por tipo de anomalía nuclear encontrada por grupo, contando 1,000 eritrocitos por individuo. Abreviaturas: DE = desviación estándar, IC = intervalo de confianza del 95 %. FRMA = fragata tijereta, LALI = gaviota bajacaliforniana, PEOC = pelícano café, PHIM = albatros de Laysan. El número después de cada sigla indica el año de muestreo y la letra siguiente indica la clase de edad; A = adultos, P = pollos.

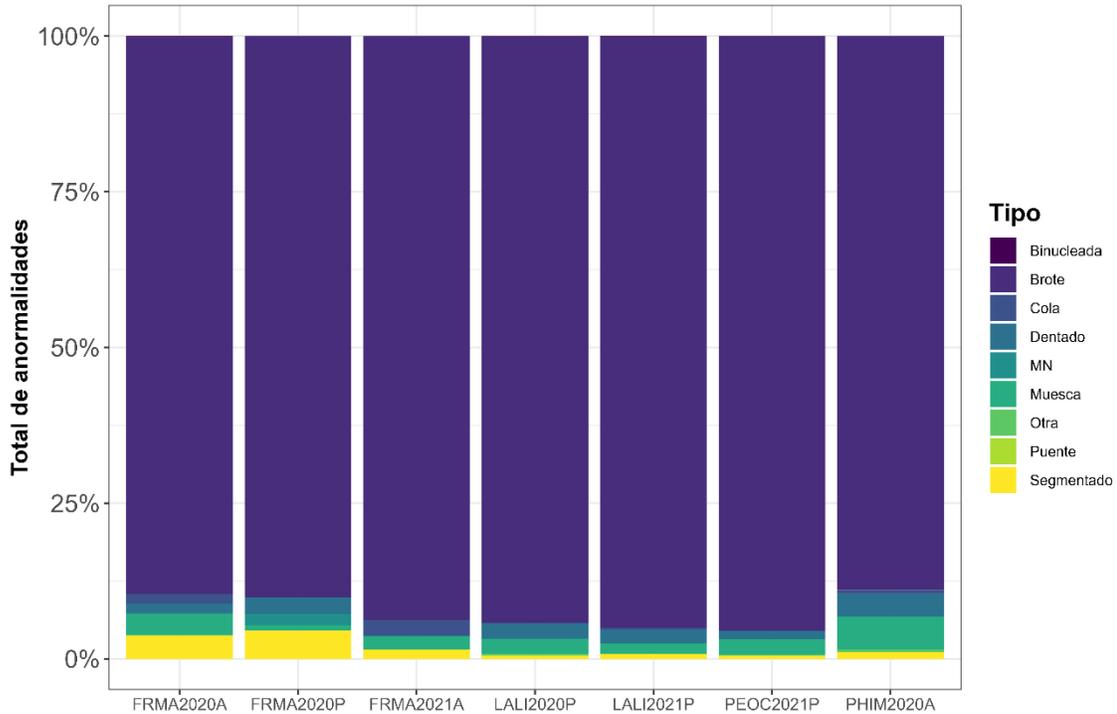


Figura 7. Porcentaje de las anomalías nucleares encontradas por grupo muestral. FRMA = fragata tijereta, LALI = gaviota bajacaliforniana, PEOC = pelícano café, PHIM = albatros de Laysan. El número después de cada sigla indica el año de muestreo y la letra siguiente indica la clase de edad; A = adultos, P = pollos.

3.1 Variación Interanual

En adultos de fragata tijereta capturados en el año 2020 se observó una media de 83 ± 31.3 brotes 1000^{-1} eritrocitos, mientras que en los adultos del año 2021 esta fue de 80.8 ± 27.0 brotes 1000^{-1} eritrocitos. La media del total de AN fue de 92.8 ± 29.9 y 86.1 ± 26.3 AN 1000^{-1} eritrocitos respectivamente. No hubo diferencias significativas en el número de brotes ($W = 122, p = 0.7$) ni en el total de AN en los adultos capturados en los diferentes años ($W = 135.5, p = 0.3$) (Fig. 8).

Los pollos de gaviota bajacaliforniana capturados en el año 2020 tuvieron una media de 101.3 ± 20.5 brotes 1000^{-1} eritrocitos, mientras que en los pollos del año 2021 esta fue de 106 ± 17.5 brotes 1000^{-1} eritrocitos. La media del total de AN fue de 107.6 ± 20.7 y 111.6 ± 18.5 AN 1000^{-1} eritrocitos respectivamente. No hubo diferencias significativas en el número de brotes ($W = 105, p = 0.5$) ni en el total de AN entre ambos años ($W = 106, p = 0.5$) (Fig. 9).

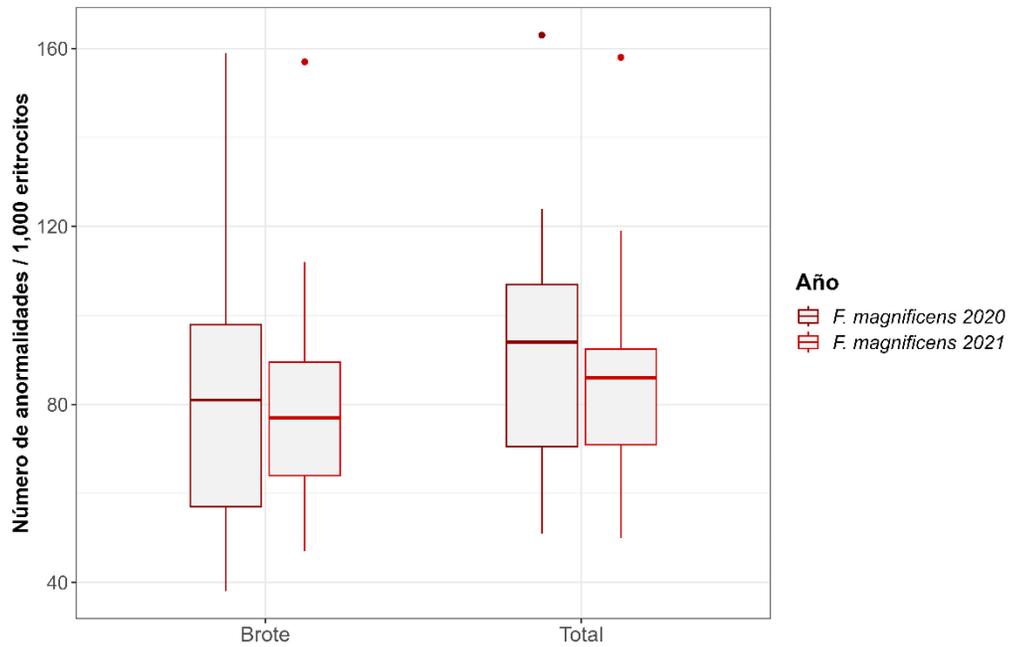


Figura 9. Diagrama de cajas y bigotes de la frecuencia de anomalías nucleares en fragata tijereta (*F. magnificens*) adultas por año. 2020 (n = 15) y 2021 (n = 15). La barra horizontal señala la mediana, la caja muestra el primer y tercer cuartil, mientras que los bigotes indican los valores máximos y mínimos de los datos. Los valores extremos o atípicos se encuentran fuera de los bigotes.

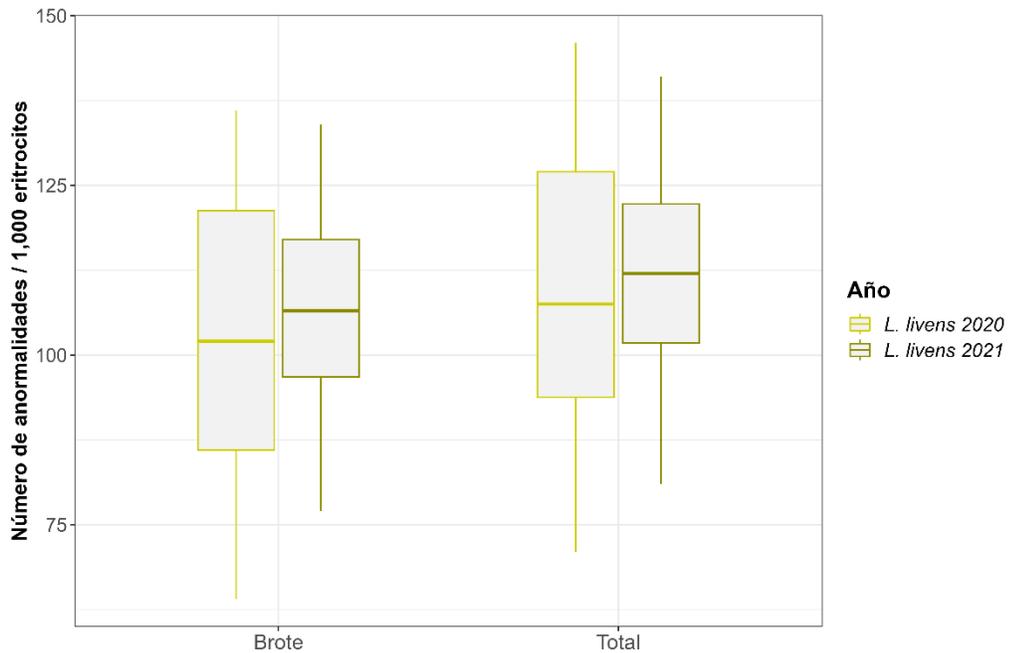


Figura 8. Diagrama de cajas y bigotes de la frecuencia de anomalías nucleares en pollos de gaviota bajacaliforniana (*L. livens*) por año. 2020 (n = 20) y 2021 (n = 12). La barra horizontal señala la mediana, la caja muestra el primer y tercer cuartil, mientras que los bigotes indican los valores máximos y mínimos de los datos. Los valores extremos o atípicos se encuentran fuera de los bigotes.

3.2 Clases de edad

En adultos de fragata tijereta capturados en el año 2020 se observó una media de 83 ± 31.3 brotes 1000^{-1} eritrocitos, mientras que en los pollos capturados en el mismo año esta fue de 80.5 ± 39.9 brotes 1000^{-1} eritrocitos. La media del total de AN fue de 92.8 ± 29.9 y 87.9 ± 41.8 AN 1000^{-1} eritrocitos respectivamente. No hubo diferencias significativas en el número de brotes ($W = 170, p = 0.7$) ni en el total de AN entre ambas clases de edad ($W = 179, p = 0.5$) (Fig. 10).

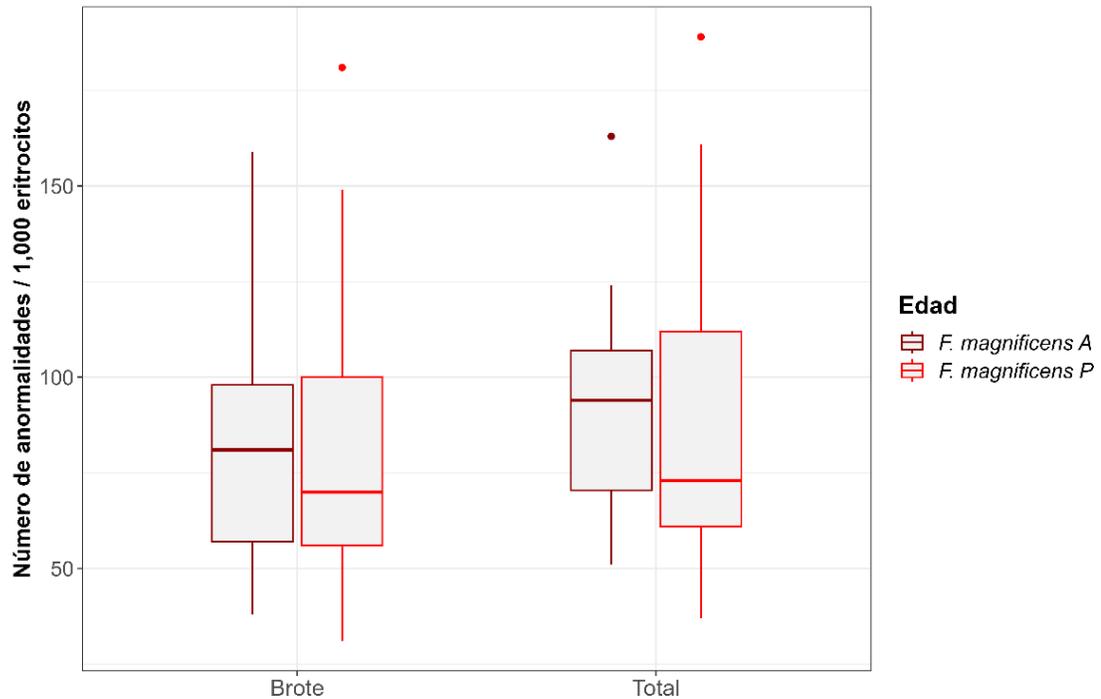


Figura 10. Diagrama de cajas y bigotes de la frecuencia de anomalías nucleares en fragata tijereta (*F. magnificens*) por clase de edad. Adultos ($n = 15$) y pollos ($n = 21$). La barra horizontal señala la mediana, la caja muestra el primer y tercer cuartil, mientras que los bigotes indican los valores máximos y mínimos de los datos. Los valores extremos o atípicos se encuentran fuera de los bigotes.

