

Efectos de la exposición prenatal al estrés asociado a la incubación artificial, sobre el desarrollo de la tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*)

Ma. Antonia Herrera Vargas¹, Esperanza Meléndez Herrera¹✉, Gabriel Gutiérrez Ospina² y Alma Lilia Fuentes Farías¹✉

¹Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales (INIRENA), UMSNH. Av. San Juanito Itz'icuaró s/n, colonia Nueva Esperanza, c.p. 58330

²Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, 04510 Ciudad de México, Distrito Federal.

Resumen

Las tortugas marinas son consideradas como amenazadas o en peligro de extinción. Debido a ello, se han establecido viveros a donde los huevos recién depositados por las hembras son trasladados e incubados en nidos artificiales como estrategia de conservación “*ex-situ*”. A lo largo del tiempo, efectos negativos de la incubación artificial en las crías han sido documentados, sugiriendo que los factores físicoquímicos de los nidos artificiales pudieran ser la causa. Nuestra hipótesis es que el traslado y la incubación artificial generan una exposición crónica al estrés en los embriones/fetos de *Lepidochelys (L.) olivacea*. Esta exposición resultará en alteraciones de la citología neuronal de algunas regiones cerebrales, incremento en la masa de las glándulas hipófisis y adrenales, así como un decremento de la masa gonadal y un incremento en la concentración sérica de corticosterona. La elección de los órganos se basa en evidencia proveniente de mamíferos que muestra que la exposición crónica al estrés durante etapas tempranas de la ontogenia produce sobreactivación del eje hipotálamo-hipofisiario-adrenal (HHA) y disminución de la actividad del eje hipotálamo-hipofisiario-gonadal (HHG). A su vez, la hiperactividad del eje HHA modifica la arquitectura de circuitos neuronales conduciendo a alteraciones conductuales, cognitivas y reproductivas. Los resultados obtenidos hasta ahora apoyan la hipótesis propuesta, ya que los animales eclosionados en nidos artificiales presentan alteraciones en la citoarquitectura neuronal de regiones como el hipotálamo, la corteza dorsomedial y la amígdala. Además, sus hipófisis y glándulas adrenales presentan una mayor masa (datos que apoyan la sobre actividad del eje HHA). Por el contrario, se observó una disminución significativa en la masa de sus gónadas ($t=0.0078^*$, $p<0.05$), así como una menor masa corporal ($t=0.0164^*$, $p\leq 0.05$). Finalmente, nuestros resultados muestran que las crías de nidos artificiales presentan un incremento en los niveles circulantes de corticosterona ($t=0.0216^*$, $p\leq 0.05$).

Palabras clave: Corticosterona, neuronas, nidos artificiales, crías.

Summary

Sea turtles are considered threatened or endangered. As a result, nurseries have been established where fresh eggs laid by females are transferred and incubated in artificial nests as an “*ex-situ*” conservation strategy. Over time negative effects of artificial incubation on the offspring have been documented, suggesting that physicochemical factors of artificial nests may be the cause. Our hypothesis is that relocation and artificial incubation generate chronic stress exposure in *Lepidochelys (L.) olivacea* embryos/fetus. This exposure would result in alterations in the neural cytoarchitecture of some brain regions, an increase in the mass of the pituitary and adrenal gland, a decrease in the mass of the gonad and an increase in serum corticosterone concentration. The organs that were analyzed were chosen based on evidence from mammals showing that chronic stress exposure during early stages of ontogeny causes over-activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis and a decrease in hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis activity. The hyperactivity of the HPA axis modifies neural circuit architecture leading to behavioral, cognitive and reproductive alterations. The results obtained so far support the proposed hypothesis, since animals hatched from artificial nests show alterations in the neural cytoarchitecture of brain areas such as the hypothalamus, dorsomedial cortex and amygdala. Additionally, their pituitary and adrenal glands have a higher mass (data supporting HPA axis over-activity). By contrast, a significant decrease in the mass of their gonads ($t=0.0078^*$, $p\leq 0.05$) was observed and they had lower body mass ($t=0.0164^*$, $p\leq 0.05$). Finally, our results show that turtles hatched in artificial nests have increased levels of circulating corticosterone ($t=0.0216^*$, $p\leq 0.05$).

Key words: Corticosterone, neurons, artificial nests, hatchlings.

