



UADY
UADY

CAMPUS DE
CIENCIAS
BIOLÓGICAS Y
AGROPECUARIAS
"Luz, Ciencia y Verdad"

FACULTAD DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA
UNIDAD DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN

DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

“Establecimiento de valores hematológicos y bioquímicos de las tortugas carey (*Eretmochelys imbricata*) y blanca (*Chelonia mydas*), con y sin parásitos o fibropapiloma, que anidan en Yucatán”

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

Por:

M. EN C. MARÍA MÓNICA LARA UC

Asesores:

Dr. Edwin José Gutiérrez Ruíz

Dr. J. Leopoldo Aguilar Faisal

Mérida, Yucatán, México, Febrero de 2011

DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

ALUMNA: M. en C. MARÍA MÓNICA LARA UC

SINODO DEL EXAMEN DE TESIS DE GRADO

Dr. Antonio Ortega Pacheco _____

Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias
UADY

Dr. Alfonso Aguilar Perera _____

Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias
UADY

Dr. Juan Felipe Torres Acosta _____

Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias
UADY

Dr. Sergio Guillén Hernández _____

Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias
UADY

Dr. Carlos González Salas _____

Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias
UADY

Mérida, Yucatán, Febrero, 2011

KM 15.5 carretera Mérida - Xmatkuil Apdo. Postal 4-116 Itzimmá Mérida, Yucatán.
Tel. (999) 9 42-32-00 Fax 9 42 -32-05

DECLARACIÓN

Este trabajo no ha sido aceptado para el otorgamiento de título o grado alguno. La tesis es resultado de las investigaciones del autor excepto donde se indican las fuentes de información consultadas. El autor otorga su consentimiento a la FMVZ-UADY para la reproducción del documento con el fin de intercambio bibliotecario.

Canek dijo:

Los hombres blancos no saben de la tierra ni del mar ni del viento de estos lugares. ¿Qué saben ellos si noviembre es bueno para quebrar los maizales? ¿Qué saben si los peces ovan en octubre y las tortugas en marzo? ¿Qué saben si en febrero hay que librar a los hijos y a las cosas buenas de los vientos del sur? Ellos, sin embargo, gozan de todo lo que producen la tierra, el mar y el viento de estos lugares. Ahora nos toca entender, cómo y en qué tiempo debemos librarnos de este mal.

Emilio Abreu Gómez

En: Canek. Historia y leyenda de un héroe maya.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por permitirme la vida y la salud.

A Lucilita Uc Uitz, Mamá, Gracias, por quien soy, perdón por tomar todo este tiempo, para ver que estoy, donde estoy, debido a ti, por todo el amor que me has demostrado, por que se que creíste en todos mis sueños y todo te lo debo a ti. Espero que esto te haga sonreír, que estes feliz. Gracias. Te amo.

A la memoria de mi papá Julio César Lara Jaure y Evelin Guagalupe, algún día pediré un deseo estando sobre una estrella, despertaré donde las nubes están lejos detrás de mí. Donde los problemas se derriten como gotas de limón, muy por encima de lo alto de las chimeneas, ahí es donde los encontraré de nuevo, en alguna parte sobre el arcoíris, saludándome y preguntándome ¿Cómo te va? Y en verdad me dirán te esperábamos. Pero será hasta que llegue mi momento, los veré en alguna parte sobre el arcoíris.

A mis hermanos: Magui, Juan José (Wily), Eli, Tere y Ana, por estar allí siempre, apoyándome en los momentos difíciles Los quiero mucho.

A mis sobrinos: Toño, Adrian, Adan, Alí, Luis Fernando, Cesar, Zoe, Layla, Ángel y Dana por que cumplan sueños y yo pueda estar apoyándolos.

A mis cuñados: Luis Antonio, Ángel, Israel y Ángel. Gracias

A mis otras mamas: Martha, Bety, Manuela y Socorro, por todas sus oraciones y por apoyarme en cada elección de he hecho y estar conmigo a los largo de mi camino. Gracias, Las quiero mucho. A mi tío Fido por todo su apoyo.

Paula, Martha E., Gaby, Caro, Isa, China, Soco, Moni, Dani, Luis Claudia, Fido, Regina, Mauricio Daniel F., Lore, Paty, Mayte, Aneris, Daniel E. por su apoyo.

A todos mis primos por sus consejos y apoyo. Como son muchos no los menciono para que no se ofendan si omito a alguno.

A mis amigos Vero, Caro, Rocío, Ernesto, Lourdes, Gaby, Rocío, Luz, Karol, Gabriel, Ana, César A., Iván, Mario, Salvador, Jesús E., Sergio, Loli, Armando, David Berron, Flor, Nahomy, Liz, Gustavo, Héctor, Charles, David, Rosy, Rosa María, Krisna, por cada momento compartido con ustedes en diferentes años de mi vida.

A todas las personas que se han cruzado en mi camino y me han enseñado lo bueno y lo malo de la vida.

A las personas que compartieron conmigo y apoyaron en las diversas etapas de este trabajo. A cada uno de los tortugeros que conocí en Baja California, Baja California Sur, Campeche: Vicente, Pedro, Janet, Judith, Paty. Mérida: Polo, Jimena, Jorge, Carmito, Leo, Sabu, Omar, Santiago, Carlos, Salvador, Blanca Jacqueline, Gustavo, Patana, Alonso, Ramón, Iván, Manuel, Quintana Roo. Armando, Iñaky, Alejandro.

Eduardo Cuevas por todo el apoyo que siempre he recibido en innumerables ocasiones.

Eduardo Sierra. Gracias por tu amistad y consejos siempre tan oportunos en el momento adecuado.

Jorge Carlos Rodríguez, por todo su apoyo y consejos

César López por su amistad y apoyo en los momentos más difíciles de este camino.

David Bergman por su amistad incondicional, consejos, confianza y coincidir.

Edwin Gutiérrez Ruiz por abrir una puerta que estaba cerrada.

Francisco Aranda por sus consejos.

Rafael Riosmena Rodríguez por aparecer en el momento justo, gracias por toda la ayuda, amistad y confianza.

Leopoldo Aguilar Faisal, por no perder la confianza y fe en mí y por tus innumerables consejos y sobre todo tu valiosa amistad. Gracias por todo.

Al comité de evaluación por sus consejos y apoyo durante estos años. Dr. Alfonso Aguilar Perera, Dr. Felipe Torres Acosta, Dr. Antonio Ortega Pacheco, Dr. Carlos González Salas y Dr. Sergio Guillén Hernández.

Elsy Zapata por todo el apoyo durante este tiempo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada para la realización de este trabajo.

A las tortugas marinas por su paciencia.

Establecimiento de valores hematológicos y bioquímicos de las tortugas carey (*Eretmochelys imbricata*) y blanca (*Chelonia mydas*), con y sin parásitos o fibropapiloma, que anidan en Yucatán.

Resumen

En el presente estudio se determinaron de los valores hematológicos y bioquímicos, así como la frecuencia, abundancia y localización de ectoparásitos y fibropapiloma en las tortugas carey (*Eretmochelys imbricata*) y blanca (*Chelonia mydas*), que anidan en la costa oriente de Yucatán.

La investigación se realizó en dos playas de mayor anidación para ambas especies con un monitoreo por dos años consecutivos. Los valores hematológicos y bioquímicos se determinaron con técnicas espectrofotométricas comerciales (Kits). Las determinaciones de los electrolitos se hicieron por espectrofotometría de absorción y emisión atómica. Los ectoparásitos se estudiaron con técnicas taxonómicas, y las muestras de fibropapiloma se procesaron por histopatología y se analizaron por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR); esto último para la búsqueda de ácidos nucleicos del herpes virus como agente causal de los fibropapilomas.

Se establecieron los valores hematológicos y bioquímicos, que fueron significativamente diferentes a los reportados para juveniles en estas especies. Algunos valores, (hematocrito, hemoglobina, Proteínas totales, albúmina, calcio, ácido úrico, creatinina) se correlacionaron positivamente con la parasitosis. Durante el monitoreo, se observó que *E. imbricata* es más susceptible a la parasitosis que *C. mydas*. Esto puede indicar que algunas características anatomo-fisiológicas de *E. imbricata*, o de su hábitat específico, influyen sobre su diversidad y composición. Tanto *C. mydas* como *E. imbricata* presentaron fibropapiloma, siendo para esta última el primer reporte conocido, por lo menos a nivel regional.

Palabras clave: *Eretmochelys imbricata*, *Chelonia mydas*, valores hematológicos y bioquímicos, parásitos, Fibropapiloma.

Establishment of hematological and biochemical values in hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) and green turtles (*Chelonia mydas*) with and without parasites or fibropapilloma nesting in Yucatan.

Abstract

The current study were determined the hematological and biochemical values, and the frequency, abundance and location of ectoparasites and fibropapilloma in hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) and green turtles (*Chelonia mydas*) in the state of Yucatan.

The research was conducted in two largest nesting beaches of Yucatan, monitoring both species during two consecutive years. Hematological and biochemical values were determined using commercial spectrophotometric kits. Electrolyte determinations were made by atomic absorption and emission spectrophotometry. The parasites were studied by taxonomic techniques, and samples of tumors were processed for histopathology and with the Polymerase Chain Reaction (PCR); latter searching for herpes virus nucleic acid as the causative agent of fibropapillomas.

The values for hematological and biochemical were established, were significantly different from those reported for these species in young specimens. Some values (hematocrit, hemoglobin, total protein, albumin, calcium, uric acid, creatinine) correlated positively with parasitosis.

During the monitoring it was observed that *E. imbricata* is more susceptible to parasites than *C. mydas*. Both *C. mydas* and *E. imbricata* showed fibropapillomas, for the latter it is the first known report in the region.

Keywords: *Eretmochelys imbricata*, *Chelonia mydas*, parasites, hematological and biochemical values, fibropapilloma.

ÍNDICE

	Página
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
Índice General	vii
CAPÍTULO I	
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	2
2.1. Control de la salud y la conservación de las tortugas marinas y sus ecosistema	4
2.2. Clasificación taxonómica	6
2.3. Distribución geográfica	6
2.4. Salud y enfermedad en tortugas marinas	7
2.5. Enfermedad	10
2.5.1. Enfermedades nutricionales y metabólicas.	11
2.5.2. Aspectos en patología clínica	12
2.5.3. Parásitos	14
2.5.4 Enfermedades virales	17
3. HIPÓTESIS	21
4. OBJETIVO GENERAL	22
4.1 Objetivo específicos	22
5. REFERENCIAS	23
6. CAPÍTULO II	29
Hematological trends of adults Hawksbill turtles (<i>Eretmochelys imbricata</i>) and green turtle (<i>Chelonia mydas</i>) nesting in the Yucatan Peninsula.	
7. CAPÍTULO III	40
Determinación de los valores clínicos bioquímicos en sangre de las tortugas carey (<i>Eretmochelys imbricata</i>) y blanca (<i>Chelonia mydas</i>) que anidan en Yucatán	

8. CAPÍTULO IV	53
Frecuencia y abundancia de ectoparásitos en tortuga carey (<i>Eretmochelys imbricata</i>) y tortuga blanca (<i>Chelonia mydas</i>) que anidan en Yucatán.	
9. CAPÍTULO V	66
Frecuencia y número de fibropapilomas en tortugas <i>E. imbricata</i> y <i>Chelonia mydas</i> en dos playas de Yucatán	
10. CAPÍTULO VI	82
10.1 DISCUSIÓN GENERAL	82
11. CONCLUSIONES	86
12. REFERENCIAS	86

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Zonas de reserva natural y campamentos tortugueros de las reservas ecológicas de México. (SEMARNAT, 2002) 2

Figura 2. Clasificación taxonómica de las tortugas marinas. Las tortugas marinas del mundo están incluidas en las familias Cheloniidae y Dermochelyidae (Márquez, 2002). 6

Figura 3. *Chelonibia testudinaria*. Tomado de Zardus y Hadfield (2004). 17

Figura 4. *Chelonia mydas* con presencia de tumores alrededor del cuello, ojos y extremidades del animal. Ejemplar encontrado en la playa Este del Cuyo, Yucatán, México. 18

CAPÍTULO III.

Figura 1. Ubicación geográfica de las playas índice en la Reserva de la Biosfera Ría Lagartos: Las comisaría de Las Coloradas y El Cuyo en el municipio de Tizimin, Yucatán, México. 44

CAPÍTULO IV.

Figura 1. Crustácea: Cirripedia: *Platylepas hexastylus* localizados en el cuello de *E. imbricata* que anidan en la playa Este del Cuyo, Yucatán, México. 59

Figura 2. Crustácea: Cirripedia: *Chelonibia testudinaria*, localizados en el caparazón de *E. imbricata* en la playa Este del Cuyo, Yucatán, México. Las heridas que se observan fueron provocadas al retirar los balanos. 60

Figura 3. Crustácea: Cirripedia: *Chelonibia caretta* localizados en el caparazón de *C. mydas* en la playa Oeste de las coloradas, Yucatán, México. 60

Figura 4. Anélido: Hirudínea: *Ozobranchus margo* localizado en la mucosa de la cloaca de *E. imbricata* en la playa Este del cuyo Yucatán, México. 61

Figura 5. Crustáceo: *Idotea sp* localizado en el cuello de *E. imbricata* en la playa Este del Cuyo Yucatán, México. 61

CAPÍTULO V.

Figura 1. Ejemplar de *C. mydas* que arribo a la playa Este del Cuyo, Yucatán, México. En A) se observan diferentes tumores cutáneos en las aletas inguinales derecha e izquierda. En B) se observa un tumor localizado en la aleta inguinal izquierda 73

Figura 2. A). Región fibrosa del tumor de la aleta izquierda de *C. mydas* encontrada en la playa Este del Cuyo, Yucatán, México. B) Corte histológico donde se observa la formación de perlas corneas. 73

Figura 3. Corte histológico de fibropapiloma de *C. mydas* donde se observan células polimorfonucleadas o multinucleadas. 74

Figura 4. Productos de amplificación por PCR de fibropapiloma en un ejemplar de *C. mydas*. Carril 13. Marcador de peso molecular, carriles 1-12 muestras de tumores localizados en diferentes áreas del cuerpo de la tortuga. 74

Figura 5. *C. mydas*, que arribo a la playa Oeste de Las Coloradas, Yucatán, México. Se observan tumores cutáneos en las aletas axilares derechas. 75

Figura 6. Fibropapilomas en un ejemplar de *C. mydas* adulto. A).Tumor necrótico y en B) se observan células con núcleos picnóticos. 75

Figura 7. Productos de amplificación por PCR de fibropapiloma en un ejemplar adulto de *C. mydas*. Carril 13. Marcador de peso molecular. Carriles 2-14, muestras de los tumores localizados en diferentes áreas del cuerpo de la tortuga. 76

Figura 8. Ejemplar de *E. imbricata* que anido en la playa Oeste de Las Coloradas, Yucatán, México. Se observa la presencia de una masa tumoral debajo del cuello. 77

Figura 9. Productos de amplificación por PCR de fibropapiloma en la muestra biopsia del tumor de *E. imbricata* que arribo a la playa Oeste de Las Coloradas, Yucatán, México que muestra un producto esperado correspondiente a herpesvirus de *C. mydas* Carril 8: Marcador de Peso molecular, carril 2 testigo de reacción; carriles 3-7, muestras del tumor localizado abajo del cuello. 77

ÍNDICE DE CUADROS

CAPÍTULO I

Cuadro 1. Patologías reportadas en poblaciones de tortugas marinas. 8

Cuadro 2. Hallazgos histopatológicos reportados en tortugas marinas con fibropapilomas. 19

CAPÍTULO II

Table 1. Hematological values from the red series for the sick *E. imbricata*, population of El Cuyo, Yucatán, México (n = 25; variables as in table 1). 38

Table 2. Hematological values from the white series with and without parasites and fibropapilloma in *C. mydas*, population of The Cuyo and The Coloradas, Yucatán, México. 38

Table 3. Comparative analysis of the data for green turtle in relation to other studies 39

CAPÍTULO III

Cuadro 1. Valores clínicos bioquímicos en el plasma sanguíneo de *E. imbricata* con o sin parásitos que anidan en Yucatán 46

Cuadro 2. Valores clínicos bioquímicos en el plasma sanguíneo de *C. mydas* con o sin parásitos que anidan en Yucatán. 47

Cuadro 3. Análisis de varianza (ANOVA de un factor) para *E. imbricata* y *C. mydas* con y sin parásitos, que anidan en Yucatán 48

CAPÍTULO IV.

Cuadro1. Tabla de contingencia para *E. imbricata* y *C. mydas* que anidan en Yucatán. 58

Cuadro 2. Especies de ectoparásitos localizadas en las diferentes regiones corporales de *E. imbricata* y *C. mydas* que anidan en Yucatán 59

CAPÍTULO V

Cuadro 1. Valores hematológicos y bioquímicos sanguíneos para un ejemplar de *C. mydas* adulto que arribo a la playa Este del Cuyo, Yucatán, México 72

Cuadro 2. Valores hematológicos y bioquímicos sanguíneos para un ejemplar de *E. imbricata* adulto que arribo a la playa Oeste de las Coloradas, Yucatán, México. 77

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

Las tortugas marinas representan a los organismos más primitivos e iniciaron su evolución en el periodo Triásico, a principios del Mesozoico, hace por lo menos 200 millones de años. Fueron muy abundantes en el pasado pero en el último siglo sus poblaciones se han visto reducidas drásticamente (Márquez, 2002).

Entre los principales factores que afectan negativamente las poblaciones están los depredadores naturales, los abusos y la sobreexplotación del hombre, los cambios en sus hábitats, las enfermedades infecciosas y parasitosis. A pesar de su importancia como especie ancestral en peligro de extinción, la cual se debe proteger, y al papel que desempeña dentro del equilibrio del inmenso sistema marino, en México no se cuenta con estudios científicos para determinar parámetros que nos permitan valorar la salud de las tortugas marinas y las alteraciones en la salud que pueden ocurrir debido a los cambios en sus hábitat; algunos parámetros que podrían ser de utilidad para la conservación de estas especies son los hematológicos, bioquímicos, frecuencia de parasitosis y fibropapilomatosis; ya que éstos se podrían correlacionar por ejemplo con infecciones, tamaño y peso de las tortugas adultas, con número de huevos que depositan y el éxito de eclosión; la correlación de estos parámetros podría ser indicador no sólo de la salud actual sino del éxito de los programas de conservación de ambas especies en los años venideros (Aguirre y Balazs, 2000; Guzmán-Hernández, 2005).

Es importante en la salud de las tortugas marinas determinar la causa real por la que se desarrollan diversas enfermedades y de explicar los mecanismos de transmisión de las mismas (Márquez, 2002).

Además de la importancia ecológica de este estudio, México tiene una gran responsabilidad en la conservación de las tortugas marinas y sus hábitats, ya que por su ubicación en el continente americano y en el mundo, es el país que recibe y/o alberga la mayor cantidad de especies de tortugas marinas, que encuentran en sus litorales más áreas idóneas de alimentación y anidación que en otros lugares en el mundo, por lo tanto no sólo se debe continuar con prácticas de conservación de las tortugas marinas sino promover estudios científicos como este que permitan conocer mejor estas especies.

Por lo anterior, el presente estudio tuvo como objetivo general establecer los valores de los analitos sanguíneos de *E. imbricata* y *C. mydas* con y sin parásitos o fibropapiloma que anidan en dos playas de mayor anidación de Yucatán.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

México juega un papel importante en, una o varias etapas, biológicas varias

especies migratorias, como las tortugas marinas, la ballena gris, la mariposa monarca y diferentes especies de aves migratorias, entre otras (Abreu-Grobois y Briseño-Dueñas, 2000). Más de 140 playas de las diferentes costas mexicanas, son sitios para la anidación de varias especies de tortugas marinas (Figura 1). Por esta razón, México es considerado uno de los santuarios mundiales para las tortugas marinas (Márquez, 2002).

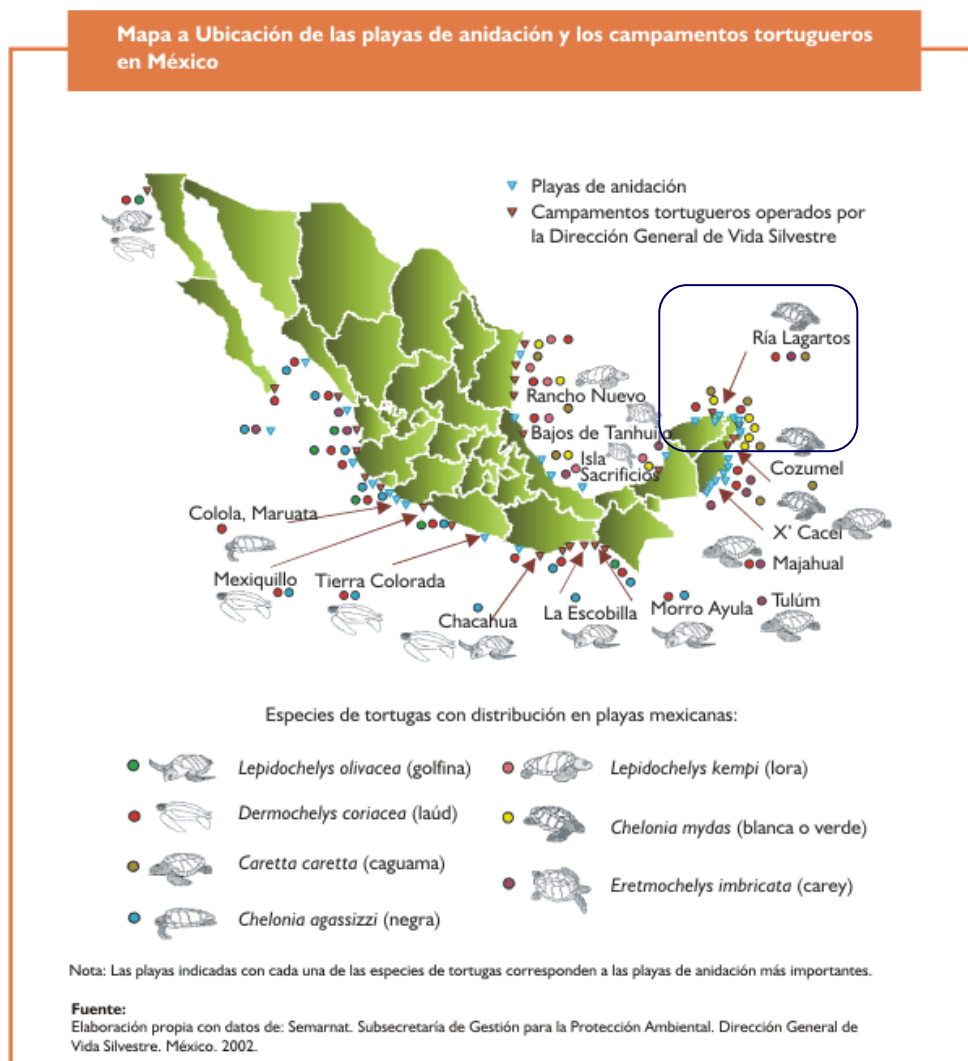


Figura 1. Zonas de reserva natural y campamentos tortugueros de las reservas ecológicas de México. (SEMARNAT, 2002).

Las tortugas marinas en México son importantes desde varios puntos de vista: el biológico, porque son seres que han permanecido a lo largo de millones de años de

evolución en el planeta; el ecológico, ya que al ser omnívoras y forman parte de complejas cadenas alimentarias tanto en playas de anidación como en el mar; el cultural, pues se encuentran estrechamente vinculadas a las comunidades costeras étnicas del país ya que han sido motivo de adoración como deidades asociadas a rituales como el de la fertilidad, gratitud y alimento, por lo que se han escrito cantos, cuentos y leyendas. Por todo lo anteriormente descrito, las tortugas marinas son y deben ser un objeto valioso para la investigación y conservación de las diferentes especies (Garduño-Andrade *et al.*, 1999; Márquez, 2002).

Con el fin de de protegerlas, a partir de 1990, se estableció una veda total por su captura en México. Aunque los antecedentes de su protección datan de 1927, cuando se prohibió la explotación de huevos de tortuga y la destrucción de nidos. A estos esfuerzos se suman diversos decretos y acuerdos relativos a su aprovechamiento, la declaración de zonas de refugio y reservas naturales, así como la emisión de Normas Oficiales Mexicanas (Chacón, 2004). La Ley General del Equilibrio Ecológico (LGEEPA), SEDUE (1988), y la NOM-ECOL-059-SEMARNAP (1994) clasificaron a todas las especies de tortugas marinas en peligro de extinción y como especies Prioritarias para la Conservación para la Secretaría de Medio Ambiente (PREP); y dentro de la Ley General de Vida Silvestre, (2000), la SEMARNAT, considera la protección de sus sitios de desarrollo como hábitat críticos (Guzmán-Hernández, 2005).

La Península de Yucatán es de gran relevancia en el Atlántico mexicano, pues es considerada como la Unidad biogeográfica de *Eretmochelys imbricata* en México; en esta región se mantiene, probablemente, la segunda población más importante de esta especie en el mundo, con una densidad de más de 30 nidos por km lineal de playa (Meylan y Donnelly, 1999). En este sentido, la península de Yucatán es la zona más importante en el Hemisferio Norte, con resultados de recuperación satisfactoria hasta el 2000, alcanzando su punto máximo en 1999 con más de 6,000 nidos (Garduño-Andrade *et al.*, 1999). Pero en el 2004, el número tuvo un dramático decremento hasta alcanzar un 30% del máximo histórico registrado en 1999 (Cuevas, 2009). En los años siguientes, hubo una recuperación de la población (80%), por lo cual, es urgente la necesidad de incrementar la investigación orientada a cumplir con los decretos de conservación de las tortugas marinas y su hábitat en la península de Yucatán (Cuevas *et al.*, 2006).

En Yucatán, arriban tres especies de tortugas marinas: *E. imbricata*, *C. mydas* y *C. caretta*. A nivel mundial, los humedales de la península de Yucatán se reconocen como las áreas con mayor frecuencia de anidación de *E. imbricata*; las principales zonas de anidación en Yucatán son: Celestún, Sisal, Dzilam de Bravo, El Palmar, Telchac Puerto, Ría Lagartos, Coloradas, El Cuyo, e Isla Holbox en Quintana Roo (Cuevas *et al.*, 2006). El Estado de Campeche por su ubicación en el cinturón tropical y la complejidad de sus ecosistemas estuarios, lagunares y marinos; es uno de los hábitat preferidos para las poblaciones de las tortugas marinas; estos hábitats son importantes para la anidación de tres especies: *E. imbricata*, *C. mydas* y *Lepidochelys Kempii*. Cabe señalar que se tiene avistamiento de *Caretta caretta* y *Dermochelys coriacea* en áreas de alimentación. Las zonas principales de anidaciones son punta Xen y Ckenkan para *E. imbricata* y para *C. mydas* la principal zona de anidación es isla aguada (Guzmán-Hernández, 2001, 2005). A lo largo del litoral de Quintana Roo se presentan anidaciones de dos especies: *C. mydas* y *C. caretta*. Cada una de las playas que conforman este litoral presenta características que las hace distintas de las otras (ej. cantidad de arena, longitud, amplitud, dinámica de dunas, vegetación, exposición a mareas, etc.). En las playas de Xcacel y Xcacelito se encuentran los sitios de mayor densidad de anidación a nivel nacional de las dos especies antes mencionadas, ambas especies clasificadas en la categoría de "en peligro de extinción". En particular, una proporción significativa de *C. caretta* que anidan en México, arriban a Xcacel (Abreu-Garduño y Briseño-Dueñas, 2000).