3.3 Diferencias interespecíficas en la frecuencia de AN

Cuando se comparó la frecuencia de AN en pollos de gaviota bajacaliforniana y pollos de pelícano café capturados en el mismo año (2021), no se encontraron diferencias significativas entre el promedio de brotes ($W = 87.5, p = 0.2$) ni en el del total de AN ($W = 88, p = 0.3$) (Fig. 11). Los pelícanos tuvieron una media de 116.2 ± 23.9 brotes 1000^{-1} eritrocitos y 121.7 ± 23.2 en el total de AN 1000^{-1} eritrocitos, mientras que las gaviotas tuvieron una media de 106 ± 17.5 brotes 1000^{-1} eritrocitos y 111.6 ± 18.5 AN 1000^{-1}

eritrocitos.

En pollos de fragata tijereta y pollos de gaviota bajacaliforniana del 2020, se observaron diferencias significativas tanto en la frecuencia de brotes ($W = 117, p = 0.01$) como en el total de AN ($W = 127.5, p = 0.03$), ambas frecuencias fueron mayores en los pollos de gaviota (Fig. 12). Los pollos de fragata tijereta tuvieron una media de 80.5 ± 39.9 brotes 1000^{-1} eritrocitos y 87.9 ± 41.8 AN 1000^{-1} eritrocitos, mientras que los pollos de gaviota tuvieron una media de 101.3 ± 20.5 brotes 1000^{-1} eritrocitos y 107.6 ± 20.7 AN 1000^{-1} eritrocitos.

Adultos de albatros de Laysan y adultos de fragata tijereta del año 2020, mostraron diferencias significativas tanto en la frecuencia de brotes ($W = 23, p = 0.00003$) como en el total de AN ($W = 16, p = 0.00001$), ambas frecuencias fueron mayores en el albatros de Laysan (Fig. 13). Los albatros tuvieron una media de 150.8 ± 37.9 brotes 1000^{-1} eritrocitos y 169.5 ± 40.3 AN 1000^{-1} eritrocitos, mientras que las fragatas tuvieron una media de 83 ± 31.3 brotes 1000^{-1} eritrocitos y 92.8 ± 29.9 AN 1000^{-1} eritrocitos.

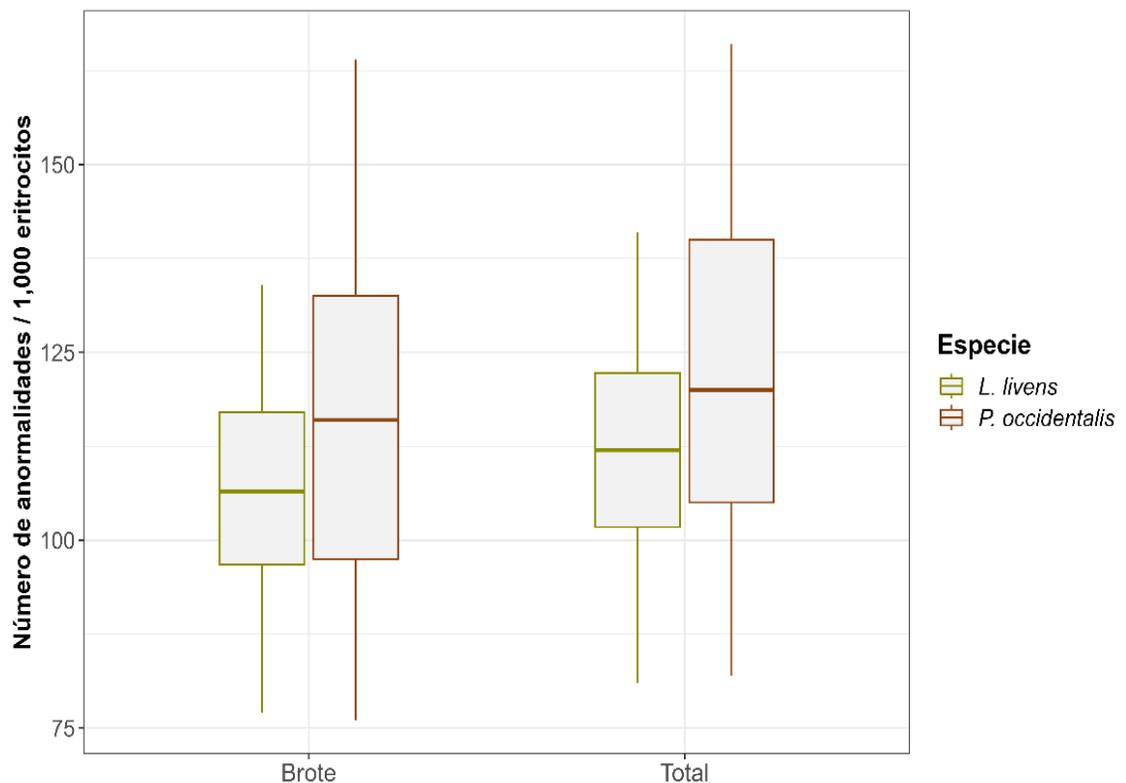


Figura 11. Diagrama de cajas y bigotes de la frecuencia de anomalías nucleares en pollos de gaviota bajacaliforniana (*L. livens*, $n = 12$) y pelícano café (*P. occidentalis*, $n = 19$) capturados en 2021. La barra horizontal señala la mediana, la caja muestra el primer y tercer cuartil, mientras que los bigotes indican los valores máximos y mínimos de los datos. Los valores extremos o atípicos se encuentran fuera de los bigotes.

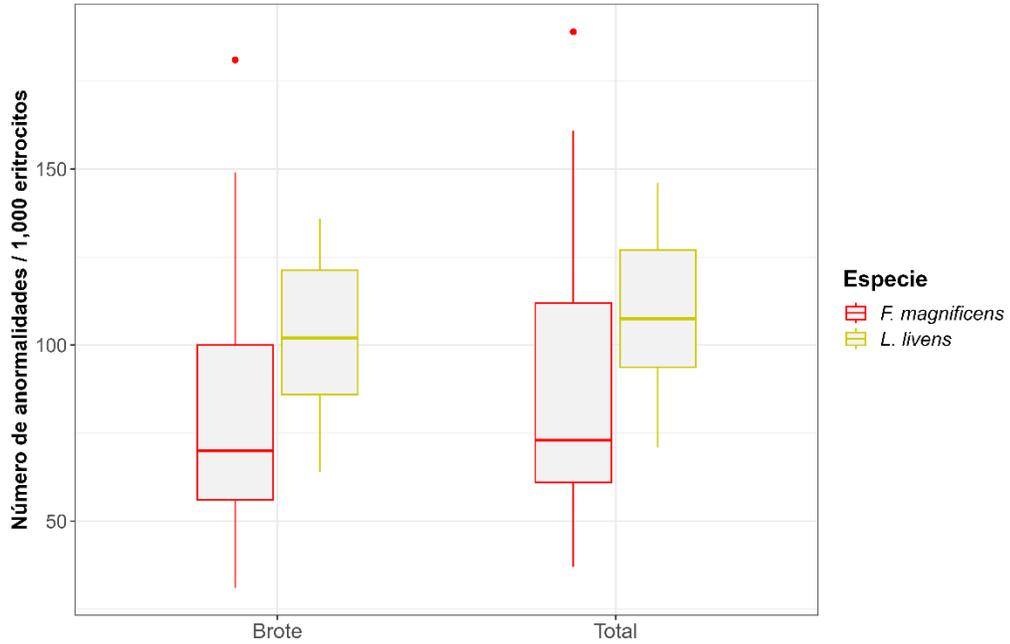


Figura 13. Diagrama de cajas y bigotes de la frecuencia de anomalías nucleares en pollos de fragata tijereta (*F. magnificens*, $n = 21$) y gaviota bajacaliforniana (*L. livens*, $n = 20$) capturados en 2020. La barra horizontal señala la mediana, la caja muestra el primer y tercer cuartil, mientras que los bigotes indican los valores máximos y mínimos de los datos. Los valores extremos o atípicos se encuentran fuera de los bigotes.

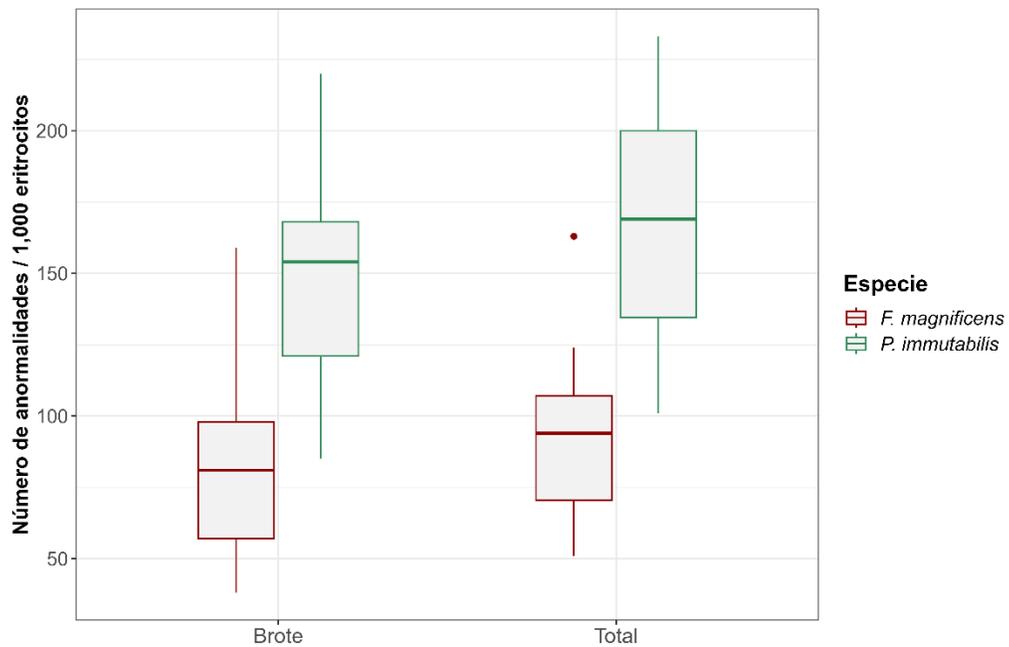


Figura 12. Diagrama de cajas y bigotes de la frecuencia de anomalías nucleares en adultos de fragata tijereta (*F. magnificens*, $n = 15$) y albatros de Laysan (*P. immutabilis*, $n = 19$) capturados en 2020. La barra horizontal señala la mediana, la caja muestra el primer y tercer cuartil, mientras que los bigotes indican los valores máximos y mínimos de los datos. Los valores extremos o atípicos se encuentran fuera de los bigotes.

Capítulo 4. Discusión

A diferencia de los MN, las demás AN han sido apenas recientemente abordadas y consideradas en los recientes estudios de genotoxicidad, y debido a que no todos los estudios cuantifican las mismas AN o las definen de diferente manera, resulta difícil realizar comparaciones entre ellos. Por lo tanto, los MN podrían ser el marcador más adecuado y universal hasta la fecha, aunque resulta de suma importancia cuantificar todas las AN encontradas para posteriores interpretaciones. Es importante tener esto en cuenta para comparar nuestros resultados con los de otros estudios. Para facilitar la comparación de los resultados del presente trabajo con los obtenidos en otros estudios, las frecuencias de las AN citadas se reportan entre paréntesis por $10,000^{-1}$ eritrocitos. Las frecuencias de AN obtenidas en este estudio por $10,000^{-1}$ eritrocitos se encuentran en el Anexo C.

Para determinar si las frecuencias obtenidas en este estudio se pueden considerar como normales o anormales (relacionadas a la presencia de genotóxicos), es necesario tener valores de referencia de aves que se sabe tengan un estado de salud óptimo y libre de contaminantes. Zúñiga-González y colaboradores. (2000) analizaron la frecuencia de MN en diferentes grupos taxonómicos, entre ellos las aves. Estos valores se obtuvieron de animales provenientes de zoológicos, mataderos, colecciones privadas y albergues, por lo que se esperaría que para algunos de los casos se tratan de individuos saludables, reportando así valores basales o casi basales (ya que es muy probable que al menos reciban contaminación atmosférica). El rango de valores para la frecuencia de MN fue de 0 – 1.06 MN $1,000^{-1}$ eritrocitos (0 – 10.6 MN $10,000^{-1}$ eritrocitos).

