



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL CARMEN**

---

---

**Facultad de Ciencias Naturales**

**Valores bioquímicos en hembras anidantes de *Chelonia mydas* (Linnaeus 1758) en la playa de Isla Aguada, Campeche.**

TESIS  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
LICENCIADO EN BIOLOGÍA MARINA

PRESENTA

**Andrés Cruz Quintana**

Director: **Dr. Julio César Canales Delgadillo**

Co-director: **Dra. María Amparo Rodríguez Santiago**

CD. DEL CARMEN, CAMPECHE, MAYO DE 2018.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL CARMEN

Facultad de Ciencias Naturales

Asunto: Autorización para impresión de tesis.

**Dra. Sandra Martha Laffón Leal.**  
Directora de la Facultad de Ciencias Naturales.  
PRESENTE.

Por medio de la presente, el consejo revisor de tesis, integrado por los abajo suscritos comunica que la tesis titulada "**Valores bioquímicos en hembras anidantes de *Chelonia mydas* (Linnaeus 1758) en la playa de Isla Aguada, Campeche.**" presentada a revisión por el C. pasante Andrés Cruz Quintana para obtener el grado de Licenciado en Biología Marina cumple con los requisitos establecidos por la Facultad de Ciencias Naturales, por lo que se autoriza su impresión.

ATENTAMENTE.



---

Biol. Vicente Guzmán Hernández  
Presidente



---

M.C. Gerardo A. Rivas Hernández  
Secretario



---

Dr. Rolando Gelabert Fernández  
Vocal



## RESUMEN.

A nivel mundial, *Chelonia mydas*, conocida como tortuga verde o tortuga blanca, enfrenta múltiples amenazas de tipo antropogénico y ambiental que pueden afectar de forma negativa la viabilidad de sus poblaciones. El análisis bioquímico en sangre es una herramienta diagnóstica de gran utilidad para abordar temas relacionados al estado de salud de la fauna silvestre. El objetivo de este trabajo fue reportar los valores bioquímicos de las hembras anidantes de Isla Aguada, Campeche. Sobre un transecto de 5 km se detectaron 46 hembras anidantes a las que se le midió el largo curvo del caparazón (LCC). Se tomaron muestras de sangre total de 20 de estas 46 para analizar 13 analitos por química sanguínea. Además, se identificaron los simbioses asociados a los ejemplares de *C. mydas* para averiguar si la epifauna tiene un efecto en los valores de los analitos evaluados. El 26% de los individuos examinados presentó al menos un tipo de simbiote. Se identificó una especie de ectoparásito *Ozobranchus branchiatus* ( $n = 380$ ), y dos epibiontes, *Chelonibia testudinaria* ( $n = 299$ ) y *Elasmopus* sp. ( $n = 4$ ). El cuello, caparazón y aletas fueron las regiones corporales más frecuentemente ocupadas por algún tipo de simbiote. No se encontraron diferencias significativas entre los valores promedio obtenidos de los analitos para tortugas con ( $n = 10$ ) y sin simbioses ( $n = 10$ ). No se observó correlación entre el número de simbioses, número de especies de simbioses y la talla de las tortugas con los valores encontrados en los análisis bioquímicos. De acuerdo a los resultados obtenidos para Amilasa, Nitrógeno ureico, Creatinina, Fosforo y Bilirrubinas totales, es probable que existan factores no determinados dentro de este estudio que estén influyendo en las variaciones para estos analitos que son indicativos de anomalías de la función renal. Estudios posteriores deben incluir componentes de calidad de hábitat y de alimento para comprender mejor las tendencias de salud de la población de *C. mydas* en esta región.



## ABSTRACT

Worldwide, *Chelonia mydas* known as the green or white turtle confronts several anthropogenic and environmental threats that may affect the viability of its populations. Biochemical blood analysis is a useful diagnostic tool to address wildlife-related issues. The objective of this work was to report the biochemical values of the nesting females of Isla Aguada, Campeche. On a 5 km long transect 46 nesting females were detected, and their curved carapace length (CCL) was measured. Blood samples were collected from 20 of these females to analyze 13 analytes by chemical blood analyses. Additionally, the associated symbionts to *C. mydas* were identified to find out whether the epifauna may have an effect of the assessed analytes. Twenty-six percent of the examined individuals showed at least one symbiont type. The identified epifauna include an ectoparasite, *Ozobranchius branchiatus* ( $n = 380$ ), and two epibionts, *Chelonibia testudinaria* ( $n = 299$ ) and *Elasmopus* sp ( $n = 4$ ). Neck, carapace, and fins were the body regions occupied by symbionts more frequently. No differences in the average value of the analytes were detected between turtles with ( $n = 10$ ) and without ( $n = 10$ ) symbionts. No correlation was observed between the number of symbionts, the number of symbiont species and the CCL, with the observed values of the analytes. According to the results of Amylase, Ureic Nitrogen, Creatinine, Phosphorus, and Total Bilirubin, it is likely that undetermined factors are influencing the variation of these analytes which are indicative of renal anomalies. Subsequent studies should include components such as habitat and food quality to understand the health trends in the *C. mydas* populations better.



## DEDICATORIA.

*A mis padres **Andrés Cruz Cruz** y **Domitila Quintana Solís** por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo.*

*A mi tía **Romana Ramón Solís** por apoyarme siempre, lo que soy también se lo debo a usted.*



## AGRADECIMIENTOS.

Al Dr. Julio César Canales Delgadillo por financiar y ser parte fundamental de esta investigación, gracias por su paciencia, por sus múltiples consejos y conocimientos.

A la Dra. María Amparo Rodríguez Santiago por sus consejos y conocimientos.

A mi tío, Roberto Ríos por toda su ayuda, apoyo y consejos todo este tiempo.

A la familia CONANP:

Biol. Xóchitl, Biol. Anaid, Ecol. Pedro, Biol. Paty y muy en especial al Biol. Vicente Guzmán, gracias por toda la confianza deposita en mí, por hacerme parte de tan bella familia, por todas sus enseñanzas, por hacer más amenos los días en la oficina con sus chistes y bromas, además de todos sus consejos tanto personales como profesionales y esas jaladas de oreja cuando era necesario recuperar el camino perdido.

Al M.C. Gerardo A. Rivas Hernández quien fue la persona con la que me empecé en el trabajo con tortugas marinas, gracias por ser parte importante de esta aventura llamada biología marina y por todo el apoyo durante la carrera.

Al MVZ y amigo Juan Neguib Daher Moreno por ayudarme a mejorar mi técnica de colecta de muestra de sangre y por los buenos ratos pasados.

Al comité revisor formado por el Biol. Vicente Guzmán Hernández, M.C. Gerardo A. Rivas Hernández y el Dr. Rolando Gelabert Fernández por formar parte de este trabajo con sus sugerencias y comentarios para la mejora de esta tesis.

A mis compañeros de laboratorio y grandes amigos Daniel, Luz, Karina y Enrique por toda su ayuda y los buenos momentos pasados en todo este tiempo.

A Yannet, Mariel, Estela, Samuel, Citlalli, Jorge, Dulce, Topi, Marta, José y don Jaime, además de los arriba mencionados por caminar y desvelarse conmigo durante mis muestreos. Fueron parte importante para realizar este trabajo.

**¡MUCHAS GRACIAS!**



## ÍNDICE.

|   |    |
|---|----|
| <b>1. INTRODUCCIÓN.</b> .....   | 1  |
| <b>2. ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO.</b> .....   | 3  |
| 2.1 Las tortugas marinas en el mundo. ....  | 3  |
| 2.2 Tortugas marinas en México. ....  | 4  |
| 2.3 <i>Chelonia mydas</i> . ....  | 6  |
| 2.3.1 Clasificación taxonómica. ....  | 7  |
| 2.3.2 Características generales. ....   | 7  |
| 2.3.3 Biología de la reproducción. ....   | 10 |
| 2.4 Simbiontes en tortugas marinas.....   | 11 |
| 2.4.1 Importancia del estudio de los parásitos en tortugas marinas .....                          | 12 |
| 2.5 Análisis bioquímicos.....   | 13 |
| 2.5.1 Monitoreo de la salud y la conservación de <i>Chelonia mydas</i> y sus<br>ecosistemas. .... | 15 |
| 2.5.2 Enfermedades de las tortugas marinas.....   | 16 |
| <b>3. JUSTIFICACIÓN.</b> .....  | 19 |
| <b>4. HIPÓTESIS.</b> .....  | 20 |
| <b>5. OBJETIVOS.</b> .....  | 21 |
| <b>6. MATERIALES Y METODOS.</b> .....   | 22 |
| 6.1 Área de estudio.....  | 22 |
| 6.2 Diseño de Muestreo. ....  | 23 |
| 6.3 Extracción de muestra sanguínea.....  | 23 |
| 6.4 Análisis bioquímico de la sangre.....   | 25 |
| 6.5 Colecta e identificación de simbiontes (ectoparásitos y epibiontes).....                      | 25 |



|   |           |
|---|-----------|
| 6.5.1 Tinción, aclaramiento y montaje de ectoparásitos. ....            | 26        |
| 6.5.2 Determinación de prevalencia y abundancia de los simbiontes. .... | 27        |
| 6.6 Necropsia. ....   | 27        |
| 6.7 Análisis estadísticos. ....   | 28        |
| 6.8 Meta-análisis. ....   | 28        |
| <b>7. RESULTADOS</b> .....  | <b>30</b> |
| 7.1 Morfometría y examen físico. ....                                   | 30        |
| 7.2 Ectoparásitos y epibiontes. ....                                    | 31        |
| 7.3 Bioquímica. ....  | 35        |
| 7.4 Endoparásitos. ....   | 42        |
| <b>8. DISCUSIÓN.</b> ....   | <b>45</b> |
| <b>9. CONCLUSIÓN.</b> ....  | <b>50</b> |
| <b>10. RECOMENDACIONES.</b> ....  | <b>51</b> |
| <b>11. BIBLIOGRAFÍA.</b> ....   | <b>52</b> |



## ÍNDICE DE FIGURAS.

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Figura 1.</b> Principales playas de anidación de tortugas marinas en Campeche. Modificado de: La Jornada Ecológica, 2010.....  | <b>6</b>  |
| <b>Figura 2.</b> Identificación de <i>Chelonia mydas</i> , <b>a)</b> un par de escamas prefrontales, <b>b)</b> una uña en aletas anteriores, <b>c)</b> cuatro pares de escudos laterales. Modificado de: Pritchard, P.C.H. y J.A. Mortimer-2000. ....   | <b>8</b>  |
| <b>Figura 3.</b> Ciclo de vida de la tortuga verde ( <i>C. mydas</i> ). Tomado de Libro Rojo de la fauna UICN-2014.....   | <b>10</b> |
| <b>Figura 4.</b> Hembra de <i>C. mydas</i> anidando en playas de Isla Aguada, Campeche. Foto de: Cruz-Quintana, 2012.....   | <b>11</b> |
| <b>Figura 5.</b> Ubicación del área de estudio. La línea roja representa el transecto sobre el cual se realizaron los monitoreos y toma de muestras para los análisis clínicos y parasitológicos.....   | <b>22</b> |
| <b>Figura 6.</b> <b>a)</b> Toma de datos morfométricos de la tortuga, <b>b)</b> Toma de muestra de sangre (jeringa en 90°), <b>c)</b> Frascos para análisis bioquímicos con heparina de litio, <b>d)</b> Colocación de frasco en 45° para evitar hemólisis, <b>e)</b> Refrigeración de muestras hasta su procesamiento 4-6 h. Foto de: Cruz-Quintana, 2016..... | <b>24</b> |
| <b>Figura 7.</b> <b>a)</b> Colecta de simbioses, <b>b)</b> Fijación de simbioses en etanol 70%, <b>c)</b> Tinciones usadas para la identificación de los simbioses, <b>d)</b> Uso de luz roja para disminuir el estrés de la tortuga. Foto de: Cruz-Quintana, 2016. ....  | <b>26</b> |
| <b>Figura 8.</b> Medidas de Largo Curvo de Caparazón (LCC) de las hembras de <i>C. mydas</i> muestreadas ( $n = 46$ ).....  | <b>30</b> |
| <b>Figura 9.</b> Frecuencia de grupos de simbioses registrados. $n = 12$ .....  | <b>31</b> |
| <b>Figura 10.</b> Vista dorsal del anélido hirudineo <i>Ozobranchus branchiatus</i> . Localizado en cuello y extremidades. 10.2 mm de longitud. Foto de: Cruz-Quintana, 2016. ...   | <b>32</b> |



|  |           |
|--|-----------|
| <b>Figura 11.</b> Imagen del cirrípedo <i>Chelonibia testudinaria</i> localizado en el caparazón y extremidades de las tortugas. 96 mm de diámetro. Foto de: Cruz-Quintana, 2016. ....           | <b>33</b> |
| <b>Figura 12.</b> Anfípodo <i>Elasmopus</i> sp. Localizado en caparazón. 9.8 mm de longitud (Glicerina). Foto de: Cruz-Quintana, 2016. ....  | <b>33</b> |
| <b>Figura 13.</b> Localización, número y especies de simbioses registrados ( $n = 12$ )..  | <b>34</b> |
| <b>Figura 14.</b> Prueba de heterogeneidad entre estudios de química sanguínea de <i>C. mydas</i> .....  | <b>40</b> |
| <b>Figura 15.</b> Prueba de heterogeneidad entre estudios de química sanguínea en hembras anidantes de <i>C. mydas</i> .....   | <b>41</b> |
| <b>Figura 16.</b> Plelminto, Trematoda, <i>Neoctangium travassosi</i> . Localizado en intestinos. 4X-8.2 mm de longitud (Paracarmín de Meyer). Foto de: Cruz-Quintana, 2017. ....                | <b>42</b> |
| <b>Figura 17.</b> Plelminto, Trematoda, <i>Octangium sagitta</i> . Localizado en intestinos y estómago. 4X-2.6 mm de longitud (Paracarmín de Meyer). Foto de: Cruz-Quintana, 2017.....           | <b>43</b> |
| <b>Figura 18.</b> Plelminto, Trematoda, <i>Adenogaster serialis</i> . Localizado en intestinos. 2.5X-2.1 mm de longitud (Paracarmín de Meyer). Foto de: Gámez-Vivaldo <i>et al.</i> , 2008. .... | <b>43</b> |
| <b>Figura 19.</b> Localización, número y especies de endoparásitos registrados ( $n = 2$ ). ....   | <b>44</b> |



## ÍNDICE DE TABLAS.

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Tabla 1.</b> Distribución mundial de las ocho especies de tortugas marinas reconocidas en la actualidad (NOM-059-SEMARNAT-2010).....  | <b>4</b>  |
| <b>Tabla 2.</b> Patologías reportadas en poblaciones de tortugas marinas. Tomado de Lara-Uc, 2012.....   | <b>18</b> |
| <b>Tabla 3.</b> Número total y abundancia media ( $\pm$ desviación estándar) de ectoparásitos y epibiontes y presentes en <i>C. mydas</i> ( $n = 12$ ) en el sitio de anidación Isla Aguada, Campeche..... | <b>32</b> |
| <b>Tabla 4.</b> Valores promedio ( $\pm$ desviación estándar) de los analitos encontrados en los ejemplares de <i>C. mydas</i> con y sin simbioses.....  | <b>35</b> |
| <b>Tabla 5.</b> Valores promedio ( $\pm$ desviación estándar) rangos mínimos y máximos de los datos combinados de las tortugas examinadas ( $n = 20$ ) en Isla Aguada, Campeche.....                       | <b>36</b> |
| <b>Tabla 6.</b> Correlación entre analitos y número de simbioses por tortuga. ....   | <b>37</b> |
| <b>Tabla 7.</b> Correlación entre analitos y el número de especies de simbioses por tortuga.....   | <b>38</b> |
| <b>Tabla 8.</b> Prueba de heterogeneidad entre estudios de química sanguínea de <i>C. mydas</i> .....  | <b>39</b> |
| <b>Tabla 9.</b> Valores promedio de estudios de química sanguínea en <i>C. mydas</i> de México y otras regiones del mundo.....   | <b>41</b> |
| <b>Tabla 10.</b> Especies, número de organismos y frecuencia por especies presentes en <i>C. mydas</i> ( $n = 2$ ) en el sitio de anidación Isla Aguada, Campeche. ....                                    | <b>42</b> |



## 1. INTRODUCCIÓN.

Dentro del grupo de los reptiles, encontramos a todas las especies de tortugas marinas, quienes actualmente se encuentran entre los animales más amenazados o en peligro de extinción a nivel global debido a que enfrentan presiones propias de su ambiente natural, así como aquellas ocasionadas por actividades de origen antrópico, como son la sobreexplotación de su carne y huevos y la modificación del hábitat (UICN, 2014).

En México, las tortugas marinas forman parte importante de las costumbres y tradiciones de muchas culturas establecidas en zonas costeras (Taube, 2004). En el Golfo de México, las costas de Campeche son de gran importancia debido a que cuentan con sitios que son utilizados por una gran cantidad de hembras de *C. mydas* que llegan a anidar a las playas. En esta entidad se estima que durante una temporada de desove (abril-octubre) arriban aproximadamente 600-2000 hembras a anidar (Guzmán y Garcia, 2016).

Por otro lado, las alteraciones inducidas en los ambientes oceánicos y costeros exponen a *C. mydas* a otras presiones tales como enfermedades parasitarias e infecciosas como la fibropapilomatosis, entre otras (Patz et al., 2004). Esta enfermedad se caracteriza por la aparición de múltiples tumores cutáneos de naturaleza fibroepitelial en cuello, extremidades, cola, regiones axilares e inguinales, caparazón y plastrón (Orós et al., 1999), lo que puede representar una amenaza para las poblaciones de esta especie (Mafucci et al., 2005).

Actualmente existen diferentes pruebas de diagnóstico que pueden ser utilizadas para detectar o monitorear infecciones y enfermedades que afectaron en el pasado, o estén activas en el presente en una población de animales silvestres. Los resultados de estas pruebas diagnósticas deben ser interpretados en el contexto de un panorama que incluya la historia y el patrón de la enfermedad en la población, las manifestaciones clínicas observadas, y de ser posible, el resultado de otras pruebas, así como el análisis de lesiones visibles y exámenes



histopatológicos. Las pruebas clínicas aplicadas a poblaciones silvestres, se han convertido entonces en una herramienta indispensable en el monitoreo encaminado a la conservación y recuperación de especies de importancia ecológica, y pueden ser sin duda un elemento clave para la conservación de las poblaciones de *C. mydas* que anidan en las costas de Campeche.