2.1 Control de la salud y la conservación de las tortugas marinas y sus ecosistemas.

La salud del ecosistema marino es un concepto relativamente nuevo y poco definido debido a la enorme diversidad biológica que alberga el océano y la falta de estudios taxonómicos y ecológicos que limitan la capacidad de definir un ecosistema marino sano. Existe un acuerdo general, sin embargo, que ecosistemas saludables son aquellos que son estables, o al menos no están en una situación de declive, en la abundancia y diversidad de especies, que no tengan degradación ambiental obvia, eventos frecuentes de contaminación, o las cosechas no sostenibles; que no tengan una alta frecuencia de las enfermedades emergentes o reemergentes / intoxicaciones con consecuencias negativas para la salud humana, la vida silvestre, y que no tengan frecuentes mortandades similares o eventos estocásticos, en particular las relacionadas como especies "indicadoras" o "clave" (Aguirre *et al.*, 2002).

Los ecosistemas marinos son sometidos a múltiples factores estresantes concurrentes que afectan la salud de los animales marinos. La transformación drástica acelerada de los ecosistemas costeros en la mayoría de casos no se ha cuantificado, sin embargo, la pérdida de hábitat crítico en todo el mundo es muy evidente. Como en las zonas costeras se desarrollan especies marinas que tienden a concentrarse en pequeñas zonas de alimentación, de apareamiento, anidamiento, haciéndose más susceptibles a los agentes infecciosos, las floraciones de algas, a las interacciones humanas como la práctica de la pesca, y la contaminación ambiental (Bjorndal, 2002).

El papel de las tortugas marinas dentro de la estructura de los ecosistemas ha sido poco estudiado, por lo que ahora se debería abordar, como prioridad de primer nivel, (Diez y Ottenwalder, 2000) para comprender su capacidad de afectar la estructura y función del ecosistema, con lo cual se logrará tener un conocimiento integral sobre la biología de las tortugas marinas que aporte mejores estrategias para el manejo y conservación de estas tortugas y sus ecosistemas.

Estos reptiles son componentes singulares de sistemas ecológicos complejos, cuya vitalidad se interrelaciona con otros recursos comerciales explotables (incluyendo peces, moluscos y manglares); así como otros “servicios del ecosistema” (por ejemplo la estabilización de áreas costeras). Debido a que realizan migraciones de miles de kilómetros y tardan décadas para madurar sexualmente, las tortugas sirven como importantes indicadores de la salud de los ambientes costeros y marinos tanto en escala local como global. En las sociedades industrializadas, estos reptiles también llevan a cabo funciones especiales. Por su naturaleza carismática y su misterioso ciclo de vida, son ideales como objeto de estudio en actividades educativas y de investigación (Richardson, 2000). Esto significa que las tortugas marinas son el prototipo de las especies “Sentinela” tanto para la conservación local como internacional (Aguirre y Lutz, 2004). Para conservar estos animales y sus hábitats, deben tomarse en cuenta vastas extensiones del planeta para manejarlas adecuadamente; las estrategias globales de conservación son una manera más adecuada de proteger áreas marinas y costeras, y a su vez resultaría en un instrumento de protección para el mundo complejo e interconectado del que dependen las sociedades humanas (Frazier, 2000).

2.2 Clasificación taxonómica

De acuerdo con las clasificaciones científicas modernas propuesta por Márquez (2002). Las tortugas marinas pertenecen a la clase *Reptilia*, del orden *testudines*. Se conocen ocho especies de tortugas marinas, distribuidas en las familias *Cheloniidae* y *Dermochelyidae* (Figura 2) que incluyen seis géneros, ocho especies y seis subespecies (Márquez, 2002). De estas ocho, siete pertenecen a la familia *Cheloniidae* las cuales incluyen a la tortuga caguama (*Caretta caretta*), verde o blanca (*Chelonia mydas*), Carey (*Eretmochelys imbricata*), lora (*Lepidochelys kempii*), golfinia (*Lepidochelys olivacea*) y tortuga aplanada (*Chelonia depressus*) y la séptima es la tortuga prieta del Pacífico oriental (*Chelonia agassizii*), esta última es también reconocida por algunos especialistas como parte de la especie *Chelonia mydas* y la laúd (*Dermochelys coriacea*) que pertenece a la familia *Dermochelyidae* (Karl y Bowen, 1999).

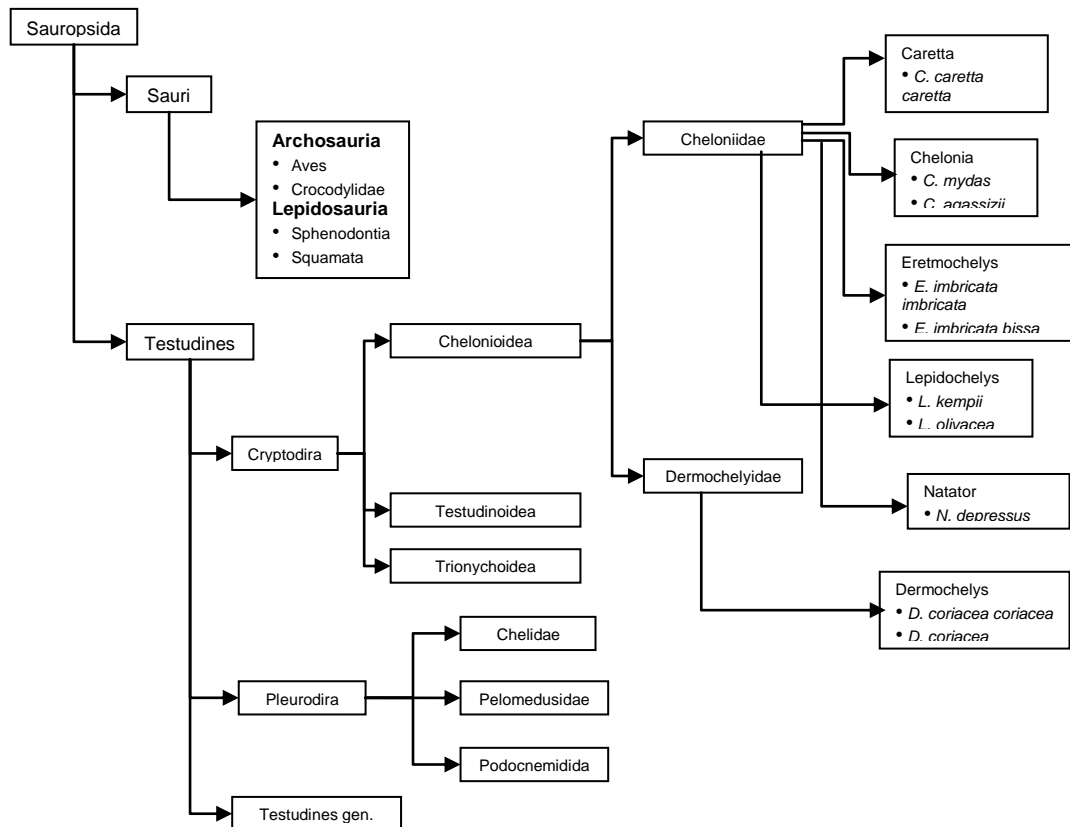


Figura 2. Clasificación taxonómica de las tortugas marinas. Las tortugas marinas del mundo están incluidas en las familias Cheloniidae y Dermochelyidae (Márquez, 2002).

2.3 Distribución geográfica

Las tortugas marinas se presentan en todos los océanos de aguas tropicales y templadas. Es común observarlas en aguas someras, a lo largo de las costas y alrededor

de las islas. Algunas especies, cuya característica de migración es muy marcada, se encuentran en mar abierto, solitarias o formando grupos o flotillas, que en algunos casos pueden ser de varios miles de individuos (Ostfeld y Keesing, 2000). Estos animales son especies de ambientes tropicales y subtropicales; su presencia es estacional y en nuestro país las zonas de mayor abundancia se circunscriben principalmente a la parte central costera del Pacífico: de Chiapas a Sinaloa, el Golfo de California y costa suroeste de Baja California y en las lagunas costeras del istmo de Tehuantepec. Por el lado oriental, frecuentan la costa central de Tamaulipas (Rancho Nuevo); las playas entre Tampico alto y Tuxpan en Veracruz son: cayo Arenas y arrecife Triángulos, entre isla Aguada a Sabancuy, Campeche, Ría Lagartos, Coloradas en Yucatán e Isla Mujeres, Isla Cozumel y de Tulum a Chetumal en las costas de Quintana Roo. Las más importantes zonas de anidación se encuentran en el Caribe; algunas playas importantes están en Isla Aguada, Ría Lagartos, Isla Cozumel, X'caret y Mazunte, en Oaxaca (Márquez, 2002).

2.4 Salud y enfermedad en tortugas marinas

Las tortugas marinas, al igual que todos los organismos, no están exentas de padecer varias enfermedades. Aquellas tortugas que logran sobrevivir casi ilesas y que llegan a la madurez, son susceptibles de padecer múltiples patologías (Cuadro 1), muchas de ellas desconocidas hasta épocas recientes (Jacobson, 2000). Algunas de estas patologías son procesos que ocurren de forma natural, tanto en tortugas de vida libre como en tortugas mantenidas en cautiverio. En otras ocasiones, como en el caso de las deficiencias nutricionales, son procesos que afectan particularmente a tortugas mantenidas en cautiverio (Herbst, 2000; Aguirre y Lutz, 2004). Como resultado de su interacción con el ambiente y con el hombre, los padecimientos pueden ir desde malnutrición o alteraciones metabólicas hasta infecciones por microorganismos originadas por traumatismos e incluso la amputación de sus extremidades en casos severos.

Cuadro 1. Patologías reportadas en poblaciones de tortugas marinas

Agente (s) causale (s)	Patología
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Multifactorial 	Anemia ferropénica
<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Aeromonas hydrophila</i> ▪ <i>Vibrio alginolyticus</i> ▪ <i>Escherichia coli</i> ▪ <i>Citrobacter sp.</i> ▪ <i>Enterobacter sp.</i> ▪ <i>Proteus sp.</i> ▪ <i>Pseudomonas sp.</i> ▪ <i>Salmonella sp.</i> ▪ <i>Mycobacterium sp.</i> ▪ <i>Edwarsiella sp.</i> ▪ <i>Flavobacterium sp.</i> 	Enfermedades asociadas a infecciones bacterianas
<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Colletotrichum acutatum</i> ▪ <i>Aspergillus sp.</i> ▪ <i>Paecilomyces sp.</i> ▪ <i>Sporotricum sp.</i> ▪ <i>Scolecobasidium sp.</i> ▪ <i>Cladosporium sp.</i> 	Enfermedades micóticas
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Herpesvirus 	Enfermedades asociadas a infecciones virales
Ectoparásitos <ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Ozobranchus branchiatus</i> Endoparásitos protozoos <ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Entamoeba invadens</i> Coccidios <ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Caryospora chelonidae</i> ▪ <i>Eimeria caretta</i> Endoparásitos helmintos Nematodos <ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Sulcascaris sulcata</i> Trematodos espirórkidos <ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Hapalotrema dorsopora</i> ▪ <i>Learedius learedi</i> ▪ <i>Carettacola hawaiiensis</i> ▪ <i>Neospororchis sp.</i> 	Enfermedades parasitarias

(Aguirre *et al.*, 2002; Orós *et al.*, 2004)

En estos animales, el estrés ambiental (originado por cambios en la temperatura del agua, contaminación y/o salinidad de la misma, nutrición, traumatismos físicos) juega un papel importante al participar en la modulación de la capacidad de la respuesta inmune humoral y/o celular. Las glándulas adrenales liberan corticoides en situaciones de estrés, y en bajas temperaturas hay una disminución en la producción de inmunoglobulinas (Aguirre *et al.*, 2002).

La pérdida de especies, la degradación de los procesos ecológicos, y la contaminación del medio ambiente son ocasionadas por varios fenómenos sinérgicos que son el resultado de las presiones humanas. Existe un aumento del empobrecimiento biológico, que incluye la pérdida de la biodiversidad, la fragmentación de los hábitats y la modificación de los procesos ecológicos; el incremento global que incluye la propagación de los desechos peligrosos y sustancias tóxicas; el cambio climático mundial y el agotamiento del ozono, y cada vez más “la huella ecológica humana” como resultado de nuestra forma exponencial de crecimiento poblacional y el uso indiscriminado de los recursos naturales (Tabor *et al.*, 2001). Las zonas costeras en todo el mundo se enfrentan a enormes desarrollos turísticos y presiones de urbanización (Aguirre *et al.*, 2002; Alfaro y Buchman, 2006). Desafortunadamente, nuestra falta de comprensión de la fisiología marina de la tortuga presenta una dificultad para establecer los criterios para medir la salud de sus poblaciones.

Dentro de los muy diversos y complementarios índices e indicadores que se usan para determinar la categoría con que cada especie debería estar presente para poder determinar el estatus de la salud de un individuo o una población, es necesario distinguir entre la fisiología normal (sano) y la fisiología perturbada (enfermo) (Lutz *et al.*, 2001; Aguirre *et al.*, 2006; Chaloupka *et al.*, 2009). Uno de los que han tomado gran auge en tiempos modernos es: estado de salud y hábitat crítico. Los cambios de origen humano en los ecosistemas naturales, el desarrollo de la agricultura, y la ganadería, el calentamiento global, el sostenido aumento de la población mundial y el estrecho contacto que existe entre los seres humanos y los animales silvestres y domésticos son las principales causas de aparición de enfermedades (Aguirre *et al.*, 2002). Como consecuencia de las crecientes demandas para agricultura, producción animal y desarrollo urbano e industrial, necesarios para satisfacer la demanda de animales y otros recursos por parte de la siempre creciente población mundial, se produce una sostenida modificación y desaparición de numerosos hábitats naturales. Esto aumenta el contacto entre la población humana, los animales domésticos y la fauna silvestres, y genera una mayor exposición a macro y microparásitos con los cuales no ha estado previamente en contacto (Ostfeld y Keesing, 2000).

Al mismo tiempo, y como consecuencia de estos cambios muchos organismos encuentran nuevos vectores, reservorios y hospedadores para multiplicarse, transmitirse y causar enfermedad en animales silvestres, lo que contribuye a una nueva y severa amenaza para muchas especies, incluso para los seres humanos, dado que muchas de

ellas son consideradas zoonosis (Aguirre *et al.*, 2002). En respuesta a esta situación, la medicina de conservación se define como “la aplicación de la medicina para la conservación de los ecosistemas y de las especies silvestres” (Deem *et al.*, 2009) o como una “disciplina emergente que une la salud humana y animal tanto silvestre como de producción, en un contexto ecológico”. Por lo tanto, la medicina de conservación apunta a la salud del ecosistema y sus distintos componentes, y no únicamente a algunos de ellos. A diferencia de los enfoques previos, en los cuales se percibía a la conservación y a la salud de las especies como temas separados, la medicina de la conservación los estudia en forma conjunta, sobre la base de que la presencia de una enfermedad de una especie puede tener consecuencias sobre otros componentes o habitantes del ecosistema (Daszak *et al.*, 2000).

2.5 Enfermedades

La enfermedad ha sido definida clásicamente como una pérdida de la homeostasis entre el medio interno (organismo) y el medio externo. Sin embargo, actualmente podemos considerar a la enfermedad como una alteración de los mecanismos de regulación interna de un organismo. La causa puede ser del propio organismo o una consecuencia de la alteración entre la interrelación del organismo con su medio ambiente. Las enfermedades infecciosas pueden generar problemas, tanto para la protección de especies en riesgo como para el mantenimiento de la diversidad biológica. Hay un número sin precedente de enfermedades emergentes y reemergentes, como por ejemplo: la brucelosis en los delfines, aspergilosis en los arrecifes de coral, y las infecciones por morbillivirus en focas, marsopas y delfines (Aguirre y Lutz, 2004; Alfaro y Buchmann, 2006).

Las tortugas marinas, como el resto de los reptiles, son ectodermos, es decir la temperatura corporal de los reptiles es más propensa a fluctuar a la de los mamíferos o aves. Esta gama de la temperatura del cuerpo de las tortugas marinas hace que sea más probable que el patógeno pueda tener las condiciones para crecer y proliferar. Por ejemplo, hongos mesófilos son incapaces de crecer a 37 °C, por lo que pueden infectar fácilmente a los reptiles, sobre todo si el animal se encuentra a temperaturas óptimas. El sistema inmunológico, junto con barreras mecánicas, protege a los reptiles de la invasión de patógenos o parásitos. Las tortugas marinas tienen un sistema inmune funcional y complejo que es comparable con la de otros vertebrados. La eficiencia del sistema inmunológico reptil está influenciada por una combinación de factores que

incluyen la salud y el estado nutricional, la temperatura ambiental, los cambios estacionales, la edad y el estrés (Mader, 2006).

La calidad del hábitat en el que viven las tortugas marinas también predispone al padecimiento de diversas patologías. La capacidad de respuesta de estos animales frente a la exposición a un agente infeccioso y/o trauma físico está modulada por el estrés ambiental. El estrés origina en estos reptiles una liberación de corticoides por parte de las glándulas adrenales, y una reducción en los mecanismos de respuesta humoral y/o celular. Las causas de estrés pueden ser ambientales (salinidad, contaminación, temperatura, nutricionales o físicas), (Aguirre *et al.*, 2006).

El efecto de la temperatura de incubación en playas de anidación es importante para la protección de huevos de tortugas marinas. El ambiente de las playas de anidación ayuda a la biología de la reproducción tomado en cuenta las áreas de la demografía, reclutamiento de crías y calidad del hábitat de anidación. La fuente más confiable de información sobre el tamaño de la población y su tendencia a largo plazo se derivaba casi exclusivamente a estudios en playas, sobre reproducción y anidación (Richardson, 2000). La determinación del tamaño de la nidada y éxito de eclosión provee información fundamental para comprender la adecuación de la playa (o vivero) para actuar como un sistema de incubación y la salud general de la población anidadora (Miller, *et al.*, 2009).

2.5.1 Enfermedades nutricionales y metabólicas

Para comprender las enfermedades infecciosas en las poblaciones se debe complementar con una cuidadosa y completa descripción del problema de salud, la especie, edad, tamaño de los animales afectados (descripción detallada), el inicio, duración, y desarrollo del problema (historial), las señales clínicas observadas y las lesiones, definirán el problema y guiarán en la selección de cómo llegar a un diagnóstico (Jacobson, 2000; Herbst, 2000).

En la mayoría de los casos, la identificación de los procesos y causas de enfermedad y mortandad provienen de necropsias completas sobre tortugas muertas y/o moribundas, el examen físico y por biopsia de lesiones visibles en tortugas vivas (Jacobson, 2000). Las muestras de sangre, de tejido, fluidos, exudados, o biopsias histológicas que vayan a ser sometidas al cultivo microbiano deben ser colectadas en condiciones asépticas usando instrumentos estériles y una técnica con la cual el espécimen pueda ser

representativo de los microorganismos encontrados en la lesión y no de los contaminantes (Herbst, 2000).

Cualquier cambio en la situación de estos factores podría comprometer el funcionamiento del sistema inmune en la tortuga, lo que permite la ruptura de esta barrera hacia el exterior donde hay organismos oportunistas listos para atacar. Han sido documentados en varios estudios que los reptiles son portadores de un gran número de microorganismos (virus, bacterias, hongos, protozoarios o parásitos) que afectan a animales inmunosuprimidos (Muñoz, 2008).

Los estudios de laboratorio constituyen elementos importantes para la toma de decisiones de manejo en tortugas enfermas, heridas o muertas, o en el caso de eventos de enfermedades o mortalidad masivas donde se desea encontrar la(s) causa(s), los datos producidos también se podrían incorporar a programas rutinarios para el monitoreo de salud y la identificación de posibles enfermedades infecciosas como parte de los estudios poblacionales (Herbst, 2000; Jacobson, 2000). Como en aquellos animales que presentan alguna enfermedad crónica y/o alta carga parasitaria pueden presentar miopatía caquética caracterizada por atrofia muscular, ojos hundidos, plastrón cóncavo, marcada reducción del peso, atrofia serosa de la grasa, anemia, hipoproteinemia e hipoglucemia y la observación de signos de mala nutrición en aquellas tortugas que presentan algún problema físico o médico afectando a extremidades, boca y ojos, que les impida su acceso normal al alimento (Glazebrook y Campbell, 1990).

Diferentes pruebas de diagnóstico pueden ser usadas para detectar o monitorear infecciones o enfermedades clínicas que se efectuaron en el pasado o estén activas en el presente. Los resultados de una sola prueba de diagnóstico deben de ser interpretados en un contexto completo, incluyendo la historia y el patrón de la enfermedad en la población, manifestaciones clínicas, resultados de otras pruebas y lesiones visibles e histopatológicas (Miller *et al.*, 2009).

2.5.2 Aspectos en patología clínica

Los diferentes tipos de ensayos que pueden ser llevados a cabo en la sangre total, el suero o plasma tienen diferentes requerimientos de colecta, manejo y almacenamiento los cuales pueden limitar su efectividad bajo ciertas condiciones. Para la mayoría de los análisis se requiere de 3 a 5 ml de sangre entera (Herbst, 2000). La ventaja de la sangre es que una muestra es fácil de obtener y que puede proveer, a través de sus

subcomponentes, excelentes indicadores de muchos aspectos de la salud de un individuo y su estado reproductivo (Owens y Ruiz, 1980). Un conteo completo y diferencial de células sanguíneas junto con un análisis hematológico y bioquímico del plasma puede detectar un problema y ayudar en la identificación del tipo de lesión que ha ocurrido (Herbst, 2000). Las tortugas toleran fácilmente la extracción de hasta un 1 ml de sangre por cada 100 g de peso corporal si es necesario (Aguirre y Balazs, 2000).

El estado fisiológico al momento de la toma de muestra puede afectar la composición de ésta, se debe tener en consideración las especie, edad, sexo, gestación, ejercicio, manejo y alimentación (Marck *et al.*, 2006). Los lugares más usados para la toma de muestra en quelonios son: La vena coccígea superior o vena caudal dorsal, punción cardíaca transplastral, punción cardíaca subcervical, vena del brazo, vena dorsal del cuello o subcarapacial y en vena yugular (Troiano, 2004).

En general, para estudios hematológicos y bioquímicos la sangre debería ser colectada en tubos que contengan el anticoagulante EDTA (etilendiaminotetracético); sin embargo, el EDTA causa hemólisis en algunas especies de reptiles, especialmente en quelonios y el uso de un anticoagulante como el de heparina de litio es necesario. (Aguirre *et al.*, 1995).

Dado que las células sanguíneas de los reptiles son nucleados, no se puede confiar en los contadores electrónicos de células sanguíneas. En la práctica clínica se usan métodos hemacitométricos para realizar los recuentos celulares. El método de Natt and Herrick permite el recuento de eritrocitos y leucocitos simultáneamente. Es un método directo. El violeta de metilo 2B tiñe todas las células con diferentes tonos de azul. Los leucocitos se tiñen de un color oscuro (Molina, 2002).

La clasificación de las células sanguíneas, específicamente los leucocitos de reptiles, ha sido inconsistente debido a los variables criterios y técnicas utilizadas para categorizarlas (Works, 2001; Montilla, 2006). Muchos factores, como la edad, sexo, estación, estrés, dieta, circulación hormonal, temperatura, presión del oxígeno e hidratación corporal, afectan los valores en la sangre (Aguirre y Balazs, 2000). Recientemente, se ha dado importancia a los estudios de campo que permitan recolectar información sobre el estado de salud de poblaciones silvestres con énfasis en aquellas especies en peligro de extinción.

La bioquímica clínica es la aplicación de la química a la comprensión del metabolismo de ser humano y animales en salud y en enfermedad. Se basa en diferentes pruebas de funcionamiento renal, hepático, cardíaco, lipídico, pancreático, enzimático y

electrolitos. Actualmente, se pueden analizar rutinariamente en el laboratorio con un alto grado de exactitud y precisión un gran número de analitos. El papel básico del laboratorio clínico es proporcionar datos cuantitativos y cualitativos de especímenes biológicos, que ayuden al diagnóstico, tratamiento y prevención de enfermedades (Montilla, 2006).

Existe gran variedad de métodos para determinar la glucosa en sangre, suero, plasma, líquido cefalorraquídeo y orina, por ello la especificidad del método se de referir en términos de la cercanía de los valores que se obtienen con respecto a los obtenidos con el método de referencia. En el plasma, existen más de 15 compuestos nitrogenados no proteínicos (NNP), los cuales se forman por diferentes vías metabólicas, los compuestos NNP presentes en el plasma son la urea, los aminoácidos, el ácido úrico, la creatinina. La mayoría de las proteínas del suero son sintetizadas en el hígado. Los lípidos son un grupo heterogéneo de compuestos solubles en disolventes orgánicos e insolubles en agua, los principales lípidos son el colesterol y triglicéridos. Las enzimas son proteínas que actúan como catalizadores biológicos, son específicas, actúan en una reacción o en un grupo de reacciones que tienen sustratos semejantes o relacionados estructuralmente. Los electrolitos y el agua, son algunos de los principales componentes del líquido extracelular, su control y regulación forman parte de las funciones renales (Morán, 2001).

La escasa información que se tenía publicada sobre valores hematológicos y bioquímicos de tortugas marinas se debía a algunos investigadores de Florida, Caribe y México (Aguirre *et al.*, 1995); Bjorndal (2000) (Bahamas); Work *et al.* (2001) (Hawaii). Es difícil definir los parámetros hematológicos y bioquímicos para las diferentes especies de tortugas marinas, puesto que la información existente reporta intervalo de valores muy amplios (Sposato *et al.*, 2002). Por ejemplo, para *Chelonia mydas* juveniles sanas de Florida, el nivel de glucosa en sangre fue de 29–245 mg/dl y la deshidrogenasa láctica (LDH) fue de 141–1987 U/L (Sposato *et al.*, 2002). Recientemente se tiene información de Pires, *et al.* (2006); Mark *et al.* (2006), Scott *et al.* (2007) y Montilla *et al.* (2008) para la misma especie.

2.5.3 Parásitos

El patógeno puede ser definido como cualquier entidad que causa una enfermedad o interfiere con las funciones celulares normales mediante la producción de toxinas o enzimas que pueden alterar o destruir las células en el huésped. Mientras, un

parásito está específicamente definido como un organismo que vive sobre o dentro de otro organismo y se come la comida del huésped o el propio huésped. Sin embargo, una enfermedad es el resultado de una relación dinámica, en detrimento de entre un organismo que parasita o interfiere con los procesos normales de las células y / o tejidos del huésped (Trigiano *et al.*, 2004). Un patógeno puede o no ser un parásito. Dicho en otras palabras, no todos los parásitos son patógenos, pero algunos parásitos son más virulentos que otros. De hecho, algunos organismos asociados pueden hacer poco o ningún daño (Buchmann y Bresciani, 2001). Por ejemplo, una relación de comensalismo bien sabido en el mar es el caso de los epibiontes. Un epibionte es un organismo que se une a cualquier hospedero sin beneficio o sin causar daño, como la mayoría de los balanos, algas, peces e incluso la rémora.