Por otro parte, los estudios experimentales también han sido de utilidad para conocer las concentraciones de diferentes contaminantes que son capaces de generar una respuesta apreciable en las frecuencias de diversas AN. Alimba & Bakare (2016) realizaron la administración de ciclofosfamida a codornices (*Coturnix japonica*) en una dosis de 20 mg kg^{-1} de peso húmedo, generando un aproximado de 9 MN $2,000^{-1}$ eritrocitos (45 MN $10,000^{-1}$ eritrocitos). Además, a las codornices se les administraron vía oral lixiviados de basureros en diferentes concentraciones (10, 25 y 50 concentración V/V), generando una respuesta dosis-dependiente de entre los 2 a 6 MN $2,000^{-1}$ eritrocitos (10 a 30 MN $10,000^{-1}$ eritrocitos) (Alimba & Bakare, 2016). Con respecto a las AN se obtuvieron los siguientes rangos específicos: células bilobuladas 4.2 – 8.8 AN $2,000^{-1}$ eritrocitos (21- 44 AN $10,000^{-1}$ eritrocitos), células binucleadas 5.6 – 16.2 AN $2,000^{-1}$ eritrocitos (28 – 81 AN $10,000^{-1}$ eritrocitos), brotes 5.6 – 9.4 AN $2,000^{-1}$ eritrocitos (28-47 AN $10,000^{-1}$ eritrocitos) y colas nucleares 4.2 – 8.4 AN $2,000^{-1}$ eritrocitos (21-42 AN $10,000^{-1}$ eritrocitos) (Alimba &

Bakare, 2016). Gómez-Meda et al. (2006) inyectaron Mitomicina C a Pericos frente naranja (*Eupsittula canicularis*) en dosis de 2, 3 y 4 mg kg⁻¹. Observando diferencias significativas en la frecuencia de las AN 72 horas después de la aplicación de la concentración más alta, generando una media de 6 MN 10,000⁻¹ eritrocitos y 14.2 brotes 10,000⁻¹ eritrocitos. Otro estudio administró insecticida “abamectina” a codornices (*C. japonica*) en dosis de 15.5 mg a.i./L y 155.0 a.i./L, generando una frecuencia de 12 y 20 AN 4,000⁻¹ eritrocitos respectivamente (30 y 50 AN 10,000⁻¹ eritrocitos), sin observar MN (de Faria et al., 2018).

Los estudios en aves sanas y los estudios de aves expuestas a contaminantes permiten generar dos rangos marcados. El primero para aves sanas va de los 0 a los 10 MN 10,000⁻¹ eritrocitos, el segundo para aves expuestas a contaminantes, que en su mayoría tuvieron valores por encima de los 10 MN 10,000⁻¹ eritrocitos. Aunque es importante resaltar que sólo 3 de las 72 aves analizadas por Zúñiga-González et al. (2000) mostraron valores mayores a 5 MN 10,000⁻¹ eritrocitos, por lo que valores arriba de este podrían considerarse como sospechosos, además el estudio de exposición realizado por Gómez-Meda et al. (2006) obtuvo frecuencias significativamente mayores con relación a sus controles, que se encontraron por debajo de los 10 MN 10,000⁻¹ eritrocitos. Para interpretar las frecuencias de AN es importante considerar que podría existir una variación intrínseca a la especie, así como a la capacidad de los contaminantes por generar daño genotóxico. Las frecuencias de MN obtenidas en las cuatro especies de este estudio se encuentran por debajo de los 4 MN 10,000⁻¹ eritrocitos, por lo que basándonos únicamente en este biomarcador podría establecerse que la exposición a genotóxicos fue nula o mínima como la de las aves sanas de los estudios mencionados anteriormente.

Los valores presentados en este estudio fueron similares a los obtenidos en pardela mexicana y gaviota occidental dos especies de aves marinas anidantes en la isla Natividad, Baja California Sur (Quintero-Vidales, 2021). Dicho estudio reportó que los pollos de pardela mexicana presentaron una media de 0.81 MN 2000⁻¹ eritrocitos (5 MN 10,000⁻¹ eritrocitos) y los adultos 0.33 MN 2000⁻¹ eritrocitos (1.6 MN 10,000⁻¹ eritrocitos). Para los pollos de gaviota occidental se obtuvo una media de 0.09 MN 2000⁻¹ eritrocitos (0.45 MN 10,000⁻¹ eritrocitos) y en adultos 0.11 MN 2000⁻¹ eritrocitos (0.55 MN 10,000⁻¹ eritrocitos) (Quintero-Vidales, 2021). Frixione & Rodríguez-Estrella, (2020) estudiaron el daño genotóxico a través de estos mismos biomarcadores en el cernícalo americano (*Falco sparverius*) en el valle de Santo Domingo, BCS. Sus resultados tuvieron una frecuencia media de 19.2 MN 10,000⁻¹ eritrocitos y 71.7 AN 10,000⁻¹ eritrocitos, además observaron una variación estacional influenciada por la aplicación de agroquímicos. Al comparar con nuestros datos, los cernícalos mostraron una frecuencia de MN claramente mayor a todas las especies de este estudio, esto puede deberse al consumo directo de presas que han tenido contacto

con agroquímicos. Además, al habitar regiones agrícolas es muy probable que los cernícalos también tengan exposición a los mismos a través de diferentes medios, como lo puede ser el agua contaminada. Dentro del Golfo de California, se ha estudiado la frecuencia de MN en embriones de ocho especies de aves marinas de las costas de Sinaloa (Ceyca-Contreras et al., 2023). El rango de valores obtenidos en el estadio embrionario más cercano a la eclosión fue de 0.3 - 5.7 MN $10,000^{-1}$ eritrocitos. Resulta de especial interés las frecuencias en los embriones de pelícano pardo y fragata tijereta, siendo de 2.1 y 4.1 MN $10,000^{-1}$ eritrocitos respectivamente. Para ambas especies, los valores obtenidos en nuestro estudio son ligeramente menores, aunque podría deberse a la influencia de la edad/desarrollo; sin embargo, como se mencionó anteriormente, esto no es del todo claro. Incluso podría deberse a que parte de los contaminantes recibidos por la madre son expulsados en el huevo, por lo tanto el embrión recibiría una carga considerable de contaminantes (Heinz & Hoffman, 2004). Estos tres estudios apuntan a que mientras las aves marinas de la península tienen frecuencias de MN que podrían considerarse como bajas, las aves terrestres parecen verse mucho más afectadas por los genotóxicos. La cercanía a las fuentes de contaminación de las aves terrestres podría explicar esto, mientras que los contaminantes que llegan a las aves marinas han pasado por un proceso de dilución (Wong et al., 2020).

Los estudios realizados en aves marinas de hábitats remotos como lo son la Antártica han mostrado frecuencias muy bajas de MN y otras AN en comparación los estudios anteriores. Por ejemplo, el págalo sureño (*Stercorarius maccormicki*) tuvo valores de 0.07 MN $10,000^{-1}$ eritrocitos y 0.71 AN $10,000^{-1}$ eritrocitos (Kursa & Bezrukov, 2008). El pingüino de Adelia (*Pygoscelis adeliae*) tuvo valores de 1.3 – 5.3 MN $10,000^{-1}$ eritrocitos y 41.2 – 109.0 AN $10,000^{-1}$ eritrocitos, el pingüino barbijo (*Pygoscelis antarcticus*) 0 – 1.5 MN $10,000^{-1}$ eritrocitos y 11.2 – 33.1 AN $10,000^{-1}$ eritrocitos, y el pingüino de pico rojo (*Pygoscelis papua*) 0 – 1.2 MN $10,000^{-1}$ eritrocitos y 11.9 – 19.3 AN $10,000^{-1}$ eritrocitos (De Mas et al., 2015). Muchos de estos valores incluso son más bajos que los obtenidos en aves cautivas (Zúñiga-González et al., 2000).

De manera general, las frecuencias de MN obtenidas en las cuatro especies de aves analizadas se encuentran dentro del rango normal, muy similar al encontrado en otras especies. Sin embargo, las frecuencias del resto de AN fue más alto que en todos los estudios revisados, especialmente la frecuencia de los brotes. Cabe mencionar que a diferencia de los MN el resto de AN parecen ser biomarcadores más sensibles, encontrándose en frecuencias mayores, aunque también el tipo de AN encontrado depende del tipo de contaminante al que el organismo se ha expuesto (Braham et al., 2017; de Faria et al., 2018). No obstante, parece poco probable encontrar altas frecuencias de AN sin claros síntomas toxicológicos relacionados al contaminante que ha generado las AN, como pueden ser temblores, jadeos, bajo peso, etc.

(Ghaffar et al., 2018). Por ello, parte de los brotes cuantificados podrían deberse a otros factores como la poikilocitosis o a errores en la estimación generadas por el observador (Leighton, 1985).

4.1 Variación interanual

Tanto en los adultos de fragata tijereta como en los pollos de gaviota bajacaliforniana, no se observaron diferencias significativas entre el año 2020 y 2021. A su vez no se observó una tendencia de aumento o decremento en la frecuencia del total las AN, ya que disminuyeron de 92 a 86 AN $1,000^{-1}$ eritrocitos para las fragatas, mientras que aumentaron de 107 a 111 AN $1,000^{-1}$ eritrocitos para las gaviotas. Esto podría derivarse a que los niveles de contaminación se mantuvieron persistentes por ambos años. Aunque también es posible que las vías de exposición a contaminantes fueron distintas para cada especie, generando diferentes tendencias (Braham et al., 2017; Grisolia et al., 2009; Santos et al., 2017). Sin embargo, no hay información como mediciones directas de contaminantes, para apoyar alguna de estas hipótesis.

4.2 Clases de edad

La única especie en donde se pudieron comparar las frecuencias de AN entre pollos y adultos fue la fragata en el año 2020, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre ambas clases de edad. Se ha sugerido que los animales jóvenes podrían pasar por un proceso de maduración del sistema reticuloendotelial, por lo tanto, los organismos juveniles serían menos eficientes que los adultos para eliminar MN y posiblemente otras AN (Zúñiga-González et al., 2000). No obstante, el apoyo a esta hipótesis es limitado (Quintero-Vidales, 2021; Santos et al., 2017; Zúñiga-González et al., 2000). Los resultados en fragata sugieren que los pollos presentan la misma maduración del sistema reticuloendotelial que los adultos, sin que realmente presenten un proceso de maduración en esta especie con la edad. Considerando lo anterior, es de esperarse que las frecuencias de las AN sean igual para ambas clases de edad.

4.3 Diferencias interespecíficas en la frecuencia de AN

De las cuatro especies analizadas, el albatros de Laysan fue la especie con una mayor frecuencia de anormalidades nucleares, seguido por el pelícano café, la gaviota bajacaliforniana y finalmente la fragata

tijereta. Dentro del archipiélago Espíritu Santo se encuentran tres de las especies de estudio, la fragata tijereta, el pelícano café y la gaviota bajacaliforniana. A pesar de la cercanía geográfica de las tres colonias de aves en donde se realizaron los muestreos, la frecuencia de AN fue diferente en cada una de ellas, siendo mayor en el pelicano y la gaviota, en comparación a la fragata, ambas consideradas como especies costeras. Dias y colaboradores (2019) identificaron a la agricultura, la minería y la contaminación marina como amenazas más relevantes para las especies costeras que para las especies pelágicas, como la fragata tijereta. A su vez estas actividades están ligadas con la presencia y generación de contaminantes genotóxicos (D'Costa et al., 2017; León-Mejía et al., 2011; Sandoval-Herrera et al., 2021). Esta tendencia también se observó en la pardela mexicana (*P. opisthomelas*), donde los individuos que se alimentan más cerca de la costa tienen una mayor exposición al mercurio (Soldatini et al., 2020). Incluso durante la temporada de crianza, cuando los viajes de forrajeo para alimentar a las crías son más cortos en todas las especies de aves, las fragatas forrajean en zonas más alejadas de la costa, en comparación con las otras dos especies (Auriolles-Gamboa et al., 2013; Austin et al., 2019; Giambalvo et al., 2022; Hernández-Montoya et al., 2019; Schoeninger & DeNiro, 1984). Esto podría interpretarse como una menor exposición a genotóxicos y por ende una menor frecuencia de AN.

Al centrarnos en las especies costeras, el pelícano café y la gaviota bajacaliforniana, se encontró una mayor frecuencia de AN en los pelícanos, sin diferencias significativas. Si bien ambas especies se alimentan cerca de la costa de la Bahía de La Paz, sus dietas pueden diferir. La gaviota bajacaliforniana suele frecuentar las playas cercanas a la colonia, alimentándose de residuos de comida antropogénica, peces, crustáceos y cadáveres de diversas especies (Flores-Martínez et al., 2015; Hand et al., 1981). Mientras que los pelícanos se alimentan principalmente de peces que pueden capturar a pocos metros de la superficie del mar, como las anchovetas, peces herbívoros (D. W. Anderson et al., 1975; Lamb et al., 2018). Aunque ambas especies pueden converger al alimentarse de los descartes o residuos pesqueros. El oportunismo de estas aves les ha permitido explotar nichos generados por humanos. Como resultado, estas especies se pueden alimentar de especies de las cuales normalmente no se alimentarían, ya sea por el tamaño, la profundidad o lejanía, pudiendo incluso alimentarse de vísceras de algunas especies de tiburones de los géneros *Squatina*, *Sphyrna*, *Heterodontus*, por ejemplo (Observación personal). Sin embargo, la disponibilidad de este recurso facilitado puede variar en la escala temporal. Por lo anterior, entender las fuentes y vías de exposición a contaminantes en especies generalistas y oportunistas se vuelve complejo. En otras aves, como los paseriformes, se ha observado que especies generalistas tuvieron una mayor frecuencia de AN y MN, en comparación con las aves especialistas (Silveira et al., 2022; Souto et al., 2018). Se ha sugerido que al abarcar una mayor variedad de alimentos, la posibilidad de ingerir contaminantes se vuelve mayor (Silveira et al., 2022; Souto et al., 2018). Mientras que en especies de aves dulceacuícolas, piscívoras y

generalistas, los resultados no fueron constantes, las frecuencias de estos biomarcadores presentan variaciones entre los diferentes años analizados (Santos et al., 2017).