Introducción

Las tortugas marinas se encuentran clasificadas como especies “en peligro crítico”, “en peligro” o “vulnerables” a la extinción, según acuerdos de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) (<http://www.iucn.org>) y la norma (NOM)-059-SEMARNAT-2010. Se han desarrollado estrategias

de conservación orientadas a prevenir la extinción de las especies y promover la recuperación y el sostenimiento de poblaciones saludables de tortugas marinas, que realicen eficientemente sus funciones ecológicas (Eckert *et al.*, 1999). Tales estrategias han incluido la creación de viveros a donde son reubicados aquellos nidos en riesgo, lo cual implica el expolio, traslado y reintierro de los huevos recién ovopositados por las hembras. Durante este proceso, los huevos están expuestos a movimientos de rotación o vibración causada por la manipulación, lo cual se ha documentado, afecta negativamente el desarrollo embrionario del organismo (Limpus *et al.*, 1979; Parmenter, 1980; Pintus *et*

✉ **Autores de correspondencia:** Esperanza Meléndez Herrera y Alma Lilia Fuentes Farías, Laboratorio de Ecofisiología Animal, Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales, UMSNH. E-mails: oazul74@yahoo.com.mx y almafuentes70@hotmail.com

al., 2009; Sönmez *et al.*, 2011). Adicionalmente, la exposición prolongada a la intemperie provoca la desecación del *mucus* transparente que recubre los huevos, el cual tiene propiedades anti-patógenas (Phillot y Parmenter, 2012). Aunado, la arquitectura del nido artificial de los viveros dista mucho de la del nido natural, resultando en un incremento de la compactación de la arena que a su vez reduce la disponibilidad de oxígeno para los organismos en desarrollo (Baldwin *et al.*, 1989; Chacón *et al.*, 2007).

Existe una gran cantidad de trabajos que documentan efectos negativos de la incubación en nidos artificiales sobre el éxito de eclosión (Eckert y Eckert, 1990; Marcovaldi y Laurent 1996; Rees *et al.*, 2002; Özdemir y Türkozan, 2006; McElroy, 2009), la salud (Booth *et al.*, 2004), la proporción de sexos (Mrosovsky e Yntema, 1980; Morreale *et al.*, 1982; Mrosovsky, 2008, Pintus *et al.*, 2009), el fenotipo de las crías (Reece *et al.*, 2002), el tiempo de incubación y la pérdida del grado de sincronización en la emergencia (Koch *et al.*, 2006). En conjunto, estos trabajos han cuestionado el éxito de los actuales programas de conservación de tortugas marinas.

Estudios en diversas especies animales, han mostrado que la exposición crónica al estrés prenatal afecta el éxito del nacimiento, así como la anatomía y ensamble de los circuitos neuronales en diversas regiones cerebrales (Mandyam *et al.*, 2008; Mitra *et al.*, 2005; Denver, 2009; Morales-Medina *et al.*, 2009; Boyle, 2013), lo que conduce a trastornos conductuales (Kim y Yoon, 1998; Stewart *et al.*, 2005) y a alteraciones del eje hipotálamico-hipofisiario-gonadal (HHG). Por lo tanto no es de sorprender que la exposición a estresores físicos y/o psicológicos perturbe las capacidades sexuales y/o reproductivas (Denardo y Lighr, 1993; Chrousos *et al.*, 1998; Osadchuk *et al.*, 2000; Mulder *et al.*, 2002; Greenberg, 2002; Kapoor y Matthews, 2008), además de predisponer a una serie de patologías metabólicas (Greenberg y Wingfield, 1987).

Durante la exposición a estrés el sistema nervioso simpático y el eje hipotálamico-hipofisiario-adrenal (HHA) son activados, y varias hormonas son liberadas en grandes cantidades, incluyendo la hormona liberadora de corticotropina (CRH), adrenocorticotropina, glucocorticoides (corticosterona y cortisol) y catecolaminas (Donaldson, 1981; Pottinger y Carrick, 1999; Schreck *et al.*, 2001; Bhatnagar *et al.*, 2005). Los glucocorticoides proveen una retroalimentación negativa al eje, limitando así su activación. Adicionalmente, existen algunas estructuras cerebrales como el hipocampo y la amígdala capaces de modificar la activación del eje HHA. El hipocampo es una estructura cerebral relacionada con la memoria y el aprendizaje, pero además es clave en la acción retroinhibitoria de la actividad hipotalámica. Por su parte, la amígdala está implicada críticamente en la modulación del comportamiento, las emociones y su actividad favorece la liberación de CRH desde el hipotálamo (Beaulieu *et al.*, 1989; Tannahill *et al.*, 1991).

De todo lo anterior, se podría deducir que el programa de expoliación, traslado e incubación controlada de huevos de tortuga marina genera una exposición crónica al estrés durante el período prenatal en los embriones/fetos, influenciando de manera negativa a corto y/o largo plazo, la historia de vida como individuo o especie de las tortugas marinas. Así la presente

propuesta pretende monitorear parámetros neuroendocrinos relacionados con la exposición crónica al estrés impuesta por la incubación artificial, en crías de la especie de tortuga marina *L. olivacea*. Se propone medir los niveles de corticosterona en suero y estudiar la citoarquitectura de algunas regiones cerebrales como la corteza dorsomedial (estructura análoga al hipocampo de mamíferos), hipotálamo y amígdala, así como medir la masa de las glándulas hipófisis, adrenales y las gónadas. Lo anterior, con el fin de proporcionar información sobre el posible riesgo de supervivencia, el adecuado crecimiento y desarrollo de los organismos, así como aportar bases, de ser el caso, para el replanteamiento de las estrategias de protección para *L. olivacea* y otras especies de tortugas marinas.