Para lograr estrategias de conservación efectivas para poblaciones silvestres es imprescindible contar con herramientas de diagnóstico que permitan conocer el estado de salud de especies que se encuentren en peligro de extinción, o sujetas a protección especial.

Los valores bioquímicos juegan un papel importante en el diagnóstico del estado físico de los organismos silvestres, ya que estos son indicadores del estado de las funciones fisiológicas y/o inmunológicas de los animales. Utilizando los resultados de estos análisis pueden hacerse inferencias sobre los posibles problemas que está enfrentando una población determinada, o sobre las condiciones del hábitat en el que se desenvuelven. Además, son auxiliares en el desarrollo de estrategias potenciales para revertir, detener o prevenir que estos problemas sucedan en otras poblaciones en el futuro. Dado lo anterior, el objetivo principal del presente trabajo de investigación fue desarrollar un estudio bioquímico comparativo entre ejemplares de *C. mydas* infestados por simbiontes e individuos no infestados, con la finalidad de proveer información de línea base reportando los valores bioquímicos en hembras anidantes de *C. mydas* en las costas de Campeche.



## 2. ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO.

### 2.1 Las tortugas marinas en el mundo.

Las tortugas marinas han habitado el planeta desde hace aproximadamente 100 millones de años (Grossman et al., 2007). La distribución de estos organismos es cosmopolita dentro de las regiones tropicales y subtropicales del planeta. Sus áreas de distribución son muy extensas debido a que son capaces de realizar recorridos de hasta 5000 km de distancia a lo largo de su vida (Grossman et al., 2007). Al tener áreas de distribución tan amplias, la influencia que las tortugas han tenido alrededor del mundo es muy grande y han sido aprovechadas de diferentes formas: como alimento por medio del consumo de carne y huevos, y como materia prima para la elaboración de artefactos por numerosos grupos humanos (Márquez, 1996).

Se conocen seis géneros y ocho especies de tortugas marinas (Tabla 1). Se incluyen dentro del grupo de los quelonioideos (Chelonioidea), que consta de dos familias: Cheloniidae y Dermochelyidae. Algunas especies como la tortuga blanca (*C. mydas*), la tortuga caguama (*Carreta caretta*) o la tortuga laúd (*Dermochelys coriacea*) viven en casi todos los océanos del planeta, y realizan grandes migraciones. Otras especies, como la tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*) o la tortuga lora (*Lepidochelys kempii*) tienen una distribución mucho más limitada, encontrándose solamente en algunos países de Centro América. Mientras que la tortuga plana (*Natator depressus*) se encuentra únicamente en la costa norte de Australia (Márquez, 1996).



**Tabla 1.** Distribución mundial de las ocho especies de tortugas marinas reconocidas en la actualidad (**NOM-059-SEMARNAT-2010**).

| Género              | Especie                       | Nombre común   | Distribución             |
|---------------------|-------------------------------|----------------|--------------------------|
| <b>Caretta</b>      | <i>Carreta caretta</i>        | Cahuama        | Golfo y Caribe           |
| <b>Chelonia</b>     | <i>Chelonia mydas</i>         | Verde o Blanca | Golfo, Caribe y Pacífico |
| <b>Chelonia</b>     | <i>Chelonia agassizii</i>     | Prieta         | Pacífico                 |
| <b>Eretmochelys</b> | <i>Eretmochelys imbricata</i> | Carey          | Golfo, Caribe y Pacífico |
| <b>Lepidochelys</b> | <i>Lepidochelys kempii</i>    | Lora           | Golfo y Caribe           |
| <b>Lepidochelys</b> | <i>Lepidochelys olivácea</i>  | Golfina        | Pacífico                 |
| <b>Dermochelys</b>  | <i>Dermochelys coriácea</i>   | Laúd           | Golfo, Caribe y Pacífico |
| <b>Natator</b>      | <i>Natator depressus</i>      | Plana          | Australia                |

## 2.2 Tortugas marinas en México.

México es considerado por muchos el país de las tortugas marinas. La diversidad de ambientes costeros y la riqueza de los litorales mexicanos ofrecen las condiciones ideales para su alimentación, descanso y reproducción, de tal forma que siete de las ocho especies que actualmente existen en el mundo, se reproducen en las costas mexicanas, tanto del litoral del Pacífico como del Golfo de México hasta el Mar Caribe (Márquez, 1996).

En México, las tortugas marinas forman parte de nuestra historia y del patrimonio biológico de las comunidades costeras (Alvarado & Delgado, 2005). Si bien, el aprovechamiento de estos organismos en los años 50's no impactaba fuertemente sus poblaciones, esto cambió desde 1965, cuando inició la pesca dirigida como consecuencia de la demanda de piel de tortuga para sustituir a la de cocodrilo. Por



ejemplo, en 1967 se capturaron 11,900 toneladas equivalentes a 297,500 tortugas (Briseño-Dueñas, 2002). La creciente demanda de la industria peletera diezmó de manera importante las poblaciones de tortugas marinas, por lo que en el año 1990 se decretó una veda total por tiempo indefinido que detuvo la sobre explotación de estos organismos (Cifuentes & López, 2006), sin embargo, las actividades ilegales como la recolección de huevos y la pesca furtiva, además de la pesca incidental, continúan afectando a las poblaciones de tortugas marinas en nuestro país (Gardner y Nichols, 2001).

Como hábitat para tortugas marinas, la península de Yucatán es la zona más importante en el Hemisferio Norte, ya que es considerada como la unidad biogeográfica de *Chelonia mydas* y *Eretmochelys imbricata* en México. Por otro lado, el estado de Campeche por su ubicación en el cinturón tropical y la complejidad de sus ecosistemas estuarinos, lagunares y marinos, forma parte de una de las regiones de mayor interés para la conservación de las poblaciones de tortugas marinas (Guzmán & García, 2015). Su importancia radica en que el estado cuenta con áreas que funcionan como hábitats para la anidación de 2 especies: *Eretmochelys imbricata* y *Chelonia mydas*.

En las costas del estado de Campeche, las zonas principales de anidación son Punta Xen y Chenkan para *E. imbricata*, mientras que para *C. mydas* es la zona de Isla del Carmen, Isla Aguada, Sabancuy y Cayo arcas (Fig. 1). (Guzmán, 2006).



**Figura 1.** Principales playas de anidación de tortugas marinas en Campeche. Modificado de: La Jornada Ecológica, 2010.

### 2.3 *Chelonia mydas*.

Como otras especies *C. mydas* presenta una gran vulnerabilidad a las amenazas antrópicas a lo largo de todo su ciclo de vida. Entre las amenazas directas destacan la recolección ilegal de huevos, así como la captura de hembras en las playas de anidación, y la captura incidental o dirigida de juveniles y adultos en las áreas de alimentación (Fleming, 2001). Con base en el número de nidos de *C. mydas*, la tendencia poblacional general en los últimos años es de incremento continuo. Desde el inicio de la protección de las tortugas marinas hasta 2004, se presentaron registros de abundancias extremas máximas en los años pares y mínimas en los nones. A partir del 2005, desaparece el periodo de altibajos, presentando un incremento en la tendencia de crecimiento poblacional de manera exponencial, observando la mayor expresión en el año 2013, la cual fue superada en 2015, cuando se registró el máximo histórico (Guzmán & Garcia, 2016).



### 2.3.1 Clasificación taxonómica.

**Dominio:** Eukarya

**Reino:** Animalia

**Filo:** Chordata

**Clase:** Reptilia

**Orden:** Testudines

**Suborden:** Cryptodira

**Superfamilia:** Chelonioidea

**Familia:** Cheloniidae

**Género:** *Chelonia*

**Especie:** *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758)

Fuente: World register of marine species (WoRMS-2017).

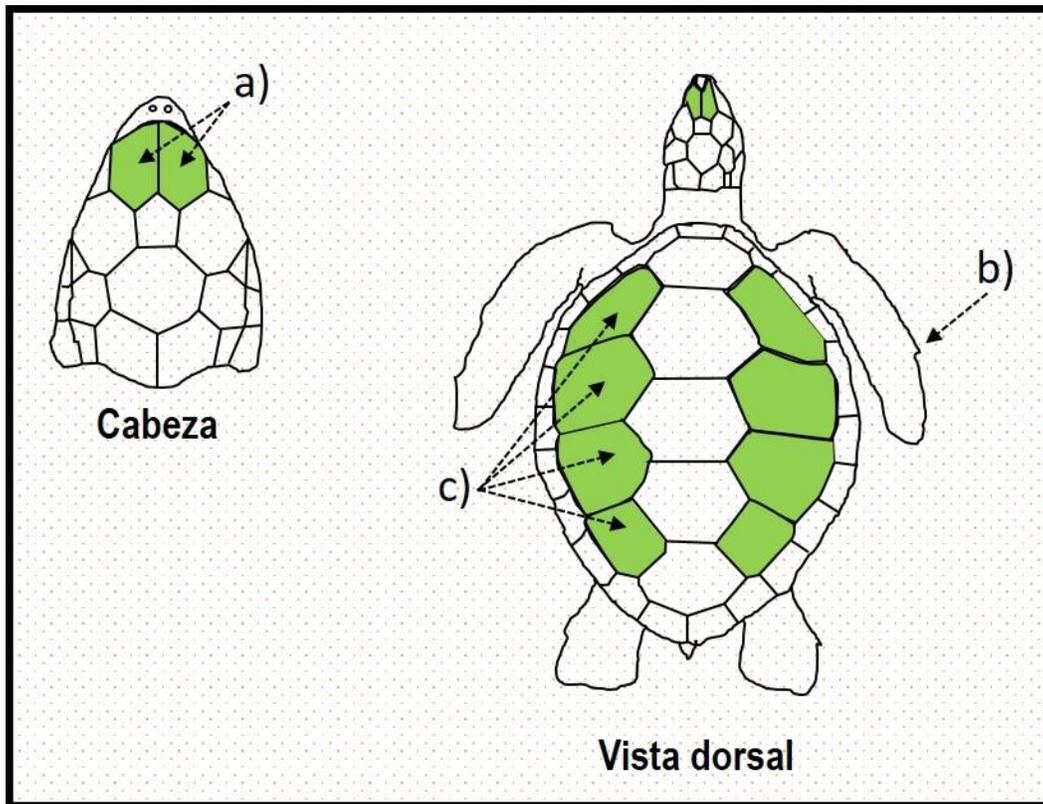
### 2.3.2 Características generales.

A *C. mydas* se le denomina tortuga verde debido al color de la grasa que se encuentra debajo del caparazón, el cual es de forma ovalada y cuenta con cuatro pares de escudos laterales, los cuales no siempre son regulares en su forma, aunque no son aserrados como los de la tortuga carey (*E. imbricata*) (Márquez, 2002). La coloración en el caparazón de *C. mydas* es variable en los adultos, aunque regularmente los colores varían de un verde pálido a un verde oscuro.

El plastrón es de tono amarillo segmentado por escudos a veces de forma irregular, estos escudos se nombran de acuerdo a la parte del cuerpo donde se ubiquen (escudos intergulares, gulares, humerales, pectorales, abdominales, femorales y anales). La cabeza de *C. mydas* es redonda y mide alrededor de 15 centímetros de ancho en ejemplares adultos de entre 100-120 centímetros de largo curvo del caparazón, y se distingue por presentar un par de escamas prefrontales (ubicadas frente a los ojos), al contrarios de los dos pares presentes



en la mayoría de las tortugas marinas como lo muestra la Fig. 2 (Pritchard & Mortimer, 2000).



**Figura 2.** Identificación de *Chelonia mydas*, **a)** un par de escamas prefrontales, **b)** una uña en aletas anteriores, **c)** cuatro pares de escudos laterales. Modificado de: Pritchard, P.C.H. y J.A. Mortimer-2000.

Como otros quelonios, *C. mydas* cuenta con adaptaciones para un medio acuático. Las extremidades se encuentran fusionadas en forma de aletas. Las anteriores las utilizan para impulsarse, mientras las posteriores le sirven como timón y para dirigir su rumbo dentro del agua. Ello le permite alcanzar y mantener velocidades entre 30 y 40 km/h en distancias limitadas (Bowen et al., 1992). Posee una glándula lacrimal de sal, encargada del mantenimiento del balance iónico-acuífero (Marshall & Cooper, 1988).

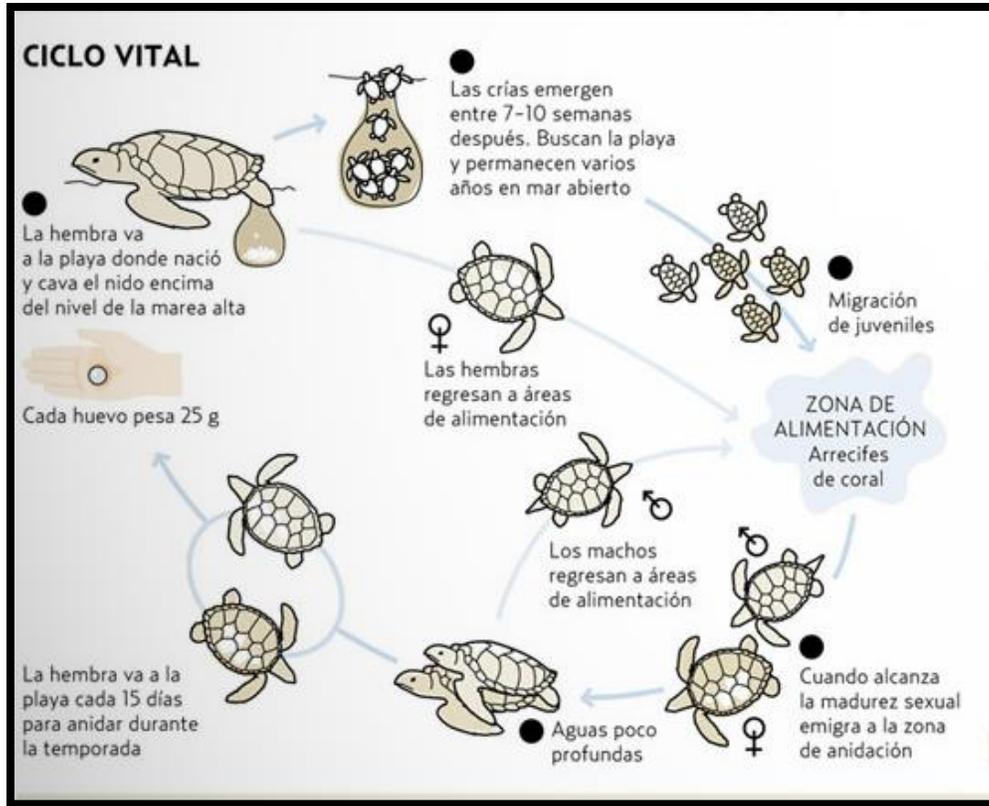
El tamaño y la forma del cuerpo tienen implicaciones fisiológicas, evolutivas y ecológicas para las tortugas marinas. Las medidas corporales de esta tortuga están correlacionadas con muchos aspectos reproductivos y con otras



propiedades como la temperatura del cuerpo, el rango metabólico, y la pérdida de agua por evaporación, entre otras características (Van Dam & Diez, 1997).

*Chelonia mydas* es la tortuga más grande de la familia Cheloniidae; la medida del caparazón de un adulto varía de 100 a 120 cm de largo y el animal puede llegar a pesar hasta 230 Kg. La dieta de *C. mydas* cambia drásticamente a lo largo de su vida. Los juveniles son carnívoros, se alimentan de gusanos marinos, crustáceos e insectos acuáticos, además de pastos y algas. Los adultos comen principalmente pasto marino y algas, lo que convierte a *C. mydas* en la única tortuga marina que es estrictamente herbívora como adulta. Sus mandíbulas son aserradas, facilitando el consumo de una dieta basada en la vegetación. Juegan un papel ecológico muy importante en la dispersión de los nutrientes desde áreas ricas en estos elementos, (por ejemplo los lechos de pastos marinos), hasta áreas pobres en nutrientes, como las playas (Márquez, 1996).

En las diferentes etapas de su ciclo de vida *C. mydas* utiliza diferentes hábitats (Fig. 3). Las crías tardan de 10 a 12 semanas en abandonar el nido y se estima que bajo condiciones naturales emerge exitosamente más del 70% de la nidada; Después de dejar el nido, las crías tienen la habilidad de orientarse por la influencia del campo magnético de la tierra (Frazier, 2001), y al ocupar los ambientes pelágicos se resguardan en zonas de acumulación de algas para evitar ser depredadas (Bowen et al., 1992).



**Figura 3.** Ciclo de vida de la tortuga verde (*C. mydas*). Tomado de Libro Rojo de la fauna UICN-2014.

### 2.3.3 Biología de la reproducción.

Los adultos de *C. mydas* realizan migraciones desde las áreas de alimentación a las playas de anidación cada 2 o 3 años para la reproducción. Durante este periodo, pueden realizar de 4 a 5 puestas cada 12-15 días (Lohmann et al., 1999; Lohmann et al., 2008; Nathan et al., 2008; Guzmán & Garcia, 2016). Cada hembra puede poner 110-130 huevos por nido (Fig. 4). Los factores de mayor importancia para la selección de playas de puesta son: la topografía submarina frente a la costa, la pendiente, la granulometría de la arena y la presencia de zonas de vegetación accesible. La importancia de éstas y otras características varían según el área de anidación (Mortimer, 1982). Por ejemplo, se ha postulado que la granulometría de la arena puede variar radicalmente con los cambios ambientales, por lo que no parece ser un factor determinante en la selección de playa (Eckert et



al., 2000). Sin embargo, dichas características son aparentemente significativas en la selección de playas de anidación de *C. mydas* en Chipre (McDermott et al., 2000). Por otra parte, se ha propuesto que los fondos costeros libres de rocas son favorables para esta especie (Mortimer, 1982), sin embargo se ha sugerido también que *C. mydas* podría utilizar las formaciones rocosas en los fondos marinos para orientarse y localizar las playas de destino (Hughes, 1974).