El albatros de Laysan fue la especie que exhibió una mayor frecuencia de AN, y al comparar con las fragatas se encontraron diferencias significativas. Si bien, ambas son especies pelágicas los albatros se encuentran en zonas aún más lejanas de la costa, tanto en sus sitios de anidación como en las zonas de forrajeo. Por lo que se esperaría que fuera menos vulnerable a la exposición de contaminantes originados en continente. Dos factores que pueden explicar este resultado y que están relacionados entre sí, son el nivel trófico y la dieta. Aunque no existen estudios en aves que comparen las frecuencias de MN y AN en especies con diferente nivel trófico o dieta, sí se han realizado en otros taxones. Braham y colaboradores (2017) compararon la frecuencia de MN y AN entre peces bentónicos y peces pelágicos, encontrando una mayor frecuencia de AN en los peces pelágicos, los cuales, además, se encuentran en un nivel trófico superior. De manera similar, Benvindo-Souza y colaboradores (2020) realizaron la prueba de MN y AN en células de mucosa bucal de murciélagos pertenecientes a tres diferentes gremios alimenticios, encontrando una mayor frecuencia de MN en las especies insectívoras en comparación con las especies frugívoras y nectarívoras. Regresando a los estudios realizados en aves, Abbasi y colaboradores (2015) identificaron que las especies en niveles tróficos más altos, comúnmente carnívoras, carroñeras y piscívoras, tienen una mayor bioacumulación de metales, de tres a cinco veces mayor en comparación con especies granívoras, omnívoras e insectívoras entre otras. Estudios similares, han destacado la influencia de la ecología trófica de las aves como un factor fundamental en la bioacumulación de compuestos orgánicos persistentes y mercurio (Sebastiano et al., 2017). La alimentación del albatros basada en peces, calamares y carroña, lo posicionan en un elevado nivel trófico, haciéndolo altamente vulnerable a la bioacumulación de contaminantes como se ha demostrado en este trabajo.

Otro factor determinante en la acumulación de daño genotóxico son las regiones geográficas donde forrajean las especies. Finkelstein y colaboradores (2006) analizaron la presencia de mercurio y compuestos organoclorados en individuos de albatros de Laysan y albatros de patas negras (*Phoebastria nigripes*) anidantes en el archipiélago de Hawái. Sus resultados indicaron altas concentraciones de ambos tipos de contaminantes en el albatros de patas negras, el cual forrajea principalmente dentro de la corriente de California. Además, se ha observado un aumento en la concentración de estos contaminantes en los últimos años (Finkelstein et al., 2006). Esto es de suma importancia ya que los albatros de Laysan anidantes en isla Guadalupe, forrajean en las mismas zonas que los albatros de patas negras (Hernández-Montoya et al., 2019). Un caso similar fue estudiado por Muntaner-López et al. (2023), quienes realizaron biopsias a individuos de elefante marino norteño (*Mirounga angustirostris*) pertenecientes a la colonia de

isla Guadalupe, encontrando elevadas concentraciones de algunos metabolitos derivados del diclorodifeniltricloroetano (DDT) y bifenilos policlorados (BPCs). Además, se sugiere que la ingesta de estos contaminantes ocurre en las áreas de forrajeo del elefante marino, en la corriente de California y el noroeste del Pacífico (Muntaner-López et al., 2023). Se ha determinado la concentración de diferentes contaminantes orgánicos persistentes (COPs) en fragmentos y pellets de plástico, colectados en playas de la costa de California y del Archipiélago de Hawái, así como en regurgitado de albatros de Laysan en isla Guadalupe (Rios et al., 2007). Las concentraciones más altas de estos contaminantes se encontraron en las muestras de California, seguido por los fragmentos regurgitados por albatros, mientras que los plásticos colectados en Hawái tuvieron los valores más bajos (Rios et al., 2007). Esto sugiere una mayor concentración de COPs en el Noreste del Pacífico, debido probablemente a los residuos generados en continente (Rios et al., 2007). Estos estudios indican que las zonas de forrajeo usadas por los albatros de Laysan de isla Guadalupe son zonas con una alta presencia de contaminantes.

En cambio, las potenciales fuentes de genotoxicidad y otros contaminantes a las que están expuestas las fragatas, así como las demás aves en el archipiélago Espíritu Santo, ubicado en el Golfo de California, podrían ser menores, pero más variadas. Una de las actividades que pueden influir en la generación de genotóxicos es la minería. La ciudad de La Paz cuenta con una mina de fosforita (ROFOMEX) ubicada en San Juan de la Costa, al noroeste de la ciudad. Se ha analizado la presencia de elementos traza en el sedimento dentro de la laguna de La Paz, encontrando enriquecimientos naturales de elementos como arsénico y cadmio, aunque los autores señalan que su concentración no representa una amenaza para la biota (Pérez-Tribouillier et al., 2015). De manera más extensiva Rodríguez-Castañeda y colaboradores (2007) determinaron la presencia de diversos elementos traza en algas dentro de la laguna y Bahía de La Paz. Al interpretar los resultados de las concentraciones obtenidas de los elementos traza, Rodríguez-Castañeda y colaboradores (2007) indicaron que: “El contenido de oligoelementos de importancia ambiental en todas las muestras estudiadas se encuentra dentro del rango de niveles típicos de un ambiente prístino no sujeto al impacto antropogénico” (p.173).

La agricultura es una actividad conocida como potencial fuente de genotóxicos debido a la aplicación de diversos agroquímicos nocivos para la biota. De acuerdo con el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, el estado de Baja California Sur generó 744,519.74 toneladas de producción agrícola en el año 2017, posicionando al estado en el puesto 24 a nivel nacional (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2018). El municipio de Comondú generó más del 70% de la producción, mientras que el municipio de La Paz generó el 18% en el año 2017 (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2018). Por ello, la generación de contaminación genotóxica a partir del uso de agroquímicos en la Bahía de La Paz podría ser

mínima en comparación con otros municipios y estados del país. Los estudios o monitoreos realizados en torno a la contaminación producida por esta actividad cerca del archipiélago son muy limitados, pero parecen apoyar esta hipótesis. Mellink et al. (2009) analizaron el contenido de diclorodifenildicloroetileno o DDE (metabolito generado por la exposición al DDT), en huevos de bobo café (*Sula leucogaster*), en diferentes colonias ubicadas dentro del Golfo de California, así como en parte de la costa suroccidental mexicana, encontrando niveles bajos de este compuesto que no representarían un riesgo. Más recientemente, Fossi y colaboradores (2017) determinaron la concentración de COPs en tegumento de tiburón ballena (*Rhincodon typus*) muestreados en bahía de La Paz, los cuales clasificaron como valores bajos al comparar con las concentraciones encontradas en estudios publicados para otras especies de tiburones. Los mismos autores señalan que esto puede deberse en gran medida al bajo nivel trófico de esta especie. A su vez, mencionan que la bioacumulación de algunos de estos COPs era reciente, por lo que sus fuentes podrían ser campos de golf y hoteles ubicados en la bahía de La Paz que usen pesticidas, o bien pudieron adquirirse en otras zonas con mayor actividad agrícola como las costas de Sonora y Sinaloa.

La contaminación atmosférica también se ha señalado con fuente de genotoxicidad. Respecto a la calidad del aire y de acuerdo con el “Programa de Gestión para Mejorar la Calidad del Aire del Estado de Baja California Sur” (2018 – 2027), actualmente no se cuentan con estaciones vigentes de monitoreo de calidad del aire. Sin embargo, en el año 2010 se realizó un monitoreo, encontrando valores altos de dióxido de azufre (SO₂) asociados con la actividad de la planta termoeléctrica Punta Prieta II (Secretaría de Turismo y Economía, s/f). Además, entre los años 2008 y 2015 se reportaron valores altos de partículas PM10, en dos de las tres estaciones situadas en la mancha urbana, mientras que la tercera estación ubicada en Punta Prieta mostró valores normales, se sugiere que este resultado podría deberse gracias a su cercanía con el mar (Secretaría de Turismo y Economía, s/f). Por lo que las colonias de las aves en el archipiélago podrían recibir una menor exposición a los contaminantes atmosféricos en comparación a la recibida por la ciudad. De manera general, el archipiélago podría considerarse como un sitio con cargas de contaminación mínimas. Sin embargo, la falta de monitoreos constantes de contaminantes ambientales tanto en el Archipiélago Espíritu Santo como en la Isla Guadalupe, así como de los sitios de forrajeo usados por las aves de este estudio, limita la interpretación de nuestros resultados, a la vez que destaca la importancia de generar monitoreos constantes en la salud de las aves. En resumen, se podría destacar al nivel trófico, la ubicación geográfica de las zonas de forrajeo y su cercanía a la costa como principales factores implicados en la acumulación de AN.

Dentro de las limitaciones encontradas al realizar este estudio, se encuentra la falta de otros estudios de

referencia que hayan cuantificado AN en las mismas especies, así como el análisis de aves en cautiverio con un estado de salud óptimo. Esto nos permitiría conocer las frecuencias basales de AN para cada especie, sin embargo, estas aves son difíciles de encontrar en cautividad como lo es en zoológicos. La identificación y cuantificación de contaminantes en la sangre de las aves podría haber sido de gran utilidad al correlacionar la concentración de estos con la frecuencia de AN. Esto permite conocer la sensibilidad específica frente a los genotóxicos y ayudaría a entender las frecuencias obtenidas para cada especie de manera más profunda. El uso de geolocalizadores y el análisis de isótopos estables en las aves analizadas ayudaría a conocer mejor las vías de exposición a contaminantes. Aunque se conocen los rangos hogareños y las zonas donde pueden forrajear estas especies, pueden cambiar en respuesta a las condiciones ambientales. A su vez, con estos análisis se podría reconocer de manera puntual la cercanía que tienen las aves a las fuentes de genotoxicidad. El conteo manual de AN también es una limitante, debido a que requiere un entrenamiento visual para identificar y caracterizar las AN, además el tiempo implicado para analizar una sola muestra puede llevar más de media hora. Asimismo, el incluir a más de un observador en el conteo de AN puede generar error, ya que la percepción es diferente. Por lo anterior, su automatización minimizaría ambas limitantes. Los análisis y sugerencias mencionadas para futuros estudios permitirían efectuar monitoreos más eficientes de estos contaminantes y dar un diagnóstico acerca de la exposición, así como sus posibles efectos sobre las aves marinas en la península de Baja California.

El análisis de diversas especies en un mismo sitio genera información más amplia para monitorear la presencia de genotóxicos. Con base a esto, la gaviota bajacaliforniana y el pelícano café podrían ser bioindicadores más adecuados para la escala local. Mientras que las fragatas pueden actuar a una escala mayor. Lo mismo ocurre con el albatros de Laysan, su estudio como bioindicador nos indica la calidad de zonas muy amplias dentro de la corriente de California.

Finalmente, el monitoreo periódico de la frecuencia de anormalidades nucleares en las aves marinas es fundamental para dar un seguimiento a los posibles eventos de contaminación a los cuales pueden estar expuestas, y así detectar oportunamente problemáticas que puedan amenazar sus poblaciones y las de otras especies incluidas la nuestra. Por ello, se sugiere continuar con estos monitoreos de genotoxicidad a través de la prueba de MN y AN, además de complementar con otros estudios como el análisis de isótopos estables, geolocalizadores, determinación de dieta, entre otros que puedan ayudar a entender mejor la vulnerabilidad de estas aves ante diversos contaminantes.

Capítulo 5. Conclusiones

El albatros de Laysan, la fragata tijereta, la gaviota bajacaliforniana y el pelícano café, mostraron frecuencias muy bajas de MN similares a los de otros estudios realizados en la península, e incluso a los de aves en cautiverio. Sin embargo, las frecuencias de otras AN como los brotes fueron más altas que en cualquier otro estudio publicado.

La especie que exhibió una mayor frecuencia de AN fue el albatros de Laysan, seguido por el pelícano café, la gaviota bajacaliforniana y la fragata tijereta.

No se encontraron diferencias en las frecuencias de AN entre clases de edad, entre pollos y adultos de fragata tijereta.