Metodología

Grupos experimentales

Se trabajó con dos grupos experimentales de crías recién nacidas: 1) Crías de nidos naturales (NN, n=6); 2) Crías de nidos artificiales (NA, n=6). Se realizaron tres réplicas (nidos) por grupo experimental, de tal manera que se trabajó con un total de 18 animales por grupo.

Obtención de los organismos

Las crías de *L. olivacea* se obtuvieron a partir de tres nidos naturales y de tres nidos artificiales en las playas de Lázaro Cárdenas, Michoacán (Permiso SEMARNAT: CF05459-14-07-13). Se seleccionaron aquellos nidos naturales cuya ovoposición ocurrió entre los días 8 de Septiembre, 22 y 24 de Octubre de 2013. Una vez concluida la puesta de huevos, los nidos fueron resguardados con malla ciclónica durante los cuarenta y cinco días que dura el periodo de incubación. Se seleccionaron aquellos nidos artificiales cuya eclosión ocurrió un día antes del nacimiento programado de las crías de nidos naturales.

Obtención y procesamiento de sangre y órganos

Las crías fueron colectadas al momento de la eclosión, medidas, pesadas y sacrificadas por decapitación. Se colectaron 3 ml de sangre, los cuales fueron incubados durante 30 minutos a temperatura ambiente y posteriormente centrifugados para obtener el suero y cuantificar los niveles de corticosterona de acuerdo al método de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA; 55-CORMS-E01, Alpco). Inmediatamente después de obtener la sangre, los cerebros de cada tortuga fueron disecados y fijados en la solución de impregnación del kit Golgi-Cox (PK401; FD Neurotechnologies, Inc). Después de la fijación, los cerebros fueron seccionados coronalmente en criostato (Hydrax C25 Zeiss) y procesados para la impregnación Golgi-Cox (para estudiar la citoarquitectura neuronal). Las neuronas impregnadas fueron reproducidas en cámara lúcida adaptada a un microscopio óptico. Después de obtener el cerebro, el resto del organismo fue preservado en paraformaldehído al 4% y posteriormente fueron disecadas y pesadas sus hipófisis, adrenales y gónadas. Los índices corporales fueron obtenidos a partir de los cocientes resultantes entre la masa del órgano y la masa corporal, multiplicados por 1000 (Chen *et al.*, 2013).

Análisis de Datos

Los datos morfométricos obtenidos y de los ensayos por ELISA fueron analizados mediante la prueba de Shapiro-Wilk para verificar su normalidad y la homogeneidad de varianzas. Mediante una prueba T Student, con un nivel de significancia α de 0.05 se estimaron las diferencias entre los grupos a comparar. El programa utilizado fue SigmaPlot ver.10.

Resultados preliminares

Análisis morfométricos.

Masa y longitud corporal

Los resultados obtenidos muestran que las tortugas eclosionadas en NN presentaron mayor masa corporal que aquéllas eclosionadas de NA ($t=0.0164, *p\leq 0.05$) (Fig. 1A). La longitud corporal (tomada de cabeza a cola) fue mayor en los organismos nacidos de los NN, aunque no se presentaron diferencias significativas. De modo semejante, no se observaron diferencias significativas en la longitud y ancho del plastrón ni del caparazón (datos no mostrados).

Índices corporales

Los análisis revelaron que los organismos eclosionados en NA presentan un mayor índice hipofisariosomático que los organismos eclosionados en NN, siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($t=0.0034, *p\leq 0.05$) (Fig 1B). El índice adrenalsomático presentó la misma tendencia anterior aunque las diferencias no fueron significativas (datos no mostrados). Por el contrario, el índice gonadalsomático mostró la tendencia opuesta: se observó una drástica disminución en los organismos nacidos de NA en comparación con los de NN ($t=0.0078, *p\leq 0.05$) (Fig. 1C). No se presentaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al índice cerebrosomático (datos no mostrados) entre las dos condiciones experimentales.

Niveles séricos de Corticosterona

Se aprecia un aumento estadísticamente significativo en los niveles de corticosterona en los organismos nacidos de NA respecto de los que nacieron de NN ($t=0.0216, *p\leq 0.05$) (Fig 1D).

