



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE

HIDALGO

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES SOBRE

LOS RECURSOS NATURALES

(INIRENA)

DETERMINACION DE PARAMETROS HEMATOLÓGICOS Y

BIOQUÍMICOS DE HEMBRAS ANIDANTES DE

TORTUGA NEGRA (*Chelonia agassizii*)

EN LA PLAYA DE COLOLA, MICHOACÁN.

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

EN LIMNOLOGIA Y ACUICULTURA

PRESENTA:

BIOL. ANGELICA MARIA ROCHA RODRIGUEZ

A s e s o r

M.C. CARLOS DELGADO TREJO

C o A s e s o r

DRA. VANESSA LABRADA MARTAGÓN

Morelia, Michoacán, octubre, 2012.



RESUMEN

La playa de Colola Michoacán es el sitio donde se registra la mayor anidación de la tortuga negra (*Chelonia agassizii*) dentro del Pacífico Oriental, sitio en el cual desde hace 30 años se aplica el programa para la recuperación y conservación de la especie. Aún a pesar del esfuerzo para su protección, hasta el día de hoy son nulos los trabajos que se han realizado para evaluar el estado de salud de la población que anida en dicha zona., Con el objetivo de determinar y evaluar la condición corporal, parámetros hematológicos y bioquímicos de la tortuga negra que anida en la playa Colola se capturaron y se obtuvieron muestras sanguíneas de 41 hembras que anidaron en el periodo de máxima anidación (octubre y noviembre) e invierno (enero a abril) durante el periodo 2010-2012. Las tortugas capturadas se clasificaron como sanas y lesionadas en base a su apariencia física de manera visual. Se estimó un índice de condición corporal relativo (*Krel*) y el índice de condición de Fulton a partir del peso y de la talla de los organismos. Se reportan por vez primera parámetros bioquímicos (*concentración de proteínas, actividad enzimática, electrolitos, lípidos*) y hematológicos incluida la proporción leucocitaria (linfocitos, heterofilos, eosinofilos, monocitos y basófilos). El índice *Krel* de las hembras anidantes fue mayor al estimado por estudios previos en juveniles de la misma especie que habitan las zonas de alimentación en Baja California Sur. No se observaron diferencias en la *Krel* estimada de acuerdo a la apariencia física de las hembras sanas y lesionadas. O entre las temporadas de anidación. Considerando únicamente el periodo de invierno se observó que el índice de *Krel* fue mayor en las tortugas lesionadas comparadas con las sanas. El índice de condición corporal de Fulton obtenido indica que todas las hembras que anidaron en la playa Colola durante el periodo de estudio estuvieron en buena condición física, siendo las tortugas capturadas durante el periodo de invierno las que mostraron la mejor condición comparado con el periodo de máxima anidación. La proporción de monocitos fue mayor en las tortugas sanas en comparación con las tortugas lesionadas ($p=0.030$). Por el contrario, la proporción de heterofilos de las tortugas clasificadas como lesionadas fue mayor al porcentaje encontrado en las sanas así como la razón heterofilos/linfocitos fue significativamente mayor en las tortugas lesionadas. La proporción de heterofilos fue menor durante el periodo de máxima anidación comparados con el periodo de invierno y los monocitos se presentaron en mayor porcentaje durante el periodo de máxima anidación. De manera general todos los parámetros evaluados en este estudio se encontraron dentro de los rangos reportados previamente en juveniles y adultos, con excepción de ciertos parámetros bioquímicos tales como el colesterol y triglicéridos.

ABSTRACT

The beach of Colola Michoacán is the site which has the largest nesting of the black turtle (*Chelonia agassizii*) in the Eastern Pacific, a place where for 30 years has been covered by the recovery and preservation program for this species. Even with every effort for their protection, till these days there are null and void the jobs that have been conducted to assess the health of the population nesting in that area. With the aim of determining and evaluate the corporal condition, hematological and biochemical parameters of the black turtle nesting on the Colola beach, was captured and blood samples of females that nested in the maximum period of nesting (October and November) and winter (January to April) during the period 2010-2012 were taken. The estimated Index of relative corporal condition (*Krel*) and the index condition of the Fulton from the weight and size of organisms was used to determine the visual physical state of the animal. It is reported for the first time parameters of biochemical's (concentration of proteins, enzymatic activity, electrolytes, lipid) and hematological including the proportion leukocyte (lymphocytes, heterophils, eosinophils, monocytes and basophils). The *Krel* index of nesting females was higher than estimated by previous studies in juveniles of the same species living in the areas of nourishment in South Baja California. No differences in the estimated *Krel* appearance according to the physical appearance of females (healthy and injured): Or between seasons of nesting. Considering only the winter period was observed that the *Krel* Index was higher in injured turtles compared to healthy subjects. The index of the corporal condition of Fulton obtained indicates that all females that nested on the Colola beach during the study period were in good physical condition, being that turtles being caught during the winter period were showed the best condition in compared with the period of maximum nesting. The proportion of monocytes was higher in healthy turtles in comparison with injured turtles. By contrast, the proportion of heterophile of the injured turtles was higher than the percentage found in the healthy subjects and the reason of heterophil / lymphocytes was significantly greater in injured turtles. The proportion of heterophile was lower during the period of maximum nesting compared to the winter period and the monocytes were present in greater percentage during the period of maximum nesting. In general all parameters evaluated in this study were within ranges previously reported in juveniles and adults, with exception of certain parameters biochemical such as cholesterol and triglycerides.

DEDICATORIA

La vida ha sido muy generosa conmigo, me dio un par de abuelos geniales, por coincidencia se convirtieron en una parte importante de mi vida, sin pensarlo y sin pedirlo.

Al iniciar este proyecto los dos estuvieron conmigo, pero hoy ya no están compartir físicamente el resultado.

Pero estoy segura que donde quiera que se encuentren están felices por verme contenta, deben saber que este trabajo desde que inició fue pensado para ustedes por todo el amor que me dieron desde que nací, aunque los extraño y quisiera abrazarlos, en mi mente y en mi corazón siempre vivirán, al recordar todos los buenos momentos y enseñanzas que vivimos juntos.

Pedro Torres Miranda

Graciela Cazares Martínez

AGRADECIMIENTOS

Al INIRENA, a todos los que de alguna manera forman parte del instituto, por todo el apoyo brindado durante estos últimos años.

A la Dra. Vanessa Labrada Martagón, Dra. Ileri Suazo Ortuño, al M.C. Carlos Delgado Trejo y Dr. Javier Alvarado Díaz, por las sugerencias, los comentarios, las correcciones en general y por lo que puede aprender de ustedes.

Quiero agradecer de forma especial a las doctoras Vanesa Labrada e Ileri Suazo primero que nada por su apoyo y por la motivación durante todo el trayecto del trabajo, en especial por los momentos en los que parecía terminar todo antes de tiempo, en serio Vanessa gran parte de esto es gracias al tiempo que le dedicaste.

Al M.C. Carlos Delgado, por confiar en mí y aceptar ser el capitán del barco durante mi paso por la maestría aun sabiendo que se nos unió una pasajera con la que no contábamos (mi hija), cuando le pedí que apoyara con este proyecto y por todo el trabajo que realizamos en campo para terminar este trabajo, creo que en ese sentido no pude elegir mejor. Insisto en pensar que le agradezco por el ejemplo que desde que lo conocí me ha dado, cuando uno quiere hacer algo se hace no solo por hacerse si no porque de verdad es lo que a uno le gusta, aunque en ocasiones resulta tan imposible como atravesar el mundo.

Al laboratorio de “Biomedicina y Salud ambiental” del CIBNOR de la Paz, Baja California Sur, por recibirme y apoyarme en la instrucción de las técnicas de hematología para desarrollar mi tesis.

Al laboratorio de análisis clínicos Independencia que me permitió realizar mis primeras practicas sobre hematológicas y bioquímicas.

A la QFB Maricela Cendejas, al QFB Julio Herrejon, y al QFB Salvador Palomares por el apoyo antes y durante el procesamiento de mis muestras biológicas y durante todo el trabajo que realizo definitivamente son parte importante de este trabajo.

A mis compañeras de maestría, en especial a Adriana por todo el apoyo que me dio durante las clases, que fue la otra parte de este proyecto.

En orden alfabético a las Biólogas Laura, Rosa E. y Yuri, por todo su apoyo durante la elaboración de tesis de verdad que sin ustedes nunca habría terminado me ayudaron muchísimo, siempre estuvieron cuando las necesite sin que yo lo mereciera. GRACIAS. De verdad las estimo y espero siempre seamos amigas.

A mi mamá que me enseñó a elegir y buscar todos mis sueños de manera independiente y con toda la libertad, por ser el mejor ejemplo que pude tener.

No por ser los últimos son los menos importantes si no al contrario:

A mi pequeña pero grandiosa hija Sac Nichte y a mi esposo que desde el primer día de este proyecto sin darme cuenta comenzaron a formar la parte más importante de mi vida, por entenderme y apoyarme de manera incondicional todos los días. Pienso que la parte mas importante para el éxito de una persona es su familia y gracias eso es que por fin termine este proyecto. Los amo.