Tanto en los adultos de fragata tijereta como en los pollos de gaviota bajacaliforniana, no se encontraron variaciones interanuales en las frecuencias de AN de los años 2020 y 2021. A su vez, al comparar los cambios en las frecuencias de ambas especies, no se observó una tendencia de incremento o decremento.

En dos de las tres comparaciones interespecíficas realizadas se encontraron diferencias significativas en la frecuencia de AN. Los albatros de Laysan adultos tuvieron frecuencias de AN significativamente mayores en comparación a las fragatas adultas. A su vez, los pollos de gaviota bajacaliforniana tuvieron frecuencias de AN significativamente más altas que los pollos de fragata. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en las frecuencias de AN entre pollos de pelícano café y pollos de gaviota bajacaliforniana, lo cual podría deberse a la similitud de presas y zonas de forrajeo.

Las diferencias interespecíficas pueden atribuirse a diversos factores, entre los cuales destacan la zona de forrajeo y el nivel trófico.

Literatura citada

- Abbasi, N. A., Jaspers, V. L. B., Chaudhry, M. J. I., Ali, S., & Malik, R. N. (2015). Influence of taxa, trophic level, and location on bioaccumulation of toxic metals in bird's feathers: A preliminary biomonitoring study using multiple bird species from Pakistan. *Chemosphere*, 120, 527–537. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.08.054>
- Albores-Barajas, Y., De la Cueva, H., Soldatini, C., Carmona, R., Ayala-Pérez, V., Martínez-Gómez, J., & Velarde, E. (2020). Challenges and Priorities for Seabird Conservation in Northwestern Mexico. *Waterbirds*, 43, 1. <https://doi.org/10.1675/063.043.0101>
- Alimba, C. G., & Bakare, A. A. (2016). *In vivo* micronucleus test in the assessment of cytogenotoxicity of landfill leachates in three animal models from various ecological habitats. *Ecotoxicology*, 25(2), 310–319. <https://doi.org/10.1007/s10646-015-1589-3>
- Anbumani, S., & Mohankumar, M. N. (2015). Nucleoplasmic bridges and tailed nuclei are signatures of radiation exposure in *Oreochromis mossambicus* using erythrocyte micronucleus cytome assay (EMNCA). *Environmental Science and Pollution Research*, 22(23), 18425–18436. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5107-1>
- Anderson, D. W., Jehl, J. R., Risebrough, R. W., Woods, L. A., Deweese, L. R., & Edgecomb, W. G. (1975). Brown Pelicans: Improved Reproduction Off the Southern California Coast. *Science*, 190(4216), 806–808. <https://doi.org/10.1126/science.1239078>
- Aurioles-Gamboa, D., Rodríguez-Pérez, M. Y., Sánchez-Velasco, L., & Lavín, M. F. (2013). Habitat, trophic level, and residence of marine mammals in the Gulf of California assessed by stable isotope analysis. *Marine Ecology Progress Series*, 488, 275–290. <https://doi.org/10.3354/meps10369>
- Austin, R., De Pascalis, F., Arnould, J., Haakonsson, J., Votier, S., Ebanks-Petrie, G., Austin, T., Morgan, G., Bennett, G., & Green, J. (2019). A sex-influenced flexible foraging strategy in the magnificent frigatebird *Fregata magnificens*. *Marine Ecology Progress Series*, 611. <https://doi.org/10.3354/meps12859>
- Awkerman, J. A., Anderson, D. J., & Whittow, G. C. (2020). Laysan Albatross (*Phoebastria immutabilis*), version 1.0. Birds of the World. <https://doi.org/10.2173/bow.layalb.01>
- Ayllon, F., & Garcia-Vazquez, E. (2000). Induction of micronuclei and other nuclear abnormalities in European minnow *Phoxinus phoxinus* and mollie *Poecilia latipinna*: An assessment of the fish micronucleus test. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 467(2), 177–186. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(00\)00033-4](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(00)00033-4)
- Baesae, C. Q., Tolentino, V. C. de M., Morelli, S., & Melo, C. (2019). Effect of urbanization on the micronucleus frequency in birds from forest fragments. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 171, 631–637. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.01.026>
- Barbier, E. B. (2017). Marine ecosystem services. *Current Biology*, 27(11), R507–R510. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.03.020>
- Benvindo-Souza, M., Santos Oliveira, E. A., Assis, R. A., Araújo Santos, C. G., Borges, R. E., de Melo e Silva, D., & Raquel de Souza Santos, L. (2020). Micronucleus test in tadpole erythrocytes: Trends in

- studies and new paths. *Chemosphere*, 240, 124910. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124910>
- Bhatia, A., & Kumar, Y. (2013). Cancer cell micronucleus: An update on clinical and diagnostic applications. *APMIS*, 121(7), 569–581. <https://doi.org/10.1111/apm.12033>
- Blázquez, M. C., Delibes-Mateos, M., Vargas, J. M., Granados, A., Delgado, A., & Delibes, M. (2016). Stable isotope evidence for Turkey Vulture reliance on food subsidies from the sea. *Ecological Indicators*, 63, 332–336. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.12.015>
- Bolognesi, C., & Hayashi, M. (2011). Micronucleus assay in aquatic animals. *Mutagenesis*, 26(1), 205–213. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq073>
- Bolognesi, C., Knasmueller, S., Nersesyan, A., Thomas, P., & Fenech, M. (2013). The HUMNxl scoring criteria for different cell types and nuclear anomalies in the buccal micronucleus cytome assay – An update and expanded photogallery. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 753(2), 100–113. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2013.07.002>
- Bolognesi, C., Perrone, E., Roggieri, P., Pampanin, D. M., & Sciutto, A. (2006). Assessment of micronuclei induction in peripheral erythrocytes of fish exposed to xenobiotics under controlled conditions. *Aquatic Toxicology*, 78, S93–S98. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.02.015>
- Braham, R. P., Blazer, V. S., Shaw, C. H., & Mazik, P. M. (2017). Micronuclei and other erythrocyte nuclear abnormalities in fishes from the Great Lakes Basin, USA. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 58(8), 570–581. <https://doi.org/10.1002/em.22123>
- Brunetti, R., Majone, F., Gola, I., & Beltrame, C. (1988). The micronucleus test: Examples of application to marine ecology. *Marine Ecology Progress Series*, 44, 65–68. <https://doi.org/10.3354/meps044065>
- Burger, J., & Gochfeld, M. (2004). Marine Birds as Sentinels of Environmental Pollution. *EcoHealth*, 1(3), 263–274. <https://doi.org/10.1007/s10393-004-0096-4>
- Burma, S., Chen, B. P. C., & Chen, D. J. (2006). Role of non-homologous end joining (NHEJ) in maintaining genomic integrity. *DNA Repair*, 5(9), 1042–1048. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2006.05.026>
- Caldwell, A., Seavey, J., & Craig, E. (2020). Foraging strategy impacts plastic ingestion risk in seabirds. *Limnology and Oceanography Letters*, 5(1), 163–168. <https://doi.org/10.1002/lo12.10126>
- Calixto-Albarrán, I., & Osorno, J.-L. (2000). The Diet of the Magnificent Frigatebird During Chick Rearing. *The Condor*, 102(3), 569–576. <https://doi.org/10.1093/condor/102.3.569>
- Canedo, A., de Jesus, L. W. O., Bailão, E. F. L. C., & Rocha, T. L. (2021). Micronucleus test and nuclear abnormality assay in zebrafish (*Danio rerio*): Past, present, and future trends. *Environmental Pollution*, 290, 118019. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118019>
- Carl, R. A. (1987). Age-Class Variation in Foraging Techniques by Brown Pelicans. *The Condor*, 89(3), 525–533. <https://doi.org/10.2307/1368642>
- Carlos, C. J., Alvarenga, J. G., & Mazzochi, M. S. (2017). Osteology of the feeding apparatus of magnificent frigatebird *Fregata magnificens* and brown booby *Sula leucogaster* (aves: suliformes). *Papéis Avulsos de Zoologia*, 57, 265–274. <https://doi.org/10.11606/0031-1049.2017.57.20>

- Çavaş, T., & Ergene-Gözükara, S. (2005). Induction of micronuclei and nuclear abnormalities in *Oreochromis niloticus* following exposure to petroleum refinery and chromium processing plant effluents. *Aquatic Toxicology*, 74(3), 264–271. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.06.001>
- Ceyca-Contreras, J. P., Castillo-Guerrero, J. A., Torres-Bugarín, O., García-Hernández, J., & Betancourt-Lozano, M. (2023). Micronuclei in embryos of eight seabird species in northwestern Mexico: A biomarker of exposure to coastal pollution? *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 887, 503615. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2023.503615>
- Clark, P., Boardman, W., & Raidal, S. (2009). *Atlas of Clinical Avian Hematology*. John Wiley & Sons.
- Cousins, K., Dalzell, P., & Gilman, E. (2001). Managing pelagic longline-albatross interactions in the North Pacific Ocean. *Marine Ornithology*, 28. https://www.researchgate.net/publication/228987988_Managing_pelagic_longline-albatross_interactions_in_the_North_Pacific_Ocean
- Crasta, K., Ganem, N. J., Dagher, R., Lantermann, A. B., Ivanova, E. V., Pan, Y., Nezi, L., Protopopov, A., Chowdhury, D., & Pellman, D. (2012). DNA breaks and chromosome pulverization from errors in mitosis. *Nature*, 482(7383), Article 7383. <https://doi.org/10.1038/nature10802>
- Croxall, J. P., Butchart, S. H. M., Lascelles, B., Stattersfield, A. J., Sullivan, B., Symes, A., & Taylor, P. (2012). Seabird conservation status, threats and priority actions: A global assessment. *Bird Conservation International*, 22(1), 1–34. <https://doi.org/10.1017/S0959270912000020>
- Davis, A. K., & Floyd, T. M. (2014). Evaluating levels of genotoxic stress in eastern hellbenders (*Cryptobranchus alleganiensis alleganiensis*) using the erythrocyte micronucleus assay. *Comparative Clinical Pathology*, 23(5), 1189–1193. <https://doi.org/10.1007/s00580-013-1761-1>
- D’Costa, A., Shyama, S. K., & Praveen Kumar, M. K. (2017). Bioaccumulation of trace metals and total petroleum and genotoxicity responses in an edible fish population as indicators of marine pollution. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 142, 22–28. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.03.049>
- de Campos Ventura, B., de Angelis, D. de F., & Marin-Morales, M. A. (2008). Mutagenic and genotoxic effects of the Atrazine herbicide in *Oreochromis niloticus* (Perciformes, Cichlidae) detected by the micronuclei test and the comet assay. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 90(1), 42–51. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2007.07.009>
- de Faria, D. B. G., Montalvão, M. F., de Souza, J. M., de Oliveira Mendes, B., Malafaia, G., & Rodrigues, A. S. de L. (2018). Analysis of various effects of abamectin on erythrocyte morphology in Japanese quails (*Coturnix japonica*). *Environmental Science and Pollution Research*, 25(3), 2450–2456. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0677-8>
- De Mas, E., Benzal, J., Merino, S., Valera, F., Palacios, M. J., Cuervo, J. J., & Barbosa, A. (2015). Erythrocytic abnormalities in three Antarctic penguin species along the Antarctic Peninsula: Biomonitoring of genomic damage. *Polar Biology*, 38(7), 1067–1074. <https://doi.org/10.1007/s00300-015-1667-2>
- de Souza, J. M., Montalvão, M. F., da Silva, A. R., de Lima Rodrigues, A. S., & Malafaia, G. (2017). A pioneering study on cytotoxicity in Australian parakeets (*Melopsittacus undulates*) exposed to tannery effluent. *Chemosphere*, 175, 521–533. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.087>