Citoarquitectura neuronal

De manera cualitativa, hemos encontrado que la incubación artificial se asocia

con árboles dendríticos hipotróficos en las neuronas del hipotálamo y corteza dorsomedial, como se puede observar en la Fig. 2. En el caso de la amígdala se logra apreciar el acortamiento de sus dendritas, pero no del número de ellas (Fig. 2), aun cuando una cuantificación formal deberá ser llevada a cabo para corroborar nuestras observaciones.

Discusión

En la actualidad las poblaciones de las diferentes especies de tortugas marinas se encuentran reducidas. En los últimos años, el hombre ha diezariado drásticamente la capacidad de estas especies para mantener su viabilidad, por lo que la mayoría de sus poblaciones se encuentran en declinación, frecuentemente a niveles críticos (Abreu-Groboi y Plotkin, 2008). México no está excluido de esta problemática, por lo que el gobierno ha establecido diversas acciones encaminadas a la protección, conservación e investigación de tortugas marinas para contrarrestar el deterioro de sus poblaciones. Una de las principales acciones es la creación de viveros a donde son reubicados e incubados la mayor cantidad de huevos recién ovopositados (Eckert 1999; Dutton 2005). Numerosos trabajos previos describen efectos negativos de dicha práctica sobre el éxito de eclosión, la salud, la proporción de los sexos y el aumento de malformaciones de los organismos que de ellos emergen (Glen *et al.* 2005; Adams *et al.* 2007). Sin embargo, hasta el momento no existen trabajos que expliquen la causa de dichos efectos. En este contexto, el presente trabajo pretende demostrar por vez primera que la incubación de crías de tortuga marina en NA genera una respuesta de activación del eje HHA muy semejante a la reportada en mamíferos ante estresores crónicos.

Los resultados obtenidos hasta el momento muestran que la incubación en NA produce crías con: 1) árboles dendríticos y somas hipotróficas en regiones como la corteza dorsomedial; 2) mayor índices hipofisariosomático y adrenalsomático; 3) menor índice gonadalsomático; 4) menor masa corporal; 5) mayores niveles séricos de corticosterona.

El incremento en los índices hipofisariosomático y adrenalsomático, así como la disminución del gonadalsomático

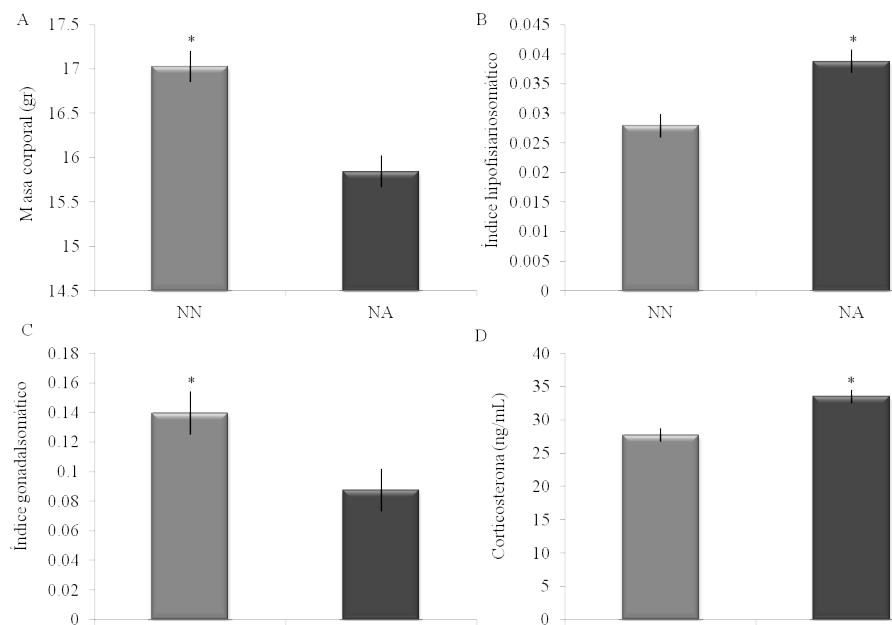


Figura 1. La incubación artificial en viveros modifica el desarrollo de la tortuga *L. olivacea* causada por la exposición crónica al estrés durante su desarrollo embrionario/fetal. Las gráficas muestran: **A)** masa corporal, $n = 18$ y 18 respectivamente, $t = 0.0164, *p\leq 0.05$; **B)** índice hipofisariosomático, $n = 18$ y 18 respectivamente, $t = 0.0034, *p\leq 0.05$; **C)** índice gonadalsomático, $n = 20$ y 28 respectivamente, $t = 0.0078, *p\leq 0.05$; **D)** concentración sérica de corticosterona, $n = 11$ y 11 respectivamente, $t = 0.0216, *p\leq 0.05$. Los resultados se muestran como promedios \pm error estándar de las muestras (ES) entre las crías nacidas de nidos naturales (NN) y de nidos artificiales (NA).