CONTENIDO

1.	INTRODUCCIÓN.....	1
2.	ANTECEDENTES.....	4
	2.1 Generalidades de la especie <i>Chelonia agassizii</i>	6
	2.2 Salud y estado de conservación actual.....	8
	2.3 Índices de condición corporal.....	10
	2.4 Marcadores de Salud: Hematología y Bioquímica sanguínea.....	12
3.	OBJETIVOS.....	18
	3.1. Objetivo general.....	18
	3.2. Objetivos particulares.....	18
4.	AREA DE ESTUDIO.....	19
	4.1. Costa de Michoacán.....	19
	4.1.1. Hidrografía.....	20
	4.1.2. Fisiografía.....	20
	4.1.3. Suelos.....	21
	4.1.4. Clima.....	21
	4.1.5. Vegetación.....	21
	4.1.6. Fauna.....	21
5.	MATERIALES Y METODOS.....	23
	5.1. Captura de animales y colecta de muestras.....	23
	5.2. Condición corporal.....	24
	5.2.1. Índice relativo de condición corporal (<i>Krel</i>).....	25
	5.2.2. Índice de condición corporal Fulton (<i>K</i>).....	25
	5.3. Hematología.....	26
	5.4. Bioquímica sanguínea.....	27
	5.5. Análisis estadístico.....	30
6.	RESULTADOS.....	31
	6.1. Índice relativo de condición corporal <i>Krel</i>	35
	6.2. Índice de condición Fulton.....	39
	6.3. Hematología.....	41
	6.4. Bioquímica sanguínea.....	46
7.	DISCUSION.....	48
	7.1. Condición corporal.....	50
	7.2. Parámetros hematológicos.....	53
	7.2.1. Parametros de la serie roja.....	56
	7.2.2. Parámetros de la serie blanca.....	58
	7.3. Bioquímica sanguínea.....	61
	7.3.1. Concentración de proteínas.....	61
	7.3.2. Actividad enzimática.....	62
	7.3.3. Electrolitos.....	64
	7.3.4. Productos de excreción.....	65
	7.3.5. Lípidos.....	67
	7.3.6. Otros.....	69

8. CONCLUSIONES.....70
9. LITERATURA CONSULTADA.....71

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Hembra de tortuga negra (*Chelonia agassizii*).

Figura 2. Morfología de las células sanguíneas de la línea blanca descritas en la tortuga verde *Chelonia mydas* de Hawái de acuerdo a Work *et al.*, (1998).

Figura 3. Zona de estudio. Ubicación de la playa Colola, Michoacán.

Figura 4. Frecuencia de organismos de tortuga negra (*Chelonia agassizii*) capturadas en la playa Colola, Michoacán por a) intervalos de talla b) peso y c) tiempo de manipulación.

Figura 5. Lesiones registradas en los organismos de tortuga negra (*Chelonia agassizii*) capturadas en la playa de Colola, Michoacán.

Figura 6. Frecuencia de tortugas negras (*Chelonia agassizii*) capturadas en la playa Colola, Michoacán por periodos de muestreo y apariencia física.

Figura 7. Condición corporal (*Krel*) tortugas negras (*Chelonia mydas agassizii*) juveniles capturadas en la costa occidental de la Península de Baja California Sur y hembras adultas capturadas en la Playa de Colola, Michoacán. BMA=Bahía Magdalena; PAO=Punta Abreojos; LSI=Laguna San Ignacio; EPA=El Pardito. Datos de juveniles tomados de Labrada-Martagón y colaboradores (2010b).

Figura 8. Relación entre el índice relativo de condición corporal (*Krel*) y la talla (LCC) de tortugas negras (*Chelonia agassizii*) capturadas en la Playa de Colola clasificadas por apariencia física (sanas y lesionadas).

Figura 9. Relación entre el índice relativo de condición corporal (*Krel*) y la talla (LCC) de hembras adultas de tortuga negra (*Chelonia agassizii*) capturadas en la Playa de Colola por periodo de captura.

Figura 10. Relación entre el índice relativo de condición corporal (*Krel*) obtenido durante el periodo máximo de anidaciones y la talla (LCC) de tortugas negras (*Chelonia agassizii*) capturadas en la Playa de Colola clasificadas por apariencia física (sanas y lesionadas).

Figura 11. Índice relativo de condición corporal (*Krel*) obtenido durante el periodo invierno de tortugas negras (*Chelonia agassizii*) capturadas en la Playa de Colola clasificadas por apariencia física (sanas y lesionadas).

Figura 12. Relación entre el índice de condición corporal de Fulton y la talla (LCC) de tortugas negras (*Chelonia agassizii*) capturadas en la Playa de Colola, Michoacán, clasificadas por apariencia física (sanas y lesionadas).

Figura 13. Índice de condición corporal Fulton de la tortuga negra (*Chelonia agassizii*) por periodos de captura.

Figura 14. Leucocitos observados en hembras reproductoras de tortuga negra (*Chelonia agassizii*) capturadas en la playa de Colola, Michoacán de acuerdo a Work *et al.*, (1998). Tinción Hycel, lente 100X. 1= Linfocitos; 2=eosinófilo; 3=monocito; 4= heterófilos; 5 y 6= basófilos.

Figura 15. Deshecho nuclear de eritrocitos observados en hembras reproductoras de tortuga negra (*Chelonia agassizii*) capturadas en la playa de Colola, Michoacán teñidos con tinción Hycel, observados con lente de 100X.

Figura 16. Proporción leucocitaria de hembras de tortuga negra (*Chelonia agassizii*) capturadas en la playa de Colola, Michoacán de acuerdo a su apariencia física. L=lesionadas; S=sanas.

Figura 17. Proporción leucocitaria de hembras de tortuga negra (*Chelonia agassizii*) capturadas en la playa de Colola, Michoacán por periodos de captura. Inv= invierno; MA=Máxima anidación.

LISTA DE TABLAS

Tabla I. Valores de referencia del conteo de leucocitos (WBC) y el hematocrito (Hct) de la tortuga verde *Chelonia mydas* de Hawaii de acuerdo a Work *et al.*, (1998).

Tabla II. Parámetros hematológicos. Volumen del paquete celular (VPC), conteo total de células blancas (WBC) y conteo total de células rojas (RBC) de tortuga negra determinados por Glumbles *et al.* (1990).

Tabla III. Clasificación empleada para definir la apariencia física de la tortuga negra (*Chelonia agassizii*) modificada a partir de Labrada-Martagón *et al.*, (2010a).

Tabla IV. Criterio para interpretar el valor del índice de Fulton

Tabla V. Parámetros bioquímicos evaluados en suero de tortugas negras (*Chelonia agassizii*) capturadas en la playa Colola, Michoacán.

Tabla VI. Índice relativo de condición corporal (*Krel*) e índice de condición corporal Fulton de tortuga negra (*Chelonia agassizii*) estimado para todas las hembras en general, sanas y lesionadas anidantes en la playa de Colola, Michoacán.

Tabla VII. Parámetros hematológicos de hembras anidantes de tortuga negra capturadas en la playa de Colola, Michoacán.

TABLA VIII. Parámetros de química sanguínea de hembras de tortuga negra que anidaron en la Playa de Colola Michoacán.

1. INTRODUCCIÓN

México es considerado uno de los siete países mega diversos del mundo (Mittermeir,1988) y las tortugas marinas contribuyen notablemente con la biodiversidad biológica del país, las costas mexicanas han sido reconocidas como una de las áreas con mayor abundancia y diversidad de tortugas marinas (Cliffton *et al.*, 1995), puesto que siete de las ocho especies que existen a nivel mundial anidan en el país, exceptuando a la tortuga plana (*Natator depressu*) con distribución limitada a las costas australianas (Pritchard *et al.* 1983). Una de estas especies es la tortuga negra (*Chelonia agassizii* o *Chelonia mydas agassizii*) que se distribuye en el Pacífico Oriental, hasta la Columbia Británica al norte y al Sur hasta la Isla Asunción, Chile. Ésta encuentra primordialmente sus sitios de anidación en el estado de Michoacán específicamente en las playas de Colola-Motin del Oro, en Maruata, Islas Revillagigedo y en las Islas Galápagos (Ecuador) (Cliffton *et al.*, 1982).

La tortuga negra es una especie que se encuentra bajo condición especial dentro de distintas leyes debido a la disminución en el tamaño de su población. Para la legislación mexicana la tortuga negra está considerada como especie en peligro de extinción en la Norma oficial Mexicana “NOM-ECOL-059-2010 (Diario oficial de la federación)”, también se encuentran consideradas en el Apéndice I de la Convención Internacional de especies amenazadas de fauna y flora silvestres (CITES) como en Peligro de extinción y a nivel Internacional está catalogada como especie en peligro dentro de La Lista Roja de Especies Amenazadas de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, 2011).

La medicina de la conservación es una disciplina que puede ayudar en la creación de estrategias en cuanto al manejo para la conservación de las especies, ya que el fin último de la conservación es la protección y el manejo de la biodiversidad, lo cual depende del mantenimiento de ecosistemas saludables (Demm *et al.*, 2001). Hasta el día de hoy se han publicado algunos programas de evaluación y monitoreo sanitario que han sido incorporados a proyectos de biología de campo

en América Latina y en otras partes del mundo (Calle *et al.*, 1994; Karesh *et al.*, 1997). A diferencia de lo que sucede con los humanos o los animales domésticos, existe poca información disponible para establecer los valores normales o el rango aceptable que indican un organismo saludable, en la mayoría de las especies de fauna amenazada o en peligro de extinción en el mundo, los programas de conservación de fauna silvestre deberían incluir la evaluación de parámetros hematológicos como recuentos de glóbulos sanguíneos, perfiles de bioquímicos séricos, niveles de vitaminas y minerales, evidencia de exposición a enfermedades infecciosas como anticuerpos o microorganismos, y residuos de contaminantes químicos (Demm *et al.*, 2001).

