

Análisis descriptivo de las condiciones de conservación de un sitio de forrajeo de la tortuga verde del Pacífico (*Chelonia mydas agassizii*, Testudines: *Chelonioidae*) en el Golfo Dulce, Costa Rica; se toma como base el estado de salud de la tortuga y el hallazgo de plaguicidas en el ambiente.

Descriptive analysis of the conservation conditions of a foraging site for the Pacific green turtle (*Chelonia mydas agassizii*, Testudines: *Chelonioidae*) in Golfo Dulce, Costa Rica, based on the turtle's state of health and the discovery of pesticides in the environment

Martha Sarmiento¹, Andrea Chaves², Mónica Retamosa³, Clemens Ruepert⁴, Ricardo Jiménez⁵, Kinndle Blanco⁶✉

- ¹ Instituto Internacional en Conservación y Manejo de Vida Silvestre (ICOMVIS), Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica; marthacms@gmail.com
- ² Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica; andreachaves.biol@gmail.com
- ³ Instituto Internacional en Conservación y Manejo de Vida Silvestre (ICOMVIS), Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica; mretamos@una.cr
- ⁴ Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas (IRET), Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica; clemens.ruepert@una.cr
- ⁵ Posgrado Regional en Ciencias Veterinarias, Escuela de Medicina Veterinaria Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica; vetdomicilio247@gmail.com
- ⁶ Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica; kblanco@una.cr*

Recibido: 16 de Setiembre de 2015. **Corregido:** 7 de Diciembre de 2015. **Aceptado:** 11 de Diciembre de 2015.

Resumen: El desarrollo de estrategias de manejo, que permitan la conservación de las tortugas marinas y del Golfo Dulce, requiere de insumos relacionados con la condición actual de la salud de estas poblaciones. Diversos estudios han relacionado la manifestación clínica de enfermedades como la fibropapilomatosis (FP) en tortugas marinas con estresores ambientales y actividades antropogénicas, los cuales pueden ocasionar la presencia de contaminantes y el deterioro ambiental de zonas de forrajeo y anidación. Al considerar este ligamen, se desarrolló este estudio, el cual constituye una caracterización ambiental de un sitio de forrajeo, a partir del estado de la salud de la tortuga verde del pacífico (*Chelonia mydas agassizii*) y de las condiciones ambientales de este sitio (un sitio de forrajeo) en el Golfo Dulce, Costa Rica, entre el 2010 y 2012. Para ello, se determinó el estado físico de 77 tortugas, la presencia de FP y la detección molecular de CFPV. Se analizó el uso de suelo y la densidad poblacional cercana a la zona de estudio; así como la presencia de plaguicidas en muestras de sedimento marino, agua y pasto marino; también, en sangre de 10 tortugas muestreadas. Entre los resultados obtenidos, destaca

✉ Autor de correspondencia:
kblanco@una.cr



el hecho de que la condición general del golfo es conservada, únicamente con la presencia de cultivos de arroz cercanos a la zona y un sector en crecimiento poblacional importante. Se determinó la presencia de un herbicida, clomazona, y el buen estado de salud de los quelonios estudiados, en apariencia libres de FP. Sin embargo, se detectó, molecularmente, el posible agente causal de FP en 26% (20) de los individuos muestreados. Con esta investigación se logró reconocer, al Golfo Dulce, como un importante sitio de forrajeo para la tortuga verde del Pacífico, el cual cuenta con las condiciones adecuadas para su conservación y protección.

Palabras clave: tortuga verde del Pacífico, *Chelonia mydas agassizii*, contaminantes tóxicos, clomazona, FP.

Abstract: The development of management strategies for the conservation of Golfo Dulce and of sea turtles requires inputs related to the current health status of the populations of the turtles. Several studies have linked the clinical manifestation of diseases such as fibropapillomatosis (FP) in sea turtles with environmental stressors and anthropogenic activities, which may result in the presence of contaminants and environmental degradation of foraging and nesting areas. This paper was prepared considering this link and as an environmental characterization of a foraging site based on the state of health of the Pacific green turtle (*Chelonia mydas agassizii*) and the environmental conditions of this site (a foraging site) in Golfo Dulce, Costa Rica, between 2010 and 2012. To this end, the physical condition of 77 turtles, the presence of fibropapillomatosis (FP) and the molecular detection of CFPHV were determined. An analysis was performed considering the following factors: land use and population density near the study area, as well as the presence of pesticides in samples of marine sediment, water and seagrass, and blood from 10 turtles. One of the results indicates that the general condition of the gulf is preserved, solely with the presence of rice crops near the area and a sector with a significantly growing population. The study determined the presence of the herbicide clomazone as well as the good health of the turtles studied, apparently free from FP. However, the possible FP casual agent was molecularly detected in 26% (20) of the sampled individuals. With this research, Golfo Dulce was recognized as an important foraging site with adequate conditions for the preservation and protection of the Pacific Green Sea Turtle.

Keywords: Pacific green turtle, *Chelonia mydas agassizii*, toxic pollutants, clomazone, FP.

INTRODUCCIÓN

La tortuga marina, *Chelonia mydas*, es una de las siete especies de tortugas marinas del mundo. En el Océano Pacífico, su subespecie, la tortuga verde del pacífico (*Chelonia mydas agassizii*), abarca aguas tropicales y subtropicales, que van desde Baja California, México, hasta Perú y el oeste de las Islas Galápagos (Amarocho & Reina 2007). Actualmente, la tortuga verde, incluyendo a sus dos subespecies (*C. mydas mydas* y *C. mydas agassizii*), está en la categoría de especies en peligro de extinción de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, por sus siglas en inglés) (Seminoff 2004) y presenta, como principales amenazas, el saqueo de nidos, la matanza de adultos durante la anidación, la captura de juveniles y adultos producto de la pesca incidental, la degradación de sus hábitats marinos y de anidación (IUCN 2015); así como el calentamiento global y el aumento de la temperatura de las aguas del mar. Otra gran amenaza la constituye la fibropapilomatosis (FP), enfermedad con distribución mundial y de origen desconocido (Alfaro-Núñez et al.

2014), caracterizada por tumores múltiples cutáneos de naturaleza fibroepitelial (Lu et al. 2000). La transmisión y crecimiento de los tumores no está plenamente comprendida, pero se reconoce como una enfermedad multifactorial, en la cual, la formación de los fibropapilomas se relaciona con la presencia del supuesto agente etiológico involucrado, herpesvirus de *Chelonia* asociado a fibropapiloma (CFPHV, por sus siglas en inglés) y de factores inmunológicos y ambientales, como: estrés ambiental, contaminantes ambientales, actividades antropogénicas, entre otros (Alfaro-Núñez et al. 2014).