**Figura 4.** Hembra de *C. mydas* anidando en playas de Isla Aguada, Campeche. Foto de: Cruz-Quintana, 2012.

#### **2.4 Simbiontes en tortugas marinas.**

Al igual que otros organismos pelágicos como las ballenas, las tortugas marinas funcionan como hábitat para el crecimiento de un gran número de organismos marinos. Se han reportado más de 200 especies de epibiontes de tortugas marinas que se establecen solamente en el caparazón. Por su forma, tamaño y superficie, las tortugas marinas son un sustrato para algas marinas, cirrípedos, nematodos, isópodos, anfípodos, hidrozoarios, cangrejos y briozoos, entre otros organismos.

Por definición, los parásitos forman parte de las relaciones simbióticas (organismos de diferentes especies que viven juntos), aunque se define a un



parásito como un organismo que vive sobre o dentro de otro organismo, y que vive a expensas del hospedero, ya que suele alimentarse de él. Los parásitos son organismos especializados cuya acción puede no causar la muerte del hospedero, pero puede, de forma indirecta desencadenar infecciones por patógenos que pueden ocasionar su muerte (Hoffman, 1973), a diferencia de los epibiontes, para los cuales si el número y tamaño no es considerablemente grande, no causan daño al hospedero de quien dependen.

La mayoría de las relaciones de los organismos que habitan a *C. mydas* son de comensalismo y, aunque la sanguijuela *Ozobranchus margo* es el único ectoparásito conocido, algunos comensales también pueden resultar perjudiciales. Por ejemplo, los cirrípedos, aunque no son considerados parásitos pueden provocar heridas profundas, afectar la movilidad e incluso la visibilidad si se encuentran en la cabeza (Cardénas-Palomo & Maldonado-Gasca, 2005).

#### **2.4.1 Importancia del estudio de los parásitos en tortugas marinas**

Los parásitos son importantes en la relación huésped-ambiente, ya que si alguno de estos varía, el efecto del parásito hacia el huésped puede desencadenar enfermedades o incluso su muerte (Cheng, 1986)

Los parásitos son parte del ambiente de sus hospederos y el acceso a éstos está relacionado con la dieta y las condiciones de vida, así como también con factores evolutivos y zoogeográficos. El estudio ecológico de parásitos de tortugas marinas permite aclarar las relaciones existentes entre algunos aspectos de la fauna parasitaria (riqueza, diversidad, prevalencia, intensidad, entre otros) y ciertas características de los hospederos (sexo, edad, dieta, variedad de hábitats que frecuentan y el rol que desempeñan en la comunidad biótica).

El estudio de los parásitos de tortugas marinas también cobra importancia debido al papel que pueden desempeñar como marcadores biológicos para la determinación de stocks, rutas de migración, relaciones filogenéticas y contaminación, aunque para poder utilizar a los parásitos como marcadores biológicos es necesario caracterizar la comunidad parasitaria evaluando la



dinámica estacional y las variaciones relacionadas con la talla y el sexo del hospedero (Grabda, 1991).

Durante más de 30 años los esfuerzos de investigación y conservación de tortugas marinas a nivel mundial han sido llevados a cabo básicamente en zonas de anidación (Bolten & Bjorndal, 1992; López-Mendilaharsu et al., 2006). Esto se debe a la dificultad de realizar seguimientos de los individuos debido a las grandes migraciones que estos realizan, cubriendo cientos y miles de kilómetros, y a la accesibilidad que presentan las hembras al salir del mar a desovar en las playas. La alta mortandad registrada en individuos antes de que puedan alcanzar la madurez sexual ha determinado que la investigación en tortugas marinas en zonas de alimentación y desarrollo donde se verifica una alta actividad pesquera, cobre una importancia crítica para su conservación. Esto provoca que en la actualidad se lleven a cabo un mayor número de estudios en estas zonas, aunque la disponibilidad de información referente a simbiosis de tortugas marinas es aún muy escasa (Alonso, 2007)

## **2.5 Análisis bioquímicos.**

Dentro del monitoreo y control de poblaciones de animales silvestres, las pruebas clínicas han demostrado ser de gran utilidad por la información que generan, y por qué a través de esta se puede facilitar la toma de decisiones para el manejo de las poblaciones. Por ejemplo, análisis bioquímico del plasma puede detectar un problema y/o ayudar en la identificación del tipo de lesiones que han ocurrido a algún animal (Eckert et al., 2000). Los diferentes tipos de ensayos que pueden ser llevados a cabo en la sangre total, el suero o el plasma tienen diferentes requerimientos de colecta y almacenamiento que puede limitar su efectividad bajo ciertas condiciones. Para la mayoría de los análisis se requieren de 3 a 5 ml de sangre (Eckert et al., 2000). La ventaja de la sangre es que es una muestra fácil de obtener y que puede proveer, a través de sus subcomponentes, excelentes indicadores de muchos aspectos de la salud de *C. mydas* y su reproducción (Owens & Ruiz, 1980).



Los estudios bioquímicos en reptiles se remontan a mediados del siglo XX (Gaumer y Goodnight, 1957; Martin y Bamberger, 1952). A partir de ahí, ha habido un aumento substancial de reportes en la literatura relacionada con la bioquímica de quelonios (Casal y Oros, 2007; Flint et al., 2010). Sin embargo, los estudios de bioquímica sanguínea no han sido suficientes. En México existe escasa información sobre la bioquímica de estos reptiles, utilizándose para la evaluación de éstos, la información disponible de otras regiones geográficas del mundo (Aguirre y Balazs, 2000; Anderson et al., 2011; Bolten y Bjorndal, 1992; Brito-Carrasco, 2016; Flint et al., 2010; Hasbún et al., 1998; Labrada-Martagón, 2010; Lara-Uc, 2012; Lewbart et al., 2014; Montilla et al., 2008; Paje-Karjian, 2014; Prieto-Torres et al., 2013; Redondo-Zuñiga, 2008).

Como sucede en otras especies animales, en los quelonios, las diversas enfermedades como hemoparásitos y enfermedades inflamatorias se asocian con cambios en los parámetros bioquímicos (Zhang et al., 2011). Por otra parte, la bioquímica sanguínea es otra valiosa herramienta diagnóstica para la evaluación renal, hepática y muscular en las tortugas marinas y pueden estar relacionados, además, con su estado fisiológico y nutricional (Montilla et al., 2008; Labrada-Martagón, 2010). El apoyo bioquímico al diagnóstico de enfermedades como la fibropapilomatosis, una enfermedad emergente de las tortugas marinas, es un ejemplo de ello. Los estudios han mostrado una correlación negativa entre los valores bioquímicos y los grados de severidad de la enfermedad, es decir, las anomalías en los analitos se observaron en los animales más afectados (Lara-Uc, 2012; Montilla et al., 2008; Rossi, 2009).

En años recientes se han establecido algunos valores de referencia para variables bioquímicas en los quelonios de vida libre y cautiverio (Aguirre y Balazs, 2000; Anderson et al., 2011; Bolten y Bjorndal, 1992; Brito-Carrasco, 2016; Flint, 2010; Flint et al., 2010; Hasbún et al., 1998; Labrada-Martagón et al., 2010; Lara-Uc, 2012; Lewbart et al., 2014; y Montilla et al., 2008; Paje-Karjian, 2014; Prieto-Torres et al., 2013; Redondo-Zuñiga, 2008). Sin embargo, los valores bioquímicos de tortugas marinas además de variar según la genética, madurez, sexo, y estado



migratorio, pueden variar con la localización geográfica, tipo de hábitat y la dieta, por lo que es recomendable realizar estudios que lleven a establecer valores basales en cada sitio de congregación (Flint et al., 2010). A lo anterior se suma que actualmente las costas y océanos están intervenidos, en gran medida por la actividad humana y la urbanización (pesquerías, muelles, termoeléctricas, entre otros), lo que conlleva a un detrimento del medio ambiente marino en el cual estas especies se desenvuelven (Campbell et al., 2009).

La evaluación de los valores bioquímicos en quelonios se ha vuelto cada vez más importante para su conservación y manejo. Los valores bioquímicos pueden ser utilizados como indicador biológico de la salud de los ecosistemas acuáticos locales, debido a la longevidad de los quelonios y su capacidad de permanecer en un sitio de alimentación hasta por 30 años antes de alcanzar su madurez sexual. Es por esto que, la caracterización bioquímica comparativa entre tortugas marinas clínicamente sanas y enfermas, así como la descripción de los factores fisiológicos y medioambientales pueden proveer información importante para su manejo y estrategias de conservación (Zhang et al., 2011).

El análisis bioquímico también provee información para la evaluación de quelonios rehabilitados antes de ser liberados hacia la naturaleza (Zhang et al., 2011). Esto es importante en el escenario actual en México, ya que, se han aumentado los esfuerzos para rehabilitar tortugas varadas. El hecho de contar con valores bioquímicos basales de las hembras anidantes que llegan a las costas del estado de Campeche permitiría un mayor grado de conocimiento y asertividad en las decisiones y estrategias para la conservación de la especie.

### **2.5.1 Monitoreo de la salud y la conservación de *Chelonia mydas* y sus ecosistemas.**

La salud del ecosistema marino es un concepto relativamente nuevo y difícil de definir debido a la enorme diversidad biológica que alberga el océano y la falta de estudios taxonómicos y ecológicos, lo que limita la capacidad de definir un ecosistema marino sano (Abreu–Grobois & Briseño-Dueñas, 2000).



Los ecosistemas marinos están sometidos a múltiples factores concurrentes de estrés que afectan la salud de los animales que los habitan (Bjorndal et al., 2006). La transformación drástica y acelerada de los ecosistemas costeros en la mayoría de los casos no se ha sido cuantificada, sin embargo, la pérdida de hábitat en todo el mundo es muy evidente. Debido a esto y a que muchas especies tienden a concentrarse en pequeñas áreas costeras, ya sea de alimentación, apareamiento o anidación, éstas especies se han hecho cada vez más susceptibles a los agentes infecciosos, las floraciones de algas, a la actividad antrópica como la pesca y la contaminación ambiental (Bjorndal et al., 2006).

El papel de *C. mydas* dentro de la estructura de los ecosistemas ha sido poco estudiado. Existe una carencia de información acerca del impacto que esta especie tiene sobre la estructura y función del ecosistema, y por lo tanto sobre la biología integral de esta especie (Van Dam & Diez, 1997). Sólo generando este tipo de información se conseguirá el desarrollo de estrategias efectivas para el manejo y conservación de estas tortugas y sus ecosistemas.

### **2.5.2 Enfermedades de las tortugas marinas.**

La enfermedad ha sido definida clásicamente como una pérdida de la homeostasis entre el medio interno (organismo) y el medio externo. Sin embargo, se puede considerar a la enfermedad como una alteración de los mecanismos de regulación interna del organismo. La causa de la enfermedad puede ser una falla del propio organismo, o una consecuencia de la alteración entre la relación del organismo con su ambiente. Las enfermedades parasitarias pueden generar problemas en las poblaciones silvestres, tanto para las especies en riesgo, como para el mantenimiento de la diversidad biológica en los ecosistemas (Aguirre & Lutz, 2004).

*Chelonia mydas*, al igual que todas las tortugas marinas y el resto de los reptiles, son ectotermos, es decir, su temperatura corporal es más propensa a fluctuar a diferencia a la de los mamíferos o las aves que tienen una capacidad



termorreguladora mayor. Esta oscilación en la temperatura corporal facilita las condiciones para que los patógenos puedan crecer y proliferar.

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 (Steinmetz, 2006). El sistema inmunológico, junto a barreras mecánicas, protege a *C. mydas* de la invasión de patógenos o parásitos (Bjorndal et al., 2006).

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 (Tabla 2), 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.



**Tabla 2.** Patologías reportadas en poblaciones de tortugas marinas. Tomado de Lara-Uc, 2012.

| Agente (s) causal (s)   | Patología  |
|---|--|
| ➤ Multifactorial  | Anemia ferropénica                               |
| ➤ <i>Aeromonas hydrophila</i><br>➤ <i>Vibrio alginolyticus</i><br>➤ <i>Escherichia coli</i><br>➤ <i>Citrobacter sp.</i><br>➤ <i>Enterobacter sp.</i><br>➤ <i>Proteus sp.</i><br>➤ <i>Pseudomonas sp.</i><br>➤ <i>Salmonella sp.</i><br>➤ <i>Mycobacterium sp.</i><br>➤ <i>Edwardsiella sp.</i><br>➤ <i>Flavobacterium sp.</i> | Enfermedades asociadas a infecciones bacterianas |
| ➤ <i>Colletotrichum acutatum</i><br>➤ <i>Aspergillus sp.</i><br>➤ <i>Paecilomyces sp.</i><br>➤ <i>Sporotrichum sp.</i><br>➤ <i>Scolecobasidium sp.</i><br>➤ <i>Cladosporium sp.</i>   | Enfermedades micóticas                           |
| ➤ Herpesvirus   | Enfermedades asociadas a infecciones virales     |
| Ectoparásitos   |  |
| ➤ <i>Ozobranchus branchiatus</i>  |  |
| Endoparásitos protozoos   |  |
| ➤ <i>Entamoeba invadens</i>   |  |
| Coccidios   |  |
| ➤ <i>Caryospora chelonidae</i>  |  |
| ➤ <i>Eimeria caretta</i>  |  |
| Endoparásitos helmintos   | Enfermedades parasitarias                        |
| • <b>Nematodos</b>  |  |
| ➤ <i>Sulcascaaris sulcata</i>   |  |
| • <b>Trematodos espirórcidos</b>  |  |
| ➤ <i>Hapalotrema dorsopora</i>  |  |
| ➤ <i>Learedius learedi</i>  |  |
| ➤ <i>Carettacola hawaiiensis</i>  |  |
| ➤ <i>Neospororchis sp.</i>  |  |

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



### 3. JUSTIFICACIÓN.

Las tortugas al igual que otros vertebrados, son susceptibles a agentes patógenos como bacterias, hongos, parásitos y virus, los cuales pueden ser causantes de enfermedades e inclusive de incrementar la tasa de mortalidad en las poblaciones de las diferentes especies, por esta razón es importante conocer la relación que mantiene *C. mydas* con los organismos que pueden ser parásitos o comensales (epibiontes) y los efectos que éstos puedan llegar a tener sobre las poblaciones de esta especie.

Por otra parte, a la fecha no se han reportado trabajos sobre bioquímica o parasitología de *C. mydas* para la zona de Campeche, de tal forma que no se tienen antecedentes sobre estos indicadores en los organismos que llegan a desovar en las playas de esta entidad.

Debido a la escasa disposición de información acerca de la fauna parasitaria, así como de los valores bioquímicos de *C. mydas* en el estado de Campeche, es necesario contar con elementos que permitan establecer una línea base que describa las características de los elementos presentes en una muestra de sangre y llevar a cabo un estudio comparativo entre ejemplares de esta especie infestados por simbioses con ejemplares no infestados. Los resultados permitirán conocer el comportamiento de estos valores y los posibles efectos sobre la salud de estos reptiles. Se considera importante además, conocer y clasificar taxonómicamente los grupos de simbioses que afectan a esta tortuga en particular, con el fin de entender los alcances y efectos de las relaciones simbióticas entre estas especies y determinar si éstas relaciones son posibles causas de mortalidad en las poblaciones de *C. mydas*.

Esta información servirá como línea base para la actualización del programa de acción para la conservación de la especie (PACE) dentro de la estrategia nacional de conservación de *C. mydas*.



#### 4. HIPÓTESIS.

1. Los valores bioquímicos en sangre de las hembras anidantes de *C. mydas* de Isla Aguada, Campeche se encuentran dentro de un rango de referencia determinado que las clasifica como animales sanos.
2. La epibiota asociada a *C. mydas* en la playa de Isla Aguada, Campeche tiene una relación negativa en los parámetros bioquímicos de las tortugas anidantes.
3. La diversidad de simbioses en la población de *C. mydas* de Isla Aguada, Campeche es similar a la reportada en otras poblaciones del mundo.



## 5. OBJETIVOS.

### Objetivo General

Establecer los valores bioquímicos de rereferencia para las hembras de *C. mydas* en el sitio de anidación de Isla Aguada, Campeche.

### Objetivos específicos:

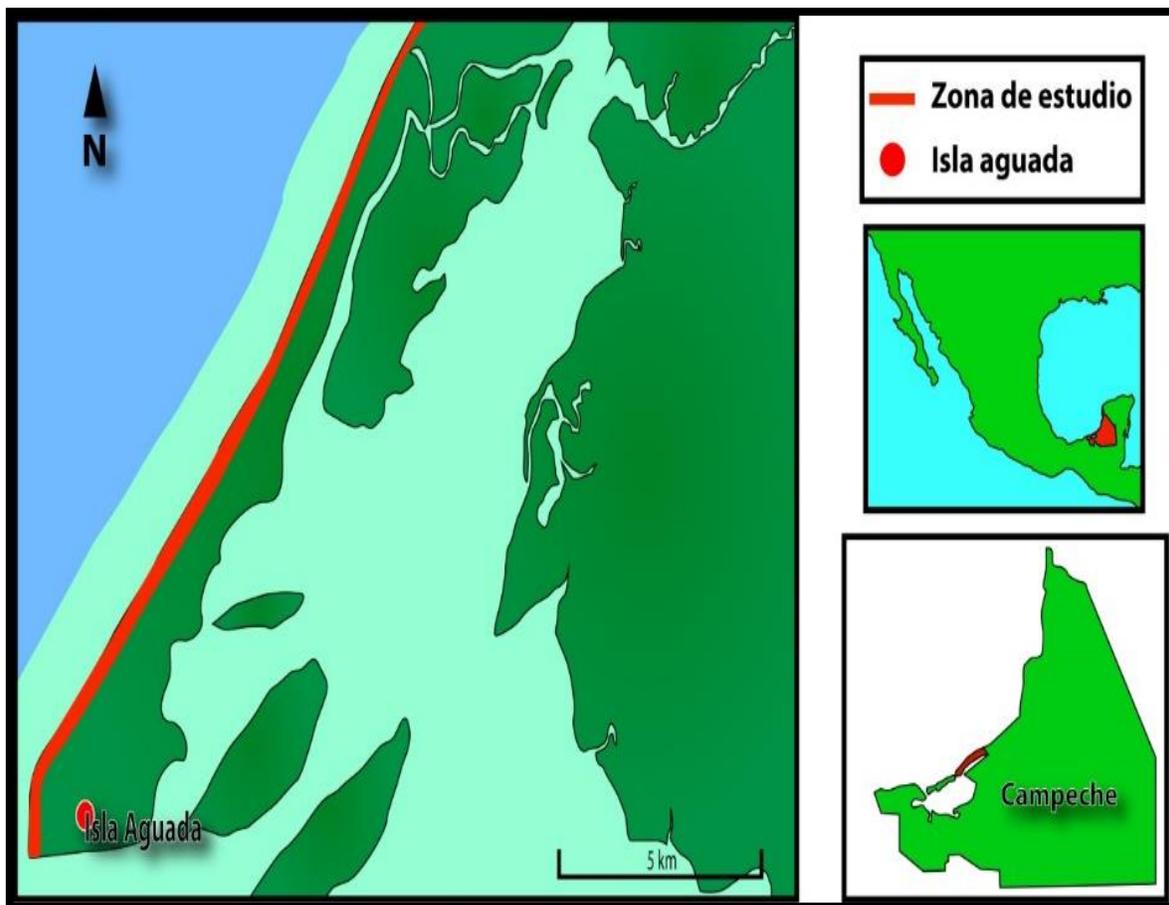
1. Comparar los valores bioquímicos en hembras anidantes de *C. mydas* de Isla Aguada infestadas por simbioses con ejemplares no infestados.
2. Comparar los valores de los analitos bioquímicos para las tortugas anidantes de *C. mydas* en Isla Aguada, Campeche, con los rangos obtenidos para esta especie en otras costas de México y el mundo.
3. Determinar si existen diferencias en la talla de los individuos de *C. mydas* infestadas por simbioses con los no infestados.
4. Identificar y cuantificar los grupos de simbioses presentes en *C. mydas* dentro del sitio de anidación de Isla Aguada, Campeche.