Las tortugas, al igual que otros vertebrados, son susceptibles a agentes patógenos como bacterias, hongos y virus los cuales son causantes de enfermedades e inclusive de producir mortalidad (Eckert *et al.*, 2000). Recientemente en México se ha dado importancia a los estudios de campo que permitan recolectar información sobre el estado de salud de poblaciones silvestres con énfasis en aquellas especies en peligro de extinción (Zusan *et al.*, 2000). Algunas de las herramientas que se ha utilizado como auxiliar para determinar el estado de salud de los reptiles, particularmente en quelonios es la hematología y la bioquímica sanguínea (Herbst, 2000), por ser métodos sencillo a través de los cuales se pueden obtener excelentes indicadores sobre varios aspectos del estado de salud de un individuo y su estado reproductivo (Owens y Ruiz, 1980; Lowell, 1998).

La determinación de los parámetros hematológicos y bioquímicos tiene relevancia tanto para el trabajo clínico veterinario (Harper y Lowell, 1998; Flammer, 2004), como para el área de la conservación ya que al tener definidos los parámetros normales de la especie se puede valorar cuales de estos rangos pueden estar alterados facilitando el manejo y conservación de la especie. A medida que las poblaciones de tortuga marina y los ecosistemas marinos sean intensamente explotados, el potencial de impactar con enfermedades las poblaciones silvestres se hace más evidente, por lo que el monitoreo de la salud de dichas poblaciones puede ser considerado una parte importante dentro de los

planes de manejo generales de las especies. De tal manera que enfermedades potencialmente devastadoras o que ya estén presentes en las poblaciones puedan ser monitoreadas, controladas o ser descubiertas antes de ver los efectos a nivel poblacional que amenacen los esfuerzos de conservación (Herbst, 2000).

Desde 1982 en la playa de Colola se lleva a cabo un programa de protección y conservación de la tortuga negra aun así esta especie se encuentra frente a diversas amenazas entre ellas la depredación, el deterioro de la calidad del hábitat (marino y terrestre), es un sitio prioritario para la recuperación de la población de tortuga negra (*Chelonia agassizii*) en el país, ya que esta especie encuentra su principal área reproductiva y donde se registra el mayor número de anidaciones de la especie. Considerando que hoy en día no se cuenta con información que nos hable acerca aspectos de salud sobre la especie dentro de esta zona, resulta fundamental realizar una evaluación general que refleje las condiciones de salud actuales de la población.

Debido a lo anterior se estableció como objetivo de este trabajo determinar los parámetros de referencia tanto hematológicos y bioquímicos de hembras adultas de tortuga negra (*Chelonia agassizii*) que anidan en la playa Colola en Michoacán. Con este estudio se pretende contribuir con una parte fundamental que apoyará la evaluación del estado de salud de la especie. Este estudio resulta importante debido a que no existen referencias previas sobre este tema para adultos de la especie en la costa de Michoacán.

En este trabajo se empleará la nomenclatura utilizada en la legislación mexicana dentro de la NOM-052 en la que se considera a la tortuga negra como *Chelonia agassizii* (*Diario oficial de la federación*), aunado a que existe suficiente evidencia en cuanto a la morfología, morfometría y osteología de la especie sobre el aislamiento y comportamiento reproductivo de la población (Figueroa y Alvarado, 1989; Prichard, 1997,1999; Kamezaki, y Matusi 1995).

2. ANTECEDENTES

Aunque los reptiles fueron los primeros vertebrados verdaderamente terrestres, algunos retornaron al ambiente marino en el cual de dio la exitosa diversificación de los quelonios, particularmente durante el periodo cretácico, fue quizá uno de los eventos más importantes en la historia de las tortugas en particular, y de los reptiles marinos en general. Así, específicamente las tortugas marinas tienen una historia evolutiva de aproximadamente 200 millones de años (Hirayama, 1998; El Ridi, 1994). Las primeras tortugas tuvieron un origen terrestre y posteriormente se extendieron al medio acuático y marino. Actualmente existen alrededor de 75 géneros y aproximadamente 250 especies de tortugas de las cuales solo 6 géneros y 8 especies son marinas (Pritchard y Mortimer, 2000).

Hace 110 millones de años aproximadamente, en el periodo Cretácico, existían cuatro familias de tortugas marinas: Toxochelyidae, Protostegidae, Cheloniidae y Dermochelyidae, siendo las últimas dos familias las que han persistido hasta el presente (Marquez, 2002). La familia Dermochelyidae está representada por una sola especie, la tortuga laúd (*Dermochelys coriacea*) y la familia Cheloniidae está formada por siete especies: la caguama o cabezona (*Caretta caretta*), la lora (*Lepidochelys kempii*), la verde (*Chelonia mydas*), la negra (*Chelonia agassizii*), la carey (*Eretmochelys imbricata*), la golfina (*Lepidochelys olivacea*) y la tortuga plana (*Natator depressus*) (Prichard, 1997;1999).

En el estado de Michoacán anidan tres especies de tortuga marina, siendo la tortuga negra la especie que con mayor frecuencia se observa (Alvarado y Delgado, 2005). Actualmente, la situación taxonómica de la tortuga negra es motivo de controversia. Algunos autores sugieren que la tortuga negra, es una especie independiente (*Chelonia agassizii*; Bocourt 1868), mientras que otros autores sugieren que es una población regional o una subespecie de la tortuga verde (*Chelonia mydas*; Linnaeus 1756). La controversia se debe a que existen evidencias a favor y en contra de la asignación de especie para la tortuga negra.

En este trabajo apoyamos el concepto de especie independiente dado que concuerda con los criterios tradicionales con base al grado de divergencia morfológica y la probable existencia de mecanismos de aislamiento reproductivo, además de que la ciencia, que hace una interpretación objetiva de diferencias expresadas en el genotipo y su relación con la sistemática, se encuentra todavía en proceso de evolución (Prichard y Mortimer, 2000). Sin embargo, otros discrepan con esta opinión, y no apoyan el status de especie independiente, estos trabajos aportan evidencia taxonómica molecular y han sido criticados ya que tienen tamaños de muestra pequeños para las poblaciones de Michoacán donde se encuentran las principales playas de anidación para la tortuga negra (Bowen *et al.*, 1992; Karl *et al.*, 1992; Dutton *et al.*, 1996; Karl y Bowen, 1999).

Los argumentos que se consideran en este trabajo para designar a la tortuga negra como especie independiente son los siguientes: se ha encontrado que *Ch. agassizii* y *Ch. mydas* son especies que ocurren de manera simpátrica en algunas localidades (Islas Galápagos y Nueva Guinea) sin que a la fecha se tenga evidencia de eventos reproductivos entre estas, por lo que Pritchard (1997) considera que existe aislamiento reproductivo y por consiguiente es válida la existencia *Ch. agassizii* como especie. La tortuga negra es diferente en cuanto a forma, tamaño y coloración del caparazón, de acuerdo a un trabajo en el que se comparan tortugas del estado de Michoacán (México, océano Pacífico) y de la playa Tortuguero, (Costa Rica, océano Atlántico) (Figuroa y Alvarado 1990). Kamezaki y Matsui (1995) analizaron medidas craneales en siete playas de anidación, dos del Atlántico y 5 del Pacífico, concluyendo que la diferenciación morfológica que ellos encuentran entre *Ch. mydas* y *Ch. agassizii* es suficiente para clasificar a esta última como subespecie: *Ch. mydas agassizii*.

Desde el punto de vista del autor lo más importante sin duda no es preocuparse por la definición de la posición taxonómica de la especie, sabiendo que población de tortuga negra en este momento se encuentra en peligro por lo que en este

caso se le ha de considerar como una prioridad de conservación manteniendo los esfuerzos de realizados desde hace treinta años.

2.1 Generalidades de la especie *Chelonia agassizii*

Estatus taxonómico

Phylum Chordata

Subphylum Vertebrata

Superclase Tetrapoda

Clase Reptilia

Subclase Anapsida

Orden Testudines

Suborden Cryptodira

Superfamilia Chelonioidea

Familia Cheloniidae

Pacífico Oriental: *Chelonia agassizii* (Bocourt, 1868)

De acuerdo Prichard y Mortimer (2000) el carapacho presenta forma acorazonada y con escotadura posterior en adultos; no aserrado; comúnmente tectiforme (en forma de tienda de campaña) y aplanado en el perfil anterior; cuatro pares de escudos costales; longitud recta del carapacho (LRC) hasta unos 90 cm. La cabeza redondeada anteriormente; ancho hasta 13 cm; un par de escamas prefrontales, número más común de escamas postorbitales es cuatro, seguido por tres pares. Las aletas relativamente más largas que en otras poblaciones del complejo *Ch. mydas*; una uña en cada aleta. La coloración es dorsalmente negra en las crías, permaneciendo oscura durante todo el ciclo vital, aunque en adultos puede ser uniformemente negro arriba o con manchas negras u otras marcas

sobre un fondo grisáceo. Ventralmente las crías son blancas pero en pocas semanas o meses se transforma a gris. La tortuga prieta que se distribuye en el Océano Pacífico oriental tiene un peso de hasta unos 120 kg (70 kg en promedio) (Fig. 1).



Figura 1. Hembra de tortuga negra (*Chelonia agassizii*).