Las tortugas marinas son hospedadores peculiares, sobre todo porque se trata de uno de los pocos grupos de reptiles que ha colonizado el medio marino y, sobre todo, el dominio pelágico. Esto ha tenido dos consecuencias con respecto al desarrollo de su fauna simbiote. Por una parte, las tortugas ofrecen un sustrato idóneo para la colonización por parte de diversos organismos de vida libre (epibiontes) con los que mantiene una estrecha relación por varias razones (Gámez *et al.*, 2006). En primer lugar, las tortugas marinas se encuentran en el medio acuático casi permanentemente y sólo salen del mar durante el periodo reproductivo (y sólo las hembras), y en periodos relativamente cortos. Esto evita la mortalidad de epibiontes por una exposición prolongada al medio aéreo. En segundo lugar, el cuerpo de la tortuga ofrece sustratos sólidos como el caparazón, cabeza, aletas, uñas y cola que son ideales para la fijación de la mayoría de organismos sésiles. Además, estos sustratos ofrecen suturas y grietas donde organismos móviles más pequeños pueden aferrarse (compárese esta superficie con la de un pez, un cetáceo o un pinnípedo), y son temporalmente lo bastante estables como para que el ciclo vital de los epibiontes pueda generalmente desarrollarse sin problemas (Badillo, 2007).

Desde este punto de vista, una tortuga marina no se diferenciaría mucho de cualquier sustrato flotante y albergan una gran cantidad de organismos epibiontes que se encuentran colonizando también cualquier tipo de objeto, desde cascos de barcos a maderos flotantes. Sin embargo, las tortugas marinas son organismos vivos y como tales, pueden representar también para la fauna epibionte un refugio frente a la depredación. Este podría ser el origen de muchas de las asociaciones obligatorias que se han desarrollado entre epibiontes marinos y sus hospedadores (Seilacher, 2005), entre

ellos las tortugas (Zardus y Hadfield, 2004). Lo interesante, en cualquier caso, es que la evolución de este tipo de asociaciones dota de un papel más significativo a la propia historia evolutiva del hospedador y permite analizar de forma idónea la contribución de los factores ecológicos y evolutivos en la estructura de dichas comunidades (Frick *et al.*, 2003; Badillo, 2007).

La gran mayoría de la información disponible acerca de epibiontes de tortugas marinas se refiere a organismos asociados a *Chelonia mydas* o *Caretta caretta*, razón por la cual se cree que estas especies albergan la comunidad de parásitos más grande y diversa. Sin embargo, a nivel mundial se reconoce que *Eretmochelys imbricata* alberga más de 100 especies de epibiontes, principalmente balanos y algas (Frick *et al.*, 2003)

Los efectos a largo plazo de los agentes patógenos en los reptiles son relativamente poco conocidos. Los parásitos pueden tener un impacto casi imperceptible en su hospedero o, en algunos casos, puede matarlo. La condición física de las tortugas marinas se puede ver afectada negativamente por el parasitismo y los posibles efectos negativos del mismo incluyen la anemia y la disminución del rendimiento seguido de reducción de la supervivencia, la competitividad, la condición social y, para las hembras, disminución en la fecundidad (Zug *et al.*, 2001).

Existen frecuentes descripciones generales, particularmente listas de especies de parásitos intestinales, como tremátodos, céstodos y nemátodos, siendo los primeros los más abundantes y con mayor variedad de especies. También se informa de la presencia de sanguijuelas (Hirudíneos: *Ozobranchus* sp), que en ocasiones invaden la piel del cuello y las axilas (Márquez, 2002). Ejemplos de Parásitos: Pentastomiasis (*Armillifer* sp): llamados gusanos de la lengua; Céstodos: *Spirometra* spp y *Diphyllobothrium* spp; Protozoarios: *Cryptosporidium* spp.

Los parásitos que más se han estudiado son los tremátodos espirórcidos, ya que se han observado huevos de estos parásitos en cortes histológicos de los tumores, y en estudios inmunológicos se han detectado anticuerpos contra el glicocálix de las membranas parasitarias (Aguirre *et al.*, 1998).

Los numerosos parásitos, tanto intestinales como ectoparásitos (Figura 3), que han sido descritos en tortugas marinas pueden causarles la muerte, además de predisponer a otras enfermedades como el fibropapiloma (Work *et al.*, 2001; Aguirre y Lutz, 2004). Los patógenos y parásitos en la sangre pueden ser identificados en frotis de sangre.



Figura 3. *Chelonibia testudinaria*, tomado de Zardus y Hadfield (2004).

2.5.4 Enfermedades virales

Sólo se han descrito dos enfermedades víricas: la enfermedad respiratoria por herpesvirus o “LET disease” (“Lung, Eye and Trachea disease”) se describió en 14 ejemplares de *Chelonia mydas* de 15-20 meses de edad con signos clínicos respiratorios (Jacobson, 2000). La enfermedad conocida como “Grey-patch disease” es una enfermedad causada por un herpesvirus que afecta principalmente a ejemplares juveniles de tortuga verde (Miller *et al.*, 2009).

a) Fibropapiloma

Las primeras descripciones de tumores cutáneos identificados como fibropapiloma en *Chelonia mydas* datan de 1930 en las costas de Florida. Desde entonces, se han realizado numerosas observaciones de la enfermedad en las costas de Hawaii, Puerto Rico, Barbados, Islas Caimán, Islas Vírgenes, Panamá, Colombia, Venezuela, Belice, y Australia (Jacobson, 2000, Aguirre *et al.*, 2002). La prevalencia de la enfermedad ha incrementado de forma alarmante a partir de los años 80, de tal modo que en determinadas áreas de Florida y Hawaii, ésta se estima actualmente en más de un 50%, llegando a alcanzar el 92% en algunas áreas (Balazs *et al.*, 2000). Aunque la enfermedad fue inicialmente descrita en *Chelonia mydas* (de donde toma su denominación, GTFP, Green Turtle Fibropapillomatosis), actualmente se ha observado en *C. caretta*, *L. olivacea*, *E. imbricata* y *N. depressus* (Figura 4) (Chaloupka *et al.*, 2009).



Figura 4. *Chelonia mydas* con presencia de tumores alrededor del cuello, ojos y extremidades del animal. Ejemplar encontrado en la playa Este del Cuyo, Yucatán, México.

El fibropapiloma es una enfermedad neoplásica de presencia esporádica pero creciente, que en la actualidad es considerada como uno de los problemas más importantes de salud en la población de tortugas marinas. Se caracteriza por la formación de múltiples tumores cutáneos y/o internos (éstos últimos se denominan fibromas), que miden 0.1-40 cm de diámetro, y que comprometen la vida de la tortuga, ya que no solo deforman y debilitan el sitio anatómico donde se localizan, sino que interfieren con sus actividades normales, haciéndolas susceptibles a sus depredadores (Ene *et al.*, 2005; Miller *et al.*, 2009).

La histopatología de los fibropapilomas descrita es múltiple (Cuadro 2). Los fibropapilomas oculares se describen como invasivos y se asocian a una ceguera severa, que en muchos casos termina en la destrucción del globo ocular. Otros fibropapilomas causan la obstrucción parcial o total de la glotis, epiglotis, y del lumen de la faringe, laringe y esófago, impidiendo que la tortuga se alimente. Las tortugas usan sus fosas nasales principalmente para la quimiorrecepción, así que también se ven afectadas sus actividades de respiración y deglución. Los tumores se localizan más frecuentemente en ojos, conjuntiva, cabeza, cuello, axilas, región inguinal, cloaca y cola, mientras que los tumores internos se localizan principalmente en pulmón, interfiriendo con su flotabilidad. Debido a que no puede ver, no es capaz de encontrar alimento y comienza a debilitarse, y es cuando comienzan a suscitarse alteraciones bioquímicas como hipoproteïnemia, hipoalbuminemia, hipocolesterolemia, anemia ferropénica, deficiencia de calcio, etc., hasta que finalmente muere (Quackenbush *et al.*, 1998; Work *et al.*, 2001).

Cuadro 2. Hallazgos histopatológicos reportados en tortugas marinas con fibropapilomas.

Región dérmica	Cambio histopatológico
Epitelio	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Acanthosis ▪ Hiperqueratosis ▪ Hiperplasia pseudoepiteliomatosa ▪ Edema intercelular e intracelular ▪ Formación de vacuolas citoplásmicas ▪ Necrosis ▪ Infiltración linfocitaria en el estrato basal ▪ Marginación de la cromatina con inclusiones intranucleares
Dermis y porción fibroblástica	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Proliferación fibroblástica ▪ Hiper celularidad moderada ▪ Focos de inflamación linfocítica ▪ Focos necróticos ▪ Granulomas con huevos de parásitos trematodos ▪ Perlas de queratina

(Aguirre *et al.*, 2002).

Existen hallazgos importantes que apoyan que la etiología primaria es viral. Al principio, se pensaba en un virus de la familia *Papovaviridae* y en la actualidad, mediante biología molecular, se sabe que tiene más parecido con virus de la familia *Herpesviridae*. Así que por el momento, tampoco existe tratamiento para la enfermedad, a excepción de la extirpación quirúrgica del tumor o de los tumores, cuando es posible, principalmente de aquéllos que están sobre ojos y boca, con el fin de posibilitar su visión y que pueda buscar su comida y alimentarse. La recuperación dependerá de qué tan avanzada esta la enfermedad y de qué tanto pueda soportar la tortuga, si es que está muy débil (Chaloupka *et al.*, 2009). Por lo anterior, determinar si este virus está asociado a la GTFP o si solo es un virus transitorio u oportunista es de gran importancia.

Desde que se tuvo conocimiento acerca de la posible etiología viral de la enfermedad, se emplearon una gran variedad de técnicas para realizar el diagnóstico de la misma, desde la observación por microscopía electrónica de tejidos tumorales, hasta las más sofisticadas técnicas de biología molecular, empleando al gen de la polimerasa del virus, e incluso se ha intentado el aislamiento viral en líneas celulares derivadas de órganos de tortugas vivas con poco éxito ya que no se ha podido reproducir el virus, solo se han detectado inclusiones víricas intracelulares compatibles con las características de la Familia Hesperiviridae (Jacobson, 2000). En México, a pesar de que hay avistamientos de tortugas blancas principalmente con tumores, no se conocen trabajos oficiales, reportes, ni datos estadísticos sobre la enfermedad, y mucho menos existen estudios de diagnóstico de los tumores (Muñoz, 2008).

3. HIPÓTESIS.

1.-Las hembras adultas de las tortugas Carey (*E. imbricata*) y Blanca (*C. mydas*) que anidan en la costa oriente de Yucatán poseen parámetros hematológicos y de bioquímica sanguínea, dentro de un valor de referencia (rango), determinado mediante el muestreo en dos años consecutivos.

2.- Existen enfermedades (p. e. parasitosis y fibropapiloma) que afectan a hembras adultas de Tortuga Carey (*E. imbricata*); y Blanca (*C. mydas*) que anidan en la costa oriente de Yucatán.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Establecer los valores de referencia de los analitos sanguíneos que son de interés clínico para *E. imbricata* y *C. mydas* que anidan en Yucatán y relacionar los datos analíticos con la presencia de parásitos o fibropapiloma.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Comparar los valores hematológicos y bioquímicos de hembras adultas anidadoras de *E. imbricata* y *C. mydas* con y sin presencia de parásitos que anidan en la costa oriente de Yucatán
2. Determinar la frecuencia, abundancia y localización de ectoparásitos en hembras adultas anidadoras de *E. imbricata* y *C. mydas* que anidan en Yucatán.
3. Estimar la frecuencia de fibropapiloma en hembras adultas anidadoras de *E. imbricata* y *C. mydas* en la costa oriente de Yucatán.
4. Determinar si hay diferencias entre los valores hematológicos y bioquímicos en las hembras adultas anidadoras de *E. imbricata* y *C. mydas*, con y sin parásitos o fibropapiloma, que anidan en Yucatán.

5. REFERENCIAS

- Abreu–Grobois, F.A; Briseño-Dueñas, R. 2000. Base de datos En: Técnicas de investigación y manejo para la conservación de las tortugas marinas. Grupo de especialistas en tortugas marinas UICN/CSE Pú. No. 4. 108-115. K.Eckert; K.A.Bjorndal; F.A.Abreu–Grobois, y M.Donnelly. (Eds.). (traducción al español).
- Aguirre, A.A., Gardner, S.C., Marsh, J.C., Delgado, S.G., Limpus, C.J., Nichols, W.J. 2006. Hazards Associated with the consumption of sea turtles meat and eggs: A review for health care workers and the general public. *EcoHealth* 3:141-153.
- Aguirre, A.A. and Lutz, I.P. 2004. Marine turtles as Sentinels of Ecosystem Health: Is Fibropapillomatosis an Indicator. *EcoHealth* 1:275-283.
- Aguirre AA, O’Hara TM, Spraker TR, Jessup DA. 2002. Monitoring the health and conservation of marine mammals and sea turtles and their ecosystems. In: Conservation Medicine: Ecological-Health in Practice, Aguirre AA, Ostfeld RS, Tabor GM, House CA, Pearl MC (editors), New York: Oxford University Press. 79-94.
- Aguirre A.A. and Balazs, G.H. 2000. Plasma biochemistry values of green turtles (*Chelonia mydas*) with and without fibropapillomas in the Hawaiian Islands. *Comparative Haematology International* 10:132–137.
- Aguirre AA, Spraker TR, Balazs GH, Zimmerman B. 1998. Spirorchidiasis and fibropapillomatosis in green turtles from the Hawaiian Islands. *J. Wildl. Dis.* 34:91–98.
- Aguirre, A. A., Balazs G. H., Spraker T. R., and Gross T. S. 1995. Adrenal and hematological responses to stress in juvenile green turtles (*Chelonia mydas*) with and without fibropapillomas. *Physiol. Zool.* 68:831-854.
- Alfaro, A., Koie, M. and Buchmann, K. 2006. Synopsis of infections in sea turtles caused by virus, bacteria and parasites: An ecological Review.
- Badillo, A. F.J. 2007. Epizoítos y Parásitos de la tortuga boba (*Caretta caretta*) en el Mediterráneo Occidental, Tesis Doctoral, Valencia, España, 262.
- Balazs, G. H.; Murakawa, S. K. K.; Ellis, D. M.; Aguirre, A. A. 2000. Manifestation of fibropapillomatosis and rates of growth of green turtles at Kaneohe Bay in the Hawaiian Islands. Proceedings of the 18th Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation, Abreu-Grobois FA, Briseño-Dueñas R, Márquez R, Sarti L. (editors), U.S. Department of Commerce, NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC.436:112–113.

- Bjorndal, K. 2000. Prioridades para la investigación en hábitats de alimentación. En: Técnicas de investigación y manejo para la conservación de las tortugas marinas. Grupo de especialistas en tortugas marinas UICN/CSE Púb. No. 4. 13-15 Eckert, K.L; K.A.Bjorndal, F.A. Abreu–Grobois y M. Donnelly. (Editors). (traducción al español)
- Buchmann, K., Bresciani, J. 2001. An Introduction to Parasitic Diseases of Freshwater Trout. *DSR Publishers*. Denmark.
- Chacón, D. 2004. La tortuga carey del Caribe-Introducción a su biología y estado de conservación. WWF-Programa regional para América Latina y el Caribe, San José Costa Rica.
- Chaloupka, M. Balazs, G. and Work, T. 2009. Rise and Fall over 26 Years of a Marine Epizootic in Hawaiian Green Sea Turtles. *J. Wildl. Dis.* 45:1138-1142.
- Cuevas E. 2009. Ecología espacial de la tortuga carey (*Eretmochelys imbricata*, Linnaeus 1766) y sus hábitats críticos en la Península de Yucatán, México. Tesis de Doctorado. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Unidad Mérida.
- Cuevas, E. Mariño, I, Liceaga-Correa M, Abreu-Grobois, F. y Lema, K. 2006. Preferencias de zonas de anidación de las tortugas carey (*E. imbricata*) y Blanca (*C. mydas*) en el Cuyo, Yucatán. En: Reunión preliminar para la diagnosis de la tortuga Carey en el Golfo de México y Mar Caribe. Pronatura Península de Yucatán-USFWS. 32.
- Daszak P., A.A. Cunningham, and A.D. Hyatt. 2000. Emerging infectious diseases of wildlife threats to biodiversity and human health. *Science* 287:443-449.
- Deem, S. L., E. S. Dierenfeld, D, G. P. Sounguet, A.R. Alleman, C. Cray, R. H. Poppenga, T. M., Norton, and W. B. Karesh. 2009. Blood values in free-ranging nesting leatherback sea turtles (*Dermochelys coriacea*) on the coast of the Republic of Gabon. *J. Zoo and Wildl Medicine* 37:464–471.
- Diez, E. C. y Ottenwalder, A.J. 2000. Estudios de Hábitat En: Técnicas de investigación y manejo para la conservación de las tortugas marinas. Grupo de especialistas en tortugas marinas UICN/CSE Púb. No. 4. 239-245. Eckert, K.L; K.A. Bjorndal, F.A. Abreu–Grobois y M. Donnelly. (Editors). (Editors). (traducción al español).
- Ene A., Su M., Lemaire S., Rose C., Schaff S., Moretti R., Lenz J., Herbst L. H. 2005. Distribution of Chelonid Fibropapillomatosis-Associated Herpesvirus variants in

- Florida: Molecular genetic evidence for infection of turtles following recruitment to neritic developmental habitats. *J. Wildl. Dis.* 41:489-497.
- Frazier, G.J. 2000. Conservación basada en la comunidad. En: Técnicas de investigación y manejo para la conservación de las tortugas marinas. Grupo de especialistas en tortugas marinas UICN/CSE Púb. No. 4. 239-245. Eckert, K.L.; K.A. Bjorndal, F.A. Abreu-Grobois y M. Donnelly. (Editors). (traducción al español).
- Frick, M. G., Mason, P.A, Williams, K.L., Andrews, K., Gerstung, H. 2003. Epibionts of hawksbill turtles in a Caribbean nesting ground: A potentially unique association with snapping shrimp (Crustacea: Alpheidae). *Marine Turtle Newsletter.* 99:8-11.
- Gámez, S.V., Osorio, D.S., Peñaflores, C.S., García, A.H., Ramírez, J.L. 2006. Identification of parasites and epibionts in the Olive Ridley Turtle (*Lepidochelys olivacea*) that arrived to the beaches of Michoacán and Oaxaca, Mexico. *Vet. Méx.* 37:431-440.
- Garduño-Andrade, M., Guzmán, V.; Miranda, E.; Briseño-Dueñas, R. and Abreu-Grobois, F. A. 1999. Increases in Hawksbill Turtle (*Eretmochelys imbricata*) Nestings in the Yucatan Peninsula, Mexico, 1977-1996: Data in Support of Successful Conservation Chelonian Conservation and Biology IUCN/SSC. 3:286-295.
- Glazebrook J.S, Campbell, R.S.F. 1990. A survey of the diseases of marine turtles in northern Australia. 1. Farmed turtles. *Diseases of Aquatic Organisms* 9:83-95.
- Guzmán-Hernández, V. 2000. Informe final del programa de investigación y protección de tortugas marinas en Isla del Carmen, Campeche, México. Temporada 2000. Documento. Técnico. del Centro Reg. de Invest. Pesquera de Cd. del Carmen. N° 10. SEMARNAP/INP/CRIP/PEP UPMP Desarrollo Ecológico CD. Del Carmen AC. 18.
- Guzmán-Hernández, V. 2001. Evaluación de las poblaciones de tortugas marinas de Campeche. Sinopsis de la protección e investigación 1977-2001, con reporte de investigación 2001/INE/DGVS/TM-007-Camp. Informe Técnico de Investigación 2001/12/ SAGARPA/INP/DGIPDS/PNTM/CRIP Carmen, 37.
- Guzmán-Hernández, V. 2005. Informe final del programa de investigación y protección de tortugas marinas en Isla del Carmen, Campeche, México. Temporada 2000. Documento. Técnico. del Centro Reg. de Invest. Pesquera de Cd. del Carmen. N° 10. SEMARNAP/INP/CRIP/PEP UPMP Desarrollo Ecológico CD. Del Carmen AC. 19.
- Herbst, L.H. 2000. Enfermedades infecciosas en Tortugas Marinas, En: Técnicas de investigación y manejo para la conservación de las tortugas marinas. Grupo de

- especialistas en tortugas marinas UICN/CSE P ub. No. 4. 239-245. Eckert, K.L; K.A. Bjorndal, F.A. Abreu–Grobois y M. Donnelly. (Editors). (traducción al español).
- Jacobson, E.R. 2000. Toma de muestras de tejidos y técnicas para la necropsia. En: Técnicas de investigación y manejo para la conservación de las tortugas marinas. Grupo de especialistas en tortugas marinas UICN/CSE P ub. No. 4. 246-250 Eckert, K.L; Bjorndal K.A., Abreu–Grobois F.A. y Donnelly M. (Editors). (traducción al español).
- Karl, S. A. y B. W. Bowen. 1999. Evolutionarily significant units versus geopolitical taxonomy: molecular systematics of an endangered sea turtle (genus *Chelonia*). *Conservation Biology* 13.
- Lutz P.L., Cray, C., Sposato, P. 2001. Studies on the association between immunosuppression and fibropapillomatosis within three habitats of *Chelonia mydas*. U.S. Department of Commerce, NOAA Technical Memorandum H-01-01C 2001.
- Mader, D. R. 2006. *Reptile Medicine and Surgery*. W.B. Saunders Company. Second Edition, Florida.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M. 2006. Brock: *Biology of Microorganisms*. Pearson Prentice Hall. Eleventh Edition. 1-989.
- Mark, H. Chloe, s. Tom. S. and Sammy E. 2006. Demographic and health parameters of green sea turtles *Chelonia mydas* foraging in the Gulf of Carpentaria, Australia. *Ending. Spec. Res: 2:81-88*.
- Márquez, R. A. 2002. *Las tortugas marinas y nuestro tiempo*. La ciencia para todos, 3^a edición. Fondo de Cultura Económica, secretaría de Educación pública y Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. 197.
- Meylan AB, Donnelly M. 1999. Status justification for listing the hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*) as Critically Endangered on the 1996 IUCN Red List of the Threatened Animals. *Chelonian Conserv Biol* 2:200–224.
- Miller, Debra L., Jeanette Wyneken, Sreekumari Rajeev, Justin Perrault, Douglas R. Mader, James Weege, and Charles A. Baldwin. 2009. Pathologic findings in hatchling and posthatchling leatherback sea turtles (*Dermochelys coriacea*) from Florida; *J. Wildl. Dis.* 45: 962–971.
- Molina R. 2002. Hepatología y Bioquímica Sanguínea. En: *I Encontro Ibérico de recupera o e Conserva o de Fauna Selvagem*. Portugal: Centre de fauna de Torreferrussa.

- Montilla F., Hernández R, Alfonso R. Bravo H., Vicente J. Vera M. y Johan F. Mesa M. 2008. Valores bioquímicos en sangre de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) presentes en la alta guajira, Venezuela, Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XVIII, N° 4, 431 – 436.
- Montilla F., Hernández, R. Jim L. y Alvarado, M.C. 2006. Valores hematológicos de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) presente en la alta guajira., ISSN 0798-2259, RC, Vol. 16, no. 3, 219-226.
- Morán, L. 2001. Obtención de muestras sanguíneas de calidad analíticas. Editorial Panamericana. México. 161
- Muñoz, F. 2006. Sistema Inmunológico como indicador del estado de salud poblacional y medioambiental en tortugas marinas. En: Memorias del XIV Taller Regional sobre Programas de Conservación de Tortugas Marinas en la Península de Yucatán. Quintana Roo. Secretaría de Ecología Pronatura Península de Yucatán CONANP 1.
- Ostfeld, R.S. and F. Keesing. 2000. Biodiversity and disease risk: the case of Lyme disease. *Conserv. Biol.* 14:722-728.
- Owens, D.; Ruiz, G. 1980. New methods of obtaining blood and cerebrospinal fluid from marine turtles. *Herpetol.* 36:17-20.
- Orós, J., Arencibia, A., Fernández, L., Jensen, H.E. 2004. Intestinal candidiasis in a loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*): an immunohistochemical study. *Vet. J.* 167:202-207.
- Pires, t: Rostan, G. Guimares, J. 2006. Hemograma e determinação da proteína plasmática total de tartarugas marinhas da espécie *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758), criadas em cativeiro, Praia do Forte, Município de Mata de São João – Bahia. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. Sao Paulo.* 43:348-353.
- Quakenbush, S., Work, T., Balazs, G., Casey, R., Rovnak, J., Cahves, A., DuToit, L., Baines, J., Bowser, P., and Casey, J. 1998. Three closely related herpesviruses are associated with fibropapillomatosis in marine turtles. *Virology.* 246:392-399.
- Richardson, J. 2000. Prioridades para los Estudios sobre la Biología de la Reproducción y de la Anidación. En: Técnicas de investigación y manejo para la conservación de las tortugas marinas. Grupo de especialistas en tortugas marinas UICN/CSE Púb. No. 4. 9-12 Eckert, K.L; K.A.Bjorndal, F.A. Abreu–Grobois y M. Donnelly. (Editors). (traducción al español).
- Seilacher, A., 2005. Whale Barnacles: exaptational access to a forbidden paradise. *Paleobiology.* 31:27-35.

- SEMARNAT-CONABIO. 2002. Reservas de la biosfera y otras áreas naturales protegidas de México. México.
- Scott, P. Michael, L, Colin, J. and Kevin, T. 2007. Blood chemistry reference values for two ecologically distinct populations of foraging green turtles, eastern Indian Ocean. *Comp. Clin. Pathol.* 16:109-118.
- Sposato, PL, Lutz PL, Cray C 2002. A comparative approach in determining health status of chelonians with respect to avian and mammalian medicine. In: Proceedings of the 21st Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation, U.S. Department of Commerce, NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC
- Tabor GM, Ostfeld RS, Poss M, Dobson AP, Aguirre AA. 2001. Conservation biology and the health sciences: defining the research priorities of conservation medicine. In: *Research Priorities in Conservation Biology*, 2nd edition. Soule ME, Orians GH (editors), Washington, DC: Island Press, 165–173.
- Trigiano, R.N., Windham, M.T., Windham, A.S. 2004. Plant Pathology: concepts and laboratory exercises. *CRC Press*. 7-14
- Troiano J.C. 2004. Valores hematológicos en Tortuga terrestre argentina (*Chelonoidis chilensis chilensis*) y Tortuga Phrynops hylaru. Hematología en reptiles. En: *Curso de Hematología en animales Silvestres*. Lima.
- Work TM, Rameyer RA, Balazs GH, Cray C, Chang SP. 2001. Immune status of free-ranging green turtles with fibropapillomatosis from Hawaii. *J. Wildl. Dis.* 38:574–581.
- Zardus, J.D. Hadfield, M.G. 2004. Larval development and complemental males in *Chelonibia testudinaria*, a barnacle commensal with sea turtles. *J. Crustacean Biol.*, 24:409-421.
- Zug, G.R., Vitt, L.J., Caldwell, J.P. 2001. Herpetology. An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles. Second Edition. *Academic Press*. 437-447.