La presencia de FP en Costa Rica, se sospechó, por vez primera, en una tortuga lora, (*Lepidochelys olivacea*) en el Refugio Nacional de Vida Silvestre Ostional, en 1982 (Cornelio & Robinson 1983) y, posteriormente, en 1987 por Orrego & Morales (2002). Por su parte, Aguirre et al. (1999) realizaron un estudio en este mismo sitio, en el cual analizaron, por primera vez, la histopatología de masas de piel de tortugas loras y determinaron la presencia de FP. Durante el período 2004-2005, se determinó la presencia de FP en estos quelonios, a través de métodos moleculares, tanto en tejido saludable como en tejido tumoral (Brenes et al. 2013).

La tortuga verde del Pacífico se conoce como una subespecie omnívora, con tendencia a la herbivoría, que se adapta al alimento disponible (Bjorndal 1980; Hirth 1997). Se alimentan de invertebrados marinos y, principalmente, consumen algas, vegetación de mangle y pasto marino (Ernst et al. 1998). Estudios, en el Océano Pacífico Este, demostraron que, en su etapa juvenil, se traslada a aguas costeras poco profundas, en la cual se alimenta de algas y pasto marino (Mortimer 1982). Permanecen en los sitios de alimentación o forrajeo durante períodos prolongados de hasta 20 años (Limpus et al. 1994). Los sitios de forrajeo de los sub adultos y adultos son ecosistemas costeros, generalmente con problemas importantes de contaminación y degradación, lo que constituye una grave amenaza para la conservación de estas especies (Waycott et al. 2009).

El Golfo Dulce, ubicado dentro del área marina del Parque Nacional Piedras Blancas, en el pacífico sur de Costa Rica, ha sido identificado como una zona importante de forrajeo para las tortugas verdes del Pacífico y la carey (*Eretmochelys imbricata*) (Chacón-Chaverri et al. 2015a, Chacón-Chaverri et al. 2015b). Corresponde a uno de los cuatro sistemas de fiordos conocidos en los trópicos (Richards et al. 1971) y posee una cuenca interna y un umbral poco profundo (Ramírez 2006), lo cual, favorece la limitada circulación de agua en su cuenca interna, así como la formación de aguas profundas anóxicas. Se conoce por su alta diversidad marina, al presentar un 21.5% del total de especies reportadas para la costa Pacífica de Costa Rica (aproximadamente 1028 especies) (Bessensen & Corrigan 2010). Sin embargo, actualmente, es amenazado por actividades antrópicas, las cuales pueden generar el deterioro de la calidad del agua, la reducción de pasto marino y la disminución de las especies presentes (Morales-Ramírez 2011).

Una de las mayores preocupaciones, relacionadas con la calidad de los pastos marinos, es la incorporación de contaminantes en estos, por ejemplo, de organoclorados (OCs), los cuales están presentes en los insecticidas utilizados en la agricultura. Los OCs tienen un largo espectro residual; también, poseen un alto poder bioacumulador (OPAS 1996). En Costa

Rica, está prohibido el uso, fabricación, importación, venta y tránsito de estos plaguicidas para el combate de parásitos de animales de producción. Sin embargo, está permitido utilizar insecticidas organoclorados, con un permiso especial emitido por el MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería) (MAG 1988).

Contaminantes, incorporados en los pastos marinos, tienen el potencial de ser transferidos a los consumidores de pastos marinos (Ward 1989; Gordon *et al.* 1998); metales asociados y los OCs, también tienen el potencial de ser bioacumulados en tejido rico en grasa (lipidio) (O'Shea *et al.* 1984; McKenzie *et al.* 1999). Las consecuencias de la acumulación de OCs, en tejido, son complejas (Clark 1992) y los plaguicidas, OCs y bifenilos policlorados, (PCB) se han relacionado con problemas reproductivos e inmunológicos en las poblaciones de aves terrestres y en las de mamíferos marinos (Kubiak *et al.* 1989, Kuiken *et al.* 1994, Johnston *et al.* 1996). En tortugas marinas, los estudios de concentraciones de contaminantes son limitados; muy dispersos, entre los tipos de contaminantes, ubicaciones geográficas, especies y tejidos (Pugh y Becker 2001). Keller *et al.* (2004) reportan contaminantes OCs en la sangre de tortugas marinas, en plasma y células rojas sanguíneas. En este estudio, mostró que los análisis de plasma sanguíneo presentaban una mayor concentración de organoclorados que en las células rojas.

En el caso específico de las tortugas marinas, los estudios de concentraciones de contaminantes son limitados y muy dispersos entre los tipos de contaminantes reportados, ubicaciones geográficas, especies y tejidos afectados (Pughy-Becker 2001), a pesar de que algunos autores asocian el incremento de tortugas marinas con FP a la presencia de este tipo de contaminantes tóxicos (Herbst & Klein 1995; Aguirre & Lutz 2004). Esto justifica el estudio de las condiciones ambientales que podrían incidir sobre el estado general de salud de las tortugas marinas; por lo cual, el objetivo de esta investigación es determinar las condiciones ambientales (presencia de plaguicidas en sedimento, agua y pastos marinos) y antropogénicas (uso del suelo y crecimiento poblacional humano), así como el estado de salud de la tortuga verde del pacífico (presencia de plaguicidas, detección molecular de CFPHV y condiciones físicas) que forrajean en el Golfo Dulce de Costa Rica. Para la conservación de las tortugas marinas y del Golfo Dulce, es importante generar datos que indiquen la condición actual de salud de las poblaciones que lo visitan para alimentación, de ahí la importancia de la investigación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de Estudio

La zona de estudio se encuentra en el Pacífico Sur de Costa Rica, específicamente en el Golfo Dulce (Figura 1). La zona fue georreferenciada con el programa ArcGIS (ESRI 2010) mediante una fotografía aérea infrarroja del proyecto Carta (PRIAS 2005). El error de referenciación no sobrepasó los 10m. Además, se utilizó capas de datos vectoriales del Atlas Digital de Costa Rica (ITEC 2008), capa de uso del suelo (EOSL *et al.* 2006) y capa de ríos (IGN 2008). En el campo, se utilizó un GPS Garmin 60csx para ubicar las casas y el camino por tierra hacia la carretera.