## 6. MATERIALES Y METODOS.

### 6.1 Área de estudio.

El campamento tortuguero, se encuentra ubicado en la Villa de Isla Aguada (18°47'05" N, 91°29'30" W), Campeche, ubicado dentro del Área de Protección de Flora y Fauna Laguna de Términos (APFFLT) (Fig. 5). Esta región cuenta con una playa índice (playa de gran importancia) para la anidación de hembras de *C. mydas*, y es una zona costera importante para la agregación de juveniles e individuos inmaduros.



**Figura 5.** Ubicación del área de estudio. La línea roja representa el transecto sobre el cual se realizaron los monitoreos y toma de muestras para los análisis clínicos y parasitológicos.



## 6.2 Diseño de Muestreo.

Se realizaron 18 muestreos nocturnos de junio a septiembre del 2016 en la playa de anidación de tortugas marinas del campamento de Isla Aguada, Campeche. La zona de muestreo incluye un transecto de 5 km dentro de los 28 km lineales de playa autorizados para la conservación de las tortugas. Estos muestreos se realizaron mediante permiso de la Dirección General de Vida Silvestre (Oficio núm. SGPA/DGVS/05845/16). En el recorrido del transecto se registraron 46 hembras anidantes de *C. mydas* de las que se tomaron muestras de sangre de 20 hembras, y se les realizó una exploración minuciosa para la detección de simbioses. El horario de la toma de muestras sanguíneas y de simbioses fue variable y estuvo sujeto al avistamiento de los ejemplares. Debido a que el arribo de las tortugas se relaciona con los cambios de mareas, los recorridos se establecieron de acuerdo al calendario de mareas de la Secretaría de Marina (SEMAR), comenzando entre las 20:00 y las 00:00 horas, y finalizando alrededor de las 06:00 - 08:00 horas del día siguiente.

A cada animal observado se le realizó una evaluación física para evaluar el comportamiento, movimiento, estado corporal y lesiones en la piel y el caparazón. Se consideró en mal estado sanitario a aquellas tortugas que presentaran lesiones musculares en alguna parte del cuerpo, presencia de simbioses y/o pérdida de peso aparente (Harris et al., 2011). Esta evaluación se realizó durante el desove.

Con la finalidad de establecer grupos de clases por tamaño se registraron los datos morfológicos de cada ejemplar utilizando una cinta métrica flexible. Las medidas tomadas fueron: Largo Curvo del Caparazón (LCC). La cantidad y ubicación de los simbioses encontrados en cada ejemplar se registraron en formatos de campo.

## 6.3 Extracción de muestra sanguínea.

Las muestras de sangre se colectaron utilizando la técnica de punción de los senos cervico-dorsales (Owens & Ruiz, 1980). Para esto se sujetó la cabeza de la



tortuga en un ángulo de 45° hacia el suelo, para que así los senos cervico-dorsales se llenaran de sangre, lo que facilita la extracción y hace menos daño al ejemplar. Utilizando una jeringa de 5 ml (BD Vacutainer<sup>MR</sup>) conectada a una aguja calibre 21, se introdujo en ángulo de 90° al cuello de los animales. La sangre colectada se colocó en frascos con heparina de litio (BD Microtainer<sup>MR</sup>) para los análisis bioquímicos. La sangre fue depositada en los frascos heparinizados retirando la aguja de la jeringa e inclinando el frasco en ángulo 45° para hemolisis. 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 y/o hielo entre 4-6 horas hasta su traslado al laboratorio (Fig. 6).



**Figura 6.** **a)** Toma de datos morfométricos de la tortuga, **b)** Toma de muestra de sangre (jeringa en 90°), **c)** Frascos para análisis bioquímicos con heparina de litio, **d)** Colocación de frasco en 45° para evitar hemolisis, **e)** Refrigeración de muestras hasta su procesamiento 4-6 h. Foto de: Cruz-Quintana, 2016.



#### 6.4 Análisis bioquímico de la sangre.

Las muestras sanguíneas se trasladaron del área de estudio a un laboratorio veterinario para ser analizadas. El plasma se separó de las células sanguíneas mediante centrifugación a 10,000 rpm x 10 minutos. El plasma sanguíneo se montó en un cuantificador automático Vet-Test-8008 (IDEXX) para la determinación de los valores para 13 analitos bioquímicos: Albumina (**ALB**), Fosfatasa Alcalina (**ALKP**), Alanina Aminotransferasa (**ALT**), Amilasa (**AMYL**), Nitrógeno Ureico (**BUN**), Calcio (**Ca**), Colesterol (**CHOL**), Creatinina (**CREA**), Globulina (**GLOB**), Glucosa (**GLU**), Fosforo (**PHOS**), Bilirrubinas Totales (**TBIL**), y Proteínas Totales (**TP**) (Aguirre y Balazs, 2000; Anderson et al., 2011; Bolten y Bjorndal, 1992; Brito-Carrasco, 2016; Flint et al., 2010; Hasbún et al., 1998; Labrada-Matargón, 2010; Lara-Uc, 2012; Lewbart et al., 2014; Montilla et al., 2008; Paje-Karjian, 2014; Prieto-Torres et al., 2013; Redondo-Zuñiga, 2008).

#### 6.5 Colecta e identificación de simbioses (ectoparásitos y epibioses).

Se revisaron seis regiones anatómicas (cabeza, cuello, aletas, caparazón, cola y cloaca) de 46 tortugas para contabilizar de manera directa el número de simbioses presentes en cada una de estas regiones. Se utilizaron pinzas de disección para retirar los simbioses del cuerpo de las tortugas y se depositaron en frascos con etanol al 70% para su conservación y posterior identificación en el laboratorio. Debido a que este procedimiento se realizó por la noche, para la colecta se utilizó una lámpara de luz roja, lo que reduce el estrés de las tortugas manipuladas (Fig. 7a, b, d).

Los simbioses fueron identificados en el Laboratorio Ambiental del Centro de Investigación de Ciencias Ambientales (CICA) de la Universidad Autónoma del Carmen (UNACAR). Para la identificación se utilizaron estereoscopios STEMI DV4 y microscopio MOTIC BA310E (4, 10, 40 y 60 x). La determinación de las especies se realizó mediante guías taxonómicas especializadas. Para la identificación de los crustáceos se utilizaron los criterios taxonómicos de Relini (1980) y Naylor (1972) y para las sanguijuelas las claves taxonómicas de Davies (1991).



### 6.5.1 Tinción, aclaramiento y montaje de ectoparásitos.

Para los ectoparásitos encontrados se utilizó la técnica de tinción de Paracarmín de Meyer, la cual se emplea para teñir los tejidos de colores llamativos y así facilitar la identificación de los organismos.

Esta técnica consistió en deshidratar los ejemplares en alcohol al 96% (dos cambios de 10 minutos cada uno). Se diluyeron 2 gotas de colorante (Paracarmín de Meyer) en 10 ml de alcohol al 96% para teñir el ejemplar, luego se lavó en alcohol al 96% para quitar el exceso de colorante durante 5 minutos. Se diferenció en alcohol 96% acidulado al 2% con ácido clorhídrico, hasta que los bordes del ejemplar quedaron blancos y los órganos internos visiblemente teñidos. Se lavó con alcohol al 96% durante uno o dos minutos para evitar que el alcohol acidulado siguiera actuando, se lavó en alcohol absoluto durante 20 minutos. El ejemplar se transparentó en aceite de clavo durante 15 minutos y se montó en bálsamo de Canadá (Fig. 7c).



**Figura 7.** **a)** Colecta de simbiotes, **b)** Fijación de simbiotes en etanol 70%, **c)** Tinciones usadas para la identificación de los simbiotes, **d)** Uso de luz roja para disminuir el estrés de la tortuga. Foto de: Cruz-Quintana, 2016.



### 6.5.2 Determinación de prevalencia y abundancia de los simbioses.

Los valores de abundancia y prevalencia de simbioses se calcularon de acuerdo con los criterios de (Bush et al., 1997). Por ejemplo, la prevalencia total de simbioses fue obtenida considerando el número de tortugas con simbioses (HP) entre el número total de tortugas revisadas (HR).

$$\% = (HP / HR) \times 100$$

Esta misma fórmula se emplea para determinar la prevalencia de cada especie de simbiote. En el caso de la abundancia, ésta se refiere al número de simbioses encontrados en cada una de las tortugas (número de individuos por hospedero), mientras que la abundancia media es el número de simbioses (NS) de una determinada especie dividido entre el número total de tortugas revisadas (HR).

$$Ab\ m = (NS / HR)$$

### 6.6 Necropsia.

Se practicó una necropsia a dos ejemplares juveniles de *C. mydas*. Una de ellas se encontró muerta en la playa de anidación, y la otra fue un cadáver proporcionado por la secretaria de marina del estado. El resultado clínico de las necropsias mostró que la causa de muerte de ambos ejemplares fue el ahogamiento. Esta conclusión se apoyó en el hecho de que en ambos animales se presentaron signos de neumotórax, causado en una de ellas posiblemente por la sísmica de exploración petrolera que ocurrió en aguas marinas adyacentes al sitio de los varamientos en los días anteriores al recale de los ejemplares, mientras que la causa de muerte del otro ejemplar fue la ingesta de un objeto metálico. Ambos especímenes presentaban avanzados signos postmortem, lo cual impidió realizar los estudios de histopatología.

Posterior a la necropsia, se realizó una colecta de endoparásitos utilizando un tamiz de 2000  $\mu\text{m}$ , 1000  $\mu\text{m}$ , 850  $\mu\text{m}$  y 250  $\mu\text{m}$  para filtrar el contenido estomacal e intestinal de ambos ejemplares. Los helmintos colectados se conservaron en etanol al 70%, se tiñeron en Paracarmín de Meyer y se montaron en Bálsamo de Canadá para su análisis e identificación.



## 6.7 Análisis estadísticos.

Los datos obtenidos de las pruebas bioquímicas se expresaron como media, desviación estándar, y valores mínimos y máximos. Los datos fueron analizados utilizando el programa estadístico "R" versión 3.3.1 (Oksanen et al, 2016). Para determinar la normalidad de los datos se aplicó una prueba de Shapiro-Wilk. Para determinar las posibles diferencias en los valores bioquímicos de *C. mydas* entre individuos con y sin infestación de simbiontes se utilizaron pruebas de *t* de Student y de Mann-Whitney. Las diferencias se consideraron significativas a nivel de  $p \leq 0.05$ . La relación entre los valores de cada analito, el número de simbiontes, y el número de especies de simbiontes por tortuga se analizaron a través de correlaciones múltiples. Asumiendo que el grado de infestación por simbiontes depende del estado general de salud de un animal, se utilizó un modelo lineal con la formula  $y \sim \beta_1 + \beta_2 + \dots + \beta_n$ , en donde  $y$  = número de simbiontes o número de especies de simbiontes, y las  $\beta$  son los resultados obtenidos para cada analito en cada una de las tortugas examinadas.

## 6.8 Meta-análisis.

Con el propósito de describir el patrón general de salud de las tortugas que llegan a las costas de Campeche, con respecto al de otras poblaciones de México y el mundo, los resultados obtenidos en este trabajo se comparan con aquellos obtenidos en trabajos previamente publicados. A través de un meta-análisis se implementó un modelo de efectos aleatorios. Este modelo fue elegido debido a las diferencias metodológicas aplicadas para la cuantificación de los analitos en los diferentes estudios incluidos en el análisis. Si bien los métodos utilizados en los trabajos son similares, pueden presentar variaciones en los resultados como consecuencia del uso de diferentes tipos de dispositivos y/o reactivos (Borenstein et al., 2009). Adicionalmente, se estimó el efecto del tamaño (ES) de las muestras sobre los valores promedio de los analitos que mostraron valores atípicos en este estudio, y se estimó la heterogeneidad (Q) entre los estudios incluidos en el análisis. Los datos también se analizaron mediante un modelo de efectos mixtos. Este modelo se implementó mediante la fórmula  $es \sim ne + yr$ , en donde el valor



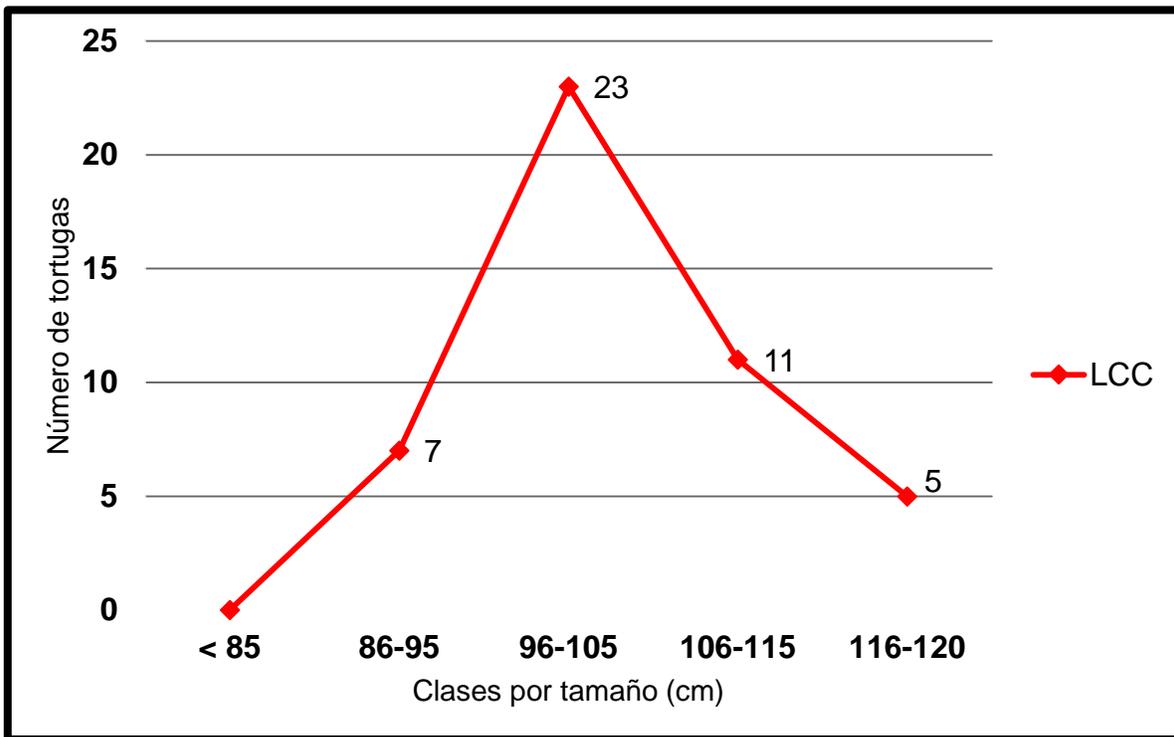
promedio de los analitos (*es*) es dependiente del tamaño de muestra usado (*ne*) y del año en el que se realizó el trabajo (*yr*), dado que en un periodo de 25 años (rango de tiempo en el que publicaron los estudios utilizados) pueden existir diferencias metodológicas que arrojen resultados heterogéneos. Estos análisis se realizaron utilizando los paquetes metafor (Viechtbauer, 2013) y MAd (Del Re & Hoyt, 2014) del lenguaje estadístico R sin distinción sobre el sexo, edad, hábitat o estado reproductivo de los animales. El análisis se repitió incluyendo únicamente trabajos hechos con hembras anidantes (Lara-Uc, 2012; Prieto-Torres et al., 2013 Redondo-Zúñiga, 2008) para descartar efectos sobre la heterogeneidad producida por diferencias fisiológicas entre machos y hembras o por el estado de gravidez de los animales.



## 7. RESULTADOS

### 7.1 Morfometría y examen físico.

Durante los recorridos se registraron 46 hembras anidantes de *C. mydas*. Los rangos de LCC oscilaron de 88 - 120 cm ( $\bar{x} = 103.4 \pm 8.5$  cm), lo que corresponde a hembras adultas de acuerdo con la estructura de clases por tamaño (> 85 cm) empleada para estimar la edad en la población (Fig. 8).



**Figura 8.** Medidas de Largo Curvo de Caparazón (LCC) de las hembras de *C. mydas* muestreadas ( $n = 46$ ).

Todas las tortugas muestreadas estuvieron alertas y activas durante la captura y se consideraron clínicamente sanas tras el examen físico.