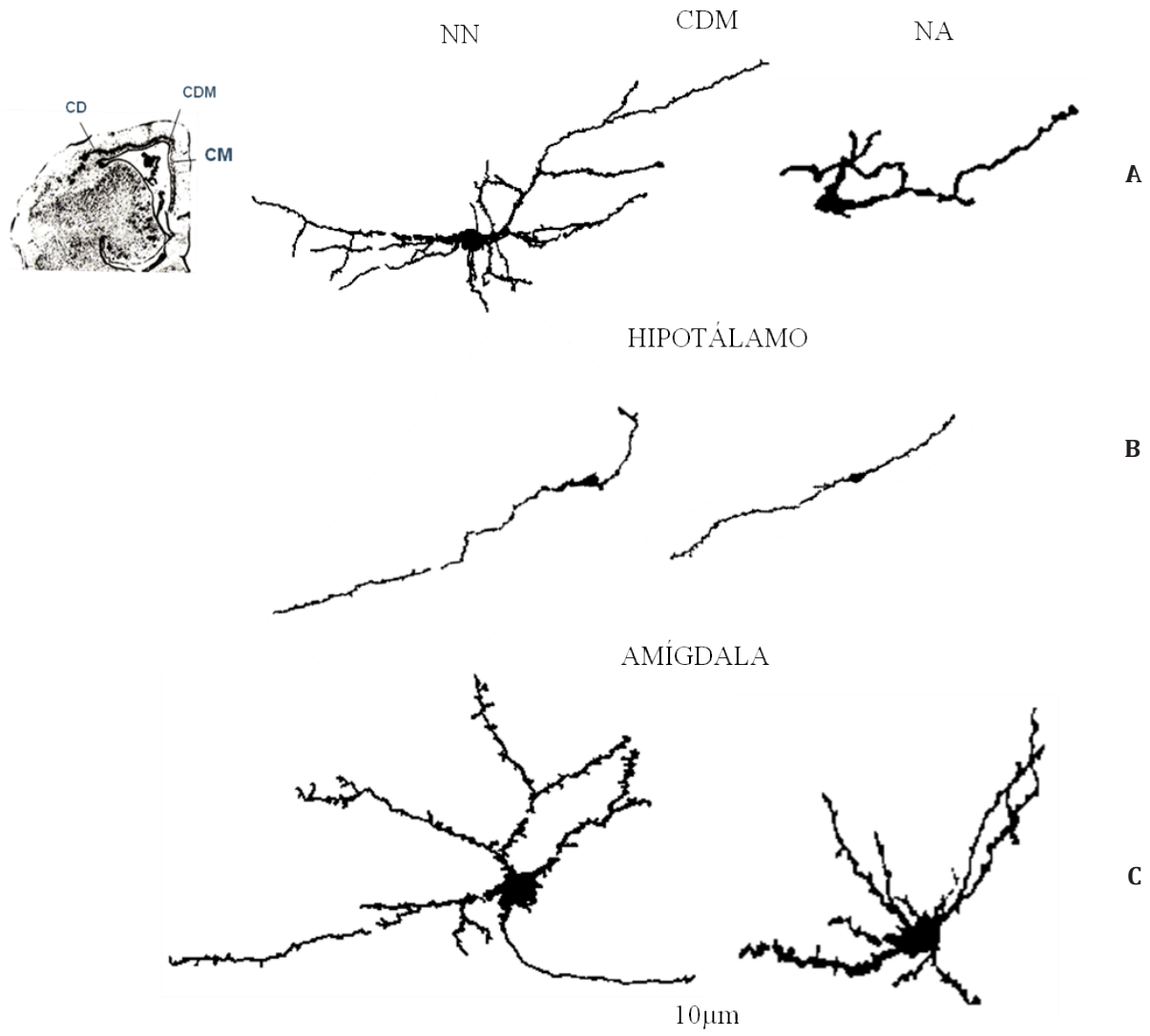


Figura 2. La incubación en nidos artificiales modifica la citoarquitectura neuronal en regiones cerebrales involucradas en la modulación del eje HHA causada por la exposición crónica al estrés durante su desarrollo embrionario/fetal. **A)** Reproducciones representativas de neuronas de la corteza dorsomedial (área homóloga al hipocampo de mamíferos), **B)** del Hipotálamo y **C)** de la Amígdala de crías recién nacidas de *L. olivacea*. NN (Crías nacidas de nidos naturales), NA (Crías nacidas de nidos artificiales). CDM (corteza dorsomedial).