- Deriano, L., & Roth, D. B. (2013). Modernizing the Nonhomologous End-Joining Repertoire: Alternative and Classical NHEJ Share the Stage. *Annual Review of Genetics*, 47(1), 433–455. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-110711-155540>
- Diamond, A. W., & Schreiber, E. A. (2020). Fragata Tijereta (*Fregata magnificens*), version 1.0. Birds of the World. <https://doi.org/10.2173/bow.magfri.01>
- Dianov, G. L., & Hübscher, U. (2013). Mammalian Base Excision Repair: The Forgotten Archangel. *Nucleic Acids Research*, 41(6), 3483–3490. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt076>
- Dias, M. P., Martin, R., Pearmain, E. J., Burfield, I. J., Small, C., Phillips, R. A., Yates, O., Lascelles, B., Borboroglu, P. G., & Croxall, J. P. (2019). Threats to seabirds: A global assessment. *Biological Conservation*, 237, 525–537. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.06.033>
- Elliott, J. E., Brogan, J., Lee, S. L., Drouillard, K. G., & Elliott, K. H. (2015). PBDEs and other POPs in urban birds of prey partly explained by trophic level and carbon source. *Science of The Total Environment*, 524–525, 157–165. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.04.008>
- Ensminger, M., Iloff, L., Ebel, C., Nikolova, T., Kaina, B., & Löbrich, M. (2014). DNA breaks and chromosomal aberrations arise when replication meets base excision repair. *Journal of Cell Biology*, 206(1), 29–43. <https://doi.org/10.1083/jcb.201312078>
- Ergene, S., Çavaş, T., Çelik, A., Köleli, N., Kaya, F., & Karahan, A. (2007). Monitoring of nuclear abnormalities in peripheral erythrocytes of three fish species from the Goksu Delta (Turkey): Genotoxic damage in relation to water pollution. *Ecotoxicology*, 16(4), 385–391. <https://doi.org/10.1007/s10646-007-0142-4>
- Fenech, M. (2007). Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nature Protocols*, 2(5), Article 5. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.77>
- Fenech, M., & Crott, J. W. (2002). Micronuclei, nucleoplasmic bridges and nuclear buds induced in folic acid deficient human lymphocytes—Evidence for breakage–fusion–bridge cycles in the cytokinesis-block micronucleus assay. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 504(1), 131–136. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(02\)00086-6](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(02)00086-6)
- Fenech, M., Kirsch-Volders, M., Natarajan, A. T., Surralles, J., Crott, J. W., Parry, J., Norppa, H., Eastmond, D. A., Tucker, J. D., & Thomas, P. (2011). Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis*, 26(1), 125–132. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq052>
- Finkelstein, M., Keitt, B. S., Croll, D. A., Tershy, B., Jarman, W. M., Rodriguez-Pastor, S., Anderson, D. J., Sievert, P. R., & Smith, D. R. (2006). Albatross Species Demonstrate Regional Differences In North Pacific Marine Contamination. *Ecological Applications*, 16(2), 678–686. [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(2006\)016\[0678:ASDRDI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(2006)016[0678:ASDRDI]2.0.CO;2)
- Fisher, H. I. (1976). Some Dynamics of a Breeding Colony of Laysan Albatrosses. *The Wilson Bulletin*, 88(1), 121–142. <https://sora.unm.edu/sites/default/files/journals/wilson/v088n01/p0121-p0142.pdf>
- Flores-Martínez, J. J., Herrera, L. G., Arroyo-Cabrales, J., Alarcón, I., & Ruiz, E. A. (2015). Seasonal dietary differences of the Yellow-footed Gull (Charadriiformes: Laridae) in Isla Partida Norte, Gulf of

- California, Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 86(2), 412–418. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2015.04.002>
- Fossi, M. C., Bains, M., Panti, C., Galli, M., Jiménez, B., Muñoz-Arnanz, J., Marsili, L., Finoia, M. G., & Ramírez-Macías, D. (2017). Are whale sharks exposed to persistent organic pollutants and plastic pollution in the Gulf of California (Mexico)? First ecotoxicological investigation using skin biopsies. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 199, 48–58. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2017.03.002>
- Frixione, M. G., D'Amico, V., Adami, M. A., & Bertellotti, M. (2022). Urbanity as a source of genotoxicity in the synanthropic Kelp Gull (*Larus dominicanus*). *Science of The Total Environment*, 850, 157958. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157958>
- Frixione, M. G., & Rodríguez-Estrella, R. (2020). Genotoxicity in American kestrels in an agricultural landscape in the Baja California peninsula, Mexico. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(36), 45755–45766. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10392-0>
- Gagne, T. O., Hyrenbach, K. D., Hagemann, M. E., & Van Houtan, K. S. (2018). Trophic signatures of seabirds suggest shifts in oceanic ecosystems. *Science Advances*, 4(2), eaao3946. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aao3946>
- Ghaffar, A., Hussain, R., Abbas, G., Ahmad, M. N., Abbas, A., Rahim, Y., Younus, M., Shahid, M., & Mohiuddin, M. (2018). Sodium arsenate and/or urea differently affect clinical attributes, hemato-biochemistry and DNA damage in intoxicated commercial layer birds. *Toxin Reviews*, 37(3), 206–215. <https://doi.org/10.1080/15569543.2017.1342096>
- Giambalvo, G., Albores-Barajas, Y., Soldatini, C., Rosas-Hernández, M., Rattenborg, N., & D'Alba, L. (2022). Environmental drivers of sex-biased foraging behavior in Magnificent Frigatebird in Baja California Sur, Mexico. *Avian Conservation and Ecology*, 17. <https://doi.org/10.5751/ACE-02202-170225>
- Gómez-Meda, B. C., Zamora-Perez, A. L., Luna-Aguirre, J., González-Rodríguez, A., Luisa Ramos-Ibarra, M., Torres-Bugarín, O., Batista-González, C. M., & Zúñiga-González, G. M. (2006). Nuclear abnormalities in erythrocytes of parrots (*Aratinga canicularis*) related to genotoxic damage. *Avian Pathology*, 35(3), 206–210. <https://doi.org/10.1080/03079450600711003>
- Grasman, K. A., Scanlon, P. F., & Fox, G. A. (1998). Reproductive and Physiological Effects of Environmental Contaminants in Fish-Eating Birds of the Great Lakes: A Review of Historical Trends. *Environmental Monitoring and Assessment*, 53(1), 117–145. <https://doi.org/10.1023/A:1005915514437>
- Grisolia, C. K., Rivero, C. L. G., Starling, F. L. R. M., da Silva, I. C. R., Barbosa, A. C., & Dorea, J. G. (2009). Profile of micronucleus frequencies and DNA damage in different species of fish in a eutrophic tropical lake. *Genetics and Molecular Biology*, 32(1), 138–143. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572009005000009>
- Guilherme, S., Válega, M., Pereira, M. E., Santos, M. A., & Pacheco, M. (2008). Erythrocytic nuclear abnormalities in wild and caged fish (*Liza aurata*) along an environmental mercury contamination gradient. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70(3), 411–421. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.08.016>

- Guo, X., Ni, J., Liang, Z., Xue, J., Fenech, M. F., & Wang, X. (2019). The molecular origins and pathophysiological consequences of micronuclei: New insights into an age-old problem. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 779, 1–35. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2018.11.001>
- Hand, J. L., Hunt, G. L., Jr., & Warner, M. (1981). Thermal Stress and Predation: Influences on the Structure of a Gull Colony and Possibly on Breeding Distributions. *The Condor*, 83(3), 193–203. <https://doi.org/10.2307/1367307>
- Hatch, E. M., Fischer, A. H., Deerinck, T. J., & Hetzer, M. W. (2013). Catastrophic Nuclear Envelope Collapse in Cancer Cell Micronuclei. *Cell*, 154(1), 47–60. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.06.007>
- Heinz, G. H., & Hoffman, D. J. (2004). Mercury accumulation and loss in mallard eggs. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23(1), 222–224. <https://doi.org/10.1897/03-111>
- Hernández-Montoya, J. C., Juárez-Rodríguez, M., Méndez-Sánchez, F., Aguirre-Muñoz, A., Rojas-Mayoral, E., Íñigo-Elias, E., Galina-Tessaro, P., Arnaud, G., & Ortega-Rubio, A. (2019). Sexual Dimorphism and Foraging Trips of the Laysan Albatross (*Phoebastria immutabilis*) on Guadalupe Island. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 9(6), E364. <https://doi.org/10.3390/ani9060364>
- Hernandez-Vazquez, S., Martínez, B., González, C., Rojo-Vázquez, J., Larios, J., & Íñigo-Elias, E. (2011). Abundancia y reproducción del pelícano pardo (*Pelecanus occidentalis*) en dos pequeñas bahías del Pacífico central, México. *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)*, 27, 257–271. <https://doi.org/10.21829/azm.2011.272752>
- Hilgert Jacobsen-Pereira, C., dos Santos, C. R., Troina Maraslis, F., Pimentel, L., Feijó, A. J. L., Iomara Silva, C., de Medeiros, G. da S., Costa Zeferino, R., Curi Pedrosa, R., & Weidner Maluf, S. (2018). Markers of genotoxicity and oxidative stress in farmers exposed to pesticides. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 148, 177–183. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.10.004>
- Hintzsche, H., Hemmann, U., Poth, A., Utesch, D., Lott, J., & Stopper, H. (2017). Fate of micronuclei and micronucleated cells. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 771, 85–98. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2017.02.002>
- Howell, S. N. G., & Webb, S. (1995). A guide to the birds of Mexico and Northern Central America. Oxford University Press.
- Hussain, R., Mahmood, F., Khan, A., Javed, M. T., Rehan, S., & Mehdi, T. (2012). Cellular and biochemical effects induced by atrazine on blood of male Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 103(1), 38–42. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.03.001>
- Jallepalli, P. V., & Lengauer, C. (2001). Chromosome segregation and cancer: Cutting through the mystery. *Nature Reviews Cancer*, 1(2), Article 2. <https://doi.org/10.1038/35101065>
- Kim, I.-Y., & Hyun, C.-K. (2006). Comparative evaluation of the alkaline comet assay with the micronucleus test for genotoxicity monitoring using aquatic organisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 64(3), 288–297. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.05.019>
- Krejci, L., Altmannova, V., Spirek, M., & Zhao, X. (2012). Homologous recombination and its regulation. *Nucleic Acids Research*, 40(13), 5795–5818. <https://doi.org/10.1093/nar/gks270>

- Kumar, P. S., & Prasannamedha, G. (2021). Chapter two—Biological and chemical impacts on marine biology. En P. S. Kumar (Ed.), *Modern Treatment Strategies for Marine Pollution* (pp. 11–27). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822279-9.00006-3>
- Kuo, L. J., & Yang, L.-X. (2008). Gamma-H2AX - a novel biomarker for DNA double-strand breaks. *In Vivo* (Athens, Greece), 22(3), 305–309. <https://iv.iarjournals.org/content/22/3/305.long>
- Kursa, M., & Bezrukov, V. (2008). Health status in an antarctic top predator: Micronuclei frequency and white Blood cell differentials in the south polar skua (*Catharacta maccormicki*). *Polarforschung*, 77, 1–5. https://www.researchgate.net/publication/289662083_Health_status_in_an_antarctic_top_predator_micronuclei_frequency_and_white_Blood_cell_differentials_in_the_south_polar_skua_catharacta_maccormicki
- Labrada-Martagón, V., Teneriá, F. A. M., & Zenteno-Savín, T. (2019). Standardized Micronucleus Assay for Peripheral Blood from Sea Turtles. *Chelonian Conservation and Biology*, 18(2), 175–186. <https://doi.org/10.2744/CCB-1373.1>
- Lajmanovich, R. C., Cabagna-Zenklusen, M. C., Attademo, A. M., Junges, C. M., Peltzer, P. M., Bassó, A., & Lorenzatti, E. (2014). Induction of micronuclei and nuclear abnormalities in tadpoles of the common toad (*Rhinella arenarum*) treated with the herbicides Liberty® and glufosinate-ammonium. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 769, 7–12. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2014.04.009>
- Lamb, J. S., Fiorello, C. V., Satgé, Y. G., Mills, K., Ziccardi, M., & Jodice, P. G. R. (2018). Movement patterns of California brown pelicans (*Pelecanus occidentalis californicus*) following oiling and rehabilitation. *Marine Pollution Bulletin*, 131, 22–31. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.03.043>
- Larson, J. M., Karasov, W. H., Sileo, L., Stromborg, K. L., Hanbidge, B. A., Giesy, J. P., Jones, P. D., Tillitt, D. E., & Verbrugge, D. A. (1996). Reproductive success, developmental anomalies, and environmental contaminants in double-crested cormorants (*Phalacrocorax auritus*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15(4), 553–559. <https://doi.org/10.1002/etc.5620150421>
- Lavers, J. L., Bond, A. L., & Hutton, I. (2014). Plastic ingestion by Flesh-footed Shearwaters (*Puffinus carneipes*): Implications for fledgling body condition and the accumulation of plastic-derived chemicals. *Environmental Pollution*, 187, 124–129. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.12.020>
- Leighton, F. A. (1985). Morphological Lesions in Red Blood Cells from Herring Gulls and Atlantic Puffins Ingesting Prudhoe Bay Crude Oil. *Veterinary Pathology*, 22(4), 393–402. <https://doi.org/10.1177/030098588502200415>
- León-Mejía, G., Espitia-Pérez, L., Hoyos-Giraldo, L. S., Da Silva, J., Hartmann, A., Henriques, J. A. P., & Quintana, M. (2011). Assessment of DNA damage in coal open-cast mining workers using the cytokinesis-blocked micronucleus test and the comet assay. *Science of The Total Environment*, 409(4), 686–691. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.10.049>
- Li, X., & Heyer, W.-D. (2008). Homologous recombination in DNA repair and DNA damage tolerance. *Cell Research*, 18(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/cr.2008.1>