6. CAPÍTULO II

Hematological trends of adult Hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) and green turtles (*Chelonia mydas*) nesting in the Yucatan Peninsula.

MARÍA MONICA LARA-UC¹, EDWIN GUTIERREZ-RUIZ¹, LEOPOLDO AGUILAR-FAISAL²,
RAFAEL RIOSMENA³, FRANCISCO ARANDA¹, FELIPE ACOSTA⁴, CARLOS GONZALEZ-SALAS⁵,
ALFONSO AGUILAR⁵ AND EDUARDO SIERRA-LIRA⁶.

¹ Unidad de Diagnóstico, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UADY.

Km 15.5 carretera Mérida-Xmatkuil, Mérida, Yucatán

²Laboratorio Medicina de Conservación, ESM-IPN; Tel 57296000, Ext. 62753

³Programa de investigación en Botánica Marina, Departamento de Biología

Marina, UABCS, Km 5.5 carretera al sur, La Paz B.C.S. 23080 México.

⁴ Área de Pequeños Rumiantes : Facultad de Medicina Veterinaria y

Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán. Dirección: Km.

15.5 carretera Mérida-Xmatkuil, Mérida, Yucatán

⁵ Departamento de Biología Marina, Universidad Autónoma de Yucatán,

Km. 15.5, carretera Mérida-Xmatkuil, A.P. 4-116 Itzimmá, C.P.

97100, Mérida, Yucatán, México

⁶ Depto. Medicina Interna y Cirugía. Facultad de Medicina Veterinaria y

Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán, Km. 15.5 carretera

Mérida-Xmatkuil, Mérida, Yucatán.

ABSTRACT:

Eretmochelys imbricata and *Chelonia mydas* are probably the best known sea turtles in the Yucatan Peninsula because some research has been done for its conservation. However, little is known about their hematological values specially for nesting female adults. Our goal was to determine reference hematological values for both species. Blood samples were taken from the dorsal cervical sinus of 80 *E. imbricata* and 100 *C. mydas* nesting on the beaches of El Cuyo and Las Coloradas, Yucatan, Mexico. The following parameters were determined: Erythrocytes, Hematocrit (Hct), Hemoglobin (Hb), mean corpuscular volume (MCV), and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC). For leukocytes, a differential count was performed.

The values ranges for *E. imbricata* were: Erythrocytes ($0.213\text{--}0.375\times 10^6/\mu\text{L}$), Hct (37.6–43%), Hb (13.11–14.9 g/dL) MCV (121–139.4fl), MCHC (30.2–39.1 g/L). For the white series were: Leukocyte ($3.2\text{--}5.5\times 10^3/\mu\text{L}$), the differential leukocyte count was: Heterophils ($1.88\text{--}4.34\times 10^3/\mu\text{L}$), eosinophils ($0.096\text{--}0.33\times 10^3/\mu\text{L}$), lymphocytes ($0.384\text{--}1.54\times 10^3/\mu\text{L}$), Monocytes ($0.032\text{--}0.22\times 10^3/\mu\text{L}$). For *C. mydas* the value ranges were: Erithrocytes ($0.5\text{--}0.614\times 10^6/\mu\text{L}$), Hct (31.5–41.4%), Hb (14.9–18.9 g/L) MCV (118.1–148.7 fl), MCHC (30.2–39.1 g/L). Leukocytes ($4.7\text{--}6.9\times 10^3/\mu\text{L}$), and the differential leukocyte count was: Heterophils ($3.0\text{--}82.5\times 10^3/\mu\text{L}$), eosinophils ($0.094\text{--}7.74\times 10^3/\mu\text{L}$), lymphocytes ($0.679\text{--}39.56\times 10^3/\mu\text{L}$) and Monocytes ($0\text{--}2.35\times 10^3/\mu\text{L}$).

Keywords: Hawksbill turtle (*E. imbricata*), green turtle (*C. mydas*), hematological values.

Introduction

Hematological studies started during the 1970's in the Caribbean (Frair, 1977; Wood and Ebanks, 1984) and in Florida (Norton *et al.*, 1990). Researchers were interested in finding out if *Chelonia mydas* were having a correct diet or if anemia was present in the animals. They found hematological values variations and related them to several factors such as age, gender, stress, hormonal situation, diet, air temperature, oxygen pressure and hydration (Aguirre and Balazs, 2000). This information has encouraged other researchers to undertake more studies to understand why hematological values change and how they might be used to determine the health condition of the wild population of this endanger species.

However, there has been some confusion in relation to the blood cell classification with some inconsistency, Saint Girons (1970) found 9 cell types, Sypeak and Borysenko (1988) found 7, Wood and Ebans (1984) registered 6 and Aguirre *et al.*, (1995) reported only 5 types. Hematological evaluation is a simple method through which indicators of the health and reproductive status of an individual can be assumed (Lowell, 1998; Owens, 1980).

The inconsistencies in the blood cells classification, specially the leucocytes, in reptiles, are probably due to the criteria and the lack of standardized techniques to develop a better understanding of the animals (Work, *et al.*, 2000; Montilla, *et al.*, 2006). There are controversies in the literature in relation to how many leucocytes are recognized. In *Lepidochelys kempfi*, it has been reported only one type of granulated leucocyte; it was called eosinophils without noticing the presence of heterophylls in the periphery blood in these animals (Cannon, 1992). It is considered important to identify the morphological features and develop a classification of the blood cells, especially

white blood cells, in *E. imbricata* and *C. mydas* because these values can be used during clinical trials and field research to correlate with other findings.

No hematological studies with *E. imbricata* and *C. mydas* have been done in Mexico with female nesting adults and therefore there is not base line information to understand their health status. The Yucatan peninsula is a nesting and foraging relevant site for *E. imbricata*; *C. mydas* and *C. caretta*; (Pitchard, 2000), Taking all the above into consideration the goal of this work was evaluate the health status of both species populations based on their hematological analysis.

MATERIAL AND METHODS

70 field trips were done between April and October 2008 and 2009, in the beaches of El Cuyo, where night patrolling was carried out in 24 km of sectors East and West, and Las Coloradas where patrolling was done in 22 km of the East sector, these have been the most important nesting sites in Yucatan due to the number of nests and species registered. At the time of laying the eggs, specimens were physically examined, measured and bled.

Blood samples were collected from the dorsal cervical sinus with the Vacutainer® system (Becton, Dickenson, USA) using tubes containing lithium heparin; approximately one-half of each sample was immediately separated into plasma and cellular components by centrifugation (5000 rpm [$1118 \times g$] for 5 min). Erythrocytes and leucocytes were counted using the solution of Natt & Herricks (Campbell, 1995). To determine hemoglobin (Hb), Hematocrit (Hct), Mean Corpuscular Volume (MCV), Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC), the hematological Beckman Coulter equipment was used. The mean, standard variation and maximum/minimum for each hematological value were determined. To determine the differential leukocyte count, two subsamples were taken and stained with Dip Quick Stain, the values were

used to calculate absolute values. The animal populations were classified as healthy or sick animals upon physical examination considering the presence of any sign of disease or the presence of parasitoids or tumors (eg fibropapilloma) to classify an animal as sick.

RESULTS

A total of 80 samples of *E. imbricata* were obtained, 55 from healthy animals and 25 from sick animals (Table 1), these are the first haematological values for the species in México. In the case of *C. mydas*, 100 samples were obtained, 84 from healthy animals and 16 from sick animals (Table 1), the values obtained differ from those of other researchers. The value of erythrocytes from healthy animals of *E.imbricata* was $0.29 \times 10^6/\mu\text{L} \pm 0.044$; for sick animals it was $0.23 \times 10^6/\mu\text{L} \pm 0.24$. The observed range of leucocytes in healthy animals for *E. imbricata* was $3.95 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 0.61$ and for sick ones it was $3.5 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 2.5$ (Tabla 2). In the leukocyte counting, heterophils, limphocytes, eosinophils and monocytes were found. The observed range for healthy animlas for *E. imbricata* and heterophils was $2.63 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 0.61$; for sick animals it was $2.02 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 3.4$.

The value of erythrocytes from healthy *C. mydas* was $0.55 \times 10^6/\mu\text{L} \pm 0.031$; and for sick animals it was $0.58 \times 10^6/\mu\text{L} \pm 0.16$. The observed range of leucocytes in healthy *C. mydas* was $5.8 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 0.58$ and for sick turtles it was $5.7 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 1.9$ (Table 2). In the leukocyte counting, heterophils, limphocytes, eosinophils and monocytes were found. The observed range of heterophils for healthy *C mydas* was $5.63 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 7.75$; while for sick turtles it was $4.8 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 3.0$

A wide eosinophil range for healthy and sick in *E. imbricata* ($0.164 - 0.33 \times 10^3/\mu\text{L}$) and *C. mydas* ($0.449 - 0.486 \times 10^3/\mu\text{L}$) was observed, round cells, smooth cytoplasmatic border with scarce rounded big grains red to violet in color with an eccentric nucleolus were observed. The monocyte range for all *E. imbricata* was ($0.091 - 0.06 \times 10^3/\mu\text{L}$) and for *C. mydas* it was ($0.658 - 0.228 \times 10^3/\mu\text{L}$). Cells were observed, with abundant cytoplasm stained gray-blue with an eccentric oval nucleolus clear purple in color and chromatin evenly distributed with some vacuoles.

DISCUSSION

Aguirre and Balaz (2000) found a range $0.40 - 0.42 \times 10^6/\mu\text{L}$ erythrocyte abundance which is smaller than our findings $0.5 - 0.614 \times 10^6/\mu\text{L}$ while Montilla *et al.* (2006), reported a range $0.24 - 0.57 \times 10^6/\mu\text{L}$ which falls between the above studies.

Hematocrit was 31.5–41.4%, higher than those found by Montilla *et al.* (2006); 21 - 38 % and Aguirre and Balaz (2000) who found 17 - 35%. The MCV found was 118.7–148.7 fl a lot lower than values reported by Montilla *et al.* (2006) and Aguirre and Balaz (2000); 509.4 - 1310.3 fl.

The observed differences might be related to the age of the animals because Montilla *et al.* (2006) and Aguirre and Balaz (2000) both, used juvenile specimens for their determinations contrary to our study in a nesting adult population. Other factors that might influence the values ranges are stress and health condition (Work *et al.*, 2000, 2001). Aguirre *et al.*, (1995) found significant differences between the absolute values and the relative values in the heterophils, basophils, neutrophils and lymphocytes cells between healthy animals and turtles with fibropapilloma. The severe lymphopenia found in turtles with fibropapilloma suggest suppression or inhibition of the immunological system and neutrophilia suggests an immune response probably to

secondary bacteria. In mammals, neutrophils are very common; in turtles heterophils are equivalent to the mammalian neutrophils (Work, *et al.*, 1999; Watson, 1999; Muñoz, 2006).

During the differential count of leucocytes we observed several rounded and polychromatic erythrocytes, known as immature, their presence in low densities (less than 10 per field) is considered normal (Campbell, 1995). When the animal is anemic a high proportion of these cells are present and it can be assumed that the anemia is regenerative. However, to confirm the observation, the calculation of the reticulocyte index is necessary. This kind of anemia can be caused by hemorrhages or by the infection with ectoparasites. (Aguirre and Balazs, 2000) and it is more frequent and could be associated with chronic diseases (Watson, 1999). In Hawaii, the presence of eosinophils and basophyls in apparently healthy juvenile sea turtles or those showing tumors suggestive of fibropapillomatosis was observed (Aguirre *et al.*, 1995), other researchers consider this eosinophilia related to parasites (Work, *et al.*, 1998, Muñoz, 2006).

The monocytosis suggests a chronic infection process or something related to the immunological stimulation (Aguirre *et al.*, 1995). The basophiles were not observed in the studied samples, this might be related to the very low number, normal in healthy animals (Work *et al.*, 1998). Literature usually name heterophils to the polymorphonuclear cells observed in reptile and bird blood (Campbell, 1995; Roskopf, 2000).

REFERENCES

- Aguirre, A.A., Balazs, G. H. 2000. Plasma biochemistry values of green turtles (*Chelonia mydas*) with and without fibropapilomas in the Hawaiian Islands. *Comparative Hematology International* 10:132–137.

- Aguirre, A.A., Balazs, G. H., Speaker, T. R., Gross, T. S. 1995. Adrenal and hematological responses to stress in juvenile green turtles (*Chelonia mydas*) with and without fibropapillomas. *Physiol Zool*. 68:831-854.
- Cannon, M. S. 1992. Morphology and cytochemistry of the blood leukocytes of Kemps Ridley sea turtle (*Lepidochelys kempi*) *Can. J. Zool*. 70:1336 -1340.
- Campbell, T. 1995. Avian Hematology. Chapter 1. In: Campbell T. Avian Hematology and Cytology. 2nd Ed. Iowa State Press 3-156.
- Frair, W. 1977. Sea turtle red blood cell parameters correlated with carapace length. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 56:467-472.
- Lowel, A. 1998. The biology, husbandry and health care of reptiles. Vol. III. T.F.H. Publications, INC. United States of America. Chapter: Diagnostics procedures: hematology 703-713.
- Montilla A. J., Jim, L. H. R., Alvarado, M. C. 2006. Valores hematológicos de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) presente en la alta guajira., ISSN 0798-2259, RC, 16:219-226.
- Muñoz, F. 2006. Sistema Inmunológico como indicador del estado de salud poblacional y medioambiental en tortugas marinas. En: Memorias del XIV Taller Regional sobre Programas de Conservación de Tortugas Marinas en la Península de Yucatán. Quintana Roo. Secretaría de Ecología Pronatura Península de Yucatán CONANP 1.
- Norton, T. M., Jacobson, E. R., Sundberg, J. P. 1990. Cutaneous fibropapillomas and renal myxofibroma in a green turtle, *Chelonia mydas*, *J. Wildl. Dis* 26:265-270.
- Owens, D. W., Ruiz, G. J. 1980. New methods of obtaining blood and cerebrospinal fluid from marine turtles. *Herpetol*. 36:17-20.
- Pritchard, P. C. H., Mortimer, J. A. 2000. Taxonomía, Morfología Externa e Identificación de las Especies. En: Técnicas de investigación y manejo para la conservación de las tortugas marinas. Grupo de especialistas en tortugas marinas UICN/CSE Púb. No. 4. 23-41 Eckert, K. L., K. A. Bjorndal, F. A. Abreu-Grobois y M. Donnelly. (Editors). (traducción al español).
- Roskopf, W. 2000. Disorders of reptilian Leukocytes and Erythrocytes. Chapter 22. In; Funge A. Laboratory Medicine Avian and Exotic Pets. W. B. Saunders Company. 198-204pp
- Saint-Girons, M. C. 1970. Morphology of the circulating blood cells. In. Gans. C. (ed) London: Academic Press. Inc., 73-90.

- Sypek, J., Borysenko, M. 1998. Reptiles, In: AF Rowley, N.A., Ratcliffe (eds). Vertebrate blood cell. Cambridge, England; Cambridge University Press, 211-256.
- Watson, J. 1999. Diagnostic Procedure: Hematology. In: The biology, Husbandry and health care of reptiles. L. Asckerman (Ed) 703-713.
- Wood, F. E. Ebanks, G. K. 1984. Blood cytology and hematology of the green sea turtle, *Chelonia mydas*. Herpetological, 40:331-336.
- Work, T. M. Balazs, G. H. 1998. Causes of green turtle (*Chelonia mydas*) morbidity and mortality in Hawaii. In: Proceedings of the 17th Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation, U.S. Department of Commerce, NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-415, 291–292.
- Work, T. M. Balazs, G. H. 1999. Relating tumor score to hematology in green turtles with fibropapillomatosis in Hawaii. Journal of Wildlife Diseases 35:804–807.
- Work, T. M. Balazs, G. H., Rameyer, R. A., Chang, S. P., Berestecky, J. 2000. Assessing humoral and cell-mediated immune response in Hawaiian green turtles, *Chelonia mydas*. Vet. Immunol. and Immunopathology 74:179–194.
- Work, T. M., Rameyer, R. A., Balazs, G. H., Cray, C., Chang, S. P. 2001. Immune status of free-ranging green turtles with fibropapillomatosis from Hawaii. Journal of Wildlife Diseases 38:574–581.

Table 1. Hematological values from the red series in *E. imbricata* population of The Cuyo and The Coloradas, Yucatán, México.

<i>E. imbricata</i>								
Variables	n = 55	±SD	n = 25	±SD	n = 84	±SD	n = 16	±SD
	Media		Media		Media		Media	
Erythrocytes (10 ⁶ /μL)	0.29	0.044	0.23	0.24	0.54	0.03	0.58	0.16
Hb (g/L)	13.9	0.59	12.9	3.1	17	1.17	16.8	4.8
Hct (%)	39.9	1.38	36.4	8.5	34.5	2.72	38.2	12.8
MCV (fl)	128.1	4.64	120.2	49.4	135.7	7.56	131.8	43.8
MCHC (g/L)	35.1	0.91	34	10.5	35.3	2.2	36.5	11.3
Note: Hemoglobin (Hb), Hematocrit (Hct), Mean Corpuscular Volume (MCV), Mean Concentration Hemoglobin Corpuscular (MCHC)								

Table 2. Hematological values from the white series in *C. mydas*, population of The Cuyo and The Coloradas, Yucatán, México.

<i>C. mydas</i>								
Variables	n = 55	±SD	n = 25	±SD	n = 84	±SD	n = 16	±SD
	Media		Media		Media		Media	
Leucocytes (10 ³ /μL)	3.95	0.61	3.5	2.5	5.8	0.58	5.7	1.9
Abs value of Heterophylls*	2.63	0.61	2.0	3.4	5.63	7.75	4.8	3
Abs value of Lymphocytes*	0.872	0.298	0.56	1.56	1.87	3.93	1.4	2.2
Abs values Eosinophils*	0.164	0.006	0.13	0.39	0.449	0.745	0.486	0.60
Abs value of Monocytes*	0.091	0.04	0.06	0.22	0.658	0.560	0.228	0.39
Heterophylls (%)	65.9	4.7	53	40	83	8.63	81.2	27.5
Lymphocytes (%)	21.5	4.5	13.7	20.5	25.6	11.9	22	30.4
Eosinophills (%)	4	0.84	3.2	5.6	6.31	2.10	7.3	8.4
Monocytes (%)	2.20	0.80	1.4	3.5	2.37	0.97	3.4	5.6

Note: * 10³/μL

Table 3. Comparative analysis of analysis of the for green turtle in relation to other studies.

Hematology	This study	Montilla <i>et al</i> (2006)	Samour <i>et al.</i> , (1998)
Red Blood Cell (RBC)	0.213–0.375×10 ⁶ /μL	0.24-0.57	0.28-0.64
Hematocrit	37.6–43%	24-38	No date
Hemoglobin	13.11–14.9 g/dL	No data	5.3-12.4
Mean Corpuscular Volume (MCV)	121–139.4fl	No data	601.6-146.4
Mean Concentration Hemoglobin Corpuscular (MCHC)	30.2–39.1 g/L.	No data	20-32.5
White Blood Cell (WBC)	3.2–5.5×10 ³ /μL	2.64-12.1	0.2-4.3
Heterophylls	1.88–4.34×10 ³ /μL	76-95	0.11-2.84
Eosinophils	0.096–0.33× 10 ³ /μL	0-3	0.0-1.26
Lymphocytes	0.384–1.54×10 ³ /μL	5-20	0.02-0.87
Monocytes	0.032–0.22×10 ³ /μL	0-4	0.0-0.13

7. CAPÍTULO III

Determinación de los valores clínicos bioquímicos en sangre de las tortugas carey (*Eretmochelys imbricata*) y blanca (*Chelonia mydas*) que anidan en Yucatán.

MARÍA MÓNICA LARA UC¹, EDWIN GUTIERREZ-RUIZ¹, J. LEOPOLDO AGUILAR-FAISAL², RAFAEL RIOSMENA-RODRÍGUEZ³, FRANCISCO ARANDA-CICEROL⁴, A. ALONSO AGUIRRE⁵ Y ALFONSO AGUILAR⁶

¹ Depto. De Virología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UADY. Km 15.5 Carretera Mérida-Xmatkuil, Mérida, Yucatán, México

²Laboratorio Medicina de Conservación, ESM-IPN; Tel 57296000, Ext. 62753

³Programa de investigación en Botánica Marina, Departamento de Biología Marina, UABCS, Km 5.5 carretera al sur, La Paz B.C.S. 23080 México.

⁴Depto. de Análisis Clínicos, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UADY. Km 15.5 carretera Mérida-Xmatkuil, Mérida, Yucatán

⁵ EcoHealth Alliance 460 West 34th Street 17th floor New York, NY 10001

⁶ Departamento de Biología Marina, Universidad Autónoma de Yucatán, Km. 15.5, carretera Mérida-Xmatkuil, A.P. 4-116 Itzimná, C.P. 97100, Mérida, Yucatán, México

Este capítulo de enviara a la revista Journal of Wildlife Diseases

Determinación de valores clínicos bioquímicos en sangre de las tortugas carey (*Eretmochelys imbricata*) y blanca (*Chelonia mydas*) que anidan en Yucatán.

Resumen.

La bioquímica en sangre representa una valiosa herramienta de diagnóstico para la vigilancia y la condición de salud en animales silvestres. La extracción de las muestras sanguíneas se realizó de los senos cervicales dorsales en 80 ejemplares de *E. imbricata* y 100 de *C. mydas* adultas anidadoras con y sin parásitos. Fueron medidos el largo curvo del caparazón (LCC) y ancho curvo del caparazón (ACC) para determinar a qué clasificación de edad correspondían los animales muestreados. Se determinaron la media, desviación estándar y los valores mínimos y máximos los valores clínicos bioquímicos de Glucosa, Nitrógeno Proteico (BUN), Ácido Úrico, Creatinina, colesterol y triglicéridos, proteínas totales (P.T.), albúmina, bilirrubina total (B. T.), directa (B.D.) e indirecta (B.I.), fosfatasa alcalina (ALKP), aspartatoaminotransferasa (AST) alaninaaminotransferasa (ALT); Deshidrogenasa láctica (LDH-L) mismos que se determinaron por espectrofotometría utilizando kits comerciales; los electrolitos (sodio (Na), potasio (K), Cloro (Cl), calcio (Ca), fosforo inorgánico (Pi)) se determinaron por espectrofotometría de absorción y emisión atómicos. Estos resultados son los primeros reportados para *E. imbricata* en México, y aunque *C. mydas* es la más estudiada, no se encontraron reportes publicados en nuestro país; algunos de los valores que se reportan en este trabajo se encuentran fuera de los intervalos de referencia documentados para la especie en otros países.

El objetivo de este estudio fue determinar los valores clínicos bioquímicos en la sangre de *E. imbricata* y *C. mydas* anidando en las playas Este y Oeste del Cuyo y Este de las Coloradas, Yucatán, México.

Palabras claves: *E. imbricata*, *C. mydas*, bioquímica sanguínea, valores de referencia.

Determination of clinical biochemistry blood values of hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) and green turtles (*Chelonia mydas*) nesting in the State of Yucatan.

Abstract

Blood biochemistry is a valuable diagnostic tool for clinical monitoring and knowing the health status of wildlife animals. Blood samples were collected from the dorsal cervical sinus in 80 nesting adult specimens of *E. imbricata* and 100 of *C. mydas*. The curved carapace length (CCL) and curved carapace width (ACC) were measured in order to calculate the age of the animals. Biochemistry analytes were analyzed and the mean, standard deviation, minimum and maximum values were calculated for glucose, protein nitrogen (BUN), uric acid, creatinine, cholesterol and triglycerides, total protein (TP), albumin, total bilirubin (TB), direct bilirubin (BD) and indirect bilirubin (BI), alkaline phosphatase (ALKP), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), lactic dehydrogenase (LDH) using spectrophotometry with commercial kits, the minerals sodium (Na), potassium (K), chlorine (Cl), calcium (Ca) and phosphorus (Pi) were determined by absorption and emission spectrophotometry.

These results are the first reported for *E. imbricata* in Mexico, and although *C. mydas* is the most studied species we did not find published reports in Mexico. Some of the biochemistry values reported in our study are outside the reference ranges for the species, documented in other countries.

The aim of this study was to determine the biochemical blood values for *E. imbricata* and *C. mydas*, nesting on the East and West beaches of EL Cuyo and East beach of Las Coloradas, Yucatan, Mexico

Keywords: *E. imbricata*, *C. mydas*, blood biochemistry values.

Introducción.

La bioquímica sanguínea representa una valiosa herramienta para el monitoreo de salud de la fauna silvestre, tanto en su medio natural como en cautiverio (Aguirre y Balazs, 2000), lo que permite obtener una evaluación renal, hepática, celular y muscular de un animal. La mayor parte de las pruebas de bioquímica sanguínea se realizan con el suero sanguíneo, pero grupos de expertos recomiendan el uso generalizado del plasma (Deem, *et al.* 2009; Work, *et al.* 2000), sobre todo en especies donde no es fácil la extracción de una cantidad suficiente de sangre que permite obtener suero después de la retracción del coágulo. En las tortugas marinas se ha recomendado el uso de heparina de litio. *Eretmochelys imbricata* y *Chelonia mydas* son especies protegidas y objeto de diversos estudios para su protección como por ejemplo, la temporada de reproducción, que incluye uso y destino de nidos, eficiencia de técnicas utilizadas y comparación entre parámetros embrionarios de los campamentos tortugeros (Cuevas *et al.* 2006). En este trabajo se incluyó el estudio de bioquímica clínica ya que permite la comprensión del estado de salud a partir de productos del metabolismo como química sanguínea, perfil hepático, perfil renal, perfil enzimático y electrolitos; lo cual es muy difícil establecer en condiciones de vida libre, los valores de cada analito fueron de hembras adultas anidadoras a las que se les realizó un examen físico para la detección de ectoparásitos y fibropapilomas, dichos valores pueden servir en la integración de un diagnóstico certero (Montilla, *et al.* 2008). Estos valores también pueden ser utilizados como referencia para evaluar la condición fisiológica de *E. imbricata* y *C. mydas* presentes en México.

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar y comparar los valores bioquímicos en plasma sanguíneo de *E. imbricata* y *C. mydas*, con y sin parásitos, presentes en las playas de anidación este y oeste del El Cuyo y Este de las Coloradas, Yucatán, México.

Materiales y Métodos

Área de estudio.

La zona de estudio comprendió un área de más de 650 km² de zona marina (entre 21.6° N -88.08° O y 21.7° N- 87.8° O) frente a las costas de la Reserva de la biosfera de Ría Lagartos (RBRL), que cuenta con un litoral de 74 km.

Las playas Este y Oeste del Cuyo fueron para *E. imbricata* y La playa Este de las Coloradas para *C. mydas* por ser las de mayor anidación (Figura 1).