en las crías de NA, sugieren alteraciones en la citoarquitectura de las glándulas y gónadas (Ulrich-Lai *et al.*, 2006). En conjunto, una menor masa corporal y mayores índices hipofisariosomático y adrenalsomático en estos organismos apuntan a sobreactivación del HHA, confirmada por los mayores niveles séricos de corticosterona (33.53 ng/mL). Es interesante notar que los niveles de corticosterona que reportamos para los organismos de NN (27.72 ng/mL) (**Figura 1D**) concuerdan con aquéllos reportados en: 1) juveniles de *Lepidochelys kempii*, quienes muestran niveles de 25 ng/mL durante una hora de manejo agudo por retención (Gregory y Schmid, 2001), y 2) organismos inmaduros de *Chelonia mydas*, quienes presentan niveles de 20 ng/mL durante 3 y hasta 9 horas de retención (Jessop y Hemann, 2005). Estos datos adquieren relevancia si consideramos que la eclosión es un evento que requiere activación controlada del eje HHA que permita a los organismos salir del nido y llegar al mar, por lo que puede ser considerado como un estresor agudo. Así, los todavía más altos niveles que encontramos en *L. olivacea* eclosionadas de NA parecen

validar nuestra idea de una función exacerbada del eje HHA.

Cualitativamente, las neuronas de la corteza dorsomedial e hipotálamo se observaron hipotrofiadas, mostrando cambios en la longitud y número de sus ramificaciones dendríticas. En mamíferos, abundante literatura muestra que la exposición prolongada (crónica) al estrés es capaz de alterar significativamente la expresión genética de los factores que intervienen en el desarrollo de las neuronas de estructuras como el hipocampo y la amígdala (Wood *et al.*, 2004; Mitra *et al.*, 2005; Morales-Medina *et al.*, 2009; Vyas *et al.*, 2002; Boyle, 2013), provocando alteraciones en el número y el patrón de sinapsis recibidas por la neurona. Consecuentemente, el resultado de defectos en el crecimiento neuronal es acompañado de severos desórdenes, tales como retraso mental (McA llister, 2000) y alteraciones conductuales, cognoscitivas (Koshibu y Levitt, 2007) y en las respuestas de estrés ante situaciones de peligro. Además, alteraciones en algunos núcleos cerebrales hipotalámicos pueden retardar y/o inhibir la reproducción en estadios adultos (Denardo

y Lighr, 1993; Rodríguez *et al.*, 2007; Kapoor y Matthews, 2008; Chen *et al.*, 2013).

Tomados en conjunto, nuestros resultados sugieren que la incubación artificial podría tener un impacto negativo sobre las tortugas marinas al momento de su nacimiento que incluso podría incidir a largo plazo alterando su historia de vida como individuos o especie. Se deberán seguir realizando estudios longitudinales para corroborar los efectos a nivel poblacional y con ello conducir a un análisis y replanteamiento de las estrategias y políticas de conservación a las instancias competentes, a fin de encaminar esfuerzos de prevención sobre los efectos de la exposición crónica al estrés de los embriones/fetos de tortugas marinas.

Agradecimientos

A los biólogos Hugo Olivera Rodríguez y Edel Pineda López por su valiosa ayuda para el procesamiento de los tejidos y la reproducción de las neuronas. Este trabajo fue financiado por: UMSNH/CIC-8.37 ALFF/EMH; CONACYT 82879 GGO/ALFF; 94312 GGO; 180762 EMH; PAPITT IN203912 GGO/ALFF; PROMEP PTC336 EMH. MAHV recibe beca (CVU 257690). Este trabajo se llevo a cabo bajo el Permiso SEMARNAT: CF05459-14-07-13.