Las zonas de reproducción y anidación más importantes se encuentran en el estado de Michoacán, México, en las conocidas playas de Colola-Motín del Oro y Maruata, en las Islas Galápagos y Socorro (Alvarado y Delgado, 2005; Cliffton et al., 1982). Existen otros sitios de menor importancia en México, como las costas de Guerrero, Jalisco, Oaxaca, las Islas Clarión y Socorro (Márquez, 1990). En Michoacán, la tortuga negra comienza a anidar en agosto y puede encontrarse hasta marzo, aunque el máximo de anidaciones ocurre en los meses de octubre y noviembre (Alvarado y Delgado, 2005)

Se ha documentado que las crías y juveniles pelágicos son esencialmente carnívoros (Bjorndal, 1997) no obstante se ha documentado porciones de materiales de origen vegetal. Las tortugas negras abandonan los hábitats pelágicos y se incorporan a las áreas de desarrollo y alimentación costeras a un tamaño aproximado de 40 centímetros (LRC) en la Península de Baja California (Seminoff et al., 2002), en el Golfo de California se ha reportado el consumo de materia animal compuesta por diversidad de invertebrados (e.g. moluscos, anélidos, cnidarios, crustáceos) además de pastos marinos como la especie *Zostera marina* (Seminoff et al., 2000; Ferger y Moser, 1987) mientras que en Bahía Magdalena existe evidencia de consumo de langostilla (*Pleuroncodes planipes*) en periodos de alta abundancia (López-Mendilaharsu et al., 2003a). En estas áreas cambian su dieta a artículos principalmente de origen vegetal, cuando son adultos. Se ha encontrado que la composición de la dieta especialmente de la tortuga negra cambia sustancialmente a lo largo del año debido a los cambios de temperatura del océano (Seminoff, 2000) y de acuerdo a las áreas de alimentación (López-Mendilaharsu et al., 2005).

2.2 Salud y estado de conservación actual

La tortuga negra es una especie que enfrenta un riesgo de extinción muy alto en un futuro cercano, ya que sus poblaciones y áreas de distribución han sufrido una reducción drástica poniendo en riesgo su viabilidad biológica a causa del deterioro de la calidad de sus hábitats (terrestre y marino), la depredación y la contaminación de las actividades humanas (Alvarado y Delgado, 2005). También se ha documentado que la eutrofización, es decir, el incremento de algas tóxicas y el colapso de la red alimenticia asociados a la degradación del hábitat tienen efectos sobre la salud de las tortugas marinas (Aranda, 2001).

Aunque no ha sido documentado se sabe que la costa de Michoacán recibe descargas de aguas residuales no tratadas, este tipo de aguas por lo general cuentan con altas concentraciones de nitrógeno y fósforo que promueven la eutrofización (Metcalf y Eddy, 1995), lo que puede afectar a la tortuga,

disminuyendo la ingestión de alimentos y aumentando la ingestión de toxinas (Milton y Lutz, 2003). Se sabe que aunque las tortugas marinas son físicamente fuertes, capaces de resistir daños físicos severos, son sensibles a la contaminación química y biológica (Lutcavage y Lutz, 1997) lo que puede traer efectos sobre su salud, como por ejemplo los derrames de petróleo ingestión de plástico o látex, presencia de metales pesados y pesticidas (Alvarado y Delgado, 2005; Balazs, 1985; Milton y Lutz, 2003, Walsh, 2000).

La tortuga negra al igual que el resto de las especies de tortugas marinas se consideran especies centinela de hábitats específicos ya que son organismos de larga vida y tienen un grado alto de fidelidad sus sitios de hábitat, siendo de gran atracción al público y son especialmente vulnerables a la degradación de la salud del medio ambiente, además de ser consideradas como potenciales indicadores del estado de salud del hábitat marino (Aguire y Lutz, 2004).

Poco se conoce sobre la respuesta inmunológica de estos quelonios, se puede asumir que como en otros animales las tortugas negras sufren una reducción en la habilidad de responder ante una enfermedad cuando están bajo los efectos del estrés (Aguirre et al., 1995). Bajo condiciones de estrés, las tortugas liberan corticosterona (Cash et al., 1997; Jessop et al., 2004), la cual puede reducir los mecanismos de respuesta de las células tanto a nivel humoral como en las células de defensa, inhibiendo consigo la habilidad para responder ante la presión de agentes patógenos externos (Jessop et al., 1999). El estrés puede ser ambiental (e.g. salinidad, polución, temperatura, agentes infecciosos), nutricional, o físico (traumas). También se ha demostrado que las bajas temperaturas reducen su producción de inmunoglobulinas, y por tanto inmuno deprimen a estos reptiles (George et al., 1997).

Hasta el día de hoy es nulo el conocimiento que se tiene sobre las enfermedades en la tortuga negra, en el estado de Michoacán, los registros de enfermedades de los que se tiene conocimiento se ha reportado en otras especies de tortugas marinas que se encuentran en cautiverio y en organismos de vida libre, se sabe que pueden deberse a problemas nutricionales y (Glazebrook y Campbell, 1990) y

también se han reportado enfermedades asociadas a bacterias (Glazebrook *et al.*, 1993). Los hongos también han sido detectados en tortuga marina (George *et al.*, 1997). En cuanto a virus, se ha descrito la fibropapilomatosis que es una enfermedad que puede afectar seriamente a las poblaciones de tortuga marina (Aguirre *et al.*, 2002; Chaloupka *et al.*, 2009). Esta enfermedad tiene una distribución circumtropical y ha sido detectada en el océano Pacífico, como en el océano Atlántico principalmente en tortuga verde (*Chelonia mydas*), aunque también hay casos de la caguama (*Caretta caretta*), lora (*Lepidochelys olivacea*), golfina (*Lepidochelys kempii*) y la plana (*Natator depressus*) (Aguirre *et al.*, 1998).

El hecho de que hasta el momento no se han registrado estas enfermedades en tortuga negra nos habla del gran trabajo que hace falta realizar dentro de esta área para garantizar la sobrevivencia de esta especie, ya que el no conocerlas hasta el momento no quiere decir que no estén presentes en la población. Algunas de las herramientas que se han utilizado como auxiliares para determinar el estado de salud de los reptiles, particularmente en quelonios son parasitología, microbiología clínica, serología, pruebas diagnósticas moleculares, endocrinología, inmunología, clínica sanguínea y hematología (Aguirre *et al.*, 1995; Herbst, 2000; 2008; Labrada-Martagón *et al.*, 2010^a; Cordero *et al.*, 2004; Persing *et al.*, 1993.), mismas herramientas que pueden ser empleadas para establecer el estado de salud de las tortugas negras en la costa Michoacana.

2.3 Índices de condición corporal

Un objetivo fundamental de la biología de la conservación es garantizar la supervivencia a largo plazo de las especies (Meffe y Carroll, 1997; Hunter 2001; Primack 2006). En la actualidad se sabe que las poblaciones que están aisladas o que el número de sus individuos se ve disminuido se encuentran en riesgo inmediato de extinción, además de que pueden verse afectadas por las actividades humanas (Soule y Orians, 2001). Para lograr cambios que ayuden al restablecimiento poblacional es importante considerar que una población

prospera o decae en base a la salud de los individuos que la conforman (Stevenson y Woods, 2006).

El termino condición corporal se refiere al estado energético del animal, se asume que un animal con buena condición corporal tiene mayores reservas energéticas que un animal con una condición pobre (Harder y Kiripatric, 1996 en Copeland, 2004). Los índices de condición corporal se utilizan como uno de los recursos para evaluar el estado nutricional de los organismos, aunque han sido ampliamente utilizados en salud humana no ha sido de la misma manera en otras especies animales (Stevenson y Woods, 2006). Se ha demostrado que los animales con mayor condición corporal tienen mayor probabilidad de sobrevivir a largos viajes migratorios a consecuencia de la grasa corporal que han acumulado (Merilä y Svensson, 1997); una buena condición corporal ayuda a mantener un sistema inmunológico más competente (Moller y Saino, 1994) y tienen una mayor fecundidad (Moya, 2002), también les ayuda a disfrutar de un mayor éxito en el apareamiento (Cotton *et al.*, 2006). Por lo tanto, la condición corporal en términos de almacenamiento de nutrientes puede ser considerado tanto como un signo general sobre el estado de salud y el éxito reproductivo y como consecuencia de su medición se vuelve esencial en biología de la conservación (Blanckenhorn y Hosken, 2003; Stevenson y Woods, 2006). La condición corporal nos informa sobre los niveles de nutrientes contenidos en un individuo ya que varían según las demandas fisiológicas en las que se encuentren (Brown, 1996). El evaluar índices de condición corporal en fauna silvestre puede ser benéfico ya que gracias a estos estudios se conoce que los organismos en buenas condiciones en términos de almacenamiento de nutrientes pueden soportar períodos de ayuno durante más tiempo (Atkinson y Ramsay, 1995). En algunos reptiles como por ejemplo en el caso de los lacértidos (lagartijas y lagartos) se ha observado que el tamaño corporal afecta a la supervivencia invernal y que los individuos mas grandes tienen más oportunidad de sobrevivir (Fox, 1975; Ferguson *et al.*, 1982).

Se han propuesto diversos índices para poder medir la condición corporal en los diversos grupos animales, pero el caso de los reptiles particularmente en las

tortugas marinas (*Chelonia mydas*) el índice de Fulton ha sido comúnmente utilizado para determinar la condición corporal a partir de los datos de peso y talla (Bjorndal *et al.*, 2000; Seminoff, 2003; Koch, 2007, Labrada-Martagón *et al.*, 2010a). Este índice nos explica la relación prácticamente constante entre la longitud y el peso de un organismo en relación a su edad (Bjornal *et al.*, 2000). Otro de los índices propuestos específicamente para el caso de tortugas marinas es el índice de condición relativa (*Krel*) que se estima a partir de los datos de peso y talla de los organismos (Labrada-Martagon *et al.*, 2010a). Con ambos índices, es posible comparar diferencias entre zonas, sexos ó entre los organismos del misma área en distintas épocas del año (Labrada-Martagon *et al.*, 2010b). Los parámetros que utilizan dichos índices, provienen de la ecuación generada a partir de la relación entre la longitud y el peso de los organismos (Beverton y Holt, 1957). Por ejemplo, en peces, el coeficiente *b* se ha interpretado como un coeficiente alométrico (un aumento diferencial del peso y la talla) (Ricker, 1975). Cuando *b* es diferente de 3 significa que el organismo crece de una forma alométrica y cuando *b* es igual a 3 se dice que el crecimiento es isométrico, lo que significa que la forma del pez no cambia a medida que aumenta su talla (Jones *et al.*, 1999). En la tortuga verde del Pacífico Este, se ha determinado estadísticamente que el parámetro *b*, obtenido de la relación peso y talla generada a partir de datos de organismos capturados en Baja California Sur, es igual a 3 asumiéndose entonces un crecimiento isométrico en esta población (Labrada-Martagón, datos sin publicar).