- Lindberg, H. K., Wang, X., Järventaus, H., Falck, G. C.-M., Norppa, H., & Fenech, M. (2007). Origin of nuclear buds and micronuclei in normal and folate-deprived human lymphocytes. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 617(1), 33–45. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2006.12.002>
- Lo, A. W. I., Sabatier, L., Fouladi, B., Pottier, G., Ricoul, M., & Mumane, J. P. (2002). DNA Amplification by Breakage/Fusion/Bridge Cycles Initiated by Spontaneous Telomere Loss in a Human Cancer Cell Line. *Neoplasia*, 4(6), 531–538. <https://doi.org/10.1038/sj.neo.7900267>
- Lozano, E., Carmona, R., & Brabata, G. (2004). Reproductive success of Heermann's (*Larus heermanni*) and Yellow-footed (L-livens) gulls in the south of the gulf of California, Mexico. *Ornitología neotropical*, 15, 237–246. https://www.researchgate.net/publication/297577301_Reproductive_success_of_Heermann's_Larus_heermanni_and_Yellow-footed_L-livens_gulls_in_the_south_of_the_gulf_of_California_Mexico
- Marques, S. M., Antunes, S. C., Pissarra, H., Pereira, M. L., Gonçalves, F., & Pereira, R. (2009). Histopathological changes and erythrocytic nuclear abnormalities in Iberian green frogs (*Rana perezi* Seoane) from a uranium mine pond. *Aquatic Toxicology*, 91(2), 187–195. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.04.010>
- Marteijn, J. A., Lans, H., Vermeulen, W., & Hoeijmakers, J. H. J. (2014). Understanding nucleotide excision repair and its roles in cancer and ageing. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(7), Article 7. <https://doi.org/10.1038/nrm3822>
- Matter, B., & Schmid, W. (1971). Trenimon-induced chromosomal damage in bone-marrow cells of six mammalian species, evaluated by the micronucleus test. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 12(4), 417–425. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(71\)90092-3](https://doi.org/10.1016/0027-5107(71)90092-3)
- McClintock, B. (1941). The Stability of Broken Ends of Chromosomes in Zea Mays. *Genetics*, 26(2), 234–282. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1209127/>
- Mellink, E., Riojas-López, M. E., & Luévano-Esparza, J. (2009). Organochlorine content and shell thickness in brown booby (*Sula leucogaster*) eggs in the Gulf of California and the southern Pacific coast of Mexico. *Environmental Pollution*, 157(7), 2184–2188. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.02.001>
- Mendez, S. E., Quero, A. A. M., & Gorla, N. B. M. (2022). Erythrocyte micronucleus cytome assay in *Passer domesticus* and environmental remote sensing for inferring the quality of wild, rural, and urban areas. *Environmental Monitoring and Assessment*, 194(12), 852. <https://doi.org/10.1007/s10661-022-10488-9>
- Mendonça, J. dos S., de Almeida, J. C. N., Vieira, L. G., Hirano, L. Q. L., Santos, A. L. Q., Andrade, D. V., Malafaia, G., de Oliveira Júnior, R. J., & Beletti, M. E. (2023). Mutagenicity, hepatotoxicity, and neurotoxicity of glyphosate and fipronil commercial formulations in Amazon turtles neonates (*Podocnemis expansa*). *Science of The Total Environment*, 898, 165529. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165529>

- Mirza-Aghazadeh-Attari, M., Mohammadzadeh, A., Yousefi, B., Mihanfar, A., Karimian, A., & Majidinia, M. (2019). 53BP1: A key player of DNA damage response with critical functions in cancer. *DNA Repair*, 73, 110–119. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2018.11.008>
- Muntaner-López, G., González-Armas, R., Galván-Magaña, F., Lowe, C. G., Elorriaga-Verplancken, F. R., Lorenzi, V., Villalobos, H., & Hoyos-Padilla, E. M. (2023). Use of DDTs and PCBs as chemical tracers in assessing the foraging locations and habits of northern elephant seals from Guadalupe Island (Mexico). *Marine Mammal Science*, 39(2), 611–625. <https://doi.org/10.1111/mms.13004>
- Nakatsuka, S., Ochi, D., Inoue, Y., Ohizumi, H., Niizuma, Y., & Minami, H. (2021). The Diet Composition and Ingested Plastics of Laysan and Black-Footed Albatrosses Incidentally Captured by the Pelagic Longline Fishery in the Western North Pacific. *Ornithological Science*, 20, 129–140. <https://doi.org/10.2326/osj.20.129>
- Newtoff, K. N., & Emslie, S. D. (2017). Mercury Exposure and Diet in Brown Pelicans (*Pelecanus occidentalis*) in North Carolina, USA. *Waterbirds*, 40(1), 50–57. <https://doi.org/10.1675/063.040.0107>
- Nishizawa, B., Sugawara, T., Young, L., Vanderwerf, E., Yoda, K., & Watanuki, Y. (2018). Albatross-borne loggers show feeding on deep-sea squids: Implications for the study of squid distributions. *Marine Ecology Progress Series*, 592. <https://doi.org/10.3354/meps12482>
- Oliveira, M., Ahmad, I., Maria, V. L., Ferreira, C. S. S., Serafim, A., Bebianno, M. J., Pacheco, M., & Santos, M. A. (2010). Evaluation of oxidative DNA lesions in plasma and nuclear abnormalities in erythrocytes of wild fish (*Liza aurata*) as an integrated approach to genotoxicity assessment. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 703(2), 83–89. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2010.08.003>
- Olmastroni, S., Pompeo, G., Jha, A. N., Mori, E., Vannuccini, M. L., Fattorini, N., Ademollo, N., & Corsi, I. (2019). Erythrocytes nuclear abnormalities and leukocyte profile of the immune system of Adélie penguins (*Pygoscelis adeliae*) breeding at Edmonson Point, Ross Sea, Antarctica. *Polar Biology*, 42(7), 1343–1352. <https://doi.org/10.1007/s00300-019-02522-3>
- Oost, R., Beyer, J., & Vermeulen, N. P. E. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: A review. *Environmental Toxicology Pharmacology*, 60, 355–362. [https://doi.org/10.1016/S1382-6689\(02\)00126-6](https://doi.org/10.1016/S1382-6689(02)00126-6)
- Osorno, J.-L. (1996). Evolution of Breeding Behavior in the Magnificent Frigatebird: Copulatory Pattern and Parental Investment. [Tesis de doctorado, University of Florida]. <https://ufdc.ufl.edu/AA00029886/00001>
- Osorno, J.-L. (1999). Offspring Desertion in the Magnificent Frigatebird: Are Males Facing a Trade-Off between Current and Future Reproduction? *Journal of Avian Biology*, 30(4), 335–341. <https://doi.org/10.2307/3677005>
- Ottinger, M. A., Lavoie, E. T., Abdelnabi, M., Quinn, M. J., Marcell, A., & Dean, K. (2009). An overview of dioxin-like compounds, PCB, and pesticide exposures associated with sexual differentiation of neuroendocrine systems, fluctuating asymmetry, and behavioral effects in birds. *Journal of Environmental Science and Health. Part C, Environmental Carcinogenesis & Ecotoxicology Reviews*, 27(4), 286–300. <https://doi.org/10.1080/10590500903310229>

- Patten, M. A. (2020). Yellow-footed Gull (*Larus livens*), version 1.0. Birds of the World. <https://doi.org/10.2173/bow.yefgul.01>
- Pérez-Tribouillier, H., Shumilin, E., & Rodríguez-Figueroa, G. M. (2015). Trace Elements in the Marine Sediments of the La Paz Lagoon, Baja California Peninsula, Mexico: Pollution Status in 2013. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 95(1), 61–66. <https://doi.org/10.1007/s00128-015-1520-x>
- Pinson, D., & Drummond, H. (1993). Brown Pelican Sibling and the Prey-Size Hypothesis. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 32(2), 111–118. <https://www.jstor.org/stable/4600792>
- Pitman, R., Walker, W., Everett, W., & Gallo-Reynoso, J. P. (2004). Population status, foods and foraging of Laysan Albatrosses *Phoebastria immutabilis* nesting on Guadalupe Island, Mexico. *Marine Ornithology*, 32, 159–165. https://www.researchgate.net/publication/236893936_Population_status_foods_and_foraging_of_Laysan_Albatrosses_Phoebastria_immutabilis_nesting_on_Guadalupe_Island_Mexico
- Provencher, J. F., Bond, A. L., Avery-Gomm, S., Borrelle, S. B., Bravo Rebolledo, E. L., Hammer, S., Kühn, S., Lavers, J. L., Mallory, M. L., Trevail, A., & van Franeker, J. A. (2017). Quantifying ingested debris in marine megafauna: A review and recommendations for standardization. *Analytical Methods*, 9(9), 1454–1469. <https://doi.org/10.1039/C6AY02419J>
- Qiu, S., & Huang, J. (2021). MRN complex is an essential effector of DNA damage repair. *Journal of Zhejiang University. Science. B*, 22(1), 31–37. <https://doi.org/10.1631/jzus.B2000289>
- Quero, A. A. M., Ferré, D. M., Zarco, A., Cuervo, P. F., & Gorla, N. B. M. (2016). Erythrocyte micronucleus cytome assay of 17 wild bird species from the central Monte desert, Argentina. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(24), 25224–25231. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7638-5>
- Quintero-Vidales, M. (2021). Presencia de micronúcleos en aves marinas relacionadas a daños genotóxicos en isla natividad, BCS: la pardela mexicana y la gaviota occidental. [Tesis de Licenciatura en biología marina, Universidad Autónoma de Baja California Sur].
- Rello-Varona, S., Lissa, D., Shen, S., Niso-Santano, M., Senovilla, L., Mariño, G., Vitale, I., Jemaá, M., Harper, F., Pierron, G., Castedo, M., & Kroemer, G. (2012). Autophagic removal of micronuclei. *Cell Cycle*, 11(1), 170–176. <https://doi.org/10.4161/cc.11.1.18564>
- Rice, D. W., & Kenyon, K. W. (1962). Breeding Cycles and Behavior of Laysan and Black-Footed Albatrosses. *The Auk*, 79(4), 517–567. <https://doi.org/10.2307/4082639>
- Rios, L. M., Moore, C., & Jones, P. R. (2007). Persistent organic pollutants carried by synthetic polymers in the ocean environment. *Marine Pollution Bulletin*, 54(8), 1230–1237. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2007.03.022>
- Rodríguez-Castañeda, A. P., Sánchez-Rodríguez, I., Shumilin, E. N., & Sapozhnikov, D. (2007). Element concentrations in some species of seaweeds from La Paz Bay and La Paz Lagoon, south-western Baja California, Mexico. En R. Anderson, J. Brodie, E. Onsøyen, & A. T. Critchley (Eds.), Eighteenth International Seaweed Symposium (pp. 173–182). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5670-3_22

- Roman, L., Schuyler, Q. A., Hardesty, B. D., & Townsend, K. A. (2016). Anthropogenic Debris Ingestion by Avifauna in Eastern Australia. *PLOS ONE*, 11(8), e0158343. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158343>
- Sancar, A., & Tang, M. (1993). Nucleotide Excision Repair. *Photochemistry and Photobiology*, 57(5), 905–921. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1993.tb09233.x>
- Sandoval-Herrera, N., Paz Castillo, J., Herrera Montalvo, L. G., & Welch Jr., K. C. (2021). Micronucleus Test Reveals Genotoxic Effects in Bats Associated with Agricultural Activity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 40(1), 202–207. <https://doi.org/10.1002/etc.4907>
- Santos, C. S. A., Brandão, R., Monteiro, M. S., Bastos, A. C., Soares, A. M. V. M., & Loureiro, S. (2017). Assessment of DNA damage in *Ardea cinerea* and *Ciconia ciconia*: A 5-year study in Portuguese birds retrieved for rehabilitation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 136, 104–110. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.10.039>
- Schärer, O. D. (2013). Nucleotide Excision Repair in Eukaryotes. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(10), a012609. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012609>
- Schmid, W. (1975). The micronucleus test. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 31(1), 9–15. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(75\)90058-8](https://doi.org/10.1016/0165-1161(75)90058-8)
- Schoeninger, M. J., & DeNiro, M. J. (1984). Nitrogen and carbon isotopic composition of bone collagen from marine and terrestrial animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 48(4), 625–639. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(84\)90091-7](https://doi.org/10.1016/0016-7037(84)90091-7)
- Schreiber, R. W. (1977). Maintenance Behavior and Communication in the Brown Pelican. *Ornithological Monographs*, 22, iii–78. <https://doi.org/10.2307/40166741>
- Schreiber, R. W., Woolfenden, G. E., & Curtsinger, W. E. (1975). Prey Capture by the Brown Pelican. *The Auk*, 92(4), 649–654. <https://doi.org/10.2307/4084778>
- Sebastiano, M., Bustamante, P., Costantini, D., Eulaers, I., Malarvannan, G., Mendez-Fernandez, P., Churlaud, C., Blévin, P., Hauselmann, A., Dell’Omo, G., Covaci, A., Eens, M., & Chastel, O. (2016). High levels of mercury and low levels of persistent organic pollutants in a tropical seabird in French Guiana, the Magnificent frigatebird, *Fregata magnificens*. *Environmental Pollution*, 214, 384–393. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.03.070>
- Sebastiano, M., Bustamante, P., Eulaers, I., Malarvannan, G., Mendez-Fernandez, P., Churlaud, C., Blévin, P., Hauselmann, A., Covaci, A., Eens, M., Costantini, D., & Chastel, O. (2017). Trophic ecology drives contaminant concentrations within a tropical seabird community. *Environmental Pollution*, 227, 183–193. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.04.040>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2018, julio 12). La Actividad Agrícola en Baja California Sur. gov.mx. <http://www.gob.mx/agricultura/bajacaliforniasur/articulos/la-actividad-agricola-en-baja-california-sur?idiom=en>
- Secretaría de Turismo y Economía. (s/f). Programa de Gestión para Mejorar la Calidad del Aire del Estado de Baja California Sur 2018 – 2027. Recuperado el 26 de octubre de 2023, de https://setuesbcs.gob.mx/sustentabilidad/25_proaire_baja_california_sur.pdf