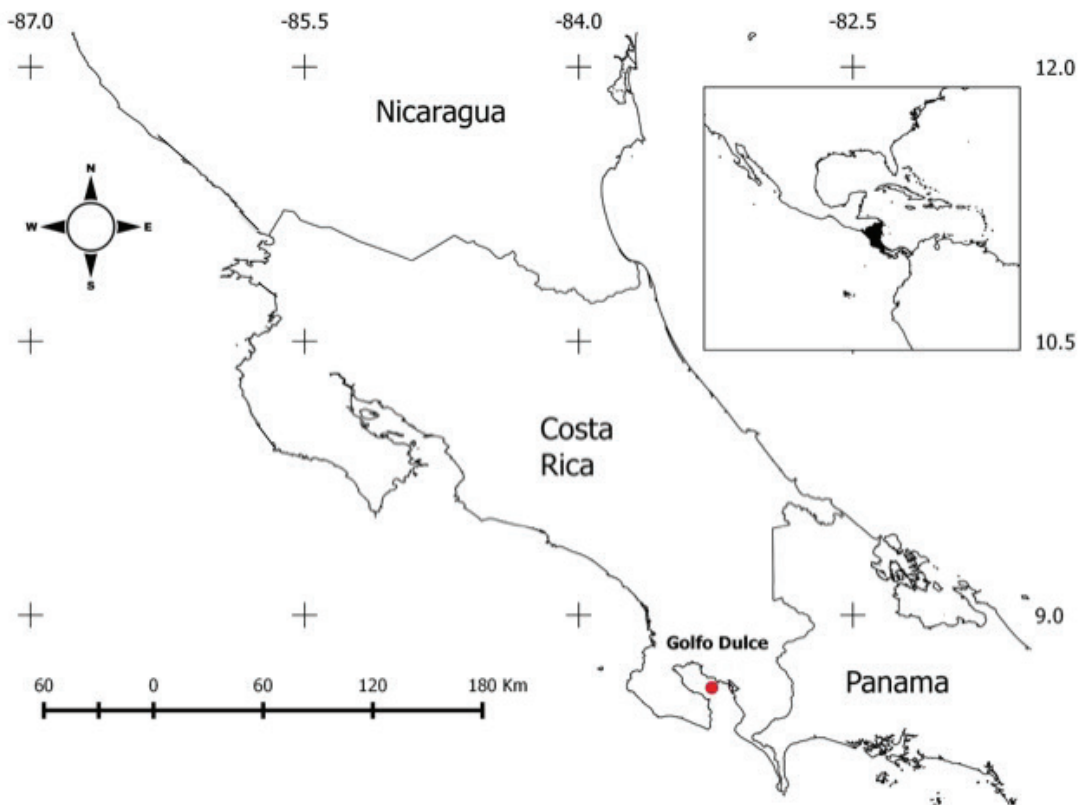


Figura 1. Zona de muestreo en el Golfo Dulce, Pacífico Sur de Costa Rica ($83^{\circ}35'00''N$, $83^{\circ}16'00''W$).

Condiciones ambientales

Se determinó la presencia de residuos de plaguicidas en el entorno (sedimento, agua y pasto marino) del sitio de forrajeo, a través de la colecta de distintas muestras: sedimento y agua de los dos esteros más cercanos al sitio de forrajeo (Quebrada Caballeros, $08^{\circ}40'5.21''N$, $83^{\circ}26'46.84''W$, y manglar, $08^{\circ}39'44.08''N$, $83^{\circ}26'26.74''W$), se tomó ocho muestras de núcleos de pasto marino de los puntos de muestreo y del sedimento presente en el sustrato, a una profundidad de 5 a 6 metros en marea alta (Figura 2).

Las colectas, en ambos esteros, se realizaron lo más cercano posible a la orilla, durante la marea alta. Para tal efecto, se seleccionó tres puntos aleatoriamente, en los cuales se tomó tres muestras de sedimento del fondo. Las muestras de pasto marino fueron colectadas con un núcleo de PVC de 15 cm de diámetro en diez de los puntos, se tomó en cuenta su cercanía a la desembocadura de la Quebrada Caballero y al manglar (Figura 2). Las muestras fueron transportadas a $4^{\circ}C$ al LAREP, en el cual se separó el sedimento del pasto, se lavó

las muestras con agua ultrapura (Milli-Q). Las muestras de agua se tomaron por duplicado, desde el bote, en botellas de vidrio, en ambos esteros y procesadas dentro de las 48 horas siguientes; mientras que las de sedimento y pasto marino se mantuvieron a -20°C hasta su análisis químico.

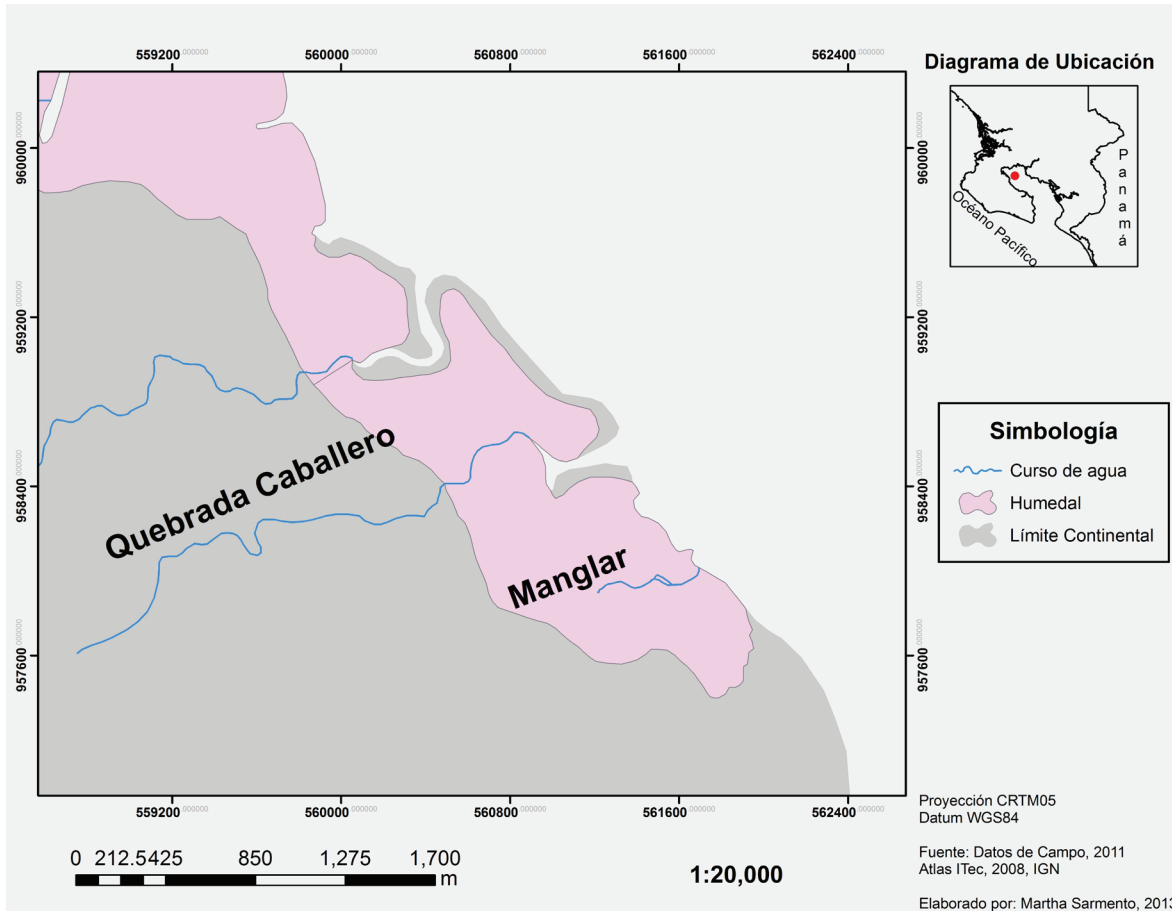


Figura 2. A. Esquema de los transectos marcados perpendicular a la costa (de 1 al 15) y los puntos de muestreo de pasto marino, ubicado entre playa Colibrí y Puerto Escondido ($08^{\circ}40'5.21''\text{N}$ y $83^{\circ}26'46.84''\text{W}$). **B.** Puntos de colecta de sedimento y agua para los análisis de plaguicida, en Golfo Dulce, Costa Rica.