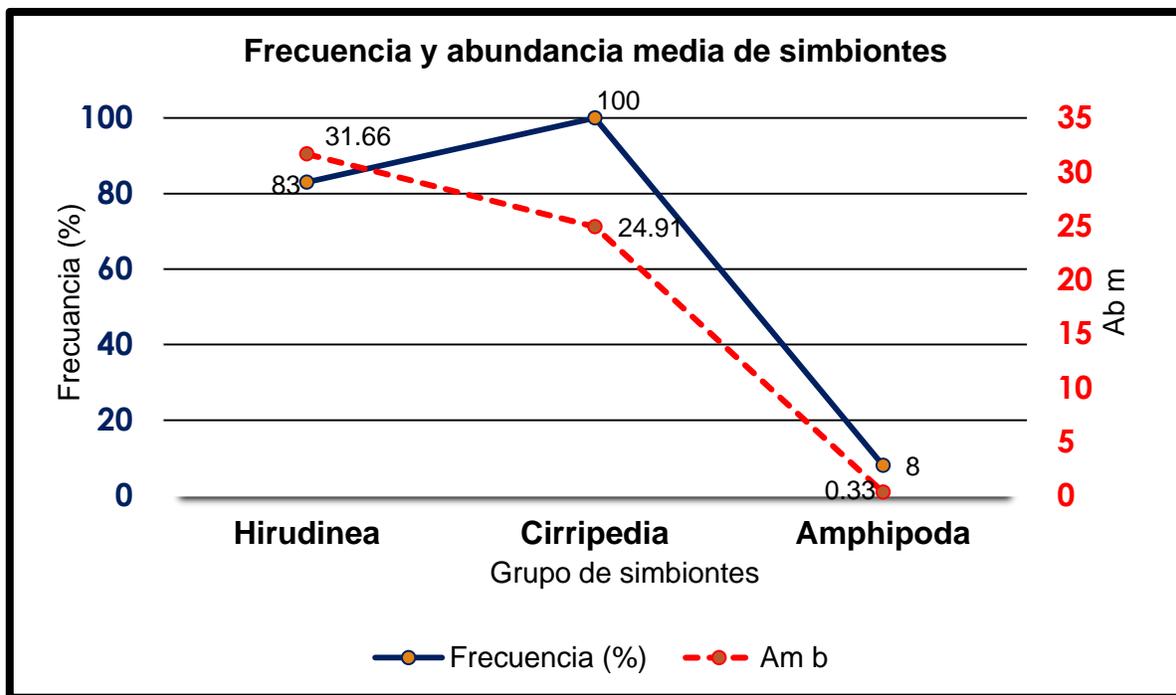
Las 46 anidantes parecían saludables según los criterios de examen físico (Harris et al., 2011; Ferrando, 2010; Thomson et al., 2009). Todas las hembras mostraron ser lo suficientemente fuertes para llegar del agua al sitio donde anidarían y someterse al proceso de anidación (hacer el nido, ovopositar y cerrar el nido). El 15% de los ejemplares presentaban evidencia de viejas cicatrices y lesiones



curadas, ninguna de las cuales parecía afectar su comportamiento. Ninguna de las hembras muestreadas presentó evidencia de posibles fibropapilomas u otra patología.

## 7.2 Ectoparásitos y epibiontes.

Doce de las 46 tortugas registradas presentaron al menos un tipo de simbiote, donde la prevalencia estimada en *C. mydas* fue de 26%. Se identificaron dos grupos de simbioses: ectoparásitos y epibiontes. Dentro de estos grupos, tres taxones fueron determinados: Cirripedia y Amphipoda como epibiontes y sólo Hirudinea como ectoparásito. Los cirripedios fueron los simbioses más frecuentes, encontrándose en las 12 tortugas, seguido de los hirudineos en 10 y anfípodos en 1 tortuga, respectivamente (Fig. 9).



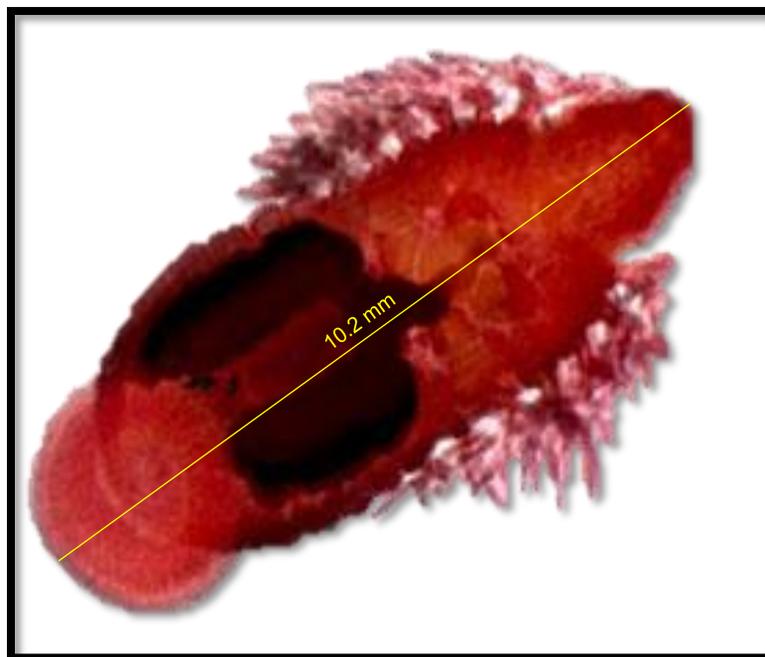
**Figura 9.** Frecuencia de grupos de simbioses registrados.  $n = 12$ .



Dentro del grupo de los ectoparásitos se identificó una sola especie, la sanguijuela *Ozobranchus branchiatus* (Fig. 10). En el grupo de los epibiontes se identificaron dos especies, el cirrípedo *Chelonibia testudinaria* (Fig. 11), y el anfípodo *Elasmopus* sp. (Fig. 12). El número total de estas especies se presenta en la tabla 3.

**Tabla 3.** Número total y abundancia media ( $\pm$  desviación estándar) de ectoparásitos y epibiontes y presentes en *C. mydas* ( $n = 12$ ) en el sitio de anidación Isla Aguada, Campeche.

| Especie                        | Número total de organismos | Ab m         |
|--------------------------------|----------------------------|--------------|
| <i>Chelonibia testudinaria</i> | 299                        | 24.91(7.13)  |
| <i>Ozobranchus branchiatus</i> | 380                        | 31.66(27.33) |
| <i>Elasmopus</i> sp.           | 4                          | 0.33(1.15)   |



**Figura 10.** Vista dorsal del anélido hirudineo *Ozobranchus branchiatus*. Localizado en cuello y extremidades. 10.2 mm de longitud. Foto de: Cruz-Quintana, 2016.



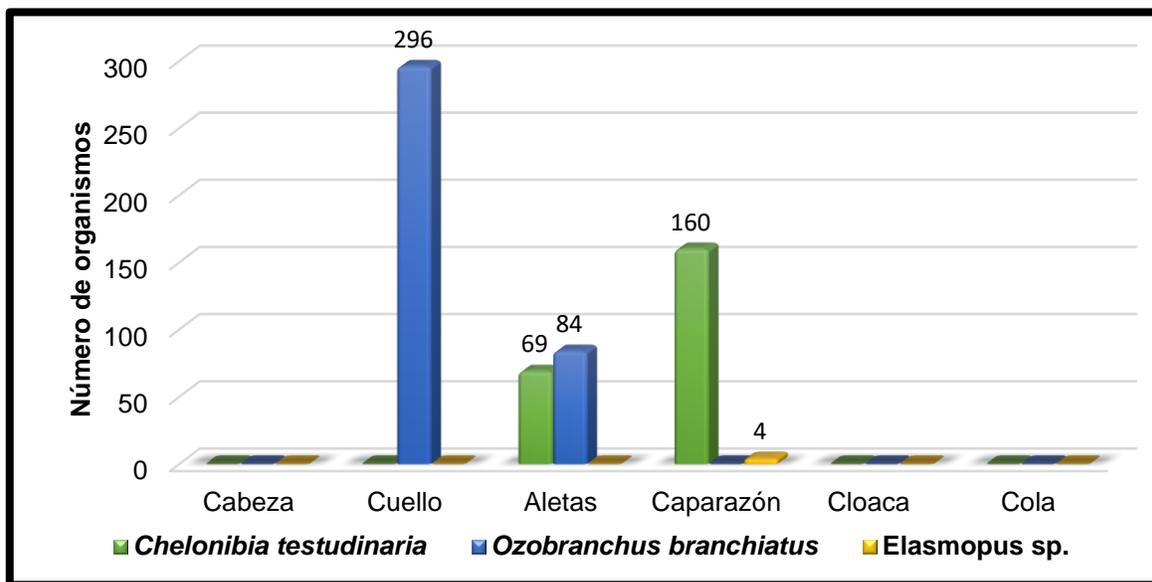
**Figura 11.** Imagen del cirrípedo *Chelonibia testudinaria* localizado en el caparazón y extremidades de las tortugas. 96 mm de diámetro. Foto de: Cruz-Quintana, 2016.



**Figura 12.** Anfípodo *Elasmopus* sp. Localizado en caparazón. 9.8 mm de longitud (Glicerina). Foto de: Cruz-Quintana, 2016.



Los simbioses registrados presentaron una distribución espacial recurrente en el cuerpo de *C. mydas*. La región anatómica que presentó la mayor prevalencia de organismos fue el cuello (48%), mientras que en el caparazón y las aletas fue menor (27% y 25%, respectivamente). Sin embargo, el número de especies en aletas y caparazón fue mayor al número de especies encontradas en el cuello. La cabeza, cloaca y cola fueron las regiones anatómicas donde no se registró ningún tipo de simbiote (Fig. 13).



**Figura 13.** Localización, número y especies de simbioses registrados ( $n = 12$ ).

Las pruebas de contraste utilizadas mostraron que el LCC de las tortugas con presencia de simbioses ( $\bar{x} = 108$  cm) no fue estadísticamente diferente al LCC registrado para las tortugas libres de simbioses ( $\bar{x} = 106$  cm) ( $t = 0.06$ ,  $d.f. = 14.7$ ,  $p > 0.05$ ).



### 7.3 Bioquímica.

Se corrieron análisis para 13 analitos bioquímicos en ejemplares de *C. mydas* con simbioses ( $n = 10$ ) y sin simbioses ( $n = 10$ ). Los valores promedio de los elementos analizados en los exámenes bioquímicos no presentaron diferencias significativas entre las tortugas con y sin simbioses  $p > 0.05$  (Tabla 4).

**Tabla 4.** Valores promedio ( $\pm$  desviación estándar) de los analitos encontrados en los ejemplares de *C. mydas* con y sin simbioses.

| Analitos          | Con simbioses<br>$n = 10$ | Sin simbioses<br>$n = 10$ | Valores de referencia* |
|-------------------|---------------------------|---------------------------|------------------------|
| ALB <sup>1</sup>  | 2.85 (1.67)               | 2.16 (0.48)               | 1.0-2.5                |
| ALKP <sup>2</sup> | 28.5 (25.57)              | 26.4 (5.91)               | 24-48                  |
| ALT <sup>2</sup>  | 13.4 (7.54)               | 14.9 (4.45)               | 10-100                 |
| AMYL <sup>2</sup> | 385.6 (149.57)            | 287.6 (61.89)             | 500-1500               |
| BUN <sup>3</sup>  | 3.8 (1.28)                | 3.12 (1.26)               | 35-110                 |
| Ca <sup>3</sup>   | 11.2 (21.31)              | 9.53 (4.66)               | 5.0-14.0               |
| CHOL <sup>3</sup> | 253.3 (31.54)             | 256.7 (33.74)             | 150-445                |
| CREA <sup>3</sup> | 0.4 (0.44)                | 0.42 (0.31)               | 0.1-0.3                |
| GLOB <sup>1</sup> | 2.6 (1.52)                | 3.18 (0.46)               | 2.6-4.5                |
| GLU <sup>3</sup>  | 95.8 (11.76)              | 99.6 (10.49)              | 72-125                 |
| PHOS <sup>3</sup> | 10.92 (2.81)              | 9.87 (1.65)               | 5.5-9.5                |
| TBIL <sup>3</sup> | 4.71 (9.45)               | 0.54 (0.61)               | 0-0.9                  |
| TP <sup>1</sup>   | 6.65 (2.92)               | 3.64 (1.61)               | 3.6-6.8                |

**Nota:** Las unidades en las que se reportan son: <sup>1</sup>g/dL, <sup>2</sup>U/L, <sup>3</sup>mg/dL. \*Valores de referencia del banco de memoria del cuantificador automático Vet-Test-8008 (IDEXX).



De los 13 analitos estudiados, el valor promedio de cinco (AMYL, BUN, CREA, PHOS, y TBIL) cayó fuera del rango establecido en los valores de referencia. La proporción de tortugas que presentaron valores fuera de rango para AMYL fue de 85% (17/20), para BUN 100% (20/20), CREA 70% (14/20), PHOS 45% (9/20), y TBIL 20% (4/20). Estos resultados son independientes del estado de infestación de las tortugas (tabla 5).

**Tabla 5.** Valores promedio ( $\pm$  desviación estándar) rangos mínimos y máximos de los datos combinados de las tortugas examinadas ( $n = 20$ ) en Isla Aguada, Campeche.

| Analito           | $\bar{X}$            | Mínimo | Máximo | Valores de referencia* |
|-------------------|----------------------|--------|--------|------------------------|
| ALB <sup>1</sup>  | 2.5 (1.2)            | 1.6    | 6      | 1.0-2.5                |
| ALKP <sup>2</sup> | 27.4 (18)            | 0      | 90     | 24-48                  |
| ALT <sup>2</sup>  | 14.1 (6)             | 0      | 29     | 10-100                 |
| AMYL <sup>2</sup> | <b>336.6</b> (122.2) | 220    | 642    | 500-1500               |
| BUN <sup>3</sup>  | <b>3.4</b> (1.2)     | 2      | 5      | 35-110                 |
| Ca <sup>3</sup>   | 10.3 (4.5)           | 0.7    | 15.6   | 5.0-14.0               |
| CHOL <sup>3</sup> | 255 (31.8)           | 202    | 312    | 150-445                |
| CREA <sup>3</sup> | <b>0.4</b> (0.3)     | 0      | 1.4    | 0.1-0.3                |
| GLOB <sup>1</sup> | 2.8 (1.1)            | 0      | 4.7    | 2.6-4.5                |
| GLU <sup>3</sup>  | 97.7 (11)            | 80     | 120    | 72-125                 |
| PHOS <sup>3</sup> | <b>10.3</b> (2.3)    | 7      | 16.1   | 5.5-9.5                |
| TBIL <sup>3</sup> | <b>2.6</b> (6.8)     | 0.1    | 26.2   | 0-0.9                  |
| TP <sup>1</sup>   | 5.8 (2.2)            | 4      | 12     | 3.6-6.8                |

**Nota:** Las unidades en las que se reportan son: <sup>1</sup>g/dL, <sup>2</sup>U/L, <sup>3</sup>mg/dL. \*Valores de referencia del banco de memoria del cuantificador automático Vet-Test-8008 (IDEXX).



De acuerdo a las pruebas de correlación múltiple, no existen relaciones significativas entre el número de simbioses por tortuga y los valores obtenidos para cada analito revisado ( $r^2 = 0.40$ ,  $F_{13,6} = 1.98$ ,  $p > 0.05$ ) (Tabla 6). Los resultados fueron similares cuando se analizaron las correlaciones entre el número de especies de simbioses por tortuga y los valores bioquímicos en sangre observados ( $r^2 = 0.02$ ,  $F_{13,6} = 0.96$ ,  $p > 0.05$ ) (Tabla 7).

**Tabla 6.** Correlación entre analitos y número de simbioses por tortuga.

| Analito | Estimado | Std. Error | T      | Pr(> t ) |
|---------|----------|------------|--------|----------|
| ALB     | 7.077    | 20.895     | 0.339  | 0.746    |
| ALKP    | -1.268   | 1.353      | -0.937 | 0.384    |
| ALT     | 0.543    | 2.044      | 0.266  | 0.799    |
| AMYL    | -0.136   | 0.137      | -0.989 | 0.361    |
| BUN     | 9.713    | 11.446     | 0.849  | 0.428    |
| Ca      | -1.192   | 1.593      | -0.748 | 0.482    |
| CHOL    | 0.083    | 0.207      | 0.403  | 0.701    |
| CREA    | 28.058   | 34.97      | 0.802  | 0.453    |
| GLOB    | 35.330   | 30.459     | 1.16   | 0.290    |
| GLU     | 1.114    | 0.652      | 1.709  | 0.138    |
| PHOS    | 2.957    | 5.369      | 0.551  | 0.601    |
| TBIL    | 2.220    | 4.479      | 0.496  | 0.637    |
| TP      | -3.135   | 8.496      | -0.369 | 0.724    |

**Tabla 7.** Correlación entre analitos y el número de especies de simbioses por tortuga.

| Analito | Estimado | Std. Error | T      | Pr(> t ) |
|---------|----------|------------|--------|----------|
| ALB     | -1.746   | 0.874      | -1.997 | 0.092    |
| ALKP    | -0.059   | 0.056      | -1.046 | 0.335    |
| ALT     | -0.031   | 0.085      | -0.367 | 0.726    |
| AMYL    | -0.000   | 0.005      | -0.03  | 0.977    |
| BUN     | 0.189    | 0.479      | 0.396  | 0.706    |
| Ca      | -0.040   | 0.066      | -0.614 | 0.562    |
| CHOL    | -0.001   | 0.008      | -0.19  | 0.855    |
| CREA    | 1.632    | 1.463      | 1.115  | 0.307    |
| GLOB    | 1.142    | 1.274      | 0.986  | 0.404    |
| GLU     | 0.009    | 0.027      | 0.347  | 0.740    |
| PHOS    | 0.375    | 0.224      | 1.673  | 0.145    |
| TBIL    | 0.206    | 0.187      | 1.101  | 0.313    |
| TP      | -0.002   | 0.355      | -0.007 | 0.099    |

El meta-análisis demostró que existe heterogeneidad significativa entre los estudios comparados (Tabla 8, Fig. 14), debido probablemente a covariables como edad, sexo, hábitat o estado reproductivo, que no fueron tomadas en cuenta en el análisis por la ausencia de esta información en algunos de los trabajos incluidos. Los resultados son similares cuando se toma en cuenta sólo las hembras en estado reproductivo (Tabla 8, Fig. 15).

Al analizar por separado el efecto del año y el número de muestra utilizado en cada estudio, no se observaron efectos significativos sobre la heterogeneidad. Sin embargo, el modelo de efectos mixtos demostró que tanto el año del estudio, como el tamaño de muestra utilizado tienen un efecto significativo sobre la heterogeneidad observada en los estudios incluidos en el análisis (est = 23.61,  $p =$



0.01;  $est = 0.31$ ,  $p = 0.02$ , respectivamente). Los valores medios utilizados para el meta-análisis se muestran en la tabla 9.