2.4 Marcadores de Salud: Hematología y Bioquímica sanguínea

Uno de los primeros sistemas que deben ser examinados durante la evaluación del estado de salud de un animal es el sanguíneo, ya que cumple importantes funciones como el transporte de gases, nutrientes y eliminación de los desechos metabólicos que resultan de dichos procesos por distintas vías del organismo (Koolman y Röhm, 2004). El análisis de sangre es importante clínicamente para determinar el estado de salud de un individuo, puesto que la sangre participa directamente e indirectamente en casi todos los procesos bioquímicos del cuerpo,

alteraciones en su estado ayudan a detectar enfermedades o lesiones, la sangre al ser fácil de obtener sin lastimar al animal, hace de su examen un elemento de diagnóstico muy útil (Medway *et al.*, 1986, Herbst, 2000).

La hematología es una ciencia que comprende el estudio de la etiología, diagnóstico, tratamiento, pronóstico y prevención de las enfermedades de la sangre que afectan su producción y sus componentes, como los glóbulos rojos, glóbulos blancos, la hemoglobina (Rodak, 2005). Se ha reportado que los estudios hematológicos pueden ser buenos indicadores del estado de salud de vertebrados (Benjamín, 1991). La hematología ha sido utilizada en reptiles, mamíferos y aves por ser un método sencillo a través del cual se pueden obtener excelentes indicadores de muchos aspectos del estado de salud de un individuo y su estado reproductivo (Owens y Ruiz, 1980; Lowell, 1998).

Los primeros estudios sobre hematología en reptiles tienen lugar a mediados del siglo XIX (Mand, 1839; Guilliver, 1840), En reptiles, y en el resto de los vertebrados, el hemograma es una rápida herramienta diagnóstica que ofrece mucha información referida al estado de salud de los animales como por ejemplo permiten inferir estrés agudo (por enfermedad) o estrés crónico (continuo) en los animales. Los conteos diferenciales permiten identificar procesos inflamatorios o infecciosos (bacterias y virus), parásitos y alergias (Doxey, 1987). Sin embargo, resulta de vital importancia realizar una correcta evaluación e interpretación del mismo ya que son muchos los factores intrínsecos propios del animal, como la edad, sexo, nivel de estrés, nivel nutricional, niveles hormonales e hidratación corporal, así como factores medio ambientales (e.g. temperatura, estación, y presión de oxígeno) los que pueden llegar a afectar los valores hematológicos (Dessauer, 1970; Aguirre *et al.*, 1995).

Los valores de hemograma y bioquímica sérica obtenidos para las diferentes especies de testudines son muy variados, lo cual se explica por los diferentes ecosistemas en que habitan y adaptaciones al medio que cada especie ha adoptado un modo de vida ya sea por el clima, altitud, dieta, tipo de alimento a su alcance y la actividad diaria que éstos realizan (Cabrera, 2008). La descripción de

los seis tipos celulares sanguíneos de la tortuga verde realizado por Work y colaboradores (1998) se convirtió en un trabajo base y primordial para el estudio de las células de la línea blanca en tortugas marinas (Fig. 2). Con dicho estudio se estableció una referencia confiable sobre la hematología de la tortuga verde, al ser un trabajo auxiliado de microscopía electrónica para la descripción precisa de los diferentes tipos celulares y con el que se establecieron valores de referencia del conteo de leucocitos (WBC) para *Chelonia mydas* (Tabla I).

Existe un trabajo que sirve como antecedente para la tortuga negra, en el cual se determinaron volumen del paquete celular (VPC), total de células blancas (WBC), total de células rojas (RBC), (Tabla II) en hembras anidantes, en hembras dentro del mar y en machos (Grumbles *et al.*, 1990 en el que se determinó que no existían diferencias significativas entre machos y hembras en cuanto al VPC y RBC, mientras que WBC fue significativamente más bajos para los machos que para las hembras. Estas diferencias en el recuento de glóbulos blancos se encontraron en el porcentaje de eosinófilos, ya que fue menor en los machos que en todas las hembras en conjunto, concluyendo sus resultados representan parámetros de tortugas de vida libre saludables. Estos resultados pueden ayudar en la interpretación de valores hematológicos obtenidos a partir de tortugas en vida libre cuando se trata de evaluar el estado de salud.

Tabla I. Valores de referencia del conteo de leucocitos (WBC) y el hematocrito (Hct) de la tortuga verde *Chelonia mydas* de Hawaii de acuerdo a Work *et al.*, (1998).

Tipo célula	Conteo celular ($10^3/\mu\text{l}$) Media \pm SD
Linfocitos	69 \pm 14
Heterofilos	6 \pm 4
Eosinofilos	14 \pm 11
Basófilos	9 \pm 12
WBC total	32 \pm 5
Hematocrito	45 \pm 7
Hemoglobina	10.6 \pm 1.2
BBC	341 \pm 74
Peso (Kg)	145

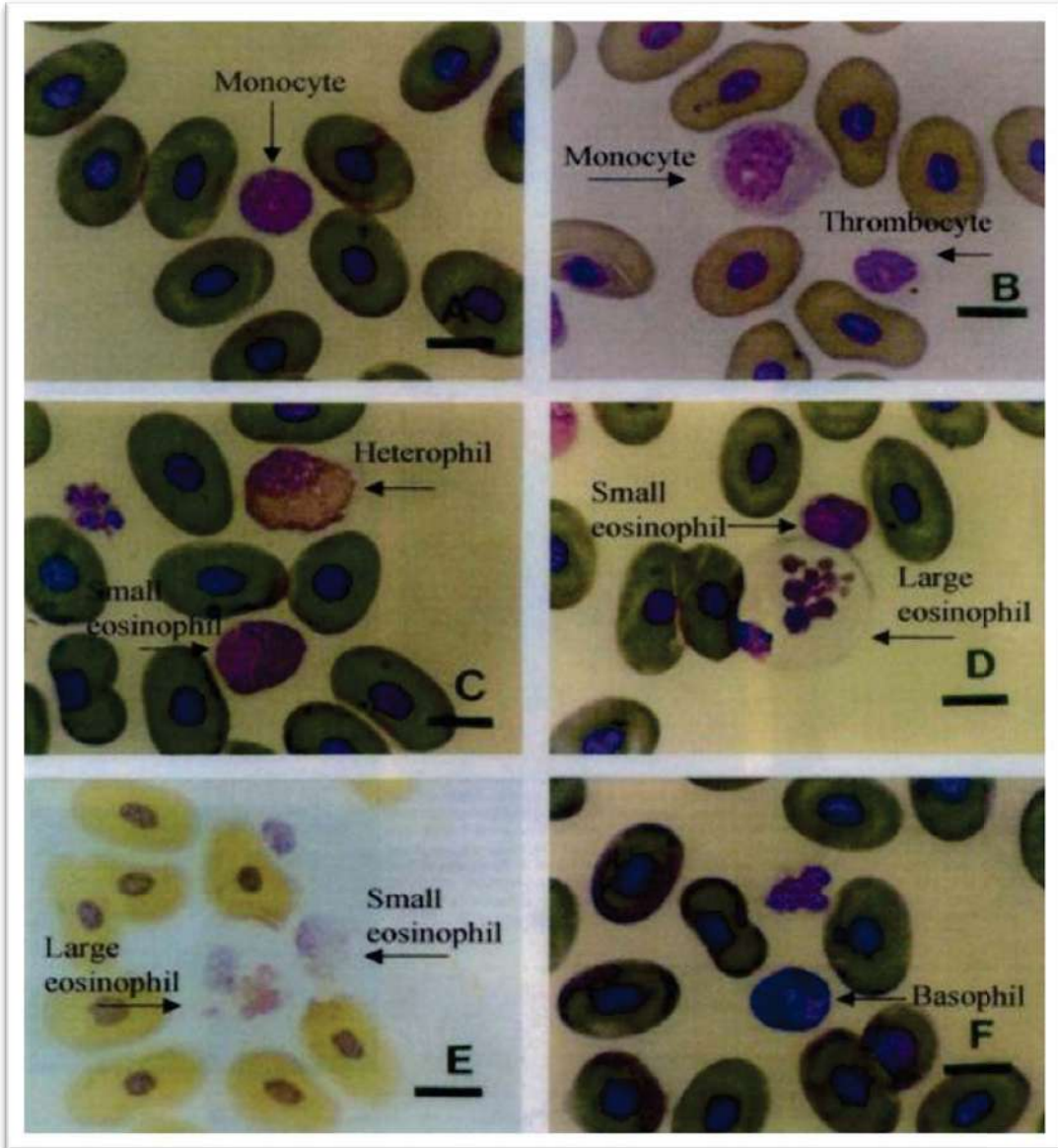


Figura 2. Morfología de las células sanguíneas de la línea blanca descritas en la tortuga verde *Chelonia mydas* de Hawái de acuerdo a Work *et al.*, (1998).

Tabla II. Parámetros hematológicos. Volumen del paquete celular (VPC), conteo total de células blancas (WBC) y conteo total de células rojas (RBC) de tortuga negra determinados por Glumbles *et al.* (1990).