Las muestras de agua fueron extraídas mediante fase (Env+ Isolute 200 mg/6 mL Biotage Suecia); en tanto que las de sedimento y pasto marino, se realizaron con disolventes orgánicos, asistida por radiación de microondas (MAE) (Mars 5, CEM Corporation Matthews NC). Todos los extractos concentrados fueron analizados por cromatografía de gases, con detector de masas, (GC-MS) en modo monitoreo de iones selectivos (SIM) y escaneo (TIC) para determinar residuos de los siguientes plaguicidas: organoclorados, organofosforados, piretroides, conazoles, triazinas, herbicidas y fungicidas.

Condiciones antropogénicas

El análisis de variables antropogénicas se realizó tomando en cuenta el uso del suelo de la zona en estudio y la identificación de posibles fuentes contaminantes que afecten el pasto marino y el Golfo Dulce en general, producto de actividades agrícolas. Adicionalmente, se calculó el crecimiento poblacional humano del distrito de Puerto Jiménez, cantón de Golfito, a través de los últimos censos del Instituto Nacional de Estadística y Censos de Costa Rica (INEC 2000; INEC 2012). Esta información se utilizó para analizar el crecimiento poblacional y su posible impacto en el ambiente.

Estado de salud de la tortuga verde del Pacífico

Las tortugas se capturaron con una red de pesca de 100 m x 3 m, la cual fue lanzada al mar y monitoreada, regularmente, durante siete horas por día y retirada al final de cada día. En total, se realizó 11 giras, entre el 2010 al 2012. Las tortugas fueron liberadas de la red tan pronto se tomaron las muestras, con el objetivo de minimizar el estrés.

Se midió el largo curvo del caparazón (LCC) y se realizó un examen físico general a cada tortuga. En este examen, se observó la presencia de ectoparásitos, su condición corporal, tamaño, presencia de lesiones aparentes por algún trauma, úlceras, alteraciones genéticas o FP.

Posteriormente, se colectó 8 ml de sangre de cada quelonio, a la cual se le extrajo el suero, que fue desnaturalizado. Posteriormente, se llevó a cabo la extracción de fase sólida (SPE) se utilizó un cartucho de Isolute ENV+ (200 mg / 6 mL; Biotage Suecia) y la determinación de plaguicidas organoclorados (OCs) (hexaclorobenzeno, lindano, y el metabolito de pp-DDT, el pp-DDE) mediante cromatografía de gases, con detector de captura de electrones (ECD) (Hagmar et al. 2006; Perez-Maldonado et al. 2010). Además, se tomaron tres muestras de tejido de 5mm de diámetro de una de las aletas dorsales de cada tortuga, para determinar la presencia de CPFHV, mediante análisis molecular, a través de la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés).

El análisis de PCR, para la detección del CPFHV en muestras de piel, se realizó en el laboratorio de Genética de la Conservación de la Universidad de Costa Rica. El ADN total se extrajo de las muestras de tejido, utilizando el kit de extracción Blood and Tissue (Qiagen, Hilden, Alemania), según las instrucciones del fabricante.

La amplificación de las muestras de ADN, para la detección del CPFHV, se llevó a cabo a través de un PCRanidado; se utilizó el kit comercial Top Taq PCR (Qiagen, Hilden). Para ello, se usaron los siguientes cebadores: FHV 5'AGCATCATCCAGGCCACAATCT-3' y RHV 5'CGGCCAGTCCGGCGCGTACCA-3', descritos por Lu y colaboradores (2000); se obtuvo un primer producto de 445 bp de ADN amplificado. Posteriormente, se realizó una segunda amplificación, la cual fue sugerida por los mismos autores, en la cual se generaba un producto de 209 pb, con los cebadores: 5'-CTGCTGACCGACTGGCTGGC-3' y 5'-AGCATGTCCGCCCTACGGTGGTGAC-3'

Figura 3. Puntos de muestreo en los cuales se encontró el herbicida clomazona, dentro del manglar y en el punto de muestreo de pasto número 4.2., Golfo Dulce, Costa Rica.

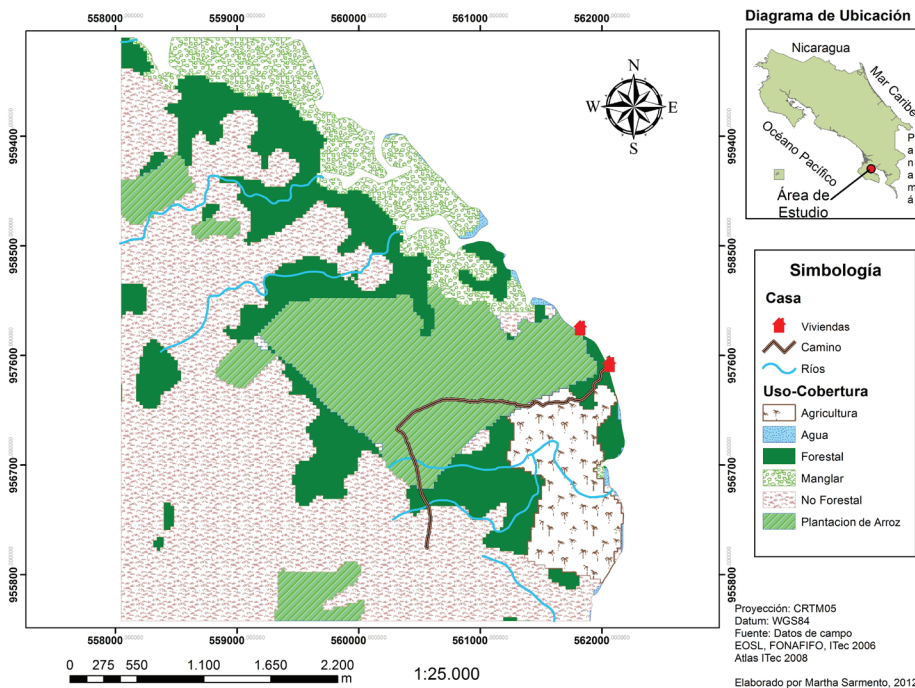
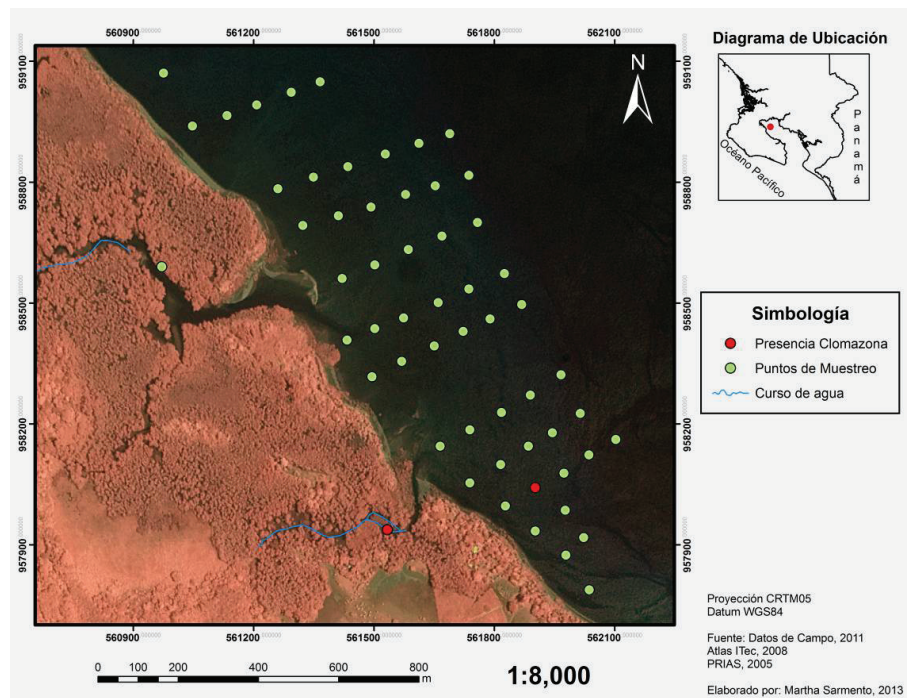