**Tabla 8.** Prueba de heterogeneidad entre estudios de química sanguínea de *C. mydas*.

| Analito | Q                  |                   | df                 |                   | p                  |                   |
|---------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
|         | Todos los estudios | Hembras anidantes | Todos los estudios | Hembras anidantes | Todos los estudios | Hembras anidantes |
| PHOS    | 3922.99            | 182.61            | 9                  | 3                 | <0.001             | <0.001            |
| TBIL    | 185.65             | 79.52             | 5                  | 2                 | <0.001             | <0.001            |
| BUN     | 189.47             | 93.56             | 7                  | 3                 | <0.001             | <0.001            |
| CREA    | 114.96             | 65.96             | 7                  | 3                 | <0.001             | <0.001            |

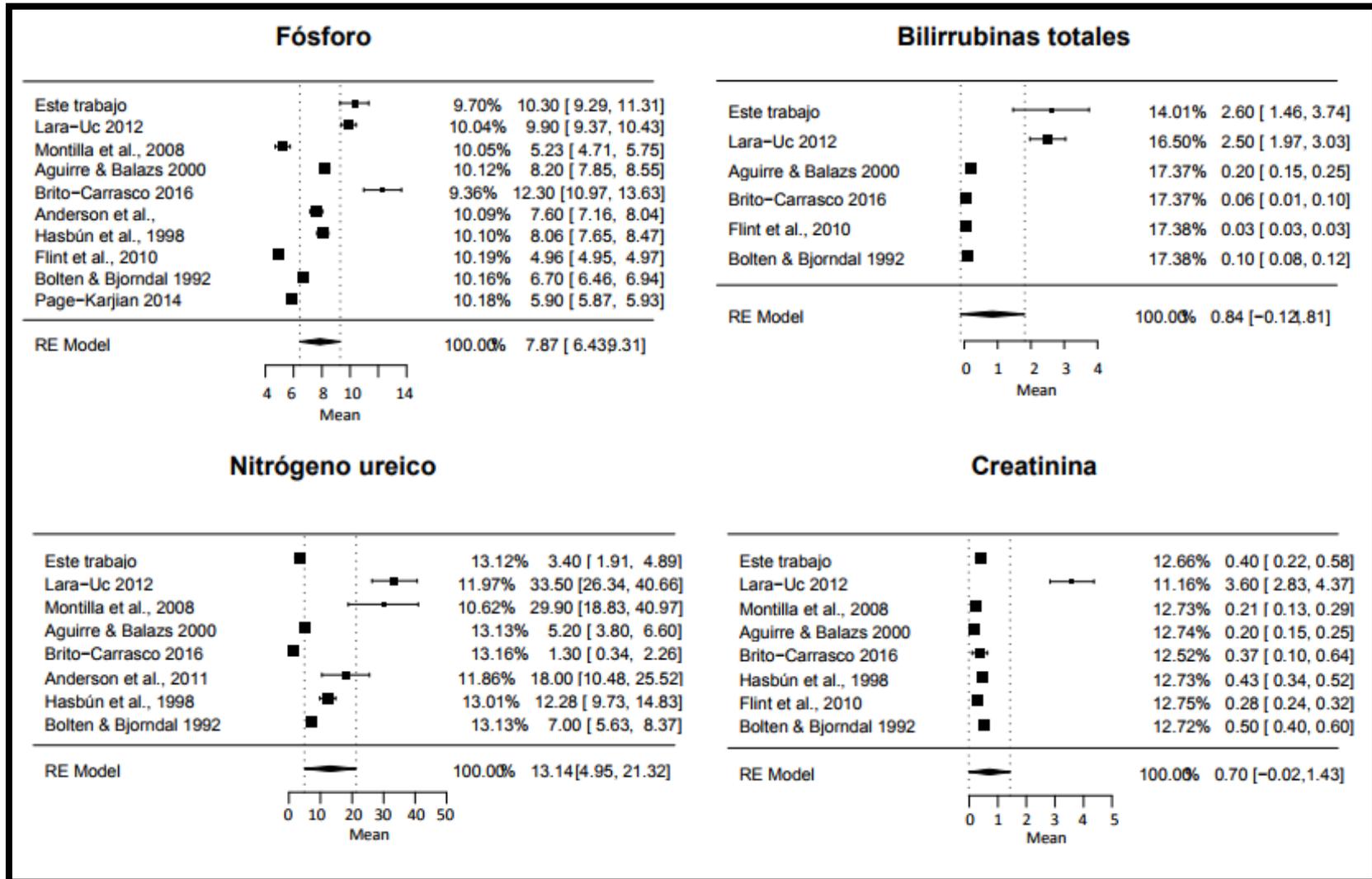


Figura 14. Prueba de heterogeneidad entre estudios de química sanguínea de *C. mydas*.

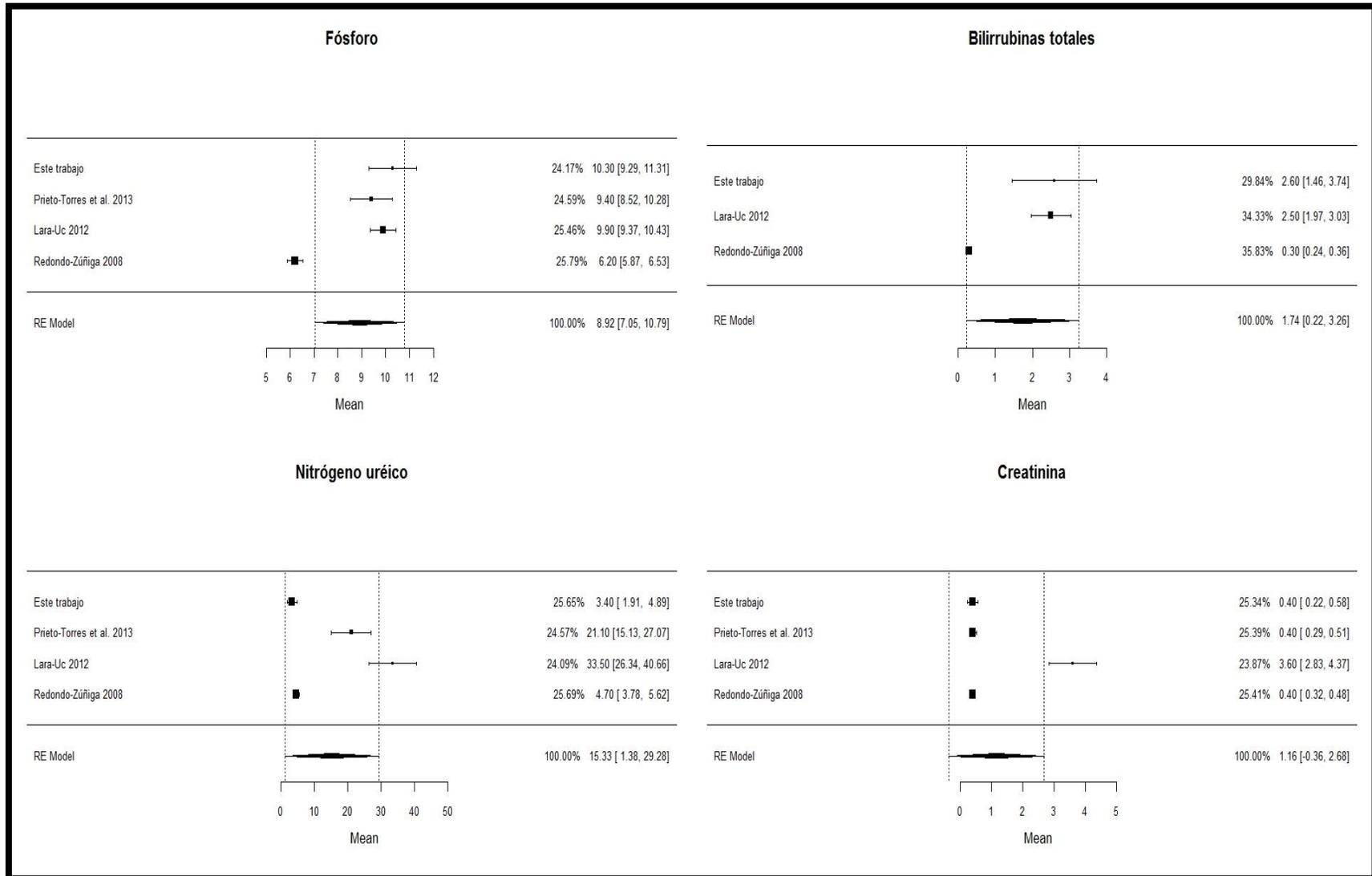


Figura 15. Prueba de heterogeneidad entre estudios de química sanguínea en hembras anidantes de *C. mydas*.



**Tabla 9.** Valores promedio de estudios de química sanguínea en *C. mydas* de México y otras regiones del mundo.

|                         | An    | Cam  | Yuc   | Ven   | Ven   | Haw   | Chi | C.N  | E.Á   | Aus | Bah  | P.R  | P.R             | R.R* |
|-------------------------|-------|------|-------|-------|-------|-------|-----|------|-------|-----|------|------|-----------------|------|
| <b>ALB<sup>1</sup></b>  | 2.5   | 3.5  | 1.5   | 2.4   | 1.7   | 2.4   | 1.5 | 1.9  | 6.9   | 1.5 | 0.9  | 0.5  | <b>1.0-2.5</b>  |      |
| <b>ALKP<sup>2</sup></b> | 27.4  | 133  | 119.6 | 123.6 | 33.5  | -     | 98  | 27.1 | 8.3   | 43  | 28.1 | -    | <b>24-48</b>    |      |
| <b>ALT<sup>2</sup></b>  | 14.1  | 7.9  | -     | 25.2  | 3.9   | -     | 6   | -    | -     | 6   | -    | 45.5 | <b>10-100</b>   |      |
| <b>AMYL<sup>2</sup></b> | 336.6 | -    | -     | -     | -     | -     | -   | -    | -     | -   | -    | -    | <b>500-1500</b> |      |
| <b>BUN<sup>3</sup></b>  | 3.4   | 33.5 | 27.6  | 24    | 5.2   | 1.3   | 122 | 12.2 | -     | 7   | -    | 4.7  | <b>35-110</b>   |      |
| <b>Ca<sup>3</sup></b>   | 10.3  | 1.14 | 7.9   | 11.4  | 9.1   | 10.3  | 7.4 | 6.8  | 8.8   | 9.1 | 7.2  | 9.4  | <b>5.0-14.0</b> |      |
| <b>CHOL<sup>3</sup></b> | 255   | 190  | 180.7 | 329.2 | 140   | -     | 198 | 226  | -     | 217 | 4.8  | 208  | <b>150-445</b>  |      |
| <b>CREA<sup>3</sup></b> | 0.4   | 3.6  | 0.1   | 0.4   | 0.2   | 0.37  | 0.2 | 0.4  | 0.2   | 0.5 | -    | 0.4  | <b>0.1-0.3</b>  |      |
| <b>GLOB<sup>1</sup></b> | 2.8   | 2.5  | -     | 2.7   | 2.7   | 3.4   | 2.4 | -    | 15.4  | 3.6 | 2.2  | 2.4  | <b>2.6-4.5</b>  |      |
| <b>GLU<sup>3</sup></b>  | 97.7  | 126  | 130   | 76.1  | 114.7 | 118.1 | 122 | -    | 178.3 | 114 | 120  | 75.5 | <b>72-125</b>   |      |
| <b>PHOS<sup>3</sup></b> | 10.3  | 9.9  | 5.2   | 8.9   | 8.2   | 12.3  | 7.6 | 8    | 4.9   | 6.7 | 5.9  | 6.2  | <b>5.5-9.5</b>  |      |
| <b>TBIL<sup>3</sup></b> | 2.6   | 2.5  | -     | -     | 0.2   | 0.05  | -   | -    | 0.03  | 0.1 | -    | 0.3  | <b>0-0.9</b>    |      |
| <b>TP<sup>1</sup></b>   | 5.8   | 7.2  | 4.3   | 4.7   | 4.2   | 5.9   | 4   | 5.7  | -     | 5.1 | 3.3  | 3.5  | <b>3.6-6.8</b>  |      |

**Nota:** Las unidades en las que se reportan son: <sup>1</sup>g/dL, <sup>2</sup>U/L, <sup>3</sup>mg/dL. **An** (Analitos), **Cam** = Campeche (este trabajo), **Yuc** = Yucatán (Lara Uc, 2012), **Ven** = Venezuela (Montilla et al., 2008; Prieto-Torres et al., 2013), **Haw** = Hawái (Aguirre & Balazs, 2000), **Chi** = Chile (Brito-Carrasco, 2016), **C.N** = Carolina del Norte (Anderson et al., 2011), **E.Á** = Emiratos Árabes (Hasbún, 1998), **Aus** = Australia (Flint et al., 2010), **Bah** = Bahamas (Bolten y Bjorndal, 1992), **P.R** = **Puerto Rico** (Redondo-Zúñiga, 2008; Paje-karjian et al., 2014), Rangos de referencia (**R.R**). \*Valores de referencia del banco de memoria del cuantificador automático Vet-Test-8008 (IDEXX).

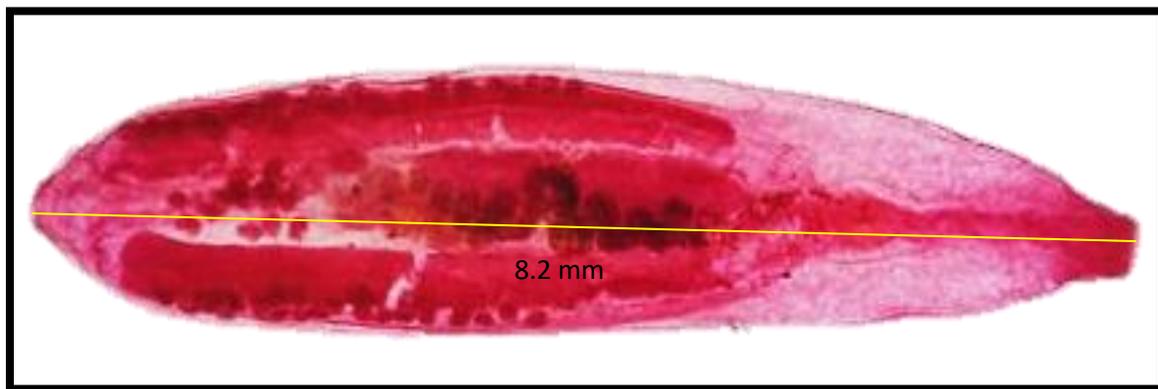


#### 7.4 Endoparásitos.

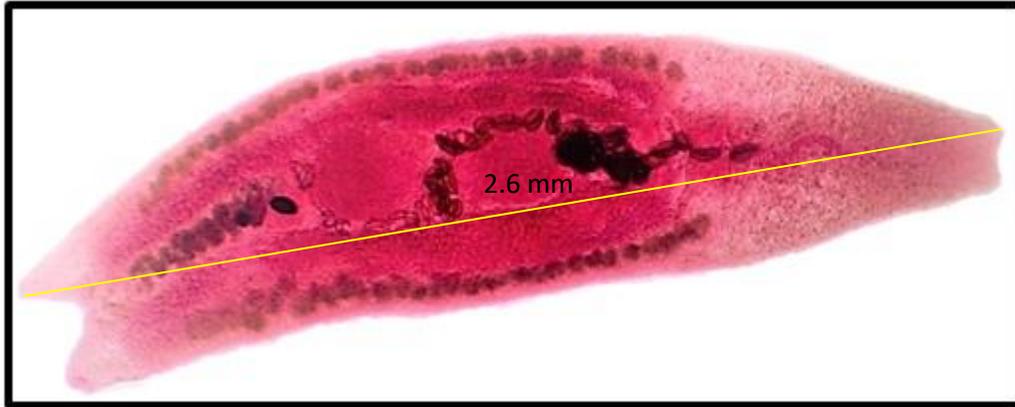
Durante la necropsia de los dos ejemplares de *C. mydas* facilitados por CONANP y SEMAR en el 2016, se colectaron 291 endoparásitos. Los organismos colectados pertenecen a la clase Trematoda, de la cual se identificaron tres especies: *Neotangium travassosi* (Fig. 16), *Octangium sagitta* (Fig. 17), y *Adenogaster serialis* (Fig. 18). La especie más frecuente fue *N. travassosi* (53%), y en proporciones menores *A. serialis* (27%) y *O. sagitta* (21%). El número de total de organismos se muestra en la tabla 10.

**Tabla 10.** Especies, número de organismos y frecuencia por especies presentes en *C. mydas* ( $n = 2$ ) en el sitio de anidación Isla Aguada, Campeche.

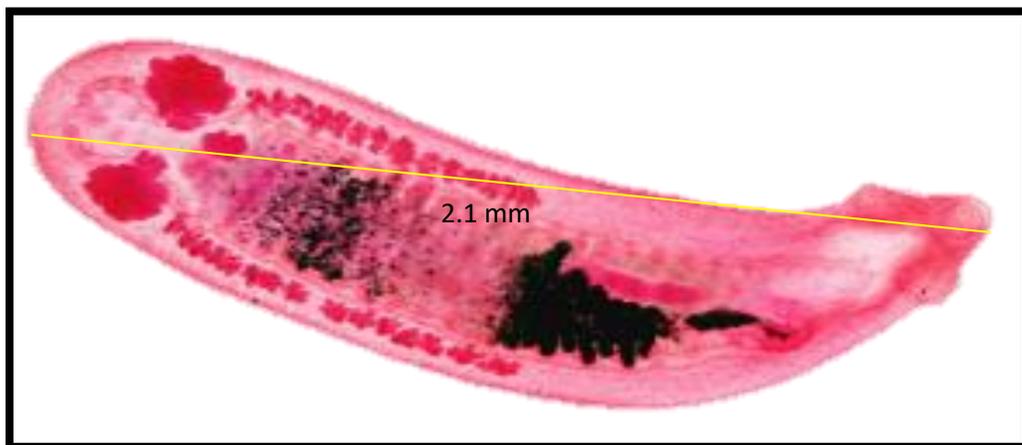
| Especie                      | Número de organismos | Frecuencia (%) |
|------------------------------|----------------------|----------------|
| <i>Neotangium travassosi</i> | 153                  | 53%            |
| <i>Octangium sagitta</i>     | 60                   | 21%            |
| <i>Adenogaster serialis</i>  | 78                   | 27%            |



**Figura 16.** Platelmino, Trematoda, *Neotangium travassosi*. Localizado en intestinos. 4X-8.2 mm de longitud (Paracarmín de Meyer). Foto de: Cruz-Quintana, 2017.