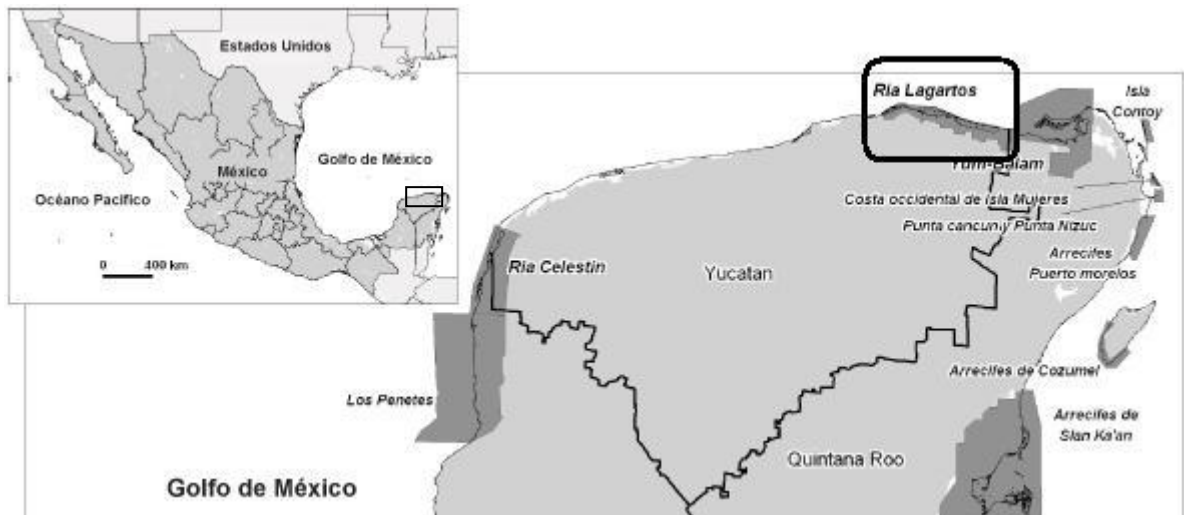


Figura 1. Ubicación geográfica de las playas índice en la Reserva de la Biosfera Ría Lagartos: Las comisariías de Las Coloradas y El Cuyo en el municipio de Tizimin, Yucatán, México.

Muestreo

Se realizaron 70 salidas de campo comprendidas entre abril-octubre de 2008 y 2009.

En las playas del Cuyo se realizaron patrullajes nocturnos en los 24 kilómetros en dos sectores (Este y Oeste) de longitud de la playa de anidación; mientras que en las playas de Las Coloradas los recorridos se hicieron en 22 kilómetros en un sector (Este).

La hora de la toma de muestra sanguínea varió de acuerdo al recorrido que se fue realizando y al avistamiento de cada ejemplar, los recorridos nocturnos comenzaron generalmente a las 9:00 pm y terminaron alrededor de las 6:00 am. En el momento del desove se realizó la evaluación física para observar si presentaban lesiones en algún aparte de su cuerpo, parásitos y/o fibropapiloma; se registraron los datos morfológicos: Largo Curvo del Caparazón (LCC) y Ancho Curvo del Caparazón (ACC), utilizando una cinta métrica flexible, con la finalidad de establecer grupos de clases por tamaño, según la talla en: subadultos (LCC 65.1 - 85 cm) y adultos (LCC > 85 cm) y la toma de muestra de sangre de 80 tortugas *E. imbricata* en las playas Este y Oeste del Cuyo, de las cuales 55 tortugas sin parásitos y 25 con parásitos y 100 de *C. mydas*; 84 tortugas sin parásitos y 16 con parásitos en la playa Este del las Coloradas, Yucatán, México.

Extracción de muestras sanguíneas

La extracción sangre se realizó utilizando la técnica de punción de los senos cervicales dorsales (Owens y Ruiz, 1980; Balazs, *et al.* 1987). La cabeza de la tortuga se colocó más abajo del cuerpo para que los senos se llenaran de sangre y facilitará su extracción, se introdujo en ángulo perpendicular al cuello, una aguja calibre 21, conectada a un sistema BD Vacutainer^{MR} de toma múltiple (Aguirre *et al.*, 1995) conectada a tubos de vidrio con heparina con litio; después de la extracción de sangre se presionó la zona de punción para prevenir la formación de hematomas. Las muestras sanguíneas se mantuvieron refrigeradas en una nevera con geles refrigerantes entre 3 y 5 horas, hasta el procesamiento de la misma.

Análisis bioquímico de la sangre:

El plasma se separó de las células sanguíneas, por centrifugación a $1000 \times g$ durante 10 minutos, para evitar que ocasionaran cambios en los valores bioquímicos: glucosa, BUN, creatinina, ácido úrico; proteínas totales, albúmina, globulinas, bilirrubinas totales, directa e indirecta, colesterol, triglicéridos, aspartatoaminotransferasa (AST); alaninaaminotransferasa (ALT), fosfatasa alcalina (ALKP); deshidrogenasa láctica (LDH-L); estos analitos se determinaron utilizando kits comerciales de la casa comercial Bayer (Central de Diagnóstica e Industria, S.A. de C.V.), con un analizador de Química Clínica Vital Scientific (microlab 300); Electrolitos: sodio, potasio calcio, cloro y fósforo inorgánico se determinaron por espectrofotometría de absorción y emisión, utilizando un espectrofotómetro marca Perkin Elmer modelo 3100) (EUA).

Los datos obtenidos fueron analizados utilizando el programa estadístico SPSS versión (15). Los resultados se expresaron como promedio \pm la desviación estándar, valores mínimos y máximos. Para estudiar posibles variaciones en las determinaciones bioquímicas entre *E. imbricata* con y sin parásitos y *C. mydas* con y sin parásitos, se realizó el análisis de la varianza con un factor (ANOVA) con un nivel de confianza de 95%,. Para establecer una comparación más detallada de cada una de las muestras se realizó la prueba de Turkey. Las diferencias se consideraron significativas a un valor de $P \leq 0,05$.

Resultados

Se obtuvieron dos categorías de clases para *E. imbricata* (sub adultos y adultos) y para *C. mydas* (solo te tuvo una clase: adultos), siguiendo las categorías de la población sobre la estructura de clases por tamaño empleada para estimar la edad como (Aguirre y Balazs, 2000 y Hasbún *et al.*, 1998). Un total de 22 analitos clínicos bioquímicos se evaluaron en (55) *E. imbricata* y (84) *C. mydas* sin parásitos y (25) *E. imbricata* y (16) *C. mydas* con y sin parásitos que anidan en las playas Este y Oeste del Cuyo y en la playa Este de las Coloradas, Yucatán, México. Los resultados obtenidos para *E. imbricata* se presentan en el cuadro 1 y para *C. mydas* en el cuadro 2.

Cuadro 1. Valores clínicos bioquímicos en el plasma sanguíneo de *E. imbricata* con o sin parásitos que anidan en Yucatán.

<i>E. imbricata</i>						
Analitos	n = 25 con parásitos	± 2 DE	Min – Máx	n = 55 sin parásitos	± 2 DE	Min – Máx
Gluc*	95	6.7	92 – 103	107.4	1.67	104 – 110
BUN*	32.3	1.3	31.9 – 35.3	37.3	1.48	34.2 – 39.8
Creat*	2.9	0.33	2.73 – 3.6	3.95	0.41	3.26 – 4.9
Ác. Úr*	4.2	0.44	4.0 – 5.1	5.3	0.4	4.7 – 6.0
P.T.**	5.6	2.7	5.2 – 6.8	7.19	0.5	6.2 – 8.3
Alb.**	2.7	0.32	2.2 – 3.5	3.84	0.5	3.1 – 4.8
Glob**	1	0.02	0.9 – 1.4	1.55	0.29	1.1 – 2.0
Rel A/G	0.15	0.02	0.11 – 0.25	0.27	0.05	0.2 – 0.4
B.T*	1.3	0.08	1.0 – 2.1	1.79	0.21	1.5 – 2.5
B.D*	0.18	0.02	0.11 – 0.80	0.5	0.24	0.25 – 0.99
B.I*	0.9	0.08	0.79 – 1.3	1.36	0.21	0.5 – 2.5
Colest.*	120	5.4	118 – 134	136	0.21	129 – 150
Trig.*	100	3.9	93 – 108	107.9	2.96	104 – 115
AST***	132	23.4	119 – 139	138	7.2	129 – 284
ALT***	74	28	59 – 82	90	21.4	70 – 182
LDH***	496	146.4	427 – 543	549	96.2	442 – 1142
ALKP***	132	17.8	123 – 138	141	8.6	126 – 282
Na****	114	5.2	112 – 117	120	3.54	115 – 126
K****	3.2	0.57	2.9 – 3.6	3.7	0.4	3.2 – 4.6
Cl****	13	1.77	12 – 14	15	1.16	13 – 17.2
Ca*	11.8	1.5	11.2 – 13	13	1.17	11.8 – 15.4
Pi****	4.2	0.7	3.7 – 4.5	4.9	0.39	4.21 – 5.49

Nota: Las unidades en las que se reportan para * es miligramo por decilitro (mg/dL), para ** es gramos por litro (g/L), para *** es Unidades Internacionales por litro (U/L), y para **** miliequivalentes por litro (meq/L), Desviación estándar (DE), Mínimo (Min.), Máximo (Máx.). Cuadro 2. Valores clínicos bioquímicos en el plasma sanguíneo de *C. mydas* con o sin parásitos que anidan en Yucatán.

C. mydas

Analitos	n = 16 con parásitos	± 2 DE	Min – Máx	n = 84 sin parásitos	± 2 DE.	Min – Max
Gluc*	119	18.7	88 – 214	126	5	118 – 135
BUN*	35.9	12.4	23.5 – 50	33.5	7.3	24.4 – 46.1
Creat*	4.3	3.1	3.0 – 10	3.6	1.49	1.8 – 6.7
Ác. Úr*	6.5	2.5	4.4 – 9.3	5.7	1.3	4.2 – 8.6
P.T.**	6.1	2	5.5 – 9.7	7.2	0.82	6.4 – 8.8
Alb.**	4	1.3	2.1 – 6.3	3.5	0.61	3.0 – 4.9
Glob**	2	0.96	1.1 – 5.3	2.1	0.48	1.2 – 2.8
Rel A/G	2	0.39	1.6 – 2.5	1.9	0.19	1.7 – 2.4
B.T*	2.0	1	1.4 – 4.5	2.5	0.31	1.6 – 3.0
B.D*	0.73	0.67	0.11 – 1.9	0.41	0.22	0.17 – 0.99
B.I*	1.9	0.93	0.51 – 3.9	2.1	0.37	1.2 – 2.6
Colest.*	181	24.7	147 – 217	190	6.5	176- 210
Trig.*	152	33.5	130 – 250	138	9.6	124 – 162
AST***	147	31.4	119 – 188	139	9.98	129 – 163
ALT***	116	15.7	99 – 139	110	7.9	101 – 126
LDH***	688	275.7	400 – 979	539	166.6	429 – 899
ALKP***	132	30.1	100 – 164	123	18.7	103 – 158
Na****	142	13.2	122 – 160	139	18.7	132 – 151
K****	4.6	1.33	2.9 – 6.5	5	0.6	3.7 – 5.8
Cl****	110	9.7	100 – 125	1157	3.24	106 – 120
Ca*	14.3	3.5	10.3 – 19.3	14.7	1.14	12.2 – 17.5
Pi****	10.1	5.4	4.0 – 16.7	9.9	2.5	6.15 – 15.6

Nota: Las unidades en las que se reportan para * es miligramo por decilitro (mg/dL), para ** es gramos por litro (g/L), para *** es Unidades Internacionales por litro (U/L), y para **** miliequivalentes por litro (meq/L), Desviación estándar (DE), Mínimo (Min.), Máximo (Máx.).

Los resultados del análisis de varianza para todos los valores obtenidos se muestran en el cuadro 3. Los analitos que tuvieron una diferencia significativa para *E. imbricata* y *C. mydas* con y sin parásitos fueron Glucosa (Gluc), proteínas totales (P:T.), albúmina(Alb), globulinas (Glob), relación A/G (A/G), colesterol (Col), triglicéridos (Trig), sodio (Na), potasio (K), cloro (Cl), calcio (Ca) y fosforo inorgánico (Pi).

Cuadro 3. Análisis de varianza (ANOVA de un factor) para *E. imbricata* y *C. mydas* con y sin parásitos, que anidan en Yucatán.

E. imbricata y C. mydas con y sin parásitos				
Analitos	Media cuadrática	F	p≤0.05	Sig
Gluc	(212,5*), (68,1**)	4,382	0,038	●
BUN	(39,37*), (38,486**)	0,164	0,686	
Creat	(2,29*), (2,2**)	0,100	0,752	
Ác. Úr	(2,853*), (2,082**)	1,371	0,243	
P.T.	(12,612*), (1,178**)	10,702	0,001	●
Alb.	(9,225*), (0,625**)	14,770	0,000	●
Glob	(4,049*), (0,355**)	11,404	0,001	●
Rel A/G	(6,984*), (0,748**)	9,339	0,003	●
B.T	(5,344*), (0,446**)	11,973	0,001	●
B.D	(0,320*), (0,165**)	1,947	0,165	
B.I	(5,415*), (0,383**)	14,151	0,000	●
Colest.	(878,934*), (696,548**)	17,422	0,000	●
Trig.	(523,89*), (496,76**)	8,152	0,005	●
AST	(153,43*), (197,68**)	0,776	0,379	
ALT	(18,78*), (502,23**)	0,037	0,847	
LDH	(336,91*), (240,4**)	1,399	0,238	
ALKP	(425,12*), (328,05**)	1,296	0,256	
Na	(118,777*), (165,18**)	7,194	0,008	●
K	(8,377*), (1,097**)	7,636	0,006	●
Cl	(14,766*), (25,13**)	5,866	0,016	●
Ca	(34,944*), (4,099**)	8,525	0,004	●
Pi	(14,066*), (16,013**)	0,878	0,350	

Nota: *intergrupo, para **intragrupo, ● La diferencia de las medias es significativa a p≤0.05.

Los resultados de la prueba de Turkey se muestran en el anexo I.

Discusión

Los estudios de laboratorio se basan en valores obtenidos en otros países como Australia, Emiratos Árabes Unidos, EUA y Venezuela (Hamann *et al.* 2006; Whiting *et al.*, 2007; Hasbún *et al.* 1998; Aguirre y Balazs 2000; Bolten y Bjorndal 1992; Stamper *et al.* 2005; y Montilla *et al.* 2008) para *C. mydas* y para otras especies como *Caretta caretta* (Deem, *et al.* 2009; Delgado *et al.* 2000; Bolten *et al.* 1992) y *Lepidochelys kempfi* (Canon, 1992). Por lo que estos resultados son los primeros en obtenerse y reportarse en México, para hembras adultas anidadoras. En México no se tienen valores de referencia de bioquímica sanguínea establecidos para *E. imbricata*.

Mientras que para *C. mydas* existen algunos reportes que se han presentado en congresos y reuniones de los diferentes grupos tortugueros pero no en Yucatán. Por lo que serían los primeros en reportarse para el estado.

Los analitos que presentaron diferencias estadísticas significativas fueron: Glucosa, P.T., albúmina, globulinas, relación A/G, B.T. Colesterol, triglicéridos, Na, K, Cl, y Ca de tal manera que se está comprobando que las especies de *E. imbricata* y *C. mydas* con y sin parásitos tienen valores bioquímicos distintos.

La media de la glucosa para *C. mydas* con y sin parásitos fue ($X=119$ y $X=126$ mg/dL), en comparación con Montilla *et al.* (2008), son similares, coincidiendo que están incrementados a los valores de referencia utilizados para esta especie (70-120mg/dL). Stamper *et al.* (2005), reportaron (79mg/dL), mientras que Aguirre y Balazs, (2000) reportan (114.7mg/dL). Aguirre *et al.* (1995), reportó valores más bajos (86,60mg/dL) para tortugas muestreadas a 0 horas de captura, los cuales después de 3 a 4 horas de captura sus valores se incrementaron a (143,40mg/dL).

Las proteínas totales ($X=7.2$, $X=7.14$ g/dL) presentaron un incremento con respecto a los valores reportados por Montilla, *et al.* (2008) (4.37 g/dL); Aguirre y Balazs, (2000) (4.2g/L), y Hasbún *et al.* (1998) (8.06g/dL), referente a los valores que reporta Stamper *et al.* (2005) (36.0g/L) y Hamann *et al.* (2006) (37.9 g/dL), en comparación a los valores obtenidos en la presente investigación estaban disminuidos.

La albumina ($X=3.9$, $X=4.0$ g/L), presentó un incremento a los valores reportados por Montilla, *et al.* (2008) (1.50g/dL); Aguirre y Balazs, (2000) (1.7g/L) y Hasbún *et al.* (1998) (1.92g/dL), mientras que los valores que reportaron Stamper *et al.* (2005) (13g/L) y Hamann *et al.* (2006) (18.3g/dL), con respecto a los valores obtenidos en la presente investigación estaban disminuidos.

Hasbún *et al.* (1998) reportaron (226mg/dL) de Colesterol, en comparación a los valores obtenidos en la presente investigación están disminuidos ($X=181$, $X=180$ mg/dL) y en comparación con los valores reportados por Aguirre y Balazs, (2000) (140mg/dL), son más cercanos al valor que se obtuvo en esta investigación. Esta variable es un indicador de condiciones fisiológicas y patológicas; generalmente los valores elevados están asociados con enfermedades en el hígado, hipotiroidismo, dieta alta en grasa, entre otros.

Los valores de triglicéridos ($X=152.4$ y $X=138.7$ mg/dL) fueron considerablemente menores a los obtenidos por Aguirre y Balazs, (2000) reportaron valores de (124,2 y 84,0mg/dL) de dos localidades de Hawaii, esto puede ser que el estrés durante la toma

de la muestra sanguínea y el tiempo transcurrido fuera de su hábitat natural sin alimentación regular, producen variaciones en sus valores. Hasbún *et al.* (1998) reportaron los valores promedios más elevados de (433.85mg/dL) para tortugas hembras adultas.

El sodio constituye un 90% de los componentes osmóticamente activos del plasma en tortugas marinas (Dessauver, 1970). Los niveles de sodio obtenidos en esta investigación ($X=142.2$ y $X=139.2$ meq/L) fueron similares al compararlos con Hasbún *et al.* (1998) reportó valores de (146meq/L), ligeramente disminuidos al compararlos con (158meq/L) lo reportado por Dessauer, (1970) y Aguirre y Balazs, (2000), en dos Islas Hawaianas, reportaron valores de (158.0 y 154.0meq/L). Los resultados reportados por Bolten y Björndal, (1992), (172meq/L) fueron los valores más altos a los obtenidos en el presente estudio.

Los niveles de potasio de (3 a 6meq/L), caracteriza a todos los reptiles (Dessauver, 1970); los resultados obtenidos en el presente estudio ($X=3.4$ y $X=4.7$ meq/L) se encuentran dentro de los valores reportados por Aguirre *et al.* (1995), de (4.98 meq/L). Igualmente, Hasbún *et al.*, 1998 reportaron (5.61meq/L) en tortuga hembras adultas respectivamente. Aguirre y Balazs, (2000) obtuvieron valores de (5.2 y 4.8meq/L) en dos localidades de hawaii.

Los niveles de calcio ($X=14.3$ y $X=115.7$ mg/dL) en la presente investigación, fueron más elevados a los reportados por Aguirre *et al.* (1995) (8.42mg/dL) mientras que Aguirre y Balazs, 2000, reportaron valores más elevados de (9.1mg/dL, para tortugas de la Bahía de Kaneohe, Oahu y (11.2mg/dL) para tortugas de Kiholo y Kona, Hawaii. Valores más bajos de (6.86mg/dL) en tortugas hembras son atribuidas al proceso de formación de huevos durante los meses de junio y julio en los Emiratos Árabes Unidos. Las diferencias de algunos de los analitos puede ser debidas a varios factores como la zona de alimentación y desove, la edad, la temperatura, el estrés durante la toma de la muestra sanguínea y el tiempo transcurrido fuera de su hábitat natural sin alimentación regular (Aguirre y Balazs, 2000).

Es importante establecer valores de referencia para cada especie por la diversidad en los valores sanguíneos en las diferentes etapas pelágicas de las poblaciones de tortugas marinas.

Conclusiones

1. Los valores de Glucosa, P.T. albúmina, Colesterol, triglicéridos, Na, K, Cl mostraron diferencias significativas al compararlos con los intervalos descritos por otros autores.
2. Los valores bioquímicos para *E. imbricata* son los primeros en reportarse en México.
3. Hay diferencia significativa en las medias de los valores bioquímicos de *E. imbricata* y *C. mydas* con y sin parásitos y/o fibropapiloma, por lo que no se pueden utilizar como referencia entre especies.

Referencias

- Aguirre, A.A.; Balazs, G.H. 2000. Blood Biochemistry Values of Green Turtles, (*Chelonia mydas*), with and without Fibropapillomatosis. Comparative Haematology International 10:132-137.
- Aguirre, A.A.; Balazs, G.H.; Spraker T. 1995 Adrenal and hematological responses to stress in juvenile green turtles (*Chelonia mydas*) with and without fibropapillomas. Physiol Zoo 68:831-854.
- Balazs, G.M.; Forsyth, R.G.; Kam, A.K.H. 1987. Preliminary assessment of habitat utilization by Hawaiian green turtles in their resident foraging pastures. US Dept Comm. NOAA tech. Men. NMFS, NOAA-TM-NMFS-SWFC-71,107.
- Bolten, A.; Björndal, K. 1992. Blood profiles for a wild population of green turtles (*Chelonia mydas*) in the southern Bahamas: size-specific and sex-specific relationships. J Wild Dis. 28:407-413.
- Bolten, A.; Jacobson E. and Björndal, K. 1992. Effects of anticoagulant and autoanalyzer on biochemical values of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). Am J. Vet. Res. 53:2224-2277.
- Cannon, M.S. 1992. The morphology and cytochemistry of the leukocytes of Kemp's ridley sea turtle (*Lepidochelys kempfi*), Can. J. Zool. 70:1336-1340.
- Cuevas E, Guzmán-Hernández V, García-Alvarado P, Abreu-Grobois FA, Tzeec-Tuz M, González-Garza BI. 2006. Fifteen years of hawksbill tagging data in the Yucatan Peninsula, Mexico. Tech Rep Natl Fish Wildl Found #2005-0008-0,13.
- Delgado, C. Quaresma, I. Neves da Costa, M. and Delliger, T. 2000. Blood Biochemistry and Hematological values for wild juvenile pelagic Loggerheads (*Caretta caretta*) of Madeira Island North-Eastern Atlantic. Madeira, Portugal.

- Demm, S.L. Terry M. Norton, Mark Mitchell, Al Segars, A.Rick Alleman, Carolyn Cray, Robert, H. Poppenga, Mark Dodd and William B. Karesh. 2009. Comparison of blood values in foraging, nesting, and stranded Loggerhead turtles (*Caretta caretta*) along the coast of Georgia, USA. *J. Wildl Des.* 45:41-56.
- Dessauer, H. 1970. Blood Chemistry of Reptiles: Physiological and evolutionary aspects. In: Gans, C., Parsons, T. (Eds). *Biology of the Reptilian*. Vol. 3. Morphology, Academic Press, New York. 1-72.
- Hamann, M. Schäuble, C. Simon, T and Evans, S. 2006. Demographic and health parameters of green sea turtles *Chelonia mydas* foraging in the Gulf of Carpentaria, Australia. *Endag Spec Res.* 2:81-88.
- Hasbún, C.R.; Lawrence, A.J.; Naldo, J.; Samour, J.H.; Al-Ghais, S.M. 1998. Normal Blood Chemistry of Free-living Green Sea Turtles, (*Chelonia mydas*), from the United Arab Emirates. *Comp Haematol Inter* 8: 174-177.
- Montilla, F.; Hernández, R.; Jim, L. y Alvarado, M.C. 2008. Valores bioquímicos de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) presente en la alta guajira., *Rev. C.*, 4:431-436.
- Owens, D.; Ruiz, G. 1980. New methods of obtaining blood and cerebrospinal fluid from marine turtles. *Herpetol.* 36:17-20.
- Stamper, M., Harms, C., Epperly, S., Braun-McNeill, J., Avens, L. and Stoskopf, M. 2005. Relationship between barnacle epibiotic load and hematologic parameters in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*), a comparison between migratory and residential animals in Pamlico Sound, North Carolina. *J Zoo and Wildl Med.* 36:635–641.
- Whiting, S. Guinea, M. Limpus, C. and Fomiatti, K. 2007. Blood chemistry reference values for two ecologically distinct populations of foraging green turtles, Eastern Indian Ocean. *Comp Clin Pathol* 16:109–118
- Work, T. M. Balazs, G. H., Rameyer, R. A., Chang, S. P., Berestecky, J. 2000. Assessing humoral and cell-mediated immune response in Hawaiian green turtles, (*Chelonia mydas*). *Veterinary Immunology and Immunopathology* 74:179–194.

8. CAPÍTULO IV

Frecuencia y abundancia de ectoparásitos en tortuga carey (*Eretmochelys imbricata*) y tortuga blanca (*Chelonia mydas*) que anidan en Yucatán.

MARÍA MÓNICA LARA-UC¹, EDWIN GUTIERREZ-RUIZ¹, LEOPOLDO AGUILAR-FAISAL², RAFAEL RIOSMENA-RODRÍGUEZ³, FRANCISCO ARANDA¹, FELIPE ACOSTA⁴ Y ALFONSO AGUILAR⁵.

¹ Depto. De Virología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UADY. Km 15.5 Carretera Mérida-Xmatkuil, Mérida, Yucatán, México

²Laboratorio Medicina de Conservación, ESM-IPN; Tel 57296000, Ext. 62753

³Programa de investigación en Botánica Marina, Departamento de Biología Marina, UABCS, Km 5.5 carretera al sur, La Paz B.C.S. 23080 México.

⁴ Área de pequeños Rumiantes: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán, Dirección: Km 15.5 Carretera Mérida-Xmatkuil, Mérida, Yucatán, México

⁵ Departamento de Biología Marina, Universidad autónoma de Yucatán, Km 15.5 Carretera Mérida-Xmatkuil, Mérida, Yucatán, México

Este capítulo se enviara a la siguiente revista Journal of Herpetology

Frecuencia y abundancia de ectoparásitos en *Eretmochelys imbricata* y *Chelonia mydas* que anidan en Yucatán.

Resumen

Con el propósito de identificar ectoparásitos y balanos en tortugas carey (*E. imbricata*) y Blanca (*C. mydas*) anidantes en las playas Este y Oeste del Cuyo y la playa Este las Coloradas, Yucatán, México, se realizó la exploración de piel, aletas delanteras (axilares), aletas traseras (inguinales), caparazón y en algunos casos del plastrón de 80 tortugas *E. imbricata* y 100 *C. mydas* en las temporadas de anidación 2008 y 2009. Se hizo un registro del tipo y número de ectoparásitos y balanos en cada una de las tortugas monitoreadas. Los resultados mostraron un mayor porcentaje del balano *Platylepa hexastylus*, adheridos al cuello y aletas axilares e inguinales en *E. imbricata* (90%) y *C. mydas* (5%). El balano *Chelonibia testudinaria* se halló adherido al caparazón en *E. imbricata* (70%) y *C. mydas* (10%), mientras que el balano *Chelonibia caretta* en un 63% en *E. imbricata* y 2% en *C. mydas*. Se encontró la sanguijuela *Ozobranchus margo* adherida a la cloaca en un 31% de *E. imbricata* (media de 2 parásitos por tortuga y un rango de 0-8), y los crustáceos *Idotea sp* adheridos al cuello se encontraron en (15%) de los ejemplares de *E. imbricata* (media de 8 parásitos y un rango de 10-40). El objetivo de este trabajo fue determinar la frecuencia, abundancia y localización de ectoparásitos en *E. imbricata* y *C. mydas*.