Figura 4. Uso del suelo en el área de estudio, Golfo Dulce de Costa Rica.

RESULTADOS

De los contaminantes tóxicos analizados en sedimento, agua y pasto marino, la única sustancia detectada fue el herbicida clomazona, identificada, tanto en una muestra de pasto marino, como de aguas tomadas del manglar (Figura 3).

Con respecto al análisis de las condiciones ambientales, se observó que el uso del suelo, cercano al área de estudio, es predominantemente de manglar. Sin embargo, existe una plantación de arroz de 258 hectáreas a una distancia aproximada de 200 m del manglar. En la zona, alrededor del golfo, no existen, hasta la fecha, tipo alguno de construcción, carreteras o caseríos que pueda incidir en las condiciones naturales del Golfo (Figura 4).

Conforme con los dos últimos censos de población realizados por el Instituto Nacional de Estadística y Censo (INEC 2000; INEC 2012), la población humana del Distrito de Puerto Jiménez, entre 2000 y 2011, creció un 44%. Este crecimiento ha sido muy superior al observado en el Cantón de Golfito, al cual pertenece Puerto Jiménez, y también fue superior al de la provincia de Puntarenas y de Costa Rica como un todo, conforme se observa en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Censo Poblacional Total y Crecimiento - 2000, 2011.

Costa Rica, Provincia, Cantón y Distrito	Población Total		Tasa de crecimiento	
	2000	2011	2011/2000 (%)	2011/2000 (% a.a)
Costa Rica	3.810.179	4.301.712	112,9	1,11
Provincia Puntarenas	357.483	410.929	115	1,27
Cantón Golfito	33.823	39.150	115,7	1,34
Distrito Puerto Jiménez	6.102	8.789	144	3,37

Fuente: INEC

IX Censo Nacional de Población y V Censo Nacional de Vivienda (2000)

X Censo Nacional de Población y VI Censo Nacional de Vivienda (2011)

Para determinar el estado de salud de la tortuga verde del Pacífico, que forrajea en el Golfo Dulce, se capturó un total 77 individuos. De ellos, solo cinco poseían lesiones en el caparazón (heridas abiertas), pero en ninguno se observó lesiones fibropapilomatosas. La mayoría de las tortugas muestreadas presentaba buen estado nutricional, con una masa muscular en buen estado, sus ojos y plastrón no presentaban hundimientos y las cantidades de percebes eran normales.

Con base en los parámetros establecidos por Seminoff y colaboradores, (2007) para la categorización etaria, según la longitud del largo del caparazón, un 66% (51) de los animales eran adultos y un 34% (26), juveniles. El promedio de las tallas fue de 55 cm (rango de 48-91.5cm, n=77). No se pudo determinar el sexo de las juveniles, pero todos los adultos capturados fueron hembras, según sus características morfológicas externas (Wyneken 2001).

En relación con la determinación de organoclorados en suero, en ninguna de las diez muestras de suero sanguíneo analizadas, se reportaron niveles detectables de hexaclorobenzeno, lindano, y el metabolito de pp-DDT ni de pp-DDE.

Los resultados de los análisis moleculares, para la detección de CFPHV en muestras de tejido, determinó que de las 77 tortugas analizadas, un 26% (20) de individuos fueron positivos a CFPHV, siendo 13.7% (7 de 51) adultas y 50% (13 de 26), juveniles.

DISCUSIÓN

En las últimas décadas, las poblaciones de tortugas marinas se han visto afectadas, directa o indirectamente, por cambios ambientales y actividades antropogénicas. Estos factores, entre otros, ponen en riesgo crítico las poblaciones de tortugas marinas a nivel mundial. Sin duda, la presencia de contaminantes tóxicos, en sus zonas de vida; además, la presencia de FP, son dos aspectos destacados como amenaza para la salud de las tortugas marinas (Aguirre & Lutz 2004).

En Costa Rica, el Golfo Dulce es un sitio con enorme riqueza natural, cuya área terrestre, cercana a la pradera marina, parece encontrarse hasta hoy preservada; corresponde, mayoritariamente, a manglares y humedales. Sin embargo, el proceso de urbanización no planificada y el cambio en el uso de suelo es creciente en la región, lo cual provocaría graves alteraciones en la costa, a saber: la pérdida de cubierta forestal, aumento de erosión y la sedimentación de los ríos (Morales-Ramírez 2011).

La proximidad de las plantaciones de arroz, (a solo 200 m del manglar) puede ser un riesgo para el Golfo, principalmente para los cursos de agua y el volumen de agua utilizado para irrigación, dado que, asociado a las lluvias, podría favorecer el transporte de plaguicidas de las plantaciones a los manantiales hídricos (Marchesan et al. 2010). De acuerdo con observaciones realizadas en la zona de estudio, al bajar la marea, el agua sale con un flujo continuo y con fuerza a través de los esteros, arrastrando las sustancias presentes en este sitio hacia el Golfo, lo cual explicaría el hallazgo del herbicida clomazona en puntos cercanos a su desembocadura. Primel y colaboradores (2005) afirma que los plaguicidas utilizados en la agricultura, como la clomazona, tienen un alto potencial de contaminación de aguas de superficie y pueden ser transportados disueltos en el agua.