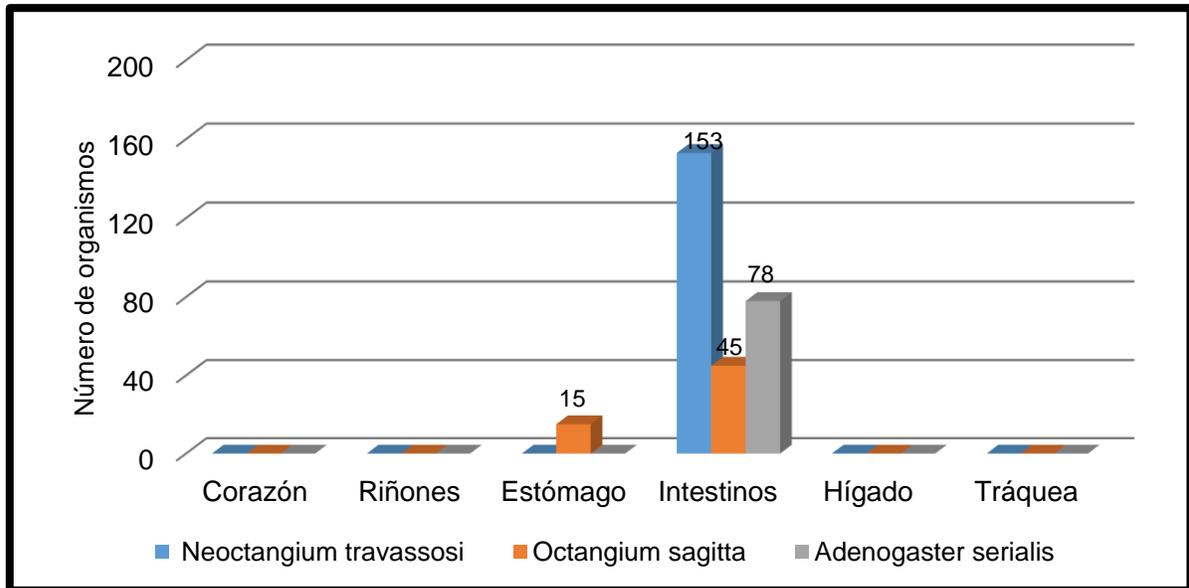
**Figura 17.** Platelmino, Trematoda, *Octangium sagitta*. Localizado en intestinos y estómago. 4X-2.6 mm de longitud (Paracarmín de Meyer). Foto de: Cruz-Quintana, 2017.



**Figura 18.** Platelmino, Trematoda, *Adenogaster serialis*. Localizado en intestinos. 2.5X-2.1 mm de longitud (Paracarmín de Meyer). Foto de: Gámez-Vivaldo *et al.*, 2008.



En forma similar a los ectoparásitos, los trematodos colectados tuvieron distribución espacial recurrente en los órganos de *C. mydas*. El intestino delgado y grueso fueron las regiones en las que se observó la mayor presencia de organismos (95%), seguido del estómago (5%). En el corazón, los riñones, el hígado y la tráquea no se registraron endoparásitos. (Fig. 19)



**Figura 19.** Localización, número y especies de endoparásitos registrados ( $n = 2$ ).



## 8. DISCUSIÓN.

Se sabe que los valores bioquímicos de los reptiles pueden ser influenciados por muchas variables, incluyendo la edad, el sexo, la dieta, el estado nutricional, el área geográfica, el estado reproductivo y los cambios estacionales (Aguirre y Balazs, 2000; Anderson et al., 2011; Bolten y Bjorndal, 1992; Brito-Carrasco, 2016; Flint et al., 2010; Hasbún et al., 1998; Labrada-Matargón, 2010; Lara-Uc, 2012; Lewbart et al., 2014; Montilla et al., 2008; Paje-Karjian, 2014; Prieto-Torres et al., 2013; Redondo-Zuñiga, 2008).

De acuerdo con los resultados obtenidos, se podría inferir que de acuerdo a los rangos reportados por Bolten y Bjorndal (1992) que las hembras anidantes de Isla Aguada, Campeche presentan un buen estado de salud, ya que en poblaciones silvestres es común encontrar individuos que muestren parámetros físicos o fisiológicos fuera de los rangos establecidos como normales (Flint, 2015). Sin embargo, la mayor parte de los analitos con valor diagnóstico utilizados en este estudio mostraron valores normales para todas las tortugas examinadas.

En este estudio, se evaluaron aleatoriamente tortugas de tamaño similar (adultos) durante la misma temporada reproductiva (junio-septiembre, 2016), por lo que no esperábamos gran variación en los valores bioquímicos entre los animales muestreados debido a los cambios ambientales. Sin embargo, es importante entender que en este estudio la condiciones de estado reproductivo sí influyo en algunos de los analitos bioquímicos.

En este trabajo se identificaron cinco analitos con valores atípicos en una proporción de 20% a 100% de las tortugas examinadas. Las diferencias encontradas entre estos analitos y los valores de referencia pueden ser atribuidas a factores como la calidad de alimento, la contaminación del hábitat en la zona de estudio y al estado reproductivo de las hembras muestreadas (Bjorndal & Bolten, 2010; Komoroske et al., 2011; Prieto-Torres et al., 2013), la edad de la hembra y la temperatura del agua (Lutz et al., 2002), el estrés de la hembra por intentos de anidación (Deem et al., 2006; Lutz et al., 2002). La condición del suelo (muy seco,



muy húmedo o erosionado), lo que está relacionado a su vez con las condiciones ambientales características de principios, mediados y finales de la temporada de desove en Isla Aguada, Campeche (Guzmán y García, 2016). Adicionalmente, el estrés generado por la manipulación durante la toma de la muestra sanguínea o la presencia de niveles de contaminación relacionados con la presencia de actividad antropogénica en la zona pudieran haber afectado los niveles de algunos de los elementos analizados (Guillette et al., 1995; Snoddy et al., 2009).

La elevada proporción de animales que mostraron niveles anormales de AMYL podría ser indicativa de anomalías pancreáticas. La amilasa es una enzima que se produce en el páncreas y en las glándulas salivales, y ayuda a los reptiles a digerir los carbohidratos (Nicole & Boylan, 2014). Los niveles detectables de este elemento se disparan cuando a causa de inflamación o daño estructural del páncreas se libera AMYL en la sangre. Es importante señalar que en estudios clínicos anteriores en *C. mydas* no se cuantificaron los niveles de esta enzima y se compararon con valores reportados en otras especies de tortugas marinas, por lo que este es el primer estudio en reportarlos.

Los niveles promedio de BUN para todas las tortugas examinadas de Isla Aguada se encontraron muy por debajo a los reportados para *C. mydas* (Bolten y Bjorndal, 1992; Wolf et al., 2008). Estos resultados concuerdan con lo observado en poblaciones de esta especie que no presentaban estado reproductivo en las costas de Hawái (Aguirre & Balazs, 2000), pero contrastan con los niveles encontrados en una población anidante de *C. mydas* de las costas de Yucatán y Venezuela, en la que se reportan valores normales para este analito (Lara-Uc, 2012; Prieto-Torres et al., 2013). En clínica veterinaria de reptiles, la deficiencia de BUN está asociada a procesos de deshidratación, dieta hipoprotéica, fallo renal o enfermedad renal crónica. Sin embargo, en *C. mydas*, los niveles bajos de BUN están asociados directamente a los hábitos herbívoros de esta especie (Nicole & Boylan, 2014), por lo que a pesar de estar por debajo de los valores normales reportados, no es indicativo de alguna anomalía fisiológica, sino de la dieta herbívora de los animales examinados.



Los valores de CREA observados están por encima de los valores de referencia (Bolten y Bjorndal, 1992; Wolf et al., 2008), pero concuerdan con los resultados obtenidos para otras poblaciones de hembras anidantes de Venezuela y Costa Rica (Prieto-torres et al., 2013; Redondo-Zuñiga, 2008), sin embargo, contrastan con los resultados obtenidos por Lara-Uc (2012) en anidantes de Yucatán. Aunque esto puede ser asociado a cuadros de deshidratación aguda o enfermedades renales, también se puede observar un incremento de este elemento debido daño muscular causado por el esfuerzo que las tortugas hacen en las playas para llegar al sitio donde construyen sus nidos. La dinámica de corrientes en Isla Aguada forma socavones en las playas que pueden tener hasta 1.5 m de altura y que las tortugas deben trepar para llegar a un sitio adecuado para construir el nido (obs. pers). Otra casusa probable es el estrés muscular ocasionado durante la venopunción, especialmente si esta es difícil (Nicole & Boylan, 2014). En ausencia de otros signos clínicos indicadores de anomalías, la causa más probable de los resultados obtenidos en los niveles de CREA es el estrés muscular causado por el esfuerzo físico y el estrés ocasionado durante la toma de las muestras.

De acuerdo con los análisis realizados, los valores observados de PHOS se encuentran por encima de los rangos reportados como normales para la especie (Bolten y Bjorndal, 1992; Wolf et al., 2008), a diferencia de las poblaciones anidantes de Yucatán, Venezuela y Costa Rica (Lara-Uc, 2012; Prieto-Torres et al., 2013; Redondo-Zuñiga, 2008). En reptiles jóvenes es posible registrar niveles más altos de PHOS que en los adultos de edad avanzada. Dado que la edad de las tortugas se determina en función de la talla (Moncada et al., 2006), es difícil discriminar entre estos dos factores (adultos jóvenes y adultos maduros) en un muestreo de campo, especialmente si no se cuenta con información del origen de los animales incluidos en el muestreo, por lo que no fue posible determinar si los resultados observados están relacionados a la edad de las tortugas examinadas. Otra causa probable de hiperfosfatemia es la ocurrencia de hemólisis durante el muestreo, lo cual es improbable debido a la metodología utilizada durante la colecta, almacenamiento y transporte de las muestras. Silvestre et al. (2013) postularon que la gravidez en las hembras incrementa los niveles de PHOS en la



tortuga *Sternotherus minor*. Por otro lado, está documentado que los niveles elevados de PHOS se asocian a los procesos de vitelogénesis y foliculogénesis en hembras anidantes de varias especies de tortugas marinas (Nicole & Boylan, 2014). De acuerdo con esto, los niveles de PHOS encontrados en las tortugas de Isla Aguada no están asociados a ningún cuadro patológico y son debidos al estado de gravidez de las tortugas que llegan a desovar a esta playa índice.

Alrededor del 20% de las tortugas examinadas registraron valores de TBIL por encima de los rangos de referencia. Este resultado es similar al observado en *C. mydas* de las playas de Yucatán (Lara-Uc, 2012), pero diferente al de tortugas de otras regiones geográficas (Redondo-Zuñiga, 2008), lo que podría sugerir un patrón regional en los valores de ciertos analitos. En clínica veterinaria los valores elevados de TBIL pueden estar asociados a enfermedades hemolíticas o hepáticas, aunque también son causados por cuadros de anemia en los animales, lo que es la causa más probable de estos resultados en las tortugas examinadas en este estudio. Sin embargo, para confirmar este diagnóstico es necesario realizar un estudio hematológico en paralelo con la bioquímica en sangre (Nicole & Boylan, 2014).

Aparentemente, el grado de infestación por simbioses, independientemente de si son ectoparásitos o epibiontes, no influyó en los valores de los analitos reportados en este trabajo ni en las tallas de las tortugas de Isla Aguada, Campeche. Si bien la mayoría de las tortugas examinadas se caracterizaron por estar libres de epibiota, algunas mostraron un número elevado de ectoparásitos (*O. branchiatus*). La presencia de cirripedios oportunistas del género *Chelonibia* y su gran abundancia en algunos ejemplares podría estar condicionada por un comportamiento pasivo de las tortugas en mal estado sanitario, aunque es necesario incrementar el número de muestras y mantener un monitoreo constante de la población para reafirmar estos supuestos. La ocurrencia de *C. testudinaria* sobre el caparazón, y de *O. branchiatus* en regiones blandas, concuerda con lo registrado en poblaciones de *C. mydas* en playas de Yucatán (Lara-Uc, 2012). Otros estudios han reportado la presencia de *C. testudinaria* en aletas y cuello de



tortugas marinas (Kitsos et al., 2005). Sin embargo, solo el 25% de las tortugas examinadas en este estudio registró presencia de este organismo en sectores blandos. Esto sugiere que a pesar de que la larva posee la capacidad de fijarse en zonas blandas, prefiere sectores duros del cuerpo de la tortuga que ofrecen una mayor adherencia y permanencia, y por lo tanto mayor probabilidad de completar su ciclo de vida. Se ha postulado también que la presencia y abundancia de *C. testudinaria* en zonas blandas de tortugas marinas, especialmente de *C. mydas* y *C. caretta*, podría estar relacionada a procesos de competencia en la disponibilidad de sustrato (Kitsos et al., 2005).

Los resultados de esta investigación muestran que la cantidad de especies de simbiontes presentes en *C. mydas* es menor a la reportada para otras playas en el mundo. Sin embargo, es preciso puntualizar que *O. branchiatus* no fue encontrado en las poblaciones de *C. mydas* en playas de Yucatán (Lara-Uc, 2012), sugiriendo que la presencia de ectoparásitos en tortugas marinas de esta especie puede estar sujeta a patrones de distribución geográfica regional.

Los trémátodos de las familias Pronocephalidae y Microscaphidiidae son endoparásitos asociados a patologías en tortugas marinas (Werneck et al., 2015). Se tiene registro de que causan laceración tisular (Chen et al., 2012), y algunas especies de estas familias se han asociado a procesos de parasitismo cardiovascular en *C. mydas* (Raidal et al., 1998). Se ha reportado que la presencia de tremátodos en tortugas marinas silvestres, específicamente *C. mydas*, es mucho más frecuente que la de otros helmintos, por lo que es común encontrar especies de este grupo de organismos en las poblaciones de *C. mydas* silvestres. Por otro lado, se considera que algunas especies del género *Octagium* son parásitos altamente específicos de *C. mydas* (Santoro et al., 2006) y que la capacidad de movimiento de las tortugas es uno de los factores que contribuyen a que los parásitos de estos grupos estén ampliamente distribuidos, y a que la composición de la endofauna de tortugas sea similar entre poblaciones de distintas áreas geográficas (Werneck & Silva, 2015).



## 9. CONCLUSIÓN.

Los resultados obtenidos para la población de hembras anidantes de Isla Aguada, de acuerdo con los valores anteriormente reportados para la especie, confirmó que los datos de línea base deben ser considerados de acuerdo al área geográfica, la variabilidad estacional y las poblaciones de forraje o reproducción.

De acuerdo a los analitos que se encuentran dentro de los rangos considerados como normales para tortugas de otras regiones, se puede afirmar que las tortugas muestreadas en este estudio presentan un buen estado de salud.

Los cinco analitos (AMYL, BUN, CREA, PHOS Y TBIL) que cayeron fuera del rango establecido en los valores de referencia no son indicativos de alteraciones fisiológicas en las tortugas muestreadas.

La carga de ectoparásitos y epibiontes en las tortugas anidantes de *C. mydas* en Isla Aguada, Campeche no afecta los valores de los elementos bioquímicos en sangre de las tortugas muestreadas.

En las anidantes de *C. mydas* de Isla Aguada, Campeche al menos el 26% de los ejemplares presentaron algún tipo de simbiote.

El cirrípedio *Chelonibia testudinaria* es el simbiote más frecuente en ser encontrado en las hembras anidantes de la playa de Isla Aguada, Campeche.

La presencia del ectoparásito *Ozobranchus branchiatus* en hembras de Campeche y no de Yucatán, ambas playas contiguas, puede estar sujeta a patrones de distribución geográfica regional.

El endoparásito más frecuente en *C. mydas* de Isla Aguda, Campeche es el trematodo *Neoctangium travassosi*.



## 10. RECOMENDACIONES.

Incrementar el esfuerzo de muestreo para obtener una muestra más representativa de la población y confirmar la robustez de los resultados obtenidos en esta investigación.

Realizar estudios que incluyan covariables como calidad de hábitat, disponibilidad de alimento, sexo, edad y estado reproductivo que pudieran tener efectos diferenciales en los resultados de los exámenes clínicos aplicados.

Establecer programas de monitoreo continuo de las poblaciones de esta y otras especies de tortugas marinas en las costas del Golfo de México y del Pacífico que incluyan exámenes físicos, ecotoxicológicos y clínicos que contribuyan a entender mejor el estatus y tendencias de las poblaciones en términos de tamaño y estado sanitario.

Establecer planes y redes regionales y nacionales que promuevan el estudio de la medicina de la conservación en las diferentes especies de tortugas marinas de México.



## 11. BIBLIOGRAFÍA.

- 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 despecialistas en tortugas marinas UICN/CSE Púb*, 4, 108–115.
- 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., O’Hara, T. M. Spraker, T. R. & Jessup D. A. 2002. Monitoring the health and conservation of marine mammals and sea turtles and their ecosystems. In: Conservation Medicine: Ecological-Health in Practice, Aguirre, a. A., Ostfeld, R. S., Tabor, G. M. House, C. A. & Pearl, M. C. (editors), new York: Oxford University Press. 79-94.
- Aguirre, A. A. & Lutz, P. (2004). Marine Turtles as Sentinels of Ecosystem Health: Is Fibropapillomatosis an Indicator. *International Association for Ecology and Health*, 1(3), 275–283.
- Alonso, L. (2007). Epibiontes asociados a la tortuga verde juvenil (*Chelonia mydas*) en el área de alimentación y desarrollo de Cerro Verde, Uruguay. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 53 pp
- Alvarado D, A. & Delgado T, C. (2005). Tortugas marinas de Michoacán, historia natural y conservación. Comisión de Pesca del Estado de Michoacán y Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, México.
- Anderson, E. T., Harms, C. A., Stringer, E. M. y Cluse, W. M. 2011. Evaluation of hematology and serum biochemistry of cold-stunned green sea turtles (*Chelonia mydas*) in North Carolina, USA. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 42(2), 247-255.