Palabras clave. Tortuga carey (*E. imbricata*), tortuga blanca (*C. mydas*), balanos, Ectoparásitos, sanguijuelas, crustáceos.

Frequency and abundance of ectoparasites in *Eretmochelys imbricata* and *Chelonia mydas* nesting in Yucatan.

Abstract

With the aim of identifying ectoparasites and epibionts in hawksbill turtles (*E. imbricata*) and green turtles (*C. mydas*) arriving to the east and west beaches of El Cuyo and the East beach of Las Coloradas, Yucatan, Mexico, the exploration of the skin, forelimbs (axillary), rear fins (groin), the shell and in some cases the plastron of 80 turtles *E. imbricata* and 100 turtles *C. mydas* during the nesting seasons in 2008 and 2009 was carried out. The type and number of ectoparasites and biota from each of the examined turtles was recorded. The results showed a higher percentage of the barnacle *Platylepa hexastylus*, attached to the neck and axillary and inguinal fins of *E. imbricata* (90%) than in *C. mydas* (5%). The barnacle *Chelonibia testudinaria* was found attached to the shell of 70% of *E. imbricata* and 10% of *C. mydas*, while the barnacle *Chelonibia caretta* was present in 63% of *E. imbricata* and 2% of *C. mydas*. The leech *Ozobranchus margo* attached to the cloaca was found in 31% of *E. imbricata* (mean 2 parasites per turtle with a range of 0-8), the crustaceans *Idotea sp* attached to the neck were found in 15% of *E. imbricata* (mean 8 parasites per turtle with a range 10-40). The aim of this paper was to determine the frequency, abundance and localization of ectoparasites found in *E. imbricata* and *C. mydas*, nesting in Yucatan.

Keywords: Hawksbill turtle (*E. imbricata*), green turtle (*C. mydas*), Epibionts, Ectoparasites, leeches, crustaceans.

Introducción

Existen dos grupos de poblaciones que pueden colonizar a las tortugas marinas: 1) los generalistas, compuesto por especies pelágicas y/o bentónicas que también pueden colonizar otros sustratos vivos o inanimados y que forman parte de las poblaciones que se encuentran en las tortugas marinas con relativa frecuencia (Frick *et al.*, 2005); dentro de este grupo pueden incluirse los cirrípedos lepadomorfos (*Lepas spp.*, *Conchoderma virgatum*) y algunos balanomorfos (*Balanus spp.*); los moluscos bivalvos, varias especies de anfípodos y los poliquetos sedentarios; y 2) los especialistas, formado por los cirrípedos balanoformos de las familias *Chelonibiidae* y *Platylepadiidae*, el copépodo *Balaenophilus sp.*, el anfípodo *Podocerus chelonophilus* y el hirudíneo *Ozobranchus margoii*, que principalmente se encuentran en las tortugas marinas, aunque algunas de estas especies se han citado puntualmente en otros hospedadores (Frick *et al.*, 2003).

Las tortugas marinas, tanto del Golfo de México como del Caribe así como del Océano Pacífico, poseen poblaciones diversas de parásitos por lo que se requieren estudios sobre ellas (Schärer, 2001). En un estudio de parásitos de *Lepidochelys olivacea*, de Michoacán y Oaxaca, México, Gámez *et al.*, (2006), encontraron especies como; *Conchoderma virgatum*, *Ozobranchus branchiatus*, *Chelonibia caretta*. Esta última especie se diferencia de su congénere *Chelonibia. testudinaria* por poseer las suturas de la concha estrechos, profundos y sin aspecto estrellado, además de presentar un aspecto general mas plano. Otra característica distintiva es que los individuos de esta especie se encuentran ligeramente embebidos en el caparazón de la tortuga, (Gámez *et al.*, 2006 y 2008).

Los parásitos, tanto internos como externos, descritos en tortugas marinas pueden ocasionales la muerte además de predisponerlas a otras enfermedades como el fibropapiloma (Aguirre y Lutz, 2004; Work, 2000, Work *et al.*, 2005). Actualmente, la única información referente a la relación de sanguijuelas y fibropapiloma se halla en *Chelonia mydas*, de las islas de Hawai, donde se ha determinado una relación entre el número de hirudíneos y fibropapilomatosis (Díaz, *et al.*, 1992). Por otra parte, en Escobilla y Mazunte, en Oaxaca, y San Jerónimo, en Guerrero, ambas en México, al revisar 326 tortugas *Lepidochelys olivacea* no mostraron ninguna relación entre la presencia o número de hirudíneos y la existencia de fibropapilomas en el tejido subcutáneo de las tortugas. No obstante, esta relación sí se encontró en tortugas

Lepidochelys olivacea, en la playa La Gloria de Jalisco, México (Hernández-Vázquez y Valadez-Gasca, 1998). Esto, quizá pueda causarles reducción del rendimiento seguido por una disminución de la supervivencia y la capacidad de obtener su alimento sin ser presas de los depredadores, para las hembras también se ha reportado la reducción de la fecundidad (Gámez *et al.*, 2006; Alfaro, *et al.* 2006; Badillo, 2007). El objetivo fue determinar la frecuencia, abundancia y localización de ectoparásitos encontrados en *E. imbricata* y *C. mydas*, que anidan en Yucatán.

Materiales y Métodos

Las áreas de estudio fueron las playas Este y Oeste del Cuyo para *E. imbricata* y la playa Este de las Coloradas para *C. mydas*. Se realizaron 70 salidas de campo comprendidas entre abril-octubre 2008 y 2009. (ver capítulo III).

Obtención de muestras parasitarias

Se realizó una inspección física minuciosa para contabilizar de manera directa el número de parásitos presentes en cada una de las regiones anatómicas de las tortugas como; cabeza, cuello, caparazón, aletas delanteras y traseras, cloaca y cola, de 80 ejemplares de *E. imbricata* de los cuales (55) ejemplares no tuvieron parásitos y (25) fueron positivos al menos a un tipo de los mismos y 100 ejemplares de *C. mydas* adultas anidadoras, se observaron (84) libres de ectoparásitos y (16) con ectoparásitos detectadas al momento del desove. Los balanos se separaron por especie y se colocaron en formol (10%) con un pH 7.2 y en alcohol etílico (70%), para su posterior identificación en el laboratorio.

Las sanguijuelas se colectaron de la cloaca de las tortugas usando pinzas y agujas de disección, y se colocaron en cajas de petri con solución salina (0.65%) en donde se aplanaron entre dos placas de vidrio y se fijaron en formalina (10%) durante 24 h, conservados en alcohol (70%); los crustáceos se conservaron en alcohol (70%) hasta su identificación en el laboratorio. Los ejemplares se identificaron con la ayuda de guías taxonómicas, para los balanos se utilizaron los criterios taxonómicos por Relini (1980), para los crustáceos se utilizaron los criterios de identificación por Naylor (1972) y para las de sanguijuelas los criterios por Oka (1927) y Davies (1978).

Los datos fueron analizados utilizando primeramente la prueba de Chi² para comparar el porcentaje y luego para observar el OR se utilizó un análisis de regresión lineal.

Resultados

Las frecuencias de tortugas positivas 25 de 80 (31%) *E. imbricata* presentaron algún tipo de ectoparásito mientras que 16 de 100 (16%) *C. mydas* fueron positivas a ectoparásitos. Para *E. imbricata* la frecuencia de *Platylepas hexastylus* fue de 48.8, para *Chelonibia testudinaria* fue de 3.6, *Chelonibia caretta* fue 0.62, *O. margoi* fue de 0.62 y para *Idotea sp* fue de 1.5. Con respecto a *C. mydas*; la frecuencia para *Platylepas hexastylus* fue de 2.19, para *Chelonibia testudinaria* fue de 0.17, mientras que *Chelonibia caretta* fue 0.17.

En el análisis estadístico *E. imbricata* tuvo una razón de probabilidad (OR) de 2.38 lo que indica que existe más del doble de probabilidad de tener ectoparásitos que *C. mydas* ($P \leq 0.05$).

Cuadro1. Tabla de contingencia para *E. imbricata* y *C. mydas* con y sin parásitos que anidan en Yucatán.

Especie	Sin parásitos	Con Parásitos	Total
<i>E. imbricata</i>	55	25	80
<i>C. mydas</i>	84	16	100
Total	139	41	180

Se registraron 5 especies de ectoparásitos asociados a *E. imbricata* y 3 a *C. mydas*: Las Tres especies Arthropoda fueron (*Platylepas hexastylus*, *Chelonibia testudinaria* y *Chelonibia caretta*), la especie Anélida: Hirudíea fue *Ozobranchus margoi* y la especie crustacea: Anfípoda fue *Idotea sp* localizados en diferentes regiones corporales como la cabeza, el cuello, las aletas delanteras y traseras, el caparazón y la cloaca. (Cuadro 2).

Cuadro 2. Especies de ectoparásitos localizadas en las diferentes regiones corporales de *E. imbricata* y *C. mydas* que anidan en Yucatán.

<i>E. imbricata</i> n = 25									
Ectoparásitos	Frec	Ca	Cue	A-de	A-tr	Cap	Cl	Co	Total
<i>Platylepas hexastylus</i>	156	20	2140	742	998	0	0	7	3907
<i>Chelonibia testudinaria</i>	11.8	3	2	0	0	290	0	0	295
<i>Chelonibia caretta</i>	2	0	0	0	10	40	0	0	50
<i>Ozobranchus margoii</i>	2	0	0	0	0	0	50	0	50
<i>Idotea sp</i>	4.8	0	120	0	0	0	0	0	120
<i>C. mydas</i> n= 16									
Ectoparásitos		Ca	Cue	A-de	A-tr	Cap	Cl	Co	Total
<i>Platylepas hexastylus</i>	13.6	6	90	58	65	0	0	0	219
<i>Chelonibia testudinaria</i>	1.0	1	0	0	0	16	0	0	17
<i>Chelonibia caretta</i>	1.0	0	0	3	4	10	0	0	17
<i>Ozobranchus margoii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Idotea sp</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total		30	2352	803	1077	356	50	7	

Nota: Frec= frecuencia, Ca= cabeza, Cue= cuello, A-de= aletas delanteras, A-tr= aletas traseras, Cap= caparazón, Cl= cloaca, Co= cola

El balano más frecuente fue *Platylepas hexastylus*, fue más abundante en *E. imbricata* que en *C. mydas*, encontrándose principalmente sobre el cuello y las aletas delanteras y traseras (Figura 1).



Figura 1. Crustácea: Cirripedia: *Platylepas hexastylus* localizados en el cuello de *E. imbricata* que anidan en la playa Este del Cuyo, Yucatán, México.

El cirrípedo *Chelonibia testudinaria* fue más abundante en el caparazón en *E. imbricata* que en *C. mydas* (Figura 2)



Figura 2. Crustácea: Cirripedia: *Chelonibia testudinaria*, localizados en el caparazón de *E. imbricata* en la playa Este del Cuyo, Yucatán, México. Las heridas que observan fueron provocadas al retirar los balanos.

El cirrípedo *Chelonibia caretta* fue más abundante en *C. mydas* que en *E. imbricata* (Figura 3).



Figura 3. Crustácea: Cirripedia: *Chelonibia caretta* localizados en el caparazón de *C. mydas* en la playa Oeste de las Coloradas, Yucatán, México.

Se encontró la sanguijuela *Ozobranchus margo* (Figura 4) adheridas a la cloaca en un 31% de los ejemplares de *E. imbricata* con una media de 2 parásitos por tortuga y un rango de 0-8.

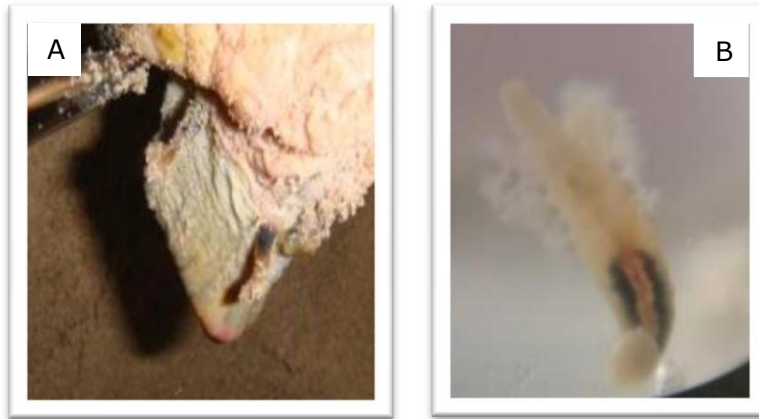


Figura 4. Anélido: Hirudínea: *Ozobranchus margoï* localizado en la mucosa de la cloaca de *E. imbricata* en la playa Este del cuyo Yucatán, México

Los crustáceos *Idotea sp* (Figura 5) en un 15% de los ejemplares de *E. imbricata*, se observaron adheridos al cuello con una media de 8 parásitos y un rango de 10-40.



Figura 5. Crustáceo: *Idotea sp* localizado en el cuello de *E. imbricata* en la playa Este del Cuyo Yucatán, México.

Discusión.

Los balanos más frecuentes fueron los cirrípedos lepadomorfos, de los cuales se identificaron tres especies: *Platylepas hexastylus*, *Chelonibia testudinaria* y *Chelonibia caretta*.

Platylepas hexastylus, fue más abundante en *E. imbricata* (90%) que en *C. mydas* (16%) encontrándose principalmente sobre el cuello y las aletas delanteras y traseras (Figura 2) En 2005, Cárdenas-Palomo y Maldonado-Gasca reportaron la misma especie con una

abundancia relativa (92.2%) en *E. imbricata*, lo cual puede deberse a que la piel en estas regiones es más blanda y presenta pliegues que facilitan la fijación de estos pequeños parásitos que miden entre 15 mm y 22 mm de diámetro. Bugoni, *et al.*, 2001, también reportó la misma especie en tortugas del Brasil. y Gamez *et al.*, 2006 en Michoacán y Oaxaca.

El balano *Chelonibia testudinaria* fue más abundante en el caparazón en *E. imbricata* (70%) que en *C. mydas* (10%) (Figura 3). Cárdenas-Palomo y Maldonado-Gasca (2005) reportó que esta especie se localizó sobre el plastrón y caparazón (40%), posiblemente porque al ser invertebrados de mayor tamaño (80 mm y 90 mm), necesitan un sustrato más duro y estable para lograr su fijación. En grandes cantidades afectan la locomoción y las capacidades de la tortuga, ya que al haber demasiados en los pliegues de la piel no permiten que se muevan bien las aletas y en ocasiones pueden desarrollarse cerca de los ojos o fosas nasales impidiendo su visión y respiración. Díaz *et al.* (1992) registraron (67.2%) de cirrípedos en tortugas *Lepidochelys olivacea* en las costas de Michoacán; las áreas más afectadas fueron caparazón, aletas, cabeza y cuello. Caine (1986) reportó que es el balano más común en las tortugas *Caretta caretta* en los Estados Unidos, mientras que Limpus *et al.*, (1994), lo reportó como el más común en *C. mydas* en Australia.

Mientras que *Chelonibia carreta* se diferencia de su congénere (Figura 3) *C. testudinarum* por que se encuentra ligeramente incrustada en el caparazón de la tortuga. Esta especie se ha citado por Frick *et al.* (2002, 2003); Schärer, (2001); Williams *et al.* (2006) en *E. imbricata* y *C. mydas*. En este estudio sólo se observó en *C. mydas*.

Se encontró la sanguijuela *Ozobranchus margo* (Figura 4) adheridas a la cloaca Cárdenas-Palomo y Maldonado-Gasca, (2006) observaron hasta 56 sanguijuelas localizados únicamente en el plastrón, otro ejemplar presentó la misma especie de sanguijuela en la cloaca, acompañadas por diminutos huevecillos. Hernández-Vázquez y Valadez-González, (1998), y Gamez *et al.* (2006) la observaron y reportaron en Michoacán y Oaxaca. En este estudio sólo se observó en *E. imbricata*.

Se observó la especie *Idotea sp.* (Figura 5) Badillo (2007) describió que este grupo de crustáceos están representados por nueve especies en el litoral español (Junoy y Castelló, 2003), es abundante en el plancton costero, pudiéndose encontrar con frecuencia sobre objetos a la deriva y en hojas de *Posidonia* flotantes. En este estudio se

encontró sólo en *E. imbricata* adheridos al cuello. Esta especie no se había reportado en México.

Conclusiones.

1. Se observó que en *E. imbricata* el 31% de los animales presentaron al menos un tipo de ectoparásito.
2. Se observó que en *C. mydas* el 31% de los animales presentaron al menos un tipo de ectoparásito.
3. El balano *Platylepas hexastylus* fue más abundante en *E. imbricata* que *C. mydas*.
4. El Anélido *Ozobranchus margo* es una sanguijuela que se encontró únicamente en *E. imbricata*.
5. Es la primera ocasión que se reporta la presencia de la especie *Idotea sp* en *E. imbricata*.

Referencias

- Aguirre, A.A.; Lutz, P.L. 2004, Marine turtles as Sentinels of Ecosystem Health: Is Fibropapilomatosis an indicator EcoHealth 1:275-283.
- Alfaro, A. Koie, M. Buchmann, Kurt. 2006. Synopsis of infections in sea turtles caused by virus, bacteria and parasites: an ecological review. University the Copenhagen. Report.30
- Badillo, A.F.J. 2007. Epizoítos y Parásitos de la tortuga Boba (*Caretta caretta*) en el mediterráneo occidental. Tesis de Doctorado, Universidad de Valencia. 264
- Cárdenas-Palomo, N. y A. Maldonado-Gasca. 2005. Epibiontes de tortugas de carey juveniles *Eretmochelys imbricata* en el Santuario de Tortugas Marinas de Río Lagartos, Yucatán, México. CICIMAR Océánides. 20:29-35.
- Bugoni, L., Krause, L., Oliveira, A., Pádua, A.A. 2001. Commensal Barnacles of Sea Turtles in Brazil. *Marine Turtle Newsletter*. 94:7-9.
- Caine, E.A. 1986. Carapace epibionts of nesting loggerhead sea turtles: Atlantic coast of USA. *J. of Experimental. Marine Biology & Ecology*. 95:15-26
- Díaz, M.M.; Gutiérrez, B.J.; Jasso, L.D.; López, S.C.; Sarti, M.L.; Vallejo, A.C. 1992. Epibiontes y estado físico de las tortugas *Lepidochelys olivacea* y *Dermochelys coriacea* en el playón de Mexiquillo, Michoacán, durante la temporada de anidación 1988-1989; Publ. Soc. Herpetol. Mex. 19-25.

- Frick, M.G., Williams, K.L., Veljacic, D.C., Jackson, J.A. y Knight S.E. 2005. Epibiont community succession on nesting loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) from Georgia, USA, 280-282. In: *Proceedings of the 20th Symposium of Sea Turtle Biology and Conservation*, 2000. Orlando, FL.
- Frick, M.G., Mason, P.A., Williams, K.L., Andrews, K. y Gerstung, H. 2003. Epibionts of hawksbill turtles, *Eretmochelys imbricata*, in a Caribbean nesting ground: A potentially unique association with snapping shrimp. *Mar. Turtle, Newsltr.* 99:8-11.
- Frick, M.G., Williams, K.L. y Veljacic, D.C. 2002. New records of epibionts from loggerhead sea turtles *Caretta caretta* (L.) *Bull. Mar. Sci.* 70: 953-956.
- Gómez, S.V.; Osorio, D.S.; Peñaflores, C.S.; García, A.H.; Ramírez, J.L. 2006. Identification of parasites and epibionts in the Olive Ridley Turtle (*Lepidochelys olivacea*) that arrived to the beaches of Michoacán and Oaxaca, Mexico. *Vet. Méx.* 37:431-440.
- Gómez, S.V.; Osorio, D.S.; Peñaflores, C.S.; García, A.H.; Ramírez, J.L. 2008. Patología de las Tortugas marinas (*Lepidochelys olivacea*) que arriban a las playas de Cuyutlán, Colima, México. *Vet. Méx.* 40:69-78.
- Hernández-Vázquez, s. Valadez-González. 1998. Observaciones de los epizoarios encontrados sobre la Tortuga golfina *Lepidochelys olivacea* en la Gloria, Jalisco, México. *Cienc. Mar.* 24:119-125.
- Limpus, C.J. Couper, C.P., Read, M.A. 1994. The green turtle, *Chelonia mydas* (Linnaeus 1758). U.S Fish and Wildlife Service Biological Report 97:1-120.
- Shärer, M. T. 2001. A survey of the epibiota of hawksbill sea turtles (*Eretmochelys imbricata*) of Mona Island, Puerto Rico. M.S. Thesis, University of Puerto Rico, Mayaguez, 82.
- Williams, K.L., Frick, M.G. y Pfaller, J.B. 2006. First report of green, *Chelonia mydas*, and Kemp's ridley, *Lepidochelys kempii* turtle nesting on Wassaw Island, Georgia, USA. *Mar. Turtle Newsltr.*, 113:8.
- Work, M.T. 2000. Manual de necropsias de tortugas marinas para biólogos en refugios o áreas remotas, National Wildlife Health Center Hawaii Field Station, Disponiblen: URL: www.nwhc.usgs.gov/hfs/Globals/Products/turtlm/esp.pdf <http://www.nwhc.usos.go>

Work, T.M.; Balazs, G.H.; Schumacher, J.L.; Marie, A. 2005. Epizootiology of spirorchiid infection in green turtles (*Chelonia mydas*) in Hawaii. *J. Parasitol.* 91:871-876.

9. CAPÍTULO V

Frecuencia y número de fibropapilomas en tortugas *E. imbricata* y *Chelonia mydas* en dos playas de Yucatán.

MARÍA MONICA LARA-UC¹, EDWIN GUTIERREZ-RUIZ¹, LEOPOLDO AGUILAR-FAISAL²,
RAFAEL RIOSMENA³, FRANCISCO ARANDA¹, A. ALONSO AGUIRRE⁴, FELIPE ACOSTA⁵, ALFONSO
AGUILAR⁶ AND EDUARDO SIERRA-LIRA⁷.

¹ Unidad de Diagnóstico, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UADY.

Km 15.5 carretera Mérida-Xmatkuil, Mérida, Yucatán

²Laboratorio Medicina de Conservación, ESM-IPN; Tel 57296000, Ext. 62753

³Programa de investigación en Botánica Marina, Departamento de Biología

Marina, UABCS, Km 5.5 carretera al sur, La Paz B.C.S. 23080 México.

⁴ EcoHealth Alliance 460 West 34th Street 17th floor New York, NY 10001

⁵ Área de Pequeños Rumiantes: Facultad de Medicina Veterinaria Zootecnia.

Universidad Autónoma de Yucatán. Dirección: Km. 15.5 carretera Mérida-

Xmatkuil, Mérida, Yucatán

⁶ Departamento de Biología Marina, Universidad Autónoma de Yucatán,

Km. 15.5, carretera Mérida-Xmatkuil, A.P. 4-116 Itzimmá, C.P.

97100, Mérida, Yucatán, México

⁷ Depto. Medicina Interna y Cirugía. Facultad de Medicina Veterinaria y

Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán, Km. 15.5 carretera

Mérida-Xmatkuil, Mérida, Yucatán.

Se someterá a la siguiente revista Journal of Wildlife Diseases

Frecuencia y número de fibropapilomas en tortugas *E. imbricata* y *Chelonia mydas* anidadoras en playas de Yucatán.

Resumen

En el presente trabajo se describen los hallazgos de tumores cutáneos observados en *E. imbricata* y *Chelonia mydas* que desovaron en las playas Oeste y Este del Cuyo y la playa Este de Las Coloradas, Yucatán, México. De 100 ejemplares de *C. mydas* se observaron tumores cutáneos en 2 ejemplares (2%) y fueron extirpados quirúrgicamente, encontrándose en una 90 y en la otra 60 tumores bien delimitados en el cuello, aletas axilares y aletas inguinales derechas e izquierdas, De 80 ejemplares de *E. imbricata*, solo un ejemplar (1.25%) presentó un tumor cutáneo localizado en la parte inferior del cuello, al cual se le tomo una biopsia. Los valores hematológicos y bioquímicos sanguíneos fueron obtenidos en los 3 ejemplares, los analitos aparentemente afectados por la presencia de tumores de fibropapiloma fueron los leucocitos, heterofilos, proteínas totales, albúmina, colesterol, triglicéridos y calcio. Estos tumores se identificaron histológicamente como fibromas constituidos por un discreto número de fibroblastos y abundantes fibras de colágeno. Los fibropapilomas cutáneos mostraron protecciones papilares caracterizadas por un moderado a marcado grado de hiperqueratosis, presencia de perlas corneas y una moderada hiperplasia del epitelio estratificado escamoso. Para confirmar la una posible infección por herpesvirus, considerado como agente etiológico de la fibropapilomatosis en tortugas marinas, se utilizó una técnica de PCR basada en el uso de iniciadores dirigidos a una región consenso del genoma del herpesvirus. Todos los fibropapilomas cutáneos mostraron positividad frente a herpesvirus con esta técnica.

Palabras Clave: *E. imbricata*, *C. mydas*, fibropapiloma, PCR, Oligonucleótidos, Herpesvirus y tumores.

Frecuency and number of fibropapillomas in *E.imbricata* and *Chelonia mydas* turtles nesting in beaches of Yucatan.

Abstract

The current work describes the findings of skin tumors observed in three specimens of *Chelonia mydas* nesting on the West and East beaches of El Cuyo and the East beach of Las Coloradas, Yucatan, Mexico. Skin tumors were surgically removed from 2 specimens of *C. Mydas*, where 90 and 60 tumors were found respectively in the neck, axillary flaps, fins and left and right groin. In the case of *E. imbricata* only one animal presented one tumor located in the lower neck, a biopsy was obtained from this specimen. The tumors were histological identified as fibroids, which were constituted by a discrete number of fibroblasts and abundant collagen fibers. The hematological and blood biochemical values were obtained from the three animals. The analytes probably affected by the presence of fibropapiloma tumors were: leukocytes, heterophils, total protein, albumin, cholesterol, triglycerides and calcium. The fibropapilomas showed papillary dermal protection structures characterized by moderate to marked degree of hyperkeratosis, the presence of queratin pearls and moderate hyperplasia of stratified squamous epithelium. To confirm a possible herpesvirus, considered the etiological agent of fibropapilomatosis in sea turtles, a PCR technique based on the use of specific primers to a herpesvirus genome consensus region was used. All samples were positive for the herpesvirus genome.