Parámetro	H. anidando	H. en mar	Machos
	Rango	Rango	Rango
VPC(%)	17.7- 40.0	28.0-36.5	10.0-38.0
WBC	2,000- 12,250	1,500-6000	1325-5250
RBC X10 ³	200-720	270-598	255-655

La medición de los elementos químicos que componen la sangre es una parte del examen integral que se realiza para conocer las enfermedades. Estos análisis junto con los procedimientos de laboratorio, el examen físico y la historia clínica ayudan a generar un diagnóstico, a emitir un pronóstico y valorar la eficacia del tratamiento (Díaz *et al.*, 2006). La bioquímica sanguínea representa una valiosa herramienta para el monitoreo de salud de la fauna silvestre, tanto en su medio natural como en cautiverio (Aguirre y Balazs, 2000), lo que permite obtener una evaluación renal, hepática, celular y muscular de un animal. La mayor parte de las pruebas de bioquímica sanguínea se realizan con el suero sanguíneo, pero grupos de expertos recomiendan el uso generalizado del plasma (Bolten *et al.*, 1992; Deem, *et al.*, 2009; Work, *et al.*, 2000), sobre todo en especies donde no es fácil la extracción de una cantidad suficiente de sangre que permite obtener suero después de la retracción del coágulo.

Los estudios bioquímicos que se ha realizado en tortugas marinas son pocos y han tenido como objetivo determinar los valores bioquímicos sanguíneos base para cada población (Aguirre y Balasz, 2000; Aguirre *et al.*, 1995; Hasbum, 1998).

Estudios que se ha realizado en tortuga verde, por ejemplo es el de Aguirre *et al.*, 1995 que observó diferencias de estos valores entre tortugas verdes saludables y con fibropapilomatosis en tortugas de Hawaii, Bolten y Bjorndal (1992) determinaron que existía relación entre los parámetros bioquímicos con el sexo y el tamaño corporal. En Venezuela Montilla *et al.*, 2006 compararon las medias obtenidas entre sub adultos y adultos contrastando diferencias entre ambos estudios. Se realizó un estudio de parámetros bioquímicos en Taiwán en juveniles y adultos donde se reporta una población sana con parámetros que se reconocen dentro de lo normal (Fong, 2010). En Australia (Hamman *et al.*, 2006) y en los Emiratos árabes (Hasbun *et al.*, 1998) se determinaron los parámetros normales de tortuga verde tanto de sub adultos, adultos (hembras y machos).

Labrada-Martagón *et al.*, 2010a realizaron un primer trabajo en México, donde se caracterizan y comparan los valores de los parámetros bioquímicos sanguíneos de juveniles y sub adultos de tortuga negra capturadas en dos lagunas costeras de Baja California Sur, mencionan que pueden verse afectados por diferentes factores abióticos (estaciones del año, año de captura, localidad) y bióticos (edad, estado físico y condición corporal). Presentaron valores promedio de 18 parámetros bioquímicos entre los que se incluyen la concentración de proteínas, electrolitos, lípidos, glucosa, calcio, fósforo inorgánico, productos de excreción y medición de la actividad enzimática de cinco enzimas distintas.

La tortuga verde es probablemente la más conocida debido a su valor histórico y valor alimenticio, esta especie en la actualidad enfrenta un grave problema de salud a nivel mundial por lo cual la hematología y los análisis bioquímicos desempeñan un papel importante dentro de la investigación para la conservación de la especie. A pesar de que la tortuga negra encuentra su principal zona de reproducción y anidación en la playa de Colola, Michoacán dentro del Pacífico y que desde hace treinta años se aplica un programa para la recuperación un conservación de la especie no existen estudios que hablen sobre el estado de salud actual de la población, a pesar de que debería ser parte del plan de conservación para el manejo de la especie.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Determinar los parámetros hematológicos y de bioquímica sanguínea de hembras adultas anidantes de tortuga negra (*Chelonia agassizii*) en la playa Colola, Michoacán, México.

3.2. Objetivos particulares

- Determinar la condición corporal de las hembras de tortuga negra (*Chelonia agassizii*) por apariencia física y periodo de anidación.
- Determinar y evaluar diferencias en los parámetros hematológicos de las hembras de tortuga negra (*Chelonia agassizii*) por apariencia física y periodos de anidación.
- Determinar los parámetros bioquímicos sanguíneos de las hembras de tortuga negra (*Chelonia agassizii*).

4. AREA DE ESTUDIO

4.1 Costa de Michoacán

La costa del Estado de Michoacán forma parte del litoral de la Republica Mexicana en el Océano Pacífico (Fig. 3), localizándose entre el estado de Colima al oeste y el estado de Guerrero al este. Los municipios que integran la región de la costa son Aquila, Arteaga, Coahuayana, Chinicuila y Lázaro Cárdenas (Navarro y Vargas, 1995).El litoral michoacano tiene en línea recta una longitud cercana a los 208 km (Atlas Geográfico del Estado de Michoacán, 2003).

La playa de Colola pertenece al municipio de Aquila, tiene una longitud de 4.8 km y se localiza entre $103^{\circ} 24' 33''$ longitud oeste y a los $18^{\circ} 17' 47''$ latitud norte del municipio de Aquila. La comunidad se localiza en la parte oriental de la playa mientras que el extremo occidental está delimitado por un afloramiento rocoso. Entre la carretera y la playa se encuentra un cinturón de vegetación de aproximadamente 60 m de ancho el cual está formado principalmente por arbustos (Alvarado y Delgado 2005). En 1986, las playas de Colola, Maruata y Mexiquillo, fueron decretadas como reservas naturales para la conservación de las tortugas marinas y luego recategorizadas como santuarios en el 2002 (CONAP, 2002). La playa de Colola es el sitio de mayor importancia dentro del Pacífico Mexicano para la anidación y reproducción de tortuga negra por lo que en ésta se pueden encontrar adultos reproductores tanto machos como hembras de la especie durante los meses de agosto a diciembre (Alvarado y Figueroa, 1990).

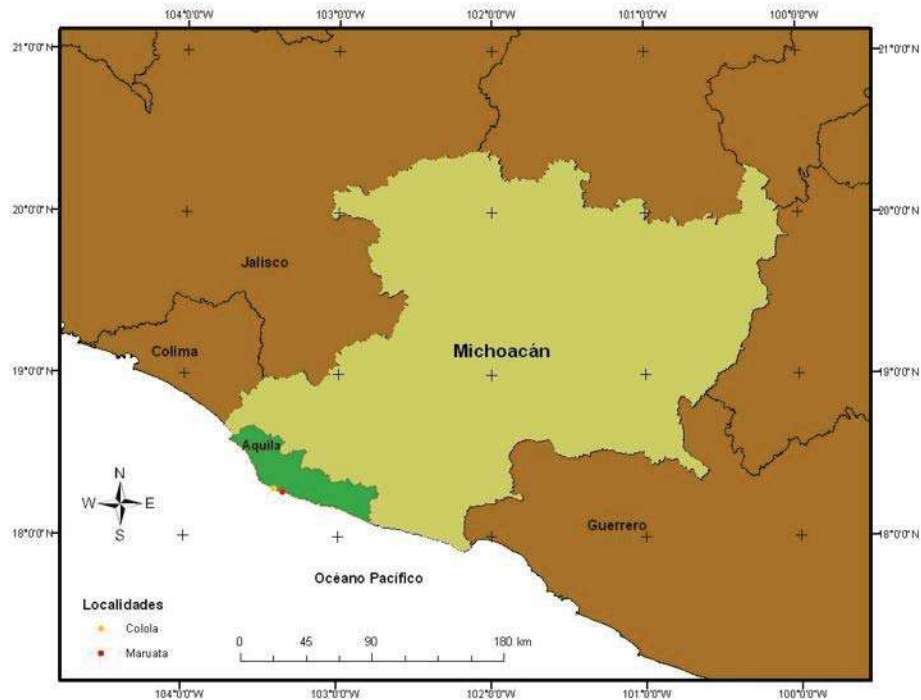


Figura 3. Zona de estudio. Ubicación de la playa Colola, Michoacán.

4.1.1. Hidrografía

En la costa de Michoacán desembocan más de 53 ríos y arroyos que se originan en la vertiente michoacana meridional de la Sierra Madre del Sur y llegan al Océano Pacífico. Los ríos más importantes son Río Coahuayana, Río Aquila, Río Ostula, Río Cobre o Maruata, Río Motín del Oro, Río Cachan, Río Tzupa, Río Guagua, Río Nexpa, Río Mezclahuacan, Río Chuta y Río Carrizal (Atlas Geográfico del Estado de Michoacán, 2003).

4.1.2. Fisiografía

De acuerdo con la división fisiográfica de la Dirección General de Geografía, Michoacán queda comprendido dentro de dos de las quince provincias fisiográficas que conforman a la República Mexicana: la del Sistema Volcánico Transversal, también llamado Eje Neovolcánico y la Sierra Madre del Sur (Atlas Geográfico del Estado de Michoacán, 2003).

4.1.3. Suelos

Los suelos de la región costera en general son poco desarrollados, jóvenes, de textura franca y arenosa, con alta permeabilidad y drenaje rápido y pobres en materia orgánica. Algunos en las desembocaduras de los ríos son fértiles y propicios para cultivos de riego temporal (Zubieta *et al.*, 1999).

Con base en el sistema de clasificación FAO-UNESCO y tomando como referencia El Plano de Suelos del Estado de Michoacán editado por el INEGI (1985) los suelos para la Costa de Michoacán quedan comprendidos por las unidades: *Feozem, Cambisol, Leptosol, Fluvisol, Regosol, Gleysol, Vertisol, Acriso* (Atlas Geográfico del Estado de Michoacán, 2003).

4.1.4. Clima

Michoacán se encuentra al sur del trópico de Cáncer. Debido al relieve posee una gran variedad de climas que se manifiestan en la gran diversidad de su vegetación y fauna. La costa es una región cálida con temperatura anual de 26° C; de acuerdo a la clasificación de KÖPEN el clima dominante es tropical en lluvias en verano (Aw) (Atlas Geográfico del Estado de Michoacán, 2003).