La clomazona es un herbicida utilizado para el control de malezas de hojas anchas y gramíneas en varios cultivos, como el arroz (Garnica et al. 2011; FOOTPRINT 2009). Esta sustancia impide la formación del fotosistema de las plantas invasoras; las hojas nacen blancas y no consiguen desarrollarse (Copatti et al. 2009). Las algas poseen una alta toxicidad aguda a este herbicida, mientras que las plantas acuáticas, como el helecho acuático (*Lemnagibba*), presentan una mediana toxicidad aguda (Clomazone 2010; FOOTPRINT 2009). El estudio de Bester (2000) mostró que hay una conexión entre el decline de pasto marino y la contaminación por herbicidas (atrazina, simazina y terbutylazina) en los sitios de muestreo del Mar de Wadden (Alemania), lo cual indicaría que la presencia de este plaguicida podría llegar a disminuir la producción de pasto marino y la consecuente afectación de la fuente

de alimento para la tortuga verde del Pacífico que forrajea en esta zona. Por tal razón, la realización de monitoreos constantes en la zona permitiría conocer el efecto, que a mediano o largo plazo, puede causar en las tortugas la disminución del pasto marino a consecuencia de los herbicidas que pudieran caer al mar del Golfo. También, es importante monitorear las variaciones que el aumento demográfico produce en el área, sobre todo al considerar que suele estar precedido por cambios en el uso del suelo, la agricultura es uno de ellos.

Hoy, la agricultura de subsistencia no es la actividad que más se ha incrementado en la región. Sin embargo, es preocupante el crecimiento del monocultivo, pues genera más contaminantes que la otra, se constituye en un problema que impacta las cuencas (Molina-Bustamante y Crowder, 2014) y es una de las causas de la disminución de la diversidad marina costera (Marín, 2012). En la zona de Puerto Jiménez, las plantaciones más importantes son el arroz y la palma africana (Molina-Bustamante y Crowder, 2014), en el arroz, la clomazona es uno de los plaguicidas utilizados.

Es importante destacar que el muestreo, en este estudio, se realizó en una época del año (3 al 7 de diciembre de 2011) y los resultados se limitan a una situación en esta fecha específica, por lo cual, los hallazgos podrían deberse a que la plantación se encontraba en una etapa en la cual se utiliza el herbicida. Marchesan y colaboradores (2010) demostró que existen variaciones de plaguicidas de acuerdo con las distintas etapas de plantación y las cosechas de arroz en el Sur de Brasil, por lo cual, se recomienda mantener el monitoreo de sustancias tóxicas en distintas épocas del año.

Asimismo, existe un desconocimiento sobre los niveles, a partir de los cuales los contaminantes químicos, pueden ser perjudiciales o letales para las tortugas marinas y sobre los efectos, a largo plazo, en la salud y dinámica poblacional (Storelli & Marcotrigiano 2003). Sin embargo, se ha demostrado que las tortugas marinas tienen una alta sensibilidad fisiológica aún a reducidas concentraciones de contaminantes como los OC (Keller et al. 2004). En el caso de la clomazona, según datos sobre su toxicidad, para animales es baja (FOOTPRINT 2009), pero es importante realizar estudios específicos para tortugas marinas, al tomar en cuenta las largas migraciones de estas, se facilita la exposición a diversas clases de contaminantes derivados de variadas fuentes. Además, la longevidad de las tortugas permite que se acumulen OCs persistentes (Keller et al. 2004).

Cabe resaltar que las 77 tortugas capturadas tenían buena condición corporal y ninguno de los animales presentaba tumores con apariencia de fibropapiloma al examen objetivo general, a pesar de que 20 de los tejidos analizados fueron positivos a CFPHV. Este hallazgo es consistente con los reportados por Quackenbush y colaboradores (2001), en los cuales se indica la presencia de tres individuos positivos a CFPHV, de 14 tortugas analizadas libres de FP. Igualmente, Page-Karjian et al. (2012) determinó 32,4% de muestras positivas de 142 biopsias de piel analizadas en tortugas libres de FP. Por tanto, el hallazgo no es un caso fortuito y es factible la determinación del agente infeccioso en individuos sanos.

A pesar de que, en esta investigación, no se observó tortugas con FP en la piel, en los análisis moleculares, realizados por Brenes y colaboradores (2013) en tortuga lora anidante en

en Ostional, Costa Rica, entre el 2004 y 2005, se determinó la presencia de CFPHV, tanto en lesiones tumorales (69,23%) como en biopsias de piel sana (4,16%), por lo cual, es importante hacer notar que la ausencia de tortugas, con sintomatología de FP en nuestra investigación, se debería a que los herpesvirus pueden generar infecciones persistentes de por vida en su hospedero, con replicación viral recurrente (Maclachlan & Dubovi 2010), lo que hace factible la presencia de individuos positivos sin manifestaciones clínicas. Es importante señalar que, cuando se compara el porcentaje de positividad entre juveniles (50%) y adultos (13.7%) en las tortugas aparentemente libres de FP, se concuerda con lo reportado por George (1997), quien señaló que las tortugas juveniles tienen un mayor porcentaje de positividad en comparación con adultas. Además, al considerar que no hay certeza de que el herpesvirus sea el agente causal definitivo de la enfermedad, no se puede, tampoco, asegurar que esas tortugas positivas vayan a desarrollar los tumores.

Al tomar en cuenta que la enfermedad parece estar estrechamente vinculada con las condiciones ambientales desfavorables (Herbst & Klein 1995; Aguirre & Lutz 2004), se resalta la importancia de preservar los sitios de forrajeo, utilizados por los jóvenes y adultos, al pasar largos períodos como residentes. Por tanto, estos sitios son catalogados como claves para la conservación de las tortugas marinas, debido a la gran diversidad de individuos observados, entre otros factores (Amarocho & Reina 2007).

El Informe de País IV del Convenio sobre la Diversidad Biológica establece que, aunque Costa Rica tiene una fuerte agenda verde, hay situaciones que podrían afectar el estado de los ecosistemas marinos y costeros de aguas interiores. El mismo documento señala que hay una pérdida de la biodiversidad en el país en diversos grados y en una extensión indeterminada debido a la falta de estudios, indicadores de medida y sistematización de los datos. A este respecto, es importante destacar la falta de información del Golfo Dulce, la cual es fundamental para el desarrollo de las acciones de protección de las tortugas marinas y de muchas otras especies marinas que se ven afectadas por actividades humanas. Este sitio cumple con las características ambientales óptimas para el buen desarrollo de las tortugas marinas y de otras especies, por lo cual, es recomendable fortalecer los planes de conservación en la zona, razón justificada para llevar a cabo estudios que involucren la salud ecosistémica de la región.