Referencias

- Abreu-Grobois A y Plotkin P (IUCN SSC Marine Turtle Specialist Group)**. 2008. *Lepidochelys olivacea*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on December 18th, 2014.
- Adam V, Tur C, Rees AF, Tomas J**. 2007. Emergence pattern of loggerhead turtle (*Caretta caretta*) hatchlings from Kyparissia Bay, Greece. *Marine Biology* 151(5): 1743–1749.
- Baldwin J, GE, M.K y Patak A**. 1989. Anaerobic metabolism during dispersal of green and loggerhead turtle hatchlings. *Comp Bio and Phys, Part A Physiol* 94: 663–665.
- Beaulieu S, PG, VH y Barden N**. 1989. Influence of the central nucleus of the amygdale on the content of corticotropin-releasing factor in the median eminence. *Neuroendocrinology* 49: 255–261.
- Bhatnagar S, LT y Vining C**. 2005. Prenatal stress differentially affects habituation of corticosterone responses to repeated stress in adult male and female rats. *Hormones and Bbehavior* 47(4): 430–438.
- Booth DT, BE, MJ, y Lanyon JM**. 2004. The influence of incubation temperature on post-hatching fitness characteristics of turtles. *Int Congr Ser* 1275: 266–233.
- Boyle LM**. 2013. A Neuroplasticity hypothesis of chronic stress in the basolateral amygdale. *The Yale Journal of Biology and Medicine* 86 (2): 117–125.
- Chacón D, SJ, CJ y Ash J**. 2007. *Manual para el manejo y la conservación de las tortugas marinas en Costa Rica; con énfasis en la operación de proyectos en playa y viveros*. Sistema Nacional de Áreas de Conservación (SINAC), Ministerio de Ambiente y Energía (MINAE). Gobierno de Costa Rica. San José. 103 pp.
- Chen Cárdenas S M; Mayer N; Romanini M C; Rolando A N; Liaudat A C; Brun N; Vivas A; Gauna H F y Rodríguez N**. 2013. Reproductive response in offspring male rats exposed to prenatal stress and to early postnatal stimulation. *Int. J. Morphol* 31(2): 754–764.
- Chrousos GP**. 1998. Stressors, stress and neuroendocrine integration of the adaptive response. In: *Csermely P (editor). Stress of life: from molecules to man. Ann. N.Y. Acad Ssci* 851: 311–335.
- Denardo y Lighr P**. 1993. Effects of corticosterone on social behavior of male lizard. *Hormones and Behavior* 27: 184–199.
- Denver JR**. 2009. Stress hormones mediate environment-genotype interactions during amphibian development. *General and Comparative Endocrinology* 164: 20–31.
- Donaldson EM**. 1981. The Pituitary-interrenal Axis as an indicator of Stress in fish. En Pickering AD (ed.), *Stress and fish*. Academic Press, London. pp. 11–47.
- Dutton DL, Dutton PH, Chaloupka M, Boulon RH**, 2005. Increase of a Caribbean leatherback turtle population linked to long-term nest protection. *Biological Conservation* 126, 186–194.
- Eckert KL y Eckert SA**. 1990. Embryo mortality and hatch success *in situ* and translocated leatherback sea turtle *Dermochelys coriacea* eggs. *Biological conservation* 53 (1): 37–46.
- Eckert KL, KAB, FAA y Donnelly M**. 1999. *Research and management techniques for the conservation of sea turtles (IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group publication no 4)*. Washington, D.C. (1725 De Sales Street, NW #600, Washington 20036): IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group.
- Glen F, Broderick AC, Godley BJ, Hays GC**. 2005. Patterns in the emergence of green (*Chelonia mydas*) and loggerhead (*Caretta caretta*) turtle hatchlings from their nests. *Marine Biology* 146: 1039–1049.
- Greenberg N y Wingfield JC**. 1987. Stress and reproduction: Reciprocal relationships. In Norris DO y Jones RE (eds), *Reproductive Endocrinology of Fishes, Amphibians and Reptiles*. Wiley, New York. P. 389–426.
- Greenberg N**. 2002. Ethological Aspects of stress in model lizard *Anolis carolinensis*. *Integ and Comp Biol* 42: 526–540.
- Gregory LF y Schmid JR**. 2001. Stress Responses and Sexing of Wild Kemp's Ridley Sea Turtles (*Lepidochelys kempii*) in the Northeastern Gulf of Mexico. *General and Comparative Endocrinology* 124(1): 66–74.
- Jessop TS y Hamann M**. 2005. Interplay between age class, sex and stress response in green turtles (*Chelonia mydas*). *Australian Journal of Zoology* 53(2): 131–136.
- Kapoor A y Matthews SG**. 2008. Prenatal stress modifies behavior and hypothalamic-pituitary-adrenal function in female guinea pig offspring: Effects of timing of prenatal stress and stage of reproductive cycle. *Endocrinology* 149 (12): 6406 – 6415.
- Kim JJ y Yoon KS**. 1998. Stress: metaplastic effects in the hippocampus. *Trends in Neurosciences* 21: 505–509.
- Koch V, NW, JP, SH, y De La Toba V**. 2006. Estimates of sea turtle mortality from poaching and by catch in Bahía Magdalena, Baja California Sur, México. *Biol Conserv* 128: 327–334
- Koshibu K, y Levitt P**. 2007. Gene x times environment effects: stress and memory dysfunctions caused by stress and gonadal factor irregularities during puberty in control and TGF- α hypomorphic mice. *Neuropsychopharmacology* 33(3): 557–565.
- Limpus CJ, BV y Miller JD**. 1979. Movement induced mortality of loggerhead eggs. *Herpetologica* 35: 335–338.
- Mandyam CD, CEF, EAJ, RCL y Richardson HN**. 2008. Stress