4.1.5. Vegetación

El clima y el suelo permiten el desarrollo de varios tipos de vegetación: el bosque tropical caducifolio y el bosque tropical subcaducifolio. Por arriba de los 800 m de altitud se encuentran encinares y en las porciones más altas de la sierra asociaciones de pino-encino y bosques de pino. En la porción de la costa se localiza vegetación de dunas costeras, vegetación secundaria y manglares (González, 1987).

4.1.6. Fauna

Las clases de vertebrados terrestres que habitan la costa michoacana tiene un gran número de especies de insectos, anfibios, reptiles, aves, peces y mamíferos, entre los que se incluyen las tortugas terrestres y marinas. Se han reportado

diferentes tipos de aves migratorias y residentes, tanto terrestres como marinas, se han reportado 43 especies de mamíferos para la región de la costa (Mendoza, 1992).

5. MATERIALES Y METODOS

5.1. Captura de animales y colecta de muestras

Se realizaron 3 salidas al campo al sitio de muestreo durante el periodo 2010-2012. Las tortugas negras fueron capturadas durante la anidación realizando patrullajes nocturnos a lo largo de la playa de Colola, la cual mide 4.8 km de longitud. Para realizar la determinación de los parámetros hematológicos y bioquímicos, se tomaron 4 ml de sangre del seno cervical de 41 hembras en el momento posterior a la anidación (Owens y Ruiz, 1980). Se utilizaron guates de látex y alcohol para limpiar el área en donde se tomó la muestra sanguínea. Para el análisis hematológico se utilizaron agujas de doble punta ensamblados a un capuchón Vacutainer® y a tubos Vacutainer® (7 ml, Becton Dickinson, Franklin Lakes, New Jersey) con heparina de litio (He/Li) que funciona como anticoagulante; en el caso de las muestras utilizadas para realizar las pruebas bioquímicas se usaron tubos Vacutainer® sin anticoagulante para la recuperación del suero. Se registro el tiempo de manipulación de cada tortuga, periodo considerado desde el momento de la captura, posterior a la puesta del nido, hasta que se tomó la muestra de sangre (Labrada-Martagón *et al.*, 2010a). Los tubos fueron etiquetados con una clave (zona, fecha y número de muestra) y se mantuvieron en una hielera hasta llegar al campamento para su procesamiento.

A cada tortuga marina capturada se le midió el largo curvo del caparazón nucasupracaudal (LCC) de acuerdo a Bolten (2000). El peso se obtuvo utilizando una báscula romana de 160 kg colocando a las tortugas marinas en una bolsa de costal. Cada organismo fue marcado de las aletas posteriores con marcas metálicas con clave (Balazs, 2000).

Se definió la apariencia física de las tortugas marinas realizando una inspección visual a cada individuo en campo, datos a partir de los cuales se clasificaron los organismos como sanos o lesionados de acuerdo a Labrada-Martagón y colaboradores (2010a) (Tabla III).

Tabla III. Clasificación empleada para definir la apariencia física de la tortuga negra (*Chelonia agassizii*) modificada a partir de Labrada-Martagón *et al.*, (2010a).

apariciencia física	
Sanas	Ausencia de enfermedad aparente
Lesionadas	Balanos, lesiones o heridas recientes externas en piel o caparazón, amputaciones, ectoparásitos y síntomas de enfermedad como desnutrición, marcas de red o piel despegada.
Sin dato	La tortuga marina no fue revisada visualmente.

Los organismos fueron clasificados en dos grupos de acuerdo a la fecha de captura de cada individuo, con la intención de saber si existen diferencias entre los variables medidas durante la temporada de anidación. Se consideraron dos periodos dentro de la temporada de anidación, el primero denominado “máximo de anidaciones” que comprende los meses de octubre y noviembre y que corresponde al periodo en el que como se indica, se registra el número máximo de anidaciones de la tortuga negra en la zona (Alvarado y Delgado, 2005). El segundo periodo de nominado “invierno” se refiere a las capturas realizadas dentro de los meses de enero a marzo.

5.2. Condición corporal

La condición corporal de los individuos se estimó a partir de datos de peso y talla de todas las hembras capturadas por medio de dos índices, el índice relativo de condición corporal (*Krel*) propuesto por Labrada-Martagon y colaboradores (2010b) y el índice de condición corporal de Fulton (Ricker, 1975 en Nash *et al.*, 2006). El objetivo de estimar la condición corporal fue únicamente comparativo; Dichos índices fueron estimados como se explica a continuación.

5.2.1. Índice relativo de condición corporal (*Krel*).

Se obtuvieron los parámetros *a* y *b* de la ecuación de regresión lineal entre el peso (kg) y la talla (cm) de las tortugas negras agrupadas por el estado físico de los individuos (sanos y lesionados) y por periodo de captura (pico reproductivo e invierno).

El índice relativo de condición corporal (*Krel*) se calculó de acuerdo a Labrada-Martagón *et al.*, (2010b) a partir de la siguiente ecuación:

$$Krel = Peso/aLCC^b \quad [1]$$

Se estimó el índice de condición relativo promedio, la desviación estándar (DE) para el total de las hembras de las que se obtuvieron los datos necesarios (peso y talla) (*n*=36) y por grupos de estudio (estado físico de los individuos y periodo de muestreo). Para poder comparar los datos obtenidos en este estudio se utilizaron los datos de juveniles en distintos sitios de la península de Baja California (Labrada-Martagón *et al.*, 2010b)

5.2.2. Índice de condición corporal Fulton (*K*)

El índice de condición corporal de Fulton fue calculado multiplicando 100 por el peso del animal entre su longitud elevada al cubo (Ricker 1975 en Nash *et al.*, 2006).

La fórmula del índice de Fulton es la siguiente:

$$K = \frac{100 * peso}{(Longitud)^3}$$

Para definir el estado de salud de los organismos por medio del índice de Fulton estimado se utilizó el criterio propuesto Bjordal *et al.*, 2000 en Flint, 2009 en el cual estable el criterio para interpretar el valor del índice de condición estimado (tabla IV).

Tabla IV. Criterio para interpretar el valor del índice de Fulton

Valor del índice de condición	Interpretación
>1.20	Muy buena
1.11-1.20	Buena
1.00-1.10	Regular
<1.00	Pobre

5.3. Hematología

Los parámetros hematológicos se estimaron en el total de las hembras capturadas (n=41). Con la finalidad de calcular el número celular total, se realizó el conteo en fresco de eritrocitos y leucocitos con ayuda de un hemocitómetro y microscopio óptico (40x) de acuerdo a Muñoz (1997). Para lo cual se diluyo y tiñó 1µl de sangre fresca extraída de las tortugas marinas con solución de Natt Herrick (Natt y Herrick, 1952). El conteo diferencial de la serie blanca se realizó a partir de frotis sanguíneo. Durante el trabajo de campo se generaron por cada tortuga negra capturada cinco frotis sanguíneos por el método de extensión con sangre fresca (Benjamin, 1991). Estos fueron secados al aire y guardados. En el laboratorio los frotis sanguíneos fueron teñidos utilizando hemocolorante rápido de tres pasos (Marca Hycel, cat 548). La cuenta leucocitaria diferencial se realizó con un microscopio óptico (100x) contando 100 leucocitos por frotis, clasificando las células como linfocitos, heterófilos, eosinófilos, monocitos y basófilos de acuerdo a Work *et al.*, (1998). Se calcularon las proporciones celulares (%) y la razón heterófilos/linfocitos (H/L).

La determinación de la hemoglobina se realizó por medio de la técnica de cian metahemoglobina utilizando un analizador automatizado de parámetros hematológicos (Beckman Coulter AC.T Diff, Alemania).

El cálculo del hematocrito se obtuvo por el método del micro hematocrito de acuerdo a lo descrito por Cabrera (2008). Los valores Hemoglobina corpuscular media (MCH), concentración media de hemoglobina corpuscular (MCHC) y Volumen corpuscular medio (VCM), se obtuvieron por medio de fórmulas matemáticas derivadas a partir del cálculo del hematocrito:

1. Volumen corpuscular medio (VCM), expresado en fentolitros (fl):

$$VCM = \frac{\text{Hematocrito} * 10}{\text{num. de eritrocitos}}$$

2. Hemoglobina corpuscular media (HCM), expresada en picogramos (pg):

$$HCM = \frac{\text{hemoglobina} * 10}{\text{num. de eritrocitos}}$$

3. Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) expresada en gramos por decilitro (g/dl):

$$CHCM = \frac{\text{hemoglobina} * 100}{\text{hematocrito}}$$

5.4. Bioquímica sanguínea

Una vez que fueron obtenidas las muestra sanguínea (n=10) se mantuvieron en refrigeración hasta llegar al campamento donde fueron centrifugados (890 xg) para obtener el suero. Las muestras separadas fueron transferidas a microtúbulos (1.5 ml cryovials, Eppendorf), debidamente etiquetados y se mantuvieron congeladas hasta su procesamiento en el laboratorio. Los parámetros bioquímicos fueron cuantificados por medio de técnicas espectrofotométricas utilizando un aparato de

bioquímica clínica automatizado (Beckman Coulter Synchron PRO LX 20, Irlanda). Se midieron 22 parámetros bioquímicos entre los que se incluyeron la concentración de proteínas totales (TP), albumina, globulinas, la tasa albumina/globulinas (A/G), actividad de las enzimas aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), fosfatasa alcalina (ALP), lactato deshidrogenasa (LDH), Gama Glutamil Transpeptidasa (GGT), concentración de potasio (K), sodio (Na), cloro (Cl), calcio (Ca), glucosa, colesterol, triglicéridos, nitrógeno ureico, Urea, creatinina, ácido úrico, bilirrubinas totales y lípidos totales (tabla V).