- Brito-Carrasco, B. D. (2016). Descripción de algunos aspectos hematológicos y bioquímicos sanguíneos de la colonia de tortuga negra (*Chelonia mydas*) establecida en la Bahía Salado, región de Atacama. Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, 53 pp.
- Bjorndal, K. A. & Bolten, A. B. (2010). Hawksbill sea turtles in seagrass pastures: success in a peripheral habitat. *Marine Biology*, 157(1), 135–145.
- Bjorndal, K., Bolten, A., Moreira, L., Belini, C. & Marcovaldi, M. (2006). Population structure and diversity of Brazilian green turtle rookeries based on mitochondrial DNA sequences. *Chelonian Conservation and Biology*, 5(2), 262–268.
- Bolten, A. B. & Bjorndal, K. A. (1992). Blood profiles for a wild population of green turtles (*Chelonia mydas*) in the southern Bahamas: size-specific and sex-specific relationships. *Journal of Wildlife Diseases*, 28(3), 407-413. 413.
- Borenstein, M., Hedges, L. V., Higgins, J. P. T. & Rothstein, H. R. (2009). Introduction to Meta-Analysis. Psychotherapy Research. *Journal of the Society for Psychotherapy Research*, 19(4–5), 421.
- Bowen, B., Meylan, A., Ross, J., Limpus, J., Balazs, G. & Avise, J. (1992). Global Population Structure and Natural History of the Green Turtle (*Chelonia mydas*) in Terms of Matriarchal Phylogeny. *Evolution*, 46(4), 865–881.
- Briseño-Dueñas, R. (2002). Tortugas marinas. *Atlas de la biodiversidad de Sinaloa. México*. El Colegio de Sinaloa, 353–365 pp.
- Bush, A. O., Lafferty, K. D., Lotz, J. M. & Shostak, A. W. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al (1982). revisited. *The Journal of Parasitology*, 83(4), 575–583.
- Campbell, L., Gray, N., Hazen, E. & Shackeroff, J. (2009). Beyond baselines: rethinking priorities for ocean conservation. *Ecology and Society* 14(1): 14.



- Cardénas-Palomo, N. & Maldonado-Gasca, A. (2005). Epibiontes de tortugas de carey juveniles (*Eretmochelys imbricata*) en El Santuario de Tortugas Marinas de Rio Lagartos, Yucatán, México. *CICIMAR Océánides*, 20(1,2), 29–35.
- Casal, A. B. & Orós, J. (2007). Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells of juvenile loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). *Veterinary science*, 82(2), 158–65.
- Chen, H., Kuo, R. J., Chang, T. C., Hus, C. K., Bray, R. A. & Cheng, I. J. (2012). Fluke (Spirorchiidae) infections in sea turtles stranded on Taiwan: prevalence and pathology. *Journal of Parasitology*, 98, 437–439.
- Cifuentes, J. & López, I. (2006). Atlas de manejo y conservación de la biodiversidad de Sinaloa. *El Colegio de Sinaloa*, 360 pp.
- Cheng, T.C. 1986. General parasitology. Second edition. Academia Press Collage Division. San Diego. 386 pp.
- Davies, R. W. 1991. Annelida: leeches, polychaetes, and acanthobdellids. *In Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates*, J. H. Thorp and A. P. Covich (eds.). Academic Press, San Diego. p. 437–479.
- Deem, S. L., Dierenfeld, E. S., Sounguet, G. P., Alleman, A. R., Cray, C., Poppenga, R. H. & Karesh, W. B. (2006). Blood values in free-ranging nesting leatherback sea turtles (*Dermochelys coriacea*) on the coast of The Republic of Gabon. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 37(4), 464-471.
- Del Re, A. C. & Hoyt, W. T. (2014). MAD: Meta-Analysis with Mean Differences. *R Package 0.8-2*.
- Eckert, K. L., Bjorndal, K. a, Abreu-grobois, F. A. & Donnelly, M. (2000). Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas. IUCNSSC. *Marine Turtle Specialist Group Publication*, 4, 260.



- Ferrando V. 2010. Bioquímica sanguínea de la tortuga verde juvenil (*Chelonia mydas*) en Cerro Verde, Rocha, Uruguay. Tesis de Grado presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias. Universidad de la República, Uruguay.
- Fleming, E. H. (2001). Swimming against the tide: recent surveys of exploitation, trade, and management of marine turtles in the northern Caribbean Washington, DC: Traffic North America. 185 pp.
- Flint, M. (2015). Green Turtle Disease Investigation. Gladstone South Central Queensland. 19 p.
- Flint, M., Morton, J. M., Limpus, C. J., Patterson-Kane, J. C., Murray, P. J. & Mills, P. C. 2010. Development and application of biochemical and hematological reference intervals to identify unhealthy green sea turtle (*Chelonia mydas*). *The Veterinary Journal*. 185(2010) 299-304.
- Frazier, J. (2001). Instrumentos Internacionales y la Conservación de las Tortugas Marinas. (Y. Q. Melania, Ed.) (3rd ed.). Quito-Ecuador: *Journal of International Wildlife law and policy*. 281 pp.
- Gardner, S. C. & W. J. Nichols (2001). "Assessment of Sea Turtle Mortality Rates in the Bahía Magdalena Region, Baja California Sur, México." *Chelonian Conservation and Biology* 4(1): 197-199.
- Gaumer, A. & Goodnight, C. (1957). Some aspects of the hematology of turtles as related to their activity. *American Midland Naturalist*. 58 (2): 332-340.
- Grabda, J. 1991. Marine fish parasitology. An outline U.C.H. Publishers, New York. 306 pp.
- Grossman, A., Bellini, C., Fallabrino, A., Formia, A., Mba, J. & Obama, C. (2007). Second TAMAR-Tagged Hawksbill Recaptured in Corisco Bay, West Africa. *Marine Turtle Newsletter*, 116. 26.



- Guillette, L. J., Cree, A. & Rooney, A. A. 1995. Biology of stress: interactions with reproduction, immunology and intermediary metabolism. In *Health and Welfare of Captive Reptiles*. 32–81.
- Guzmán, V. (2006). 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. Conservación de las Tortugas Marinas de Campeche.
- Guzmán, V., & Garcia, P. (2016). Informe Técnico 2015 del programa de Conservación de Tortugas Marinas en Laguna de Términos, Campeche, México. Contiene información de: 1. CPCTM Xicalango-Victoria, 2. CPCTM Chacahito, 3. CPCTM Isla Aguada y 4. Reseña Estatal Regional. APFFLT/RPCyGM/CONANP.vii+82.
- Guzmán H, V., & García A, P. A. (2015). Informe Técnico 2014 del Programa de conservación de tortugas marinas en Laguna de Términos , Campeche , México. Contiene información de: 1. CPCTM Xicalango-Victoria, CPCTM Chacahito, CPCTM Isla Aguada, vii+85.
- Harris H.S., Benson S.R., Gilardi K.V., Poppenga R.H., Work T.M., Dutton P.H., Mazet J.A.K. 2011. Comparative health assessment of western pacific leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*) foraging of the coast of california, 2005–2007. *Journal of Wildlife Diseases* 47:321–337
- Hasbún, C., Lawrence, A. J. A., 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. *Comparative Haematology International*, 8, 174–177.
- Hoffman, G. L. (1973). (Congress in USSR 1971, P. 3.) The effect of certain parasites on NorthAmerican freshwater fishes. *Verh.Int.Ver.Theor.Angew.Limnol.*, 18(3), 1622–1627.



- Hughes, G. R. (1974). The sea turtles of south-east Africa. 1. Status, morphology and distributions. *Investigational Report of the Oceanographic Research Institute.*, 35, 144.
- Kitsos, M.S., Christodoulou, M., Arvanitidis, C., Mavidis, M., Kirmitzoglou, I. & Koukouras, A. (2005). Composition of the organismic assemblage associated with *Caretta caretta*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 85, 257–61.
- Komoroske, L. M., Lewison, R. L., Seminoff, J. A., Deheyn, D. D. & Dutton, P. H. (2011). Pollutants and the health of green sea turtles resident to an urbanized estuary in San Diego, CA. *Chemosphere*, 84(5), 544–552.
- Labrada-Martagón, V., Méndez-Rodríguez, L., Gardner, S., López-Castro, M. & Zenteno-Savín, T. (2010). Health Indices of the Green Turtle (*Chelonia mydas*) Along the Pacific Coast of Baja California Sur, Mexico. I. Blood Biochemistry Values. *Chelonian Conservation and Biology*. 9(2):162-172.
- Lara Uc, M. (2012). Determinación del estado de salud de las Tortugas marinas . México . Tortugas carey (*Eretmochelys imbricata*) y tortuga blanca (*Chelonia mydas*) que anidan en las playas de Yucatán. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias Agropecuarias. Mérida, México. Unidad de posgrado y titulación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán, México. pp. 105.
- Lewbart, G., Hirschfeld, M., Denkinger, J., Vasco, K., Guevara, N., García, J., Muñoz, J. & LOHMANN, K. (2014). Blood Gases Biochemistry and Hematology of Galapagos Green Turtles (*Chelonia Mydas*). *Plos ONE*, 9(5): 1–7.
- Lohmann, K., Hester, J. & Lohmann, C. (1999). Long-distance navigation in sea turtles. *Ethology Ecology & Evolution*, 11(1), 1–23.



- Lohmann, K., Luschi, P. & Hays, G. (2008). Goal navigation and island-finding in sea turtles. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 356(1–2), 83–95.
- López-Mendilaharsu, M., Estrades, A., Caraccio, M. A., Calvo, V., Hernández, M. y Quirici, V., 2006. Biología, ecología y etología de las tortugas marinas en la zona costera uruguaya. En: Menafra, R. Rodríguez-Gallego, L., Scarabino, F. y Conde, D. (Eds.). Bases para la conservación y el manejo de la costa uruguaya. Vida Silvestre Uruguay, Montevideo, pp. 247-257.
- Lutz, P. L., Musick, J. A., & Wyneken, J. (Eds.). (2002). *The biology of sea turtles* (Vol. 2). CRC press. 433p.
- Maffucci, F., F. Caurant, P. Bustamante y B. F. (2005). "Acumulation in tissue distribucion in longgerhead turtles (*Caretta caretta*) from the Western Mediterranean sea (Southern Italy)." *Chemosphere*. 58: 535-542.
- Márquez, R. (1996). Las tortugas marinas y nuestro tiempo (1rd ed.). Published by Fonde de Cultura Economica.
- Márquez, R. 2002. La vida de las tortugas marinas. *Las tortugas marinas y nuestro tiempo. 3ª Ed. La ciencia para todos. México, Fondo de Cultura Económica*, 1-10.
- Marshall, A. T. & Cooper, P. D. (1988). Secretory capacity of the lachrymal salt gland of hatchling sea turtles, *Chelonia mydas*. *Journal of Comparative Physiology*, 157(6), 821–827.
- Martin, W. & Bamberger, J. (1952). New blood flukes (Trematoda: Spirochidae) from marine turtle, *Chelonia mydas* (L.). *The Journal of Parasitology*. 38(2): 105-110. [en linea]. <http://www.jstor.org/stable/3273828>. [consulta: 28-04-2014].



- McDermott, M. J., Godley, B. J., Broderick, A. C., Ediger, V. & Furness, R. W. (2000). An investigation into the possible effects of physical features of nesting beaches on the nest site selection of *C.mydas* and *C.caretta* in Northern Cyprus, Eastern Mediterranean., 202–203.
- Moncada, F., Abreu-Grobois, F. A., Muhlia-Melo, A., Bell, C., Troeng, S., Bjorndal, K. A. & Ehrhart, L. (2006). Movement Patterns of Green Turtles (*Chelonia mydas*) in Cuba and Adjacent Caribbean Waters Inferred from Flipper Tag Recaptures. *Journal of Herpetology*, 40(1), 22–34.
- Montilla, A. J., Hernández, J. L., Bravo, A. R., Vera, V. J. y Mesa, J. F. 2008. Valores bioquímicos en sangre de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) presentes en Alta Guajira, Venezuela. *Revista Científica*, 18(4), 351-357.
- Mortimer, J. A. (1982). Factors influencing beach selection nesting turtles. *Biology and Conservation of Sea Turtles*, 45–51.
- Nathan, R., Getz, W. M., Revilla, E., Holyoak, M., Kadmon, R., Saltz, D. & Smouse, P. E. (2008). A movement ecology paradigm for unifying organismal movement research. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(49), 19052–19059.
- Naylor, E. 1972. British Marine Isopods. Key and notes for the identification of the species. (Synopsis of the British Fauna (New Series)) 3: 86 pp. Academic Press; The Linnean Society of London. Londres; Nueva York
- Nicole, S. & Boylan, S. (2014). Clinical Pathology of Sea Turtles. In N. Mettee (Ed.), Clinical Pathology. Marine Turtle Trauma Response Procedures: A Veterinary Guide (Technical). WIDECAST.
- Oksanen, (2016). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. vienna, Austria.



- Orós, J., Lackovich, J. K., Jacobson, E. R., Brown, D. R., Torrent, A., Tucker, S. & Klein, P. A. (1999). Fibropapilomas cutáneos y fibromas viscerales en una tortuga verde (*Chelonia mydas*). *Revista Española Herpetologica*. 13, 17–26.
- Orós, J., Arencibia, A., Fernández, L., Jensen, H.E. 2004. Intestinal candidiasis in a loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*): an immunohistochemical study. *Veterinary Journal*. 167:202-207.
- Owens, D. W. & Ruiz, G. J. (1980). New Methods of Obtaining Blood and Cerebrospinal Fluid from Marine Turtles. *Herpetologica*. 36(1), 17–20.
- Patz, J. A., Daszak, P., Tabor, G. M., Aguirre, A. A., Pearl, M., Epstein, J. & Zakarov, V. (2004). Unhealthy landscapes: Policy recommendations on land use change and infectious disease emergence. *Environmental Health Perspectives*, 112(10). 1092–1098.
- Prieto-Torres, D. A., Hernández, J. L., Henríquez, A. R. B., Alvarado, M. C., & Dávila, M. J. (2013). Blood biochemistry of the breeding population of green turtles (*Chelonia mydas*) in the Aves Island Wildlife Refuge, Venezuela. *South American Journal of Herpetology*, 8(3), 147-154.
- Pritchard, H. & Mortimer, J. (2000). Taxonomía, Morfología Externa e Identificación de las Especies, 31–38.
- Raidal, S. R., Ohara, M., Hobbs, R. P., & Prince, R. I. (1998). Gram-negative bacterial infections and cardiovascular parasitism in green sea turtles (*Chelonia mydas*). *Australian Veterinary Journal*. 76(6), 415–7. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9673767>
- Redondo-Zuñiga, A. (2008). Evaluación del perfil sanguíneo de una población de hembras adultas de tortugas marinas (*Chelonia mydas*). Tesis de licenciatura. Facultad Ciencias de la Salud. Escuela de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional. Costa Rica. 60 pp.



- Relini, G. (1980). Cirripedi Toracici. Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque lagunari e costiere italiane. *Consiglio Nazionale Delle Ricerche, Genova*. 120.
- Rossi, S. (2009). Hematological profile of *Chelonia mydas* (Testudines, Cheloniidae) according to the severity of fibropapillomatosis or its absence. *Brazilian Journal of Biology*. 29(12): 974–978.
- Santoro, M., Greiner, E. C., Morales, J. A., & Rodriguez-Ortiz, B. (2006). Digenetic trematode community in nesting green sea turtles (*Chelonia mydas*) from Tortuguero National Park, Costa Rica. *Journal of Parasitology*. 92(6), 1202–1206. <http://doi.org/10.1645/GE-866R.1>
- Silvestre, A. M., González, S. L. & Cuenca, R. (2013). La bioquímica sanguínea en clínica de reptiles. *Consulta de Difusión Veterinaria*. 21(200), 31–40.
- Snoddy, J. E., Landon, M., Blanvillain, G. & Southwood, A. (2009). Blood Biochemistry of Sea Turtles Captured in Gillnets in the Lower Cape Fear River, North Carolina, USA. *Journal of Wildlife Management*. 73(8), 1394–1401.
- Steinmetz, H. (2006). Reptile Medicine and Surgery, 2nd Edition. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 37(4), 574–575.
- Taube, K. (2004). El pasado legendario. Mitos aztecas y mayas. *Ediciones Akal, Mexico*. 150 pp.
- Thomson J.A., Burkholder D., Heithaus M.R., Dill L.M. 2009. Validation of a rapid visual-assessment technique for categorizing the body condition of green turtles (*Chelonia mydas*) in the Field. *Copeia* 2:251–255. doi: 10.1643/CE-07-227
- UICN. (2014). International Union for Conservation of Nature, & Natural Resources. Species Survival Commission.



- Van Dam, R. P. & Diez, C. E. (1997). Diving behavior of immature hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) in a caribbean reef habitat. *Coral Reefs*, 16(2), 133–138.
- Viechtbauer, W. (2013). Package “metafor.” ... /*Metafor/Metafor. Pdf* ( ....
- Werneck, M. R., Marcon, M., Humberto, M., Hassan, J., Eulógio, C. Q. & Gisele, L.-H. (2015). Spirorchiids Infection (Digenea: Spirorchiidae) and Helminth Parasites in Green Turtles (*Chelonia mydas*) From the Coast of Angra Dos Reis and Paraty, South of Rio de Janeiro State. *International Association For Acuatic Animal Medicine*. 45.
- Werneck, M. R., & Silva, R. J. (2015). Helminth Parasites of Juvenile Green Turtles *Chelonia mydas* (Testudines: Cheloniidae) in Brazil. *Journal of Parasitology*. 101(6), 713–716. <http://doi.org/10.1645/15-780>
- Whiting S.D., Guinea M.L., Limpus C.J., Fomiatti K. 2007. Blood chemistry reference values for two ecologically distinct populations of foraging green turtles, eastern Indian Ocean. *Comparative Clinical Pathology* 16:109–118. doi: 10.1007/s00580-006-0646-y
- Wolf, K. N., Harms, C. A. & Beasley, J. F. (2008). Evaluation of five clinical chemistry analyzers for use in health assessment in sea turtles. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 233(3), 470–475.
- WoRMS Editorial Board. (2017). World Register of Marine Species. Available from <http://www.marinespecies.org> at VLIZ. Accessed 2017-06-29. doi:10.14284/170
- Zhang, F., Gu, H. & Li, P. (2011). A Review of Chelonian Hematology. *Asian Herpetological Research*. 2(1).12–20.