BIBLIOGRAFIA

- Aguirre, A.A., Spraker, T.R., Chaves, A., Du Toit L., Eure, W. & Balazs, G.H. 1999. Pathology of Fibropapillomatosis in Olive Ridley Turtles *Lepidochelys olivacea* Nesting in Costa Rica. *Journal of Aquatic Animal Health*. 11: 283-289.
- Aguirre, A.A. & Lutz, P.L. 2004. Marine Turtles as Sentinels of Ecosystem Health: Is Fibropapillomatosis an Indicator? *Eco Health J. Consort.*1: 275-83. doi: 10.1007/s10393-004-0097-3.
- Alfaro-Núñez, A., Frost Bertelsen, M., Bojesen, A., Rasmussen, I., Zepeda-Mendoza, L., Tange Olsen, M. & Gilbert, M. 2014. Global distribution of Chelonid fibropapilloma-

- associated herpesvirus among clinically healthy sea turtles. *BMC EvolBiol.* 14: 206. doi: 10.1186/s12862-014-0206-z.
- Amoroch, D.F. & Reina, R.D. 2007. Feeding ecology of the East Pacific green sea turtle *Chelonia mydas agassizii* at Gorgona National. *Endangered Species Research.* 3: 43–51. doi: 10.3354/esr003043.
- Bester, K. 2000. Effects of pesticides on seagrass beds. *Helgoland Marine Research.* 54: 95–98. doi: 10.1007/s101520050007.
- Bessensen, B.L. & Corrigan, J. 2010. Reporte Final del Monitoreo de Especies Marinas en el Golfo Dulce, Costa Rica. <http://osaconservation.org/wp-content/uploads/2012/05/Reporte-Final-del-Monitoreo-de-Especies-Marinas-en-el-Golfo-Dulce.pdf> (Accesado 9 de agosto 2015).
- Bjorndal, K.A. 1980. Nutrition and grazing behaviour of the green turtle *Chelonia mydas*. *Mar. Biol.* 56:147-154. doi: 10.1007/BF00397131
- Brenes, L., Berrocal, A., Meneses, A.I., Jiménez, C. & Orrego, C. 2013. Study on the etiology of fibropapillomatosis of olive ridley sea turtles (*Lepidochelys olivacea*) nesting in the National Wildlife Refuge at Ostional, Guanacaste, Costa Rica. *Rev. Mar. Cost.* 15: 119-134.
- Chacón-Chaverri D., Martínez-Cascante, D.A., Rojas, D. & Fonseca, L.G. 2015a. Golfo Dulce, Costa Rica, un área importante de alimentación para la tortuga carey del Pacífico Oriental (*Eretmochelys imbricata*) *Rev. Biol. Trop.* 63 (Supl. 1): 351-362.
- Chacón-Chaverri, D., D.A. Martínez-Cascante, D. Rojas, & L.G. Fonseca. 2015b. Captura por unidad de esfuerzo y estructura poblacional de la tortuga verde de Pacífico (*Chelonia mydas*) en el Golfo Dulce, Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 63(Supl.1): 363-373.
- Clark, R. B. 1992. *Marine pollution.* Claredon Press, Oxford.
- Clomazone. 2010. <http://www.ftm.una.ac.cr/plaguicidasdecentroamerica/index.php/base-de-datos/ingredientes-activos/135-clomazone> (Accesado 3 de agosto 2015)
- Copatti, C.E., Garcia, L.O. & Baldisserotto, B. 2009. Uma importante revisão sobre o impacto de agroquímicos da cultura de arroz em peixes. *Biota Neotrop.*, 9(4): 235-242.
- Cornelius, S.E. & Robinson, D.C. 1983. Abundance, distribution, and movements of olive ridley sea turtles in Costa Rica, III. U.S. Fish and Wildlife Service Endangered Species Report 13, Albuquerque, New Mexico, 52 pp.
- Ernst, C.H., Altenburg, R.G.M. & Barbour, R.W. 1998. *Turtles of the world.* De la base de datos de Biodiversidad Mundial del Expert Center for Taxonomic Identification (ETI), Amsterdam, The Netherlands, disponible en <http://nlbif.eti.uva.nl/bis/turtles> (Accesado 6 agosto 2015).
- EOSL, Universidad de Alberta, ITCR–FONAFIFO. 2006. Cobertura de la tierra ocurrida en el 2005 FONAFIFO. (Shape). Escala No dada. Interpretación y clasificación de imágenes de satélite Landsat 7. Software: No dado. San José, Costa Rica: FONAFIFO.

- ESRI. 2010. ArcGis (Versión 10.1) [software]. California, EEUU: ESRI.
- FOOTPRINT. 2009. The FOOTPRINT Pesticide Properties Database. 2009. <http://www.eu-footprint.org/ppdb.html> (Accesado 5 agosto 2015)
- Garnica, I., Bozal, J.M. & Lezáun, J.A., Esparza, M. 2011. Navarra Agraria: Herbicidas en Arroz. pp 29-34.
- George, R.H. 1997. Health Problems and Diseases of Sea Turtles. pp. 363-385 in Lutz, P.L. & J.A. Musick (Eds). The Biology of Sea Turtles. CRC Press, Boca Raton. 432 pp.
- Gordon, A.N., Pople, R. & Ng, J. 1998. Trace metal concentrations in livers and kidneys of sea turtles from south-eastern Queensland, Australia. *Mar. Freshwater Res.* 49(5): 409-414.
- Hagmar, L., Wallin, E., Vessby, B., Jonsson, B.A., Bergman, A. & Rylander, L. 2006. Intra-individual variations and time trends 1991-2001 in human serum levels of PCB, DDE and hexachlorobenzene. *Chemosphere.* 64(9): 507-513. doi: 10.1016/j.chemosphere.2005.12.054
- Herbst, L.H. & Klein, P.A. 1995. Green Turtle Fibropapillomatosis: Challenges to Assessing the Role of Environmental Cofactors. *Environ. Health Persp.* 103(Suppl 4): 27-30.
- Hirth, H.F. 1997. Synopsis of the biological data on the green turtle *Chelonia mydas* (Linnaeus 1758). Fish and Wildlife Service Biological Report 97(1). EEUU: Silver Spring, MD.
- IGN. Instituto Geográfico Nacional. 2008. Red de caminos. Hojas Cartográficas 1:50 000. Curridabat, Costa Rica
- INEC. Instituto Nacional de Estadística y Censo, Costa Rica. 2000. <http://www.inec.go.cr> (Accesado 4 de junio 2015)
- ITEC. Instituto Tecnológico de Costa Rica. 2008. Atlas de Costa Rica. Escuela de Ingeniería Forestal. Cartago, Costa Rica: ITEC.
- Keller, J.M., Kucklick, J.R. & McClellan-Green, P.D. 2004. Organochlorine contaminants in loggerhead sea turtle blood: Extraction techniques and distribution among plasma and red blood cells. *Arch Environ Contam Toxicol.* 46(2): 254-64.
- Kubiak, T.G., Harris, H. J., Smith, L.M., Schartz, T.R., Stalling, D.L., Trick, J. A., Sileo, L., Docherty, D.E. & Erdman, T.C. 1989. Micro-contaminants and reproductive impairment of the Foster's tern on Green Bay, Lake Michigan-1983. *Arch. Environ. Con.Tox.* 18: 706-727.
- Kuiken, T., Bennett, P. M., Allchin, C. R., Kirkwood, J. K., Baker, J. R., Lockyer, C. H., Walton, M. J. & Sheldrick, M. C. 1994. PCBs, cause of death and body condition in harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) from British waters. *Aquatic Toxicology* 28: 13-28.
- Limpus, C., Couper, P.J. & Read, M.A. 1994. The green turtle, *Chelonia mydas*, in Queensland: population structure in warm temperate feeding area. *MemQld Mus.* 35,139-154.
- Lu, Y., Wang, Y., Yu, Q., Aguirre, A.A., Balazs, G.H. & Nerurkar, V.R. 2000. Detection of herpesviral sequences in tissues of green turtles with fibropapilloma by polymerase