Tabla IV. Parámetros bioquímicos evaluados en suero de tortugas negras (*Chelonia agassizii*) capturadas en la playa Colola, Michoacán.

	Parámetro bioquímico
Concentración proteínas	Proteínas totales (g/dL) Albúmina (g/dL) Globulina (g/dL) Razón Albúmina / Globulina (A/G)
Actividad enzimática	Gama glutamiltransferasa (GGT) (U/L) Aspartato aminotransferasa (AST) (U/L) Alanina aminotransferasa (ALT) (U/L) Fosfatasa alcalina (U/L)
Electrolitos	Sodio (Na) (mmol/L) Potasio (K) (mmol/L) Cloro (Cl) (mmol/L)
Productos de excreción	Ácido úrico (mg/dL) Creatinina (mg/dL) Urea
Lípidos	Colesterol (mg/dL) Triglicéridos (mg/dL) Lípidos totales (mg/dL)
Otros	Glucosa (mg/dL) Calcio (Ca) (mg/dL) Bilirrubina total

5.5. Análisis estadístico

Antes de realizar la estimación estadística de los datos obtenidos se determinó la normalidad de las variables estudiadas por medio de las pruebas .

Con los datos de los parámetros bioquímicos solo se pudieron obtener estimaciones sobre la media, desviación estándar y los rangos debido a que el número de muestras procesadas (n=10) fue insuficiente para realizar comparaciones estadísticas.

En cuanto al análisis para evaluar la condición corporal (n=36) y los parámetros hematológicos (n=41) se utilizó de la prueba paramétrica de t-Student para evaluar diferencias o posibles cambios entre los grupos de estudio (aparición física y periodo de muestreo) en los índices de condición corporal estimados (*Krel* e Índice de Fulton) y en la concentración de los 13 parámetros hematológicos determinados. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa Systat v.9, considerando los resultados como significativos cuando obtuvimos un valor $p \leq 0.05$

6. RESULTADOS

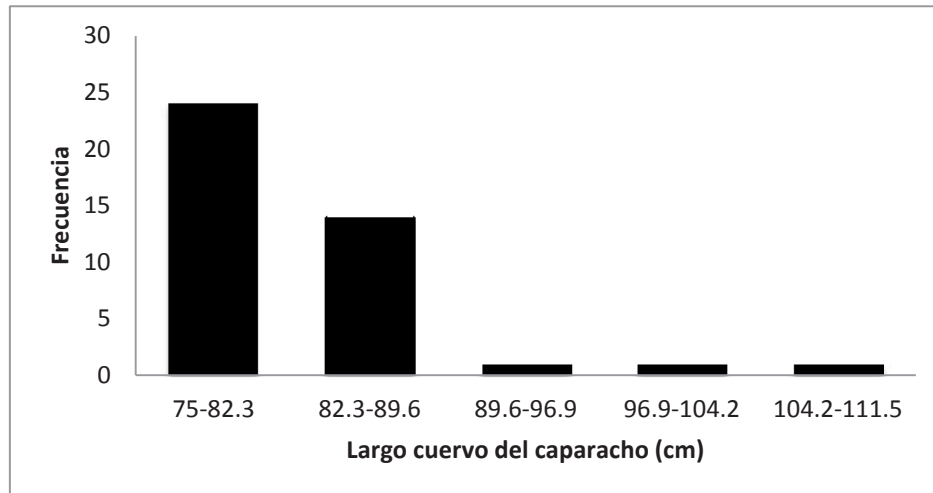
Se capturaron un total de 41 tortugas negras (*Chelonia agassizii*) en la playa de Colola. El rango de tallas de las tortugas capturadas fue de 75 a 111.5 cm LCC (Fig. 4a). El 92.7% del total de las tortugas capturadas presentaron tallas de entre 75 y 89.6 cm LCC. Los organismos más pequeños presentaron un intervalo de tallas entre 75 y 82.3 cm LCC, mientras que los organismos más grandes (2.4% de los animales) presentaron un rango de 104.2 a 111.5 cm LCC (Fig. 4a). El peso promedio de las tortugas capturadas (n= 36) fue de 64.8 ± 18.8 kg con un rango de 44 a 143 kg. El 91.7% de las tortugas que se registraron presentaron un peso entre 44 y 83.6 kg mientras que solo el 2.8% se encontró dentro de un intervalo de 123.2 a 143 kg (Fig. 4b). El 60.1% (n=25) de las hembras adultas de tortuga negra fueron muestreadas y liberadas entre 1.7 y 6.8 minutos después de su captura, mientras que en solo el 2.7% de las tortugas (n= 1) la manipulación y manejo de los animales tardó entre 24 y 30 minutos (Fig. 4c). El tiempo promedio de manejo y manipulación registrado fue de 8.02 ± 6.9 min y el rango de 1- 30 min (Fig. 4).

De acuerdo a su apariencia física, el 56% (n=20) de las 36 tortugas capturadas fueron clasificadas como lesionadas, mientras que el 44% (n=16) de los organismos fueron considerados dentro de la categoría de sanas, al no haber presentado ninguna lesión aparente. Las tortugas negras clasificadas como lesionadas presentaron al menos una de las características descritas en la tabla III referentes a dicho grupo, aunque, se debe señalar que algunos de los organismos (n= 15) presentaron más de una característica. La lesión más frecuente fueron las marcas de copula (43% de los organismos) seguido de los ectoparásitos localizados en el carapacho, senos cervicales y/o aletas (36%) (Fig. 5). El 13% de los individuos presentaron heridas recientes como el carapacho quebrado o lesiones en las aletas y el 7% de los especímenes presentaron características como marcas de red o piel despegada (Fig. 5). Es importante mencionar que en la inspección visual ninguno de los organismos capturados

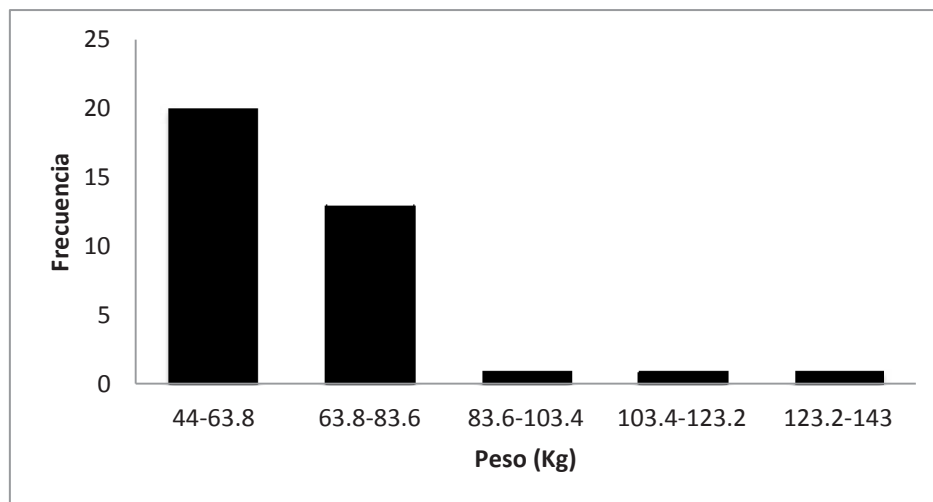
presentaron signos de enfermedad aparente como por ejemplo desnutrición o alguna otra señal que se refiriera a alguna enfermedad tal como el fibropapiloma.

Durante el periodo de máxima anidación (octubre y noviembre) el 70% de las tortugas capturadas se clasificaron como sanas y el 30% como lesionadas; al contrario de lo registrado para el periodo de invierno donde la mayoría de los organismos (70%) presentaron por lo menos alguna característica que permitió colocarla dentro de la categoría de lesionadas y únicamente dos organismos se clasificaron como sanos (30%) (Fig.6).

a)



b)



c)

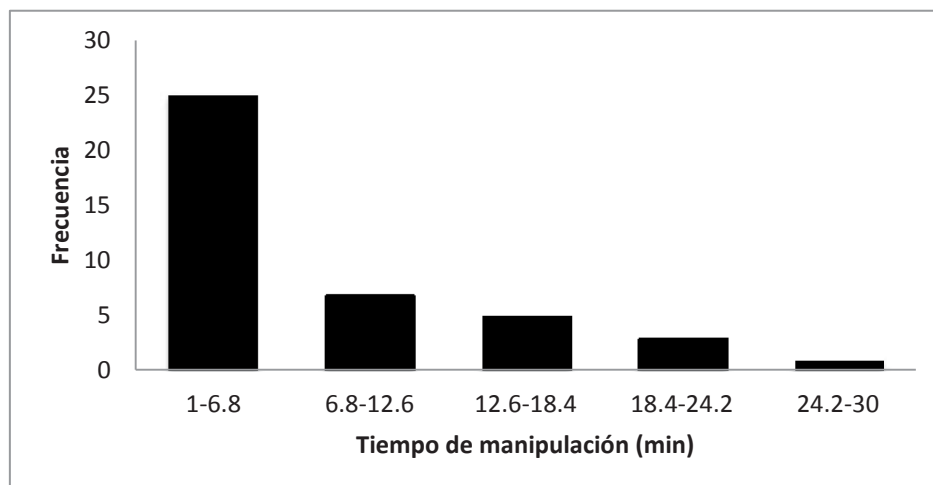


Figura 4. Frecuencia de organismos de tortuga negra (*Chelonia agassizii*) capturadas en la playa Colola, Michoacán por a) intervalos de talla b) peso y c) tiempo de manipulación.