Keywords: *E. imbricata*, *C. mydas*, fibropapilloma, PCR Primers, herpesvirus and tumors.

Introducción

Las primeras descripciones de tumores cutáneos identificados como fibropapilomas en *Chelonia mydas* datan de 1930 en las costas de Florida (Smith y Coates, 1938). Desde entonces, se han realizado numerosas observaciones de la enfermedad en las costas de Hawaii, Puerto Rico, Barbados, Islas Caimán, Islas Vírgenes, Panamá, Colombia, Venezuela, Belice, y Australia en poblaciones de *C. mydas*, *Caretta caretta* (Jacobson *et al.*, 1991). La prevalencia de la enfermedad se ha ido incrementando de forma alarmante desde los años 80's de tal modo que en ciertas áreas de Florida y Hawaii se estima que del (50 al 92%) de la población está afectada (Work *et al.*, 2008). La enfermedad fue inicialmente descrita en *Chelonia mydas* de donde toma su denominación Green turtle fibropapillomatosis, (GTFP.), también se ha referenciado en *Caretta caretta*, *Lepidochelys olivacea* y *Natator depressus* (Herbst, *et al.*, 1994, Greeblatt *et al.*, 2005), la enfermedad se caracteriza por la aparición de múltiples tumores cutáneos de naturaleza fibroepitelial en cuello, conjuntiva ocular, extremidades, cola, regiones axilares e inguinales, caparazón y plastrón (Jacobson *et al.*, 1989). Las tortugas afectadas se suelen mostrar emaciadas, débiles y anémicas, y la afectación ocular suele conllevar a la ceguera. También se han descrito fibromas en órganos internos como pulmón, hígado, riñón y tracto gastrointestinal, originando alteraciones en la flotabilidad, necrosis por presión del parénquima hepático, fallo renal y obstrucción intestinal respectivamente (Herbst *et al.*, 1994). Histológicamente los tumores cutáneos muestran una hiperplasia epidérmica papilar y/o proliferación hiperplásica de la dermis, mostrándose como lesión inicial una degeneración vacuolar de las células epidérmicas del estrato basal (Jacobson *et al.*, 1989. Chaloupka y Balazs, 2005).

Actualmente no existe tratamiento para la enfermedad, a excepción de la extirpación quirúrgica del o de los tumores, cuando es posible, principalmente de aquéllos que están sobre ojos y boca, con el fin de posibilitar su visión y que pueda buscar su comida y alimentarse. La recuperación depende de qué tan avanzada esta la enfermedad y de qué tanto pueda soportar la tortuga, ya que puede estar muy débil (Aguirre, *et al.*, 1998).

Desde que se tuvo conocimiento acerca de la posible etiología viral de la enfermedad, se emplearon una gran variedad de técnicas para realizar el diagnóstico de

la misma, desde la observación por microscopía electrónica de tejidos tumorales, hasta las más sofisticadas técnicas de biología molecular, empleando al gen de la polimerasa del virus, e incluso se ha intentado el aislamiento viral en líneas celulares derivadas de órganos de tortugas vivas. En México, a pesar de que hay avistamientos de tortugas con tumores, no se conocen trabajos oficiales, reportes, ni datos estadísticos sobre la enfermedad, y mucho menos existen estudios de diagnóstico de los tumores. El objetivo de este estudio fue determinar la frecuencia de la enfermedad y número de tumores en *E. imbricata* y *C. mydas* en dos playas de anidación de Yucatán, México.

Material y Métodos

Área de estudio.

El área de estudio fue en las playas Este y Oeste del Cuyo para *E. imbricata* y la playa Este de las Coloradas para *C. mydas* (Ver capítulo III).

Muestreo

La obtención de muestras de sangre, en tubos con heparina de litio como anticoagulante, y de los tumores encontrados (extracción o biopsia), así como de tejido aparentemente normal de la aleta frontal de 10 ejemplares sin ectoparásitos o tumores visibles (controles), se realizó como se menciona en el capítulo III.

Procesamiento de muestras *in situ*

Cada muestra obtenida tanto tejido tumoral como de tejido no tumoral se fragmentó en tres porciones de 0.5-1 cm que fueron colocadas en tres recipientes, uno con solución de formalina salinizada 10% para análisis histopatológico y un segundo fragmento se colocó en crioviales con y sin medio de transporte viral que fueron congelados inmediatamente con nitrógeno líquido para extracción de ADN.

Histopatología.

Se emplearon muestras prefijadas en formalina salinizada 10%. Después de haber retirado este fijador con agua corriente, se deshidrataron con concentraciones crecientes de alcohol etílico (50, 70, 80, 90), y se impregnaron con xileno, para posteriormente incluir las muestras en parafina, luego de realizar los cortes se desparafinaron con xilol durante 5 min, se pasaron a una mezcla de carbol-xilol-creosota por 5 min, luego a alcohol de 96° por 5 min y a alcohol de 70° por otros 5 min, para después hidratar en agua corriente por 5 min. Ya hidratados, se tiñeron con hematoxilina de Harris durante 5 min y se lavaron por inmersión en agua corriente. Se diferenció con alcohol durante

unos segundos y se lavó nuevamente por inmersión, pero ahora en agua destilada. Se alcalinizó con agua amoniacal y se lavaron perfectamente con agua destilada. Después se tiñeron con el segundo colorante (eosina) durante 30 seg, y se lavaron con alcohol de 96° por escurrimiento, para después volver a deshidratarlas con la mezcla de carbol-xilol-creosota. Finalmente, los cortes teñidos se transparentaron con xilol durante 5 min y se montaron sobre bálsamo de Canadá o resina sintética.

PCR de muestras de tejidos tumorales y no tumorales

La extracción de DNA de tejidos tumorales y no tumorales de tortugas marinas se hizo con ayuda del kit DNeasy de Qiagen.

Se realizó la amplificación de un fragmento del gen de la DNA polimerasa de herpesvirus de tortuga, empleando iniciadores específicos GTHV1 y GTHV2 y siguiendo el protocolo descrito por Quackenbush *et al.*, 1998 obtenidos a partir de regiones altamente conservadas de la DNA polimerasa de herpesvirus de tortuga (ver más abajo). El tamaño esperado del amplificado es de 165 bp.

GTHV1 (sentido)

5' TGTCTGGAGGTGGCGGCCACG 3'

GTHV2 (antisentido)

5' GACACGCAGGCCAAAAAGCGA 3'

Se decidió emplear este par de iniciadores dado que están reportados como específicos para búsqueda de secuencias de nucleótidos de la DNA polimerasa de herpesvirus de tortugas. Los iniciadores se rehidrataron con agua grado molecular, la concentración final fue de 10pM para preparar la solución de trabajo. Se utilizaron los reactivos del kit comercial Taq PCR core kit de Qiagen. Los productos de amplificación se separaron por electroforesis en un gel de agarosa al 2.5% usando un regulador Tris-borato-EDTA (pH 8.2), y una corriente de 110 V (2.0 A) durante 60 min. El gel se tiñó con bromuro de etidio (0.5 µL/mL) durante 10 min y se eliminó el exceso sumergiendo el gel en agua desionizada durante dos min.

Se empleó la amplificación 3D Viewer del programa Quantity One versión 4.52 del fotodocumentador Gel Doc XR de Biorad para resaltar los productos de amplificación de baja densidad en el gel de separación.

Resultados.

La frecuencia que se obtuvo para *C. mydas* fue de 2% para los dos ejemplares con un número de tumores de 90 y 60 respectivamente y para *E. imbricata* del 1.25% con un

solo tumor. Se obtuvieron y analizaron las muestras de los tumores de los 2 ejemplares de *C. mydas* y uno de *E. imbricata*.

El primer caso fue el de una *C. mydas* (Figura1) de aproximadamente 25 años, cuyo peso era de 85 kg, las medidas morfométricas fueron LCC= 86.2 cm y ACC= 82.5 cm.

Los resultados de los valores hematológicos y bioquímicos se muestran en el cuadro 1.

Cuadro 1. Valores hematológicos y bioquímicos sanguíneos para un ejemplar de *C. mydas* adulto que arribo a la playa Este del Cuyo, Yucatán, México.

Serie roja					Serie blanca				
Eritrocitos	Hb*	Hto %	MCV	MCHC*	Leuc	Heter	Linf	Eos	Mono
0.210	13.2	20.5	90	30	3.7	2.22	0.333	0.301	0.05
Valores bioquímicos									
Gluc*	BUN*	Creat*	Ac.úr*	P.T.**	Alb**	BT*	BD*	BI*	Col*
70	29.3	2.67	4.99	4.86	1.9	1.9	1.5	0.4	65
Trig*	AST***	ALT***	LDH***	ALKP***	Na****	K****	Cl****	Ca*	Pi*
40	125	80	79	61	151	4.4	109	8.3	7.3

Valores hematológicos y bioquímicos sanguíneos para el segundo ejemplar de *C. mydas* adulto que arribo a la playa Oeste del Cuyo, Yucatán, México.

Serie roja					Serie blanca				
Eritrocitos	Hb*	Hto %	MCV	MCHC*	Leuc	Heter	Linf	Eos	Mono
0.250	14.2	21.6	87	45	4.9	4.7	1.5	0.33	0.22
Valores bioquímicos									
Gluc*	BUN*	Creat*	Ac.úr*	P.T.**	Alb**	BT*	BD*	BI*	Col*
111	34	3.0	3.9	5.5	2.2	2.0	1	1	93
Trig*	AST***	ALT***	LDH***	ALKP***	Na****	K****	Cl****	Ca*	Pi*
87	134	110	530	116	135	4	105	12	7

Nota: Las unidades en las que se reportan para * es miligramo por decilitro (mg/dL), para ** es gramos por litro (g/L), para *** es Unidades Internacionales por litro (U/L), y para **** miliequivalentes por litro (meq/L).

Para *C. mydas* se observaron diferentes tumores en las regiones axilares derecha e izquierda e inguinales derecha e izquierda, plastrón, caparazón y cuello. (Figura 1A y B). El tumor que más destacó fue uno que se localizó en la aleta inguinal izquierda de aproximadamente 10 cm de largo por 5 cm de espesor. (Figura 1B).



Figura 1. Ejemplar de *C. mydas* que arribo a la playa Este del Cuyo, Yucatán, México. En A) se observan diferentes tumores cutáneos en las aletas inguinales derecha e izquierda. En B) se observa un tumor localizado en la aleta inguinal izquierda.

Se revisaron los cortes histológicos de los tumores extirpados de *C. mydas* de los cuales se obtuvieron cortes de diferentes secciones desde el interior donde se encontraba la parte fibrosa y necrosada, hacia el exterior, incluyendo la cápsula donde se encontraba la masa fibrosa (Figura 2A y B). La descripción corresponde a una perla cornea formada de queratina que es sintetizada por células denominadas queratinocitos (Herbst, *et al.*, 1999). El cúmulo de la queratina es de manera concéntrica, (Figura 2B). En capas más externas se observó una pérdida de la organización del tejido y algunas células con núcleos picnóticos y citoplasma no definido. (Figura 3).

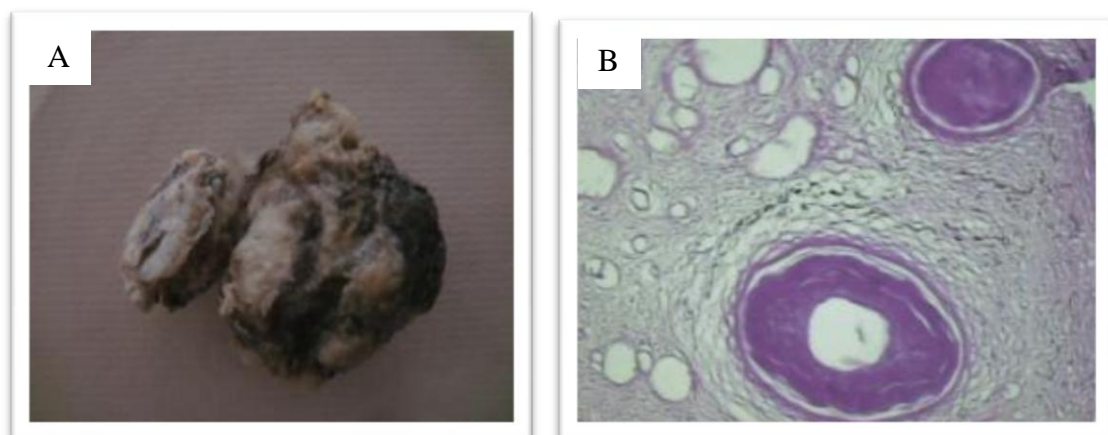


Figura 2. A). Región fibrosa del tumor de la aleta izquierda de *C. mydas* encontrada en la playa Este del Cuyo, Yucatán, México. B) Corte histológico donde se observa la formación de perlas corneas.

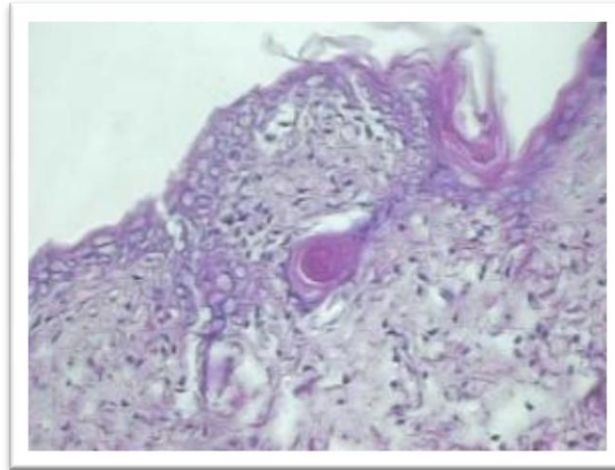


Figura 3. Corte histológico de fibropapiloma de *C. mydas* donde se observan células polimorfonucleadas o multinucleadas.

Los resultados de PCR para el primer ejemplar de *C. mydas* resultaron positivos al tamaño de banda esperado (165 pb) para el herpesvirus como se muestra en la figura 4.

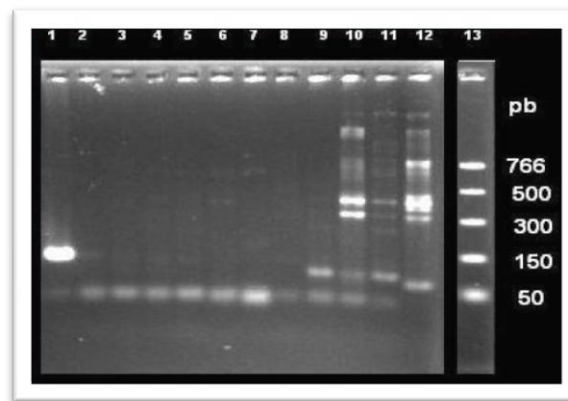


Figura 4. Productos de amplificación por PCR de fibropapiloma en un ejemplar de *C. mydas*. Carril 13. Marcador de peso molecular, carriles 1-12 muestras de tumores localizados en diferentes áreas del cuerpo de la tortuga.

El segundo caso correspondió a un ejemplar *C. mydas* adulta de, entre 25-30 años de edad, medidas de LCC=99.5 y ACC=93 cm, no se pudo pesar debido a su gran tamaño. Se encontró en la playa Oeste del Cuyo, Yucatán, México (Figura 5).

Los valores hematológicos y bioquímicos se presentan en el cuadro 1.

En este caso las masas tumorales presentaron diferentes grados de necrosis, la mayoría se encontraban alrededor cuello, entre la cabeza, cerca del ojo y las aletas axilares e inguinales (izquierda y derecha).



Figura 5. *C. mydas*, que arribo a la playa Oeste de Las Coloradas, Yucatán, México. Se observan tumores cutáneos en las aletas axilares derechas.

Se revisaron secciones de tumores con tejido compuesto por células epiteliales ovas a poliédricas (escamosas) que se organizan en estratos que revisten estructuras papilares sostenidas por una cantidad moderada de estroma fibrovascular con numerosas células fusiformes y estelares que muestran núcleos hipercromáticos y que alternan con abundantes histiocitos repletos de gránulos negros (melanófagos) (Figura 6A y B).

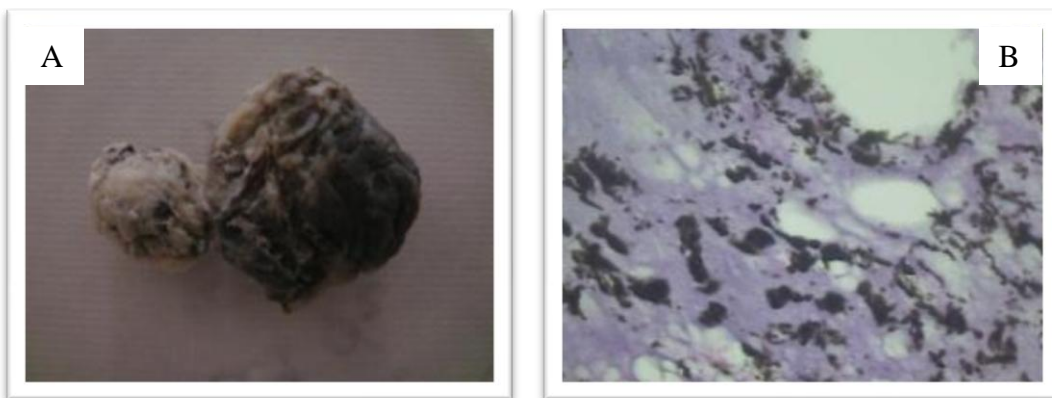


Figura 6. Fibropapilomas en un ejemplar de *C. mydas* adulto. A).Tumor necrótico y en B) se observan células con núcleos picnóticos.

Los resultados de PCR para el segundo ejemplar de *C. mydas* adulto, fueron positivos como se observa la figura 7 observándose la banda del tamaño esperado de 165 pb.

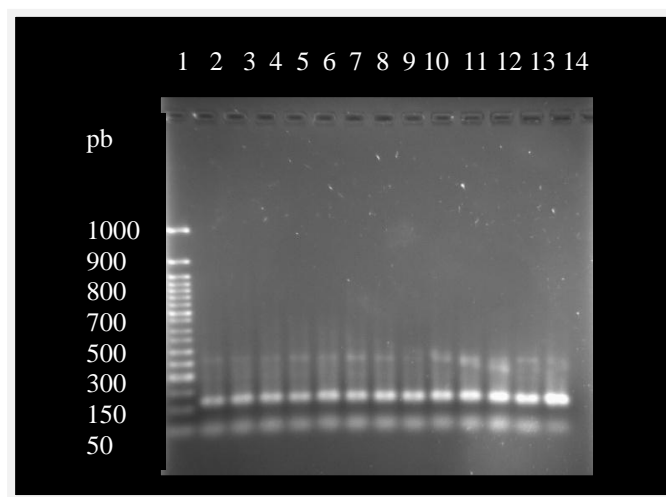


Figura 7. Productos de amplificación por PCR de fibropapiloma en un ejemplar adulto de *C. mydas*. Carril 13. Marcador de peso molecular. Carriles 2-14, muestras de los tumores localizados en diferentes áreas del cuerpo de la tortuga.

El tercer caso corresponde a una hembra adulta de *E. imbricata*, de entre 25-30 años de edad, medidas de LCC=95 y ACC=90 cm, no se pudo pesar. Se encontró en la playa Oeste de las Coloradas, Yucatán, México (Figura 8).

Los valores hematológicos y bioquímicos se muestran en el cuadro 3.

Cuadro 2. Valores hematológicos y bioquímicos sanguíneos para un ejemplar de *E. imbricata* adulto que arribó a la playa Oeste de las Coloradas, Yucatán, México.

		Serie roja				Serie blanca				
Eritrocitos	Hb*	Hto %	MCV	MCHC*	Leuc	Heter	Linf	Eos	Mono	
0.213	14	38.2	125	35	3.4	2.0	1.2	0.44	0.23	
Valores bioquímicos										
Gluc*	BUN*	Creat*	Ac.úr*	P.T.**	Alb**	BT*	BD*	BI*	Col*	
109	35	3.3	4.9	6.8	3.5	1.5	1	0.5	140	
Trig*	AST***	ALT***	LDH***	ALKP***	Na****	K****	Cl****	Ca*	Pi*	
102	130	78	560	150	120	15	4.0	14	5.0	

Nota: Las unidades en las que se reportan para * es miligramo por decilitro (mg/dL), para ** es gramos por litro (g/L), para *** es Unidades Internacionales por litro (U/L), y para **** miliequivalentes por litro (meq/L).

No se realizaron cortes histológicos por que la muestra no fue suficiente para realizar el estudio.



Figura 8. Ejemplar de *E. imbricata* que anido en la playa Oeste de Las Coloradas, Yucatán, México. Se observa la presencia de una masa tumoral debajo del cuello.

En los resultados de PCR (Figura 9) se identificó la banda de interés de aproximadamente 165 pb.

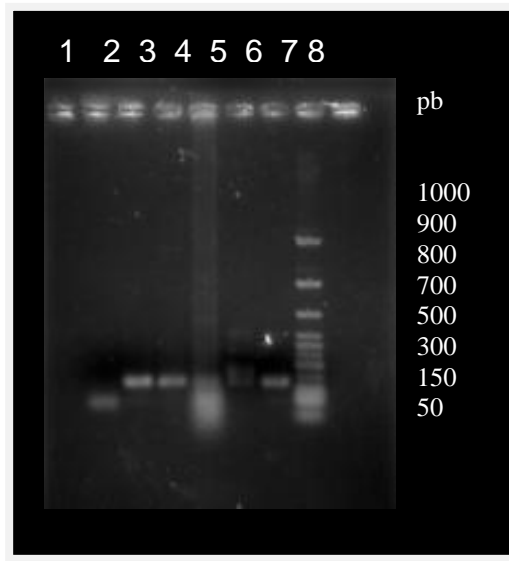


Figura 9. Productos de amplificación por PCR de fibropapiloma en la muestra biopsia del tumor de *E. imbricata* que arribó a la playa Oeste de Las Coloradas, Yucatán, México. Carril 8: Marcador de peso molecular, carril 2, testigo de reacción; carriles 3-7, muestras del tumor localizado abajo del cuello.

Discusión

La prevalencia de esta enfermedad varía entre diferentes localidades y países como Hawaii, florida, Costa Rica y Australia, variando entre 1.4% hasta el 90% y con una

mortalidad del 100% (Herbs *et al.*, 1999, Quackenbush *et al.*, 2001, Chaloupka *et al.*, 2009). Aguirre, *et al.* (1998) en una reseña sobre la investigación de la fibropapilomatosis realizada en las isla de hawaii desde 1991 hasta 1997, halló que *C. mydas* con fibropapilomatosis (FP) avanzada estaban crónicamente estresadas e inmunosuprimidas, también describió que la respuesta celular y hormonal es debido al estrés, así como la caracterización de la respuesta inmunológica basada en parámetros hematológicos y bioquímicos. En este estudio la frecuencia para la especie *C. mydas* fue del 2%, lo que concuerda con el primer reporte para el Caribe mexicano de un 2% de hembras anidadoras de *C. mydas* (Herbst, *et al.*, 1994), se observa que no ha se ha incrementado la enfermedad o no se han tenido reportes oficiales que comprueben dicha información. Por lo que podemos decir que la prevalencia y distribución geográfica en el Caribe mexicano es aún desconocida.

Por otra parte, el resultado obtenido para *E. imbricata* (1.25%) es un resultado importante porque no existían reportes oficiales de la presencia de fibropapiloma en esta especie, en México.

Los resultados de histopatología en *C. mydas* describen el desarrollo de cáncer cutáneo, asociado con ciertas verrugas periungueales, epidermodisplasia verruciforme, proliferación de leucocitos y linfocitos, formación de perlas corneas que junto con las lesiones neoplásicas se desarrollan en verrugas de larga duración generalmente asociado a un papilomavirus. La presencia de tumores puede estar relacionada con una infección natural o inducida o por inmunodepresión, tal vez por el efecto en abundancia y prevalencia de la contaminación en los océanos haciendo que la enfermedad tenga un efecto a largo plazo. Herbst *et al.* (1999) reportó características histológicas similares a las reportadas en este estudio, con tumores en *C. mydas* con proliferación de fibroblastos, acantosis epidérmica e hiperqueratosis, degeneración de células basales con deformación de la fisura epidérmica, degeneración de la capa espinosa con vesícula intraepidérmica y la formación de pústulas, y ulceración.

Los resultados de PCR coinciden con los reportados por Quackenbush *et al.* (2001), en cuanto al tamaño de la banda a partir de muestras de tumores y fibromas en *C. mydas* de Hawaii y Florida. En el caso de *E. imbricata* las bandas observadas son tan evidentes como en los casos de *C. mydas*.

Los valores de los analitos hematológicos y bioquímicos sanguíneos se compararon los valores de referencia de las tortugas sin parásitos, se observaron que los linfocitos y heterofilos presentaron valores disminuidos, esto puede estar relacionado a procesos

inflamatorios mientras que Montilla *et al.* (2008), reportó que no encontró diferencias en el único ejemplar que observaron con fibropapiloma

La fibropapilomatosis es una enfermedad neoplásica que ha aumentado en diferentes partes del mundo en los dos últimos años y se está presentado en especies que antes no se tenía reportes como *E. imbricata*. La patogenia de esta enfermedad puede estar relacionada con la contaminación y degradación del medioambiente. Por lo que las evaluaciones de la prevalencia de esta enfermedad en todas las especies de tortugas marinas son necesarias para mejorar la comprensión de las enfermedades neoplásicas que afectan a estos animales (Chaloupka *et al.*, 2009).

Conclusiones

1. La frecuencia de la enfermedad en *C. mydas* fue del 2%
2. La frecuencia de la enfermedad en *E. imbricata* fue del 1.25%
3. Se observaron alteraciones histopatológicas sugestivas a fibropapilomatosis en los tejidos tumorales, para los dos casos de *C. mydas*.
4. Se obtuvieron productos de PCR con peso de aproximadamente 165 pb correspondientes a herpesvirus de las tortugas
5. Se reportó por primera vez la presencia de un tumor de fibropapiloma en la especie *E. imbricata*.
6. Se observó que en ambas especies se presentaron leucopenia y heterofilia que puede estar asociada a la presencia de fibropapiloma.

Referencias

- Aguirre, A. A., Spraker T. R., Balazs G. H., and Zimmerman B. 1998. Spirorchidiasis and fibropapillomatosis in green turtles from the Hawaiian Islands. *J Wildl Dis.* 34:91-98.
- Chaloupka, M., and Balazs G. H. and Work, T. 2009. Rise and Fall over 26 year of Marine Epizootic in Hawaiian Green Sea Turtles, *J. Wildl. Dis.* 45:1138-1142.