- Serrano-García, L., & Montero-Montoya, R. (2001). Micronuclei and chromatid buds are the result of related genotoxic events. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 38(1), 38–45. <https://doi.org/10.1002/em.1048>
- Shi, Q., & King, R. W. (2005). Chromosome nondisjunction yields tetraploid rather than aneuploid cells in human cell lines. *Nature*, 437(7061), Article 7061. <https://doi.org/10.1038/nature03958>
- Shields, M. (2020). Brown Pelican (*Pelecanus occidentalis*), version 1.0. Birds of the World. <https://doi.org/10.2173/bow.brnpel.01>
- Shimizu, N. (2011). Molecular mechanisms of the origin of micronuclei from extrachromosomal elements. *Mutagenesis*, 26(1), 119–123. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq053>
- Silveira, E. D. R., Benvindo-Souza, M., Assis, R. A., dos Santos, C. G. A., de Lima Amorim, N. P., Borges, R. E., de Melo, C., & de Souza Santos, L. R. (2022). Micronucleus and different nuclear abnormalities in wild birds in the Cerrado, Brazil. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(10), 14279–14287. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-16845-4>
- Soldatini, C., Sebastiano, M., Albores-Barajas, Y. V., Abdelgawad, H., Bustamante, P., & Costantini, D. (2020). Mercury exposure in relation to foraging ecology and its impact on the oxidative status of an endangered seabird. *Science of The Total Environment*, 724, 138131. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138131>
- Souto, H. N., de Campos Júnior, E. O., Campos, C. F., Rodrigues, T. S., Pereira, B. B., & Morelli, S. (2018). Biomonitoring birds: The use of a micronuclei test as a tool to assess environmental pollutants on coffee farms in southeast Brazil. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(24), 24084–24092. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2466-4>
- Strunjak-Perovic, I., Lisicic, D., Coz-Rakovac, R., Topic Popovic, N., Jadan, M., Benkovic, V., & Tadic, Z. (2010). Evaluation of micronucleus and erythrocytic nuclear abnormalities in Balkan whip snake *Hierophis gemonensis*. *Ecotoxicology*, 19(8), 1460–1465. <https://doi.org/10.1007/s10646-010-0531-y>
- Suryan, R. M., & Fischer, K. N. (2010). Stable isotope analysis and satellite tracking reveal interspecific resource partitioning of nonbreeding albatrosses off Alaska. *Canadian Journal of Zoology*, 88(3), 299–305. <https://doi.org/10.1139/Z10-002>
- Terradas, M., Martín, M., Tusell, L., & Genescà, A. (2009). DNA lesions sequestered in micronuclei induce a local defective-damage response. *DNA Repair*, 8(10), 1225–1234. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2009.07.004>
- Terradas, M., Martín, M., Tusell, L., & Genescà, A. (2010). Genetic activities in micronuclei: Is the DNA entrapped in micronuclei lost for the cell? *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 705(1), 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2010.03.004>
- Thomas, P., Holland, N., Bolognesi, C., Kirsch-Volders, M., Bonassi, S., Zeiger, E., Knasmueller, S., & Fenech, M. (2009). Buccal micronucleus cytome assay. *Nature Protocols*, 4(6), Article 6. <https://doi.org/10.1038/nprot.2009.53>

- Trivelpiece, W. Z., & Ferraris, J. D. (1987). Notes on the behavioural ecology of the Magnificent Frigatebird *Fregata magnificens*. *Ibis*, 129(S1), 168–174. <https://doi.org/10.1111/j.1474-919X.1987.tb03198.x>
- Tsarpali, V., Kassara, C., Barboutis, C., Papadimitraki, M., Kloukinioti, M., Giokas, S., & Dailianis, S. (2020). Assessing the seasonal and intrinsic variability of neurotoxic and cyto-genotoxic biomarkers in blood of free-living Eleonoras' falcons. *Science of The Total Environment*, 711, 135101. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135101>
- Vanparys, P., Vermeiren, F., Sysmans, M., & Temmerman, R. (1990). The micronucleus assay as a test for the detection of aneugenic activity. *Mutation Research Letters*, 244(2), 95–103. [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(90\)90056-P](https://doi.org/10.1016/0165-7992(90)90056-P)
- Vives Corrons, J.-L., Albarède, S., Flandrin, G., Heller, S., Horvath, K., Houwen, B., Nordin, G., Sarkani, E., Skitek, M., Van Blerk, M., Libeer, J.-C., & Haematology Working Group of the European External Committee for External Quality Assurance Programmes in Laboratory Medicine. (2004). Guidelines for blood smear preparation and staining procedure for setting up an external quality assessment scheme for blood smear interpretation. Part I: Control material. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 42(8), 922–926. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2004.149>
- Wilhelmsson, D., Thompson, R. C., Holmström, K., Lindén, O., & Eriksson-Hägg, H. (2013). Chapter 6—Marine Pollution. En K. J. Noone, U. R. Sumaila, & R. J. Diaz (Eds.), *Managing Ocean Environments in a Changing Climate* (pp. 127–169). *Elsevier*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407668-6.00006-9>
- Wong, J. K. H., Lee, K. K., Tang, K. H. D., & Yap, P.-S. (2020). Microplastics in the freshwater and terrestrial environments: Prevalence, fates, impacts and sustainable solutions. *Science of The Total Environment*, 719, 137512. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137512>
- Wyman, C., Ristic, D., & Kanaar, R. (2004). Homologous recombination-mediated double-strand break repair. *DNA Repair*, 3(8), 827–833. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2004.03.037>
- Yasui, M., Koyama, N., Koizumi, T., Senda-Murata, K., Takashima, Y., Hayashi, M., Sugimoto, K., & Honma, M. (2010). Live cell imaging of micronucleus formation and development. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 692(1), 12–18. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2010.07.009>
- Zarate-Ovando, M. B. (2001). Crecimiento y supervivencia de la gaviota patas amarillas *Larus livens*, en la isla La Gaviota, B.C.S., México. [Tesis de Licenciatura, Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas]. <http://www.repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/15124>
- Zhang, Y., Rohde, L. H., & Wu, H. (2009). Involvement of Nucleotide Excision and Mismatch Repair Mechanisms in Double Strand Break Repair. *Current Genomics*, 10(4), 250–258. <https://doi.org/10.2174/138920209788488544>
- Zhu, C., Sun, Y., Li, D., Zheng, X., Peng, X., Zhu, T., Mo, L., Luo, X., Xu, X., & Mai, B. (2020). Evidence for complex sources of persistent halogenated compounds in birds from the south China sea. *Environmental Research*, 185, 109462. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109462>

Zúñiga-González, G., Torres-Bugarín, O., Luna-Aguirre, J., González-Rodríguez, A., Zamora-Perez, A., Gómez-Meda, B. C., Ventura-Aguilar, A. J., Ramos-Ibarra, M. L., Ramos-Mora, A., Ortiz, G. G., & Gallegos-Arreola, M. P. (2000). Spontaneous micronuclei in peripheral blood erythrocytes from 54 animal species (mammals, reptiles and birds): Part two. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 467(1), 99–103. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(00\)00021-8](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(00)00021-8)

Anexos

Anexo A.

Tabla 3. Valores de probabilidad de las pruebas estadísticas empleadas.

| Grupos Comparados | | Shapiro – Wilk | | Levene | | U de Mann - Whitney | |
|-------------------|-------------------|----------------|---------|---------|---------|---------------------|----------|
| A | B | Brotos | Total | Brotos | Total | Brotos | Total |
| FRMA 2020 Adultos | FRMA 2021 Adultos | 0.01909 | 0.04504 | 0.4878 | 0.5445 | 0.7088 | 0.3506 |
| LALI 2020 Pollos | LALI 2021 Pollos | 0.5952 | 0.7656 | 0.4677 | 0.555 | 0.5723 | 0.599 |
| FRMA 2020 Adultos | FRMA 2020 Pollos | 0.04527 | 0.09928 | 0.3581 | 0.233 | 0.7 | 0.5003 |
| FRMA 2020 Pollos | LALI 2020 Pollos | 0.6853 | 0.6595 | 0.03709 | 0.03355 | 0.0158 | 0.03239 |
| PEOC 2021 Pollos | LALI 2021 Pollos | 0.5789 | 0.5817 | 0.174 | 0.249 | 0.2912 | 0.3009 |
| PHIM 2021 Adultos | FRMA 2021 Adultos | 0.4047 | 0.206 | 0.4864 | 0.1646 | 3.65E-05 | 1.23E-05 |

Para este estudio se fijó una significancia de $p < 0.05$.

Anexo B.

Tabla 4. Media de la frecuencia de anomalías nucleares por especie.

| Especie | Año | Edad | Sexo | n | MN | Brotos | Dentado | Muesca | Segmentada | Cola | Binucleada | Puente | Otra | Total |
|------------------------|------|---------|--------|----|-----------|--------------|-----------|-----------|------------|-----------|------------|---------|-----------|--------------|
| <i>F. magnificens</i> | 2020 | Adultos | Hembra | 15 | 0.1 ± 0.3 | 83 ± 31.3 | 1.4 ± 1.6 | 3.2 ± 3.3 | 3.4 ± 2.5 | 1.4 ± 1.5 | 0.1 ± 0.3 | 0 ± 0 | 0 ± 0.2 | 92.8 ± 29.9 |
| | 2020 | Pollos | DE | 21 | 0.3 ± 0.6 | 80.5 ± 39.9 | 2.3 ± 1.4 | 3.5 ± 2.0 | 0.7 ± 1.3 | 0.3 ± 0.5 | 0 ± 0.3 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 87.9 ± 41.8 |
| | 2021 | Adultos | Hembra | 15 | 0.1 ± 0.5 | 80.8 ± 27.0 | 0 ± 0 | 1.8 ± 1.6 | 1.2 ± 1.6 | 2.1 ± 1.9 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 86.1 ± 26.3 |
| <i>L. livens</i> | 2020 | Pollos | DE | 20 | 0.2 ± 0.4 | 101.3 ± 20.5 | 2.5 ± 2.0 | 2.5 ± 1.4 | 0.5 ± 0.6 | 0.1 ± 0.4 | 0 ± 0.2 | 0 ± 0.2 | 0.2 ± 0.5 | 107.6 ± 20.7 |
| | 2021 | Pollos | DE | 12 | 0 ± 0.0 | 106 ± 17.5 | 2.5 ± 0.9 | 1.8 ± 1.5 | 0.8 ± 1.2 | 0.3 ± 0.8 | 0 ± 0.2 | 0 ± 0.2 | 0 ± 0.0 | 111.6 ± 18.5 |
| <i>P. occidentalis</i> | 2021 | Pollos | DE | 19 | 0 ± 0.2 | 116.2 ± 23.9 | 1.5 ± 1.1 | 3 ± 2.1 | 0.5 ± 1.3 | 0.1 ± 0.3 | 0 ± 0.2 | 0 ± 0.2 | 0.1 ± 0.3 | 121.7 ± 23.2 |
| <i>P. immutabilis</i> | 2020 | Adultos | DE | 19 | 0 ± 0.2 | 150.8 ± 37.9 | 6.2 ± 3.6 | 8.9 ± 5.6 | 1.7 ± 1.4 | 0.9 ± 1.2 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0.7 ± 1.3 | 169.5 ± 40.3 |

Se reporta la media por tipo de anomalía nuclear encontrada por grupo y la desviación estándar, contando 1,000 eritrocitos por individuo. DE = desconocido.

Anexo C.

Tabla 5. Frecuencia de micronúcleos y anomalías nucleares por 10,000⁻¹ eritrocitos.

| Especie | Año | Edad | MN | Total AN |
|------------------------|------------|-------------|-----------|-----------------|
| <i>F. magnificens</i> | 2020 | Adultos | 1.3 | 96.6 |
| | 2020 | Pollos | 3.8 | 70.4 |
| | 2021 | Adultos | 1.3 | 52 |
| <i>L. livens</i> | 2020 | Pollos | 2 | 61 |
| | 2021 | Pollos | 0 | 56 |
| <i>P. occidentalis</i> | 2021 | Pollos | 0.5 | 55.2 |
| <i>P. immutabilis</i> | 2020 | Adultos | 0.5 | 186.8 |