- chain reaction. *Archives of Virology* 145:1–9.
- Maclachlan, N.J. & Dubovi, E.J. 2010. *Fenner's Veterinary Virology*. 4th edition. London: Academic Press.
- Marchesan, E., Sartori, G.M.S., de Atilar, L.A., Machado, S.L.O., Zanella, R., Primel, E.G., Macedo, V.R.M. & Marchezan, M.G. 2010. Resíduos de agrotóxicos na água de rios da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria. 40(5): 1053-1059.
- Marín, M. 2012. Identificación y caracterización de actores institucionales y de la sociedad civil claves en la gestión de las AMUM Golfo de Nicoya y Pacífico Sur. Proyecto Golfos SINAC-Mar Viva-BID.
- McKenzie, C., Godley, B.J., Furness, R.W. & Wells, D.E. 1999. Concentrations and patterns of organochlorine contaminants in marine turtles from Mediterranean and Atlantic waters. *Mar. Environ. Res.* 47: 117-135.
- Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG). 1988. DECRETO N° 18451-MAG-S-TSS. Publicado en la Gaceta N° 187 de lunes 03 de octubre de 1988.
- Molina-Bustamante, C & L. Crowder. 2014. *Dimensión Humana de los Ecosistemas Marinos de la Región de Osa y Golfito*. San José, Costa Rica: INOGO, Stanford Woods Institute for the Environment. Stanford University. Agosto, 2014.
- Morales-Ramírez, A. 2011. La diversidad marina del Golfo Dulce, Pacífico Sur de Costa Rica: amenazas a su conservación. *Biocenosis*. 24(1-2): 9-20.
- Mortimer, J. 1982. Feeding ecology of sea turtles. pp: 103–109. En: Bjorndal, K.A. editors. *Biology and conservation of sea turtles*. Smithsonian Institution Press, Washington, DC, USA.
- Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS). 1996. Proposta de uma metodologia para implantação de um sistema de vigilância à saúde de populações expostas agrotóxicos em cinco estados do Brasil: Relatório final. Brasília.
- Orrego, C.M. & Morales, J.A. 2002. Discoveries of Olive ridley turtles (*Lepidochelys olivacea*) on the Pacific coast of Costa Rica. Páginas: 276-277. En: 22th Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation. Miami, Florida. USA.
- O'Shea, T. J., Moore, J. F. & Kochman, H. I. 1984. Contaminant concentrations in manatees in Florida. *Journal of Wildlife Management* 48: 741-748.
- Page-Karjian A, Torres F, Zhang J, Rivera S, Diez C, Moore PA, Moore D, Brown C. 2012. Presence of CHFPV in tumored and non-tumored green turtles, as detected by PCR, in endemic and non-endemic aggregations, Puerto Rico. Springer Plus. 1:35. doi: 10.1186/2193-1801-1-35.
- Pérez-Maldonado. I.N., Trejo, A., Ruepert, C., Jovel-Rdel, C., Méndez, M.P., Ferrari, M., Saballos-Sobalvarro, E., Alexander, C., Yáñez-Estrada, L., Lopez, D., Henao, S., Pinto, E.R. & Díaz-Barriga, F. 2010. Assessment of DDT levels in selected environmental media and

- biological samples from Mexico and Central America. *Chemosphere*. 78(10): 1244-1249. doi: 10.1016/j.chemospha.2009.12.040.
- PRIAS. Programa de Investigaciones Aerotransportadas y Sensores Remotos. 2005. Fotografías aéreas. Proyecto Carta 2005, escala 1:40 000. Pavas, Costa Rica: PRIAS.
- Primel, E.G., Zanella, R., Kurz, M.H.S., Gonçalves, F.F., Machado, S.O. & Marchezan, E. 2005. Poluição das águas por herbicidas utilizados no cultivo do arroz irrigado na região central do estado do Rio Grande do Sul, Brasil: predição teórica e monitoramento. *Quím. Nova*. 28(4): 605-609
- Pugh, R.S. & Becker, P.R. 2001. Sea turtle contaminants: A review with annotated bibliography. NISTIR 6700. Report. Gaithersburg, EEUU: National Institute of Standards and Technology.
- Quackenbush, S.L., Casey, R.N., Murcek, R.J., Paul, T.A., Work, T.M., Limpus, C.J., Chaves, A., duToit, L., Vasconcelos Perez, J., Aguirre, A.A, Spraker, T.R., Horrocks, J.A., Vermeer, L.A., Balazs, G.H. & Casey, J.W. 2001. Quantitative Analysis of Herpesvirus Sequences from Normal Tissue and Fibropapillomas of Marine Turtles with Real-Time PCR. *Virology*. 287: 105-111. doi: 10.1006/viro.2001.1023.
- Ramírez, E.G. 2006. Informe técnico: Ambientes Marino Costeros de Costa Rica. San José, Costa Rica: Comisión Interdisciplinaria marino costera de La zona económica exclusiva de Costa Rica.
- Richards, F.A., Anderson, J.J. & Cline, J.D. 1971. Chemical and physical observations in Golfo Dulce, an anoxic basin in the Pacific coast of Costa Rica. *Limnol. Oceanogr.* 16(1), 43-50.
- Seminoff, J.A., Reséndiz-Hidalgo, A., de Reséndiz, B.J., Nichols, W.J. & Todd-Jones, T. 2007. Aspectos bioecológicos: Tortugas marinas. En G. D. Danemann y E. Ezcurra (Eds), Bahía de los Angeles: recursos naturales y comunidad (pp. 454-494). Distrito Federal, México: Pronatura Noroeste A.C., Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología y Museo de Historia Natural de San Diego.
- Seminoff, J.A. 2004. *Chelonia mydas*. In: IUCN 2014. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.1. <www.iucnredlist.org>. (Accesado 4 de agosto 2015).
- Storelli, M.M. & Marcotrigiano, G.O. 2003. Heavy metal residues in tissues of marine turtles. *Mar Pollut Bull.* 46, 397-400.
- Ward, T. J. 1989. The accumulation and effects of metals in seagrass habitats. Páginas: 797-820. En *Biology of seagrasses: a treatise on the biology of seagrasses with special reference to the Australian region*. Larkum, A. W. D., Larkum, A., J. McComb, y S. A. Shepherd, Editores. Elsevier, Amsterdam.
- Waycott, M., Duarte, C.M., Carruthers, T.J.B., Orth, R.J., Dennison, W.C. & Olyarnik, S. 2009. Accelerating loss of seagrasses across the globe threatens coastal ecosystems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 106: 12377-12381.
- Wyneken, J. 2001. The Anatomy of Sea Turtles. U.S. Department of Commerce NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-470. Florida, EE.UU: National Marine Fisheries Services.