- Chaloupka, M., and Balazs G. H. 2005. Modelling the effect of fibropapilloma disease on the somatic growth dynamics of Hawaiian green sea turtles. *Marine Biology* 147:1251–1260.
- Greenblatt R. J., Quackenbush S. L., Casey R. N., Rovnak J., Balazs G. H., Work T. M., Casey J. W., Sutton C. A. 2005. Genomic Variation of the Fibropapilloma-Associated Marine Turtle Herpesvirus Across Seven Geographic Areas and Three Host species. *J. Virology* 79:1125-1132.
- Herbst LH, Jacobson ER, Moretti R, Brown T, Klein PA. 1994. Green turtle fibropapillomatosis: transmission study update. In: Fourteenth Annual Symposium on Sea Turtle Biology, Hilton Head, South Carolina. US Department of Commerce, 55.
- Herbst LH, Jacobson ER, Klein PA, Balazs, G., Moretti R, Brown T and Sundberg, J. 1999. Comparative Pathology and Pathogenesis of Spontaneous Experimentally Induced Fibropapillomas of Green Turtle (*Chelonia mydas*). *Vet Pathol* 36:551-564.
- Jacobson ER, Buergelt C, Williams B, Harris RK. 1991. Herpesvirus in cutaneous fibropapilloma of the green turtle *Chelonia mydas*. *Dis aquat Org* 12:1-6
- Jacobson ER, Mansell JL, Sundberg JP, Hajjar L, Reichman, ME, Ehrhart LM, Walsh M, Murru F. 1989. Cutaneous fibropapillomas of green turtles (*Chelonia mydas*). *J Comp Pathol* 101:39–52.
- Montilla, F.; Hernández, R.; Jim, L. y Alvarado, M.C. 2008. Valores bioquímicos de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) presente en la alta guajira., *Rev. C.* 4:431-436.
- Quackenbush S. L., Casey R. N., Murcek R. J., Paul T. A., Work T. M., Limpus C. J., Chaves A., duToit L., Vasconcelos P. J., Aguirre A. A., Spraker T. R., Horrocks J. A., Vermeer L. A., Balazs G. H., Casey J. W. 2001. Quantitative análisis of Herpesvirus Sequences from normal tissue and Fibropapillomas of marine Turtles with Real-Time PCR. *J. Virology.* 287:105-111.
- Quackenbush S. L., Work T. M., Balazs G. H., Casey R. N., Rovnak J., Chaves A., du Toit L., Baines J. D., Parrish C. R., Browser P. R., Casey J. W. 1998. Three closely related Herpesvirus are associated with Fibropapillomatosis in marine turtles. *J. Virology.* 246: 392-399.
- Smith, G. M., and Coates, C. W. 1938. Fibro-epithelial growths of the skin in large marine turtles, *Chelonia mydas* (Linnaeus). *Zoologica* 23:93–98.

Work T. M., Murakawa, S. K. K., and Morris R. A. 2008. Cause-specific temporal and spatial trends in green sea turtle strandings in the Hawaiian Archipelago (1982–2003). *Marine Biology* 154:887–898.

10. CAPÍTULO VI

DISCUSIÓN GENERAL

En México, no se tienen valores que pudieran usarse como referencia de hematología y bioquímica sanguínea oficiales para *E. imbricata* y *C. mydas*. Los valores que se tienen son de estudios de laboratorio obtenidos en otros países como EUA, Emiratos Árabes Unidos (Work *et al.*, 1998; Aguirre y Balazs, 2000 y Hasbún *et al.*, 1998) y para otras especies como *Caretta caretta* (Deem *et al.*, 2009). Por lo que estos resultados son los primeros en obtenerse y reportarse en México en hembras anidadoras. Con la finalidad de obtener valores de referencia hematológicos y bioquímicos de *E. imbricata* y *C. mydas*, fueron monitoreadas un total de (180) tortugas de las cuales (80) pertenecieron a la especie *E. imbricata* y a su vez (25) con parásitos y/o fibropapiloma y (55) sin parásitos y 100 a *C. mydas*, 16 con parásitos y/o fibropapiloma y 84 sin parásitos hembras adultas anidadoras en dos playas de Yucatán.

Las descripciones de las características morfológicas y la clasificación de las células de la sangre ha sido inconsistente, debido a los variables criterios y técnicas utilizadas para describirlas y clasificarlas (Work *et al.*, 1998). Algunos investigadores reportan que los valores son limitados como Wood y Ebanks (1984); Cannon (1992); Aguirre *et al.* (1995); Work *et al.* (1998), Gelli *et al.* (2004). Además mencionan que los valores reportados difieren unos de los otros por diferentes factores, como áreas de estudio, especies, edades por mencionar algunos.

Al comparar los resultados que se obtuvieron en este estudio con los reportados por otros investigadores (Montilla, *et al.* 2006 y Samour *et al.* 1998), se observaron diferencias que hay en la especie *C. mydas* de acuerdo a los diferentes investigadores, por lo que existe la necesidad de que se establezcan valores de referencia para los valores hematológicos por zonas de estudio para cada especie de tortuga marina.

Con respecto a *E. imbricata* estos valores no se pudieron comparar ya que no se tienen reportes oficiales o de investigaciones para esta especie, siendo los primeros en obtenerse y reportarse en México

En ambas especies se observó una disminución en los leucocitos y linfocitos. Estos están asociados a procesos inflamatorios, enfermedades bacterianas, ante la aparición de enfermedades infecciosas, la heterofilia puede estar acompañada de cambios en la morfología celular con la observación de heterófilos tóxicos (Roskopf, 2000). Work *et al.* (1998) reportaron eosinofilia asociada a infecciones parasitarias, en este trabajo los

valores obtenidos se encuentran incrementados en relación a los reportados por Aguirre y Balazs, (2000) y Montilla, *et al.* (2006). Estas variaciones en los resultados pueden ser atribuidas a factores como la edad, estrés, técnicas de captura y métodos de análisis.

En el conteo diferencial de leucocitos se observaron heterófilos, linfocitos, eosinófilos y monocitos. Los basófilos no fueron observados en las muestras estudiadas, esto podría deberse al escaso número en circulación de este tipo celular en animales normales (Work *et al.* 1998). Los resultados en el conteo diferencial muestran algunas diferencias en la literatura, debido en parte a que no existe un criterio definido que describa con exactitud los diferentes tipos de leucocitos como se ha mencionado anteriormente.

La determinación de los valores bioquímicos en sangre es importante porque representa una herramienta valiosa en el diagnóstico para el monitoreo de diferentes patologías de la fauna silvestre. Los cambios pueden estar relacionados con su estado fisiológico y nutricional o son un indicador de condiciones crónicas o patológicas (Aguirre *et al.* 1995). Los valores bioquímicos de referencia de la sangre no han sido establecidos para muchas poblaciones de distintas especies de tortugas marinas en su hábitat natural. La mayoría de los estudios son limitados a *C. mydas* en diferentes países, algunos estudios para *Caretta caretta* y muy pocos para *Lepidochelys kempfi* (Stamper *et al.* 2005; Deem *et al.* 2009 y Canon 1992). Por lo que estos resultados son los primeros en obtenerse y reportarse, sobre todo en *E. imbricata* para la cual no se tienen reportes oficiales.

Con respecto a los valores obtenidos para *E. imbricata* con y parásitos y/o fibropapiloma, que no tuvieron diferencia significativa en los intervalos de confianza fueron BUN, creatinina bilirrubina directa, AST, ALT, LDH, ALKP y Pi. Los valores obtenidos en esta investigación no se pudieron comparar con otros valores porque no hay referencias para esta especie. La glucosa, Colesterol y triglicéridos son importantes para trastornos endocrinos, diabetes mellitus o colestasis (Campbell, 2004).

Para el caso de *C. mydas* con y sin parásitos los analitos que presentaron estadísticas significativas fueron: Glucosa, P.T., albúmina, globulinas, relación A/G, B.T. Colesterol, triglicéridos, Na, K, Cl, y Ca.

Los valores de glucosa, proteínas totales, albúmina, que reportó Montilla *et al.* (2008) los mismos analitos los reportó Hasbún, *et al.* (1998) en comparación con los reportados en este estudio fueron distintos. La bilirrubina total, el colesterol y los triglicéridos son indicadores de la función hepática. El colesterol es un indicador de condiciones fisiológicas y patológicas; generalmente los valores elevados están asociados con enfermedades en el hígado, hipotiroidismo, dieta alta en grasa, entre otros. El Na y Cl

son indicadores de la función renal, además el Na constituye un 90% de los componentes osmóticamente activos del plasma en tortugas marinas (Aguirre *et al.* 1995, Dessauer, 1970). Las diferencias que se observaron en este estudio con respecto a estos investigadores se atribuyen a diversos factores como por ejemplo al tiempo transcurrido entre la captura del animal y la extracción de la muestra de sangre, lo que generó condiciones de estrés.

Por todo lo anterior es importante establecer valores de referencia para cada especie por la diversidad en los valores sanguíneos en las diferentes etapas pelágicas de las poblaciones de tortugas marinas.

Mucha de la información disponibles sobre parásitos tanto externos como internos se refiere a organismos asociados a especies como *C. mydas* y *Caretta caretta* se cree que mantienen las más grandes variedades de parásitos que cualquiera de las otras especies tortuga. En esta investigación se observó que *E. imbricata* reveló que la abundancia y diversidad son muy semejantes a *C. mydas* y *Caretta caretta*. Una revisión de la literatura sobre los balanos asociados a las tortugas marinas revela que albergan más de 125 especies a nivel mundial (Bugoni *et al.* 2001). Estudios realizados por Schärer (2001) reportó que *E. imbricata* en las zonas de forrajeo en Puerto Rico (principalmente tortugas subadultas) revelan que albergan más de 100 organismos. A pesar de casi tres décadas de marcaje de aletas en algunas áreas, es sorprendente que exista poca información disponible sobre los balanos en *E. imbricata* anidadoras en el Caribe (Frick *et al.* 2003). Los balanos que se observaron en este estudio fueron los cirrípedos lepadomorfos, de los cuales se identificaron tres especies: *Platylepas hexastylus*, *Chelonibia testudinaria* y *Chelonibia caretta*. Bugoni *et al.* (2001) reportó que *Platylepas hexastylus* y *Chelonibia testudinaria* fueron los balanos más frecuentes en *C. mydas*, en nuestro estudio fueron más abundantes en *E. imbricata* que en *C. mydas*.

En *E. imbricata* se ha reportado la *Ozobranchus margo* especie de (Cárdenas-Palomo y Maldonado-Gasca, (2005), comentaron que esta especie puede causar descensos en la población de esta especie. En este estudio se confirmó la presencia de esta sanguijuela.

En *C. mydas* y *lepidochelys olivácea* se ha reportado la especie *O. branchiatus* (Gámez *et al.* 2006), el cual no se encontró en este estudio. En cuanto a los registros sobre crustáceos, se observó *Idotea sp* que pertenece a los Isópodos, que es uno de los grupos de crustáceos bentónicos y la especie es *Idotea sp.* es abundante en el plancton costero, pudiéndose encontrar con frecuencia sobre objetos a la deriva y en hojas de *Posidonia*

flotantes. La posible causa de que se registrara este ectoparásito en la temporada 2009 fue posiblemente por los cambios en el hábitat en las playas de anidación.

La fibropapilomatosis (FP) es una enfermedad caracterizada por múltiples masas de tumores cutáneos que varían en tamaño entre 0.1 a más de 30 cm de diámetro, que hasta el momento ha afectado principalmente a *C. mydas*. Además, la condición ha sido reportada en otras especies que incluyen *Caretta caretta*, *Lepidochelys olivacea*, *Lepidochelys kempii* y *Natator depressus*. Sin embargo, de estas especies la FP ha sido histológicamente confirmada en *C. mydas* en Hawái, *Caretta caretta* en Florida y *Lepidochelys olivacea* en Costa Rica (Aguirre *et al.* 1998, Aguirre *et al.* 1999, Aguirre *et al.* 2002). La enfermedad tiene una distribución mundial circumtropical y ha sido observada en los principales océanos. Donde se halla presente, la prevalencia de esta enfermedad varía entre diferentes localidades, variando entre (1.4%) hasta (90%). En relación a los resultados obtenidos sobre la presencia de fibropapiloma, se encontró una prevalencia del (1.25%) para la especie *E. imbricata* y (2%) para *C. mydas* coincidiendo con los reportes de algunos investigadores pero difiriendo de otros.

La linfopenia severa y heterofilia observada en tortugas con fibropapilomas sugieren una supresión o inhibición del sistema inmune en estos animales (Aguirre *et al.* 1995). Lo cual podría relacionarse con la infección por herpesvirus y alguna infección bacteriana secundaria la cual no se determinó. Estudios hematológicos llevados a cabo en grupos de tortugas con fibropapilomas (Aguirre *et al.* 1995), reportaron valores muy bajos de hematocrito (20.2%), los valores obtenidos en el presente estudio fueron similares, por lo que podemos sugerir que estos ejemplares estaban anémicos. Este mismo investigador reportó diferencias significativas en los valores de bioquímica y les encontró que estaban hipoproteanémicas, hipofierroanémicas, anémicas, con estados avanzados de acidosis y de desequilibrio en la proporción calcio y fósforo, con respecto a los valores bioquímicos que se obtuvieron en el presente estudio para las tortugas con fibropapiloma, podemos decir que presentaron valores bajos en las P.T y albúmina, lo que sugiere una hipoproteinemia por hipoalbuminemia.

Un estudio para la detección de herpesvirus por medio de PCR en fibropapilomas de *C. mydas* y *Caretta caretta* demostró la presencia de este tipo de virus en el 95% de las muestras de tumores cutáneos y en todos los tumores viscerales analizados (Miller, *et al.* 2009). En otro estudio paralelo realizado para determinar si el mismo virus infecta a ambas especies de tortugas, se secuenció una región interior del gen de la DNA polimerasa herpesviral, difiriendo tan sólo en 1 de 61 aminoácidos, concluyéndose que

es el mismo tipo de herpesvirus que infecta a ejemplares de *Caretta caretta* y *C. mydas* (Chaloupka *et al.* 2009). En el presente estudio se encontraron productos de PCR correspondientes a herpesvirus de las tortugas concordando con lo que otros investigadores han descrito sobre la fibropapilomatosis en *C. mydas*

Por otra parte, el resultado obtenido para *E. imbricata* es un resultado importante porque no se tiene reportes oficiales de la presencia de fibropapiloma en esta especie, en México. Aunque existe una evidencia convincente de una etiología viral, otros factores que incluyen parásitos, susceptibilidad genética, contaminantes ambientales e inmunosupresión pudieran estar jugando un papel adicional en la etiología de la FP.

La contribución del presente estudio radica en conocer los valores de referencia hematológicos, bioquímicos clínicos, las especies y frecuencia de ectoparásitos, la frecuencia de fibropapiloma que se encuentran en las tortugas *E. imbricata* y *C. mydas* anidadoras en las costas Yucatecas, lo cual se pudiera utilizar como punto de partida para futuras comparaciones y evaluación de las condiciones individuales y ambientales del hábitat de estos animales.

12. CONCLUSIONES

1. Se determinaron los valores de referencia hematológicos y bioquímicos para *E. imbricata* y *C. mydas*.
2. Se reporto por primera vez la presencia de *Idotea sp* en *E. imbricata*.
3. Se observó por primera vez la presencia de fibropapiloma por herpesvirus en *E. imbricata*.

13. REFERENCIAS

- Aguirre, A.A, Balazs, G.H., Spraker, T.R., Murakawa, K.K: Zimmerman, B. 2002. Pathology of Oropharyngeal Fibropapillomatosis in Green Turtles *Chelonia mydas* J. Aquatic Animal Health, 14:298-304.
- Aguirre AA, Balazs, G.H. 2000. Blood biochemistry values of green turtles, *Chelonia mydas*, with and without fibropapillomatosis. Comp Haematol Int 10:132–137.
- Aguirre A.A, Spraker T.R, Chavez,A. Du Toit, L. Eure, W, Balazs, G.H.1999. Pathology of Fibropapillomatosis in Olive Ridley Turtles *Lepidochelys olivacea* Nesting in Costa Rica. J. Aquatic animal Health.11:283-289.

- Aguirre A.A, Spraker T.R, Balazs, G.H. 1998. Spirorchidiasis and fibropapillomatosis in green turtles from the Hawaiian Islands. *J Wildl Dis* 34:91–98.
- Aguirre, A.A., Balazs, G.H., Spraker, T.R., Gross, T.S., 1995. Adrenal and hematological responses to stress in juvenile green turtles (*Chelonia mydas*) with and without fibropapillomas. *Physiological Zoology* 68:831-854.
- Bugoni, L., Krause, L., Oliveira, A., Pádua, A.A. 2001. Commensal Barnacles of Sea Turtles in Brazil. *Marine Turtle Newsletter*. 94:7-9.
- Cárdenas-Palomo, N. y A. Maldonado-Gasca. 2005. Epibiontes de tortugas de carey juveniles *Eretmochelys imbricata* en el Santuario de Tortugas Marinas de Río Lagartos, Yucatán, México. *CICIMAR Oceánides*, 20:29-35.
- Chaloupka, M., and Balazs G. H. and Work, T. 2009. Rise and Fall over 26 year of Marine Epizootic in Hawaiian Green Sea Turtles, *Journal of Wildlife Diseases*. 45:1138-1142.
- Cannon, M.S., 1992. The morphology and cytochemistry of the blood leukocytes of Kemp's ridley sea turtle (*Lepidochelys kempii*). *Canadian J. Zoology* 70:1336–1340.
- Campbell, T.W. 2004. Blood Chemistry of Lower Vertebrates In 55th Annual Meeting of the American Collge of Veterinary Pathologists (ACVP) & 39th Annual Meeting of the American Society of Clinical Pathology (ASVCP). 861
- Demm, S.L. Terry M. Norton, Mark Mitchell, Al Segars, A.Rick Alleman, Carolyn Cray, Robert, H. Poppenga, Mark Dodd and William B. Karesh. 2009. Comparison of blood values in foraging, nesting, and stranded Loggerhead turtles (*Caretta caretta*) along the coast of Georgia, USA. *J. Wildl Des*. 45:41-56.
- Dessauer, H. C. 1970. Blood chemistry of reptiles: Physiological and evolutionary aspects. *In* *Biology of the reptilian*, Vol.3 C, Morphology, C. Cans and T. S. Parsons (eds.). Academic Press, New York, 1-72
- Frick, M.G., Mason, P.A., Williams, K.L., Andrews, K. y Gerstung, H. 2003. Epibionts of hawksbill turtles, *Eretmochelys imbricata*, in a Caribbean nesting ground: A potentially unique association with snapping shrimp. *Mar. Turtle, Newsltr*. 99:8-11.
- Gámez, S.V.; Osorio, D.S.; Peñaflores, C.S.; García, A.H.; Ramírez, J.L. 2006. Identification of parasites and epibionts in the Olive Ridley Turtle (*Lepidochelys olivacea*) that arrived to the beaches of Michoacán and Oaxaca, Mexico. *Vet. Méx*. 37:431-440.
- Gelli, D., Morgante, M., Ferrari, V., Mollo, A., Freggi, D., Romagnoli, S., 2004. Hematologic, serum biochemical, and serum electrophoretic patterns in loggerhead

- sea turtles (*Caretta caretta*). In: Proceedings of 11th Annual Conference of the Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians, FL, 149–152.
- Hasbún, C.R; Lawrence, A.J.; Naldo, J.; Samour, J.H.; AL-Ghais, S.M. 1998. Normal Blood Chemistry of Free-living Green Sea Turtles, *Chelonia mydas*, from the United Arab Emirates. *Comp Haematol Inter* 8:174-177.
- Miller, D. Wyneken, J, Rajeer, S. Perraut J. Mader, D. Weege J. and Baldwin C. 2009. Pathologic Findings in Hatchling and Posthatchling Leagtherback Sea Turtles (*Demochelys coriacea*) From Florida. *J. Wildl. Dias.* 45:962-971.
- Montilla, F.; Hernández, R.; Jim, L. y Alvarado, M.C. 2006. Valores hematológicos de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) presente en la alta guajira., ISSN 0798-2259, RC., 16:219-226.
- Montilla, F.; Hernández, R.; Jim, L. y Alvarado, M.C. 2008. Valores bioquímicos de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) presente en la alta guajira., *Rev. C.*, 4:431-436.
- Roskopf, W. Disorders of Reptilian Leukocytes and Erithrocytes.2000. Chapter 22. In : Funge A. Laboratory Medicine.Avian and Exotic Pets. W.B. Saunders Company.198-204.
- Samour, J.H, Howlett, J.C. Silvanose, C., Hasbún, C.R; and Al-Ghais, S.M. 1998. Normal Haematology of Free-living Green Sea Turtles, *Chelonia mydas*, from the United Arab Emirates. *Comp Haematol Inter* 8:102-107.
- Stamper, M., Harms, C., Epperly, S., Braun-McNeill, J., Avens, L. and Stoskopf, M. 2005. Relationship between barnacle epibiotic load and hematologic parameters in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*), a comparison between migratory and residential animals in Pamlico Sound, North Carolina. *J Zoo and Wildl Med* 36:635–641
- Shärer, M. T. 2001. A survey of the epibiota of hawksbill sea turtles (*Eretmochelys imbricata*) of Mona Island, Puerto Rico. M.S. Thesis, University of Puerto Rico, Mayaguez, 82
- Wood, F.E. and Ebanks, G.K. 1984. Blood cytology and hematology of the green sea turtle, *Chelonia mydas*. *Herpet*,40:331-336.
- Work, T.M., Raskin, R.E., Balazs, G.H., Whittaker, S.D., 1998. Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells from Hawaiian green turtles. *American J. Vet. Res.* 59-1252–1257.

- Work T. M., Raskin, R. Balazs G. H., Scott D. Whittaker, B.S. 1998. Morphologic and Chytochemical characteristics of blood cell from Hawaiian green turtles. *AJVR* 59:1252-1257.
- Work T. M., Murakawa, S. K. K., and Morris R. A. 2008. Cause-specific temporal and spatial trends in green sea turtle strandings in the Hawaiian Archipelago (1982–2003). *Marine Biology* 154:887–898.

ANEXO I

Análisis de las medias de *E. imbricata* y *C. mydas* con y sin parásitos por medio de la prueba de Turkey.

Cuadro .1 factores de *E. imbricata* y *C. mydas* que anidan en Yucatán

N	estatus	especie	grupo	N
55	0	1	1	55
83	0	2	2	84
25	1	1	3	25
16	1	2	4	16

Donde 0 significa sin parásitos y 1 significa con parásitos de las especies *E. imbricata* y *C. mydas*. 1 significa especie *E. imbricata*; 2 significa especie *C. mydas*.

Grupo 1: *E. imbricata* sin parásitos

Grupo 2: *C. mydas* sin parásitos

Grupo 3: *E. imbricata* con parásitos

Grupo 4: *C. mydas* con parásitos

Cuadro .2. Comparaciones múltiples por medio de la prueba de Turkey HDS de *E. imbricata* y *C. mydas* con y sin parásitos que anidan en Yucatán.

Variable	Grupo	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
glu	1		-407,02*	81,091	-415,59*
	2	407,02234*		407,83*	-856,910
	3	-81,091	-407,83*		-416,40*
	4	415,59144*	85,69	416,40235*	
bun	1		-17,91*	-9,875	-63,802
	2	16,891*		17,91*	11,544*
	3	9,875	-17,91*		-63,672
	4	63,682	-11,54*	63,672	
creat	1		-8,472,399	-13,8182	4,6524
	2	8,472		8,334	8,518
	3	13,8182	-8,334		-8,334
	4	-4,6524	-8,518	-18,4706	
urico	1		-4,8445*	16,145	-9,5,678
	2	4,803198*		4,8198*	3,88524
	3	-16,145	-4,844289*		-9,5694765
	4	9,5674	-3,88760	9,56945	
prot. Tot	1		-4,537,437	6,133,455	-3,467,487
	2	4,537,437		10,670,892	10,670,892
	3	-6,133,455	-10,670,892		-9,600,941
	4	3,467,487	-1,069,950	9,600,941	
albumina	1		-1,967,842	1,198182*	5,267,594
	2	1,967,842		1,3366024*	7,235,436
	3	-1,1398182*	-1,3366024*		-6,130,588
	4	-5,267,594	-7,235,436	6,130,588	
glob	1		-4,368543*	1,165,818	1,86524

	2	4,368543*		5,534361*	4,555,067
	3	-1,165,818	-5,534361*		-9,79294
	4	-1,86524	-4,555067	9,79294	
rel A/G	1		1,80799*	1,08555*	1,72551*
	2	-1,80799753*		-7,22449*	-8,24809
	3	-1,0855555*	7,22445639*		6,399596
	4	-1,72551455*	8,24809	-6,399596	
B.T.	1		-9,031,391	7,189091	-6,005027
	2	9,031391		16,220482*	3,026364
	3	-7,189091	-16,220482*		-13,194118
	4	6,005027	-3,026,364	13,194118	
B.D.	1		1,066,002	2,532364*	-8,73048
	2	-1,066002		1,466361	-1,939050
	3	-2,532364*	-1,466361		-3,405412*
	4	8,73048	1,939050	3,405412*	
B.I.	1		-7,221621*	2,610909	-7,636150*
	2	7,221621*		9,832530*	-4,14529
	3	-2,610909	-9,832530*		-10,247059*
	4	7,636150*	4,14529	10,247059*	
Col	1		-437,4436*	935,636	-307,9893*
	2	437,4436*		531,0072*	129,4543*
	3	-935,636	-531,0072*		-401,5529*
	4	307,9893*	-129,4543*	401,5529*	
Trig	1		-741,38532*	515,636	-683,37,540
	2	74,138532*		84,654169	80,0992
	3	-51,,636	-74,654		-68,853
	4	68,337,540	-58,00992	68,853	
AST	1		19,169617	17,72364	14,926952
	2	-19,169617		-15,397253	-14,242665
	3	-13,772364	15,397253		14,154588
	4	-14,926952	14,242665	-11,154588	
ALT	1		-19,665082*	-13,287636	-17,238930
	2	19,665082*		16,377446	14,26152
	3	13,287636	-16,377446		-13,951294
	4	17,238930	-12,426152	13,951294	
LDH	1		-12,586791	-12,623273	-17,971979
	2	586,791		-536,482	-538,5188
	3	623,273	648,2		-534,8706
	4	597,1979	538,5188	534,8706	
ALKP	1		134,7141*	134,55	130,749
	2	-134,7141*		-131,7687*	-186,393
	3	-294,55	131,7687*		103,1294
	4	-106,0749	286,393	-103,1294	

Na	1		-18,85761*	6,87636*	-23,12834*
	2	18,85761*		25,73398*	-42,7073
	3	-6,87636*	-25,73398*		-30,00471*
	4	23,12834*	42,7073	30,00471*	
K	1		-2,631851*	4,4727	-3,0273*
	2	2,31851*		3,76578*	-5,5422
	3	-4,727	-3,76578*		-3,32000*
	4	13,87273*	15,422	13,32000*	
Cl	1		16,31457	16,2578	19,15936
	2	-16,31457		14,62661	12,479
	3	-6,257818	-4,626361		-4,341882
	4	-1,915936	-2,84479	4,341882	
Ca	1		-16,605	-12,22464	-8,79893
	2	16,605		-12,20759	-8,63288
	3	12,22464	12,209		13,44471
	4	8,79893	8,63288	-13,44471	
Pi	1		-13,407207*	-19,22864	-14,17540*
	2	13,140207*		14,818843	-7,730333
	3	19,228364	-14,818843		-12,549176
	4	17,77540*	7,730333	12,549176	

Nota: * Es la diferencia de medias con un nivel de significancia $p \leq 0.5$