- experienced in utero reduces sexual dichotomies in neurogenesis, microenvironment, and cell death in the adult rat hippocampus. *Developmental Neurobiology* 68 (5): 575–589.
- Marcovaldi MA y Laurent A.** 1996. A six season study of marine turtle nesting at Praia do Forte, Bahia, Brazil, with implications for conservation and management. *Chelonian Conservation and Biology* 2 (1): 55-59.
- McAllister K.** 2000. Cellular and molecular mechanisms of dendrite growth. *Cerebral Cortex* 10: 963–973.
- McElroy Mandi.** 2009. *The effect of screening and relocation on hatching and emergence success of loggerhead sea turtle nests at Sapelo Island, Georgia.* Tesis de Maestría. B. S. F. R. University Of Georgia. Athens, Georgia. pp 40.
- Mitra R, JS, MBS, VA y Chattarji S.** 2005. Stress duration modulates the spatiotemporal patterns of spine formation in the basolateral amygdala. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102(26): 9371–9376.
- Moorreale SJ, GJ Ruiz, JR Spotila y EA Standora.** 1982. Temperature dependent sex determination: current practices, threaten conservation of sea turtles. *Science* 216: 1245-1247.
- Morales-Medina JC, Sanchez F, Flores G, Dumont Y, y Quirion R.** 2009. Morphological reorganization after repeated corticosterone administration in the hippocampus, nucleus accumbens and amygdala in the rat. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 38 (4): 266–272.
- Mrosovsky N y Yntema L.** 1980. Temperature dependence of sexual differentiation in sea turtles: Implications for conservation practices. *Conservation Biology* 18: 271–280.
- Mrosovsky N.** 2008. Against over simplifying the issues on relocating turtle eggs. *Environmental Management* 41: 465–467.
- Mulder EJ, HPG, RA, CHB, RH, VB, JKB, Visser GHA.** 2002. Prenatal maternal stress: effects on pregnancy and the unborn child. *Early Human Development* 70: 3–14.
- Osadchuk LV, BOB y Bakken M.** 2000. Influence of prenatal stress on steroidogenesis in gonads of blue foxes. *Russ j of Dev Biol* 31(3): 181-185.
- Özdemir BA y Türkozan O.** 2006. Carapacial scute variation in green turtle *Chelonia mydas* hatchlings in Northern Cyprus. *Turkish Journal of Zoology* 30 (2): 141–146.
- Parmenter CJ.** 1980. Incubation of the eggs of the green sea turtle, *Chelonia mydas*, in Torres Strait, Australia: the effect of movement on hatchability. *Aust Wild Res* 7: 487–491.
- Phillot AD y Parmenter CJ.** 2012. Anti-fungal properties of sea turtle cloacal mucus and egg albumen. *Marine Turtle Newsletter* 134: 17–21.
- Pintus KJ, BJ, GAM y Broderick NC.** 2009. Impact of clutch relocation on green turtle offspring. *The Journal of Wildlife Management* 73 (17): 1151–1157.
- Pottinger TG y Carrick TR.** 2000. Indicators of reproductive performance in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) selected for high and low responsiveness to stress. *Aquaculture Research* 31: 367–375.
- Reece SE, ACB, BJG y West SA.** 2002. The effects of incubation environment, sex and pedigree on the hatchling phenotype in a natural population of loggerhead turtles. *Evolutionary Ecology Research* 4: 737–748.
- Rees AF, ET y Margaritoulis D.** 2002. Conservation activities for the protection of the loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*) in Kyparissia Bay during 2001. *Testudo* 5: 45–54.
- Rodríguez N, Mayer N y Gauna FH.** 2007. Effects of prenatal stress on male offspring sexual maturity. *Biocell* 31(1): 67-74
- Schreck CB, WCS y Fitzpatrick MS.** 2001. Effects of stress on fish reproduction gamete quality and progeny. *Aquaculture* 197: 3–24.
- Sönmez Bekta, Cemal Turan, Sükran Yalçın Özdilek.** 2011. The effect of relocation on the morphology of Green Turtle, *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758), hatchlings on Samanda beach, Turkey (*Reptilia: Cheloniidae*) *Zoology* 52: 29–38.
- Stewart MG, DHA, SCK, IVR, VV B, CJ y Popov VI.** 2005. Stress suppresses and learning induces plasticity in CA3 of rat hippocampus: A three-dimensional ultrastructural study of thorny excrescences and their postsynaptic densities. *Neuroscience* 131(1): 43–54.
- Tannahill LA, SWJ, RI, CAF y Fink G.** 1991. Corticotrophin-releasing factor-41, vasopressin and oxytocin release into hypophysial portal blood in the rat: Effects of electrical stimulation of the hypothalamus, amygdala and hippocampus. *J. Endocrinol* 129: 99–107.
- Ulrich-Lai YM, Helmer F Figueiredo, Michelle M Ostrander, Dennis C Choi, William C Engeland, y James P Herman.** 2006. Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 291: 965–973.
- Vyas AL, Mitra R, Shankaranarayana Rao BS, Chattarji S.** 2002. Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons. *J Neurosci* 22(15):6810–6818.
- Wood GE, Young LT, Reagan LP, Chen B y McEwen BS.** 2004. Stress-induced structural remodeling in hippocampus: prevention by lithium treatment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(11): 3973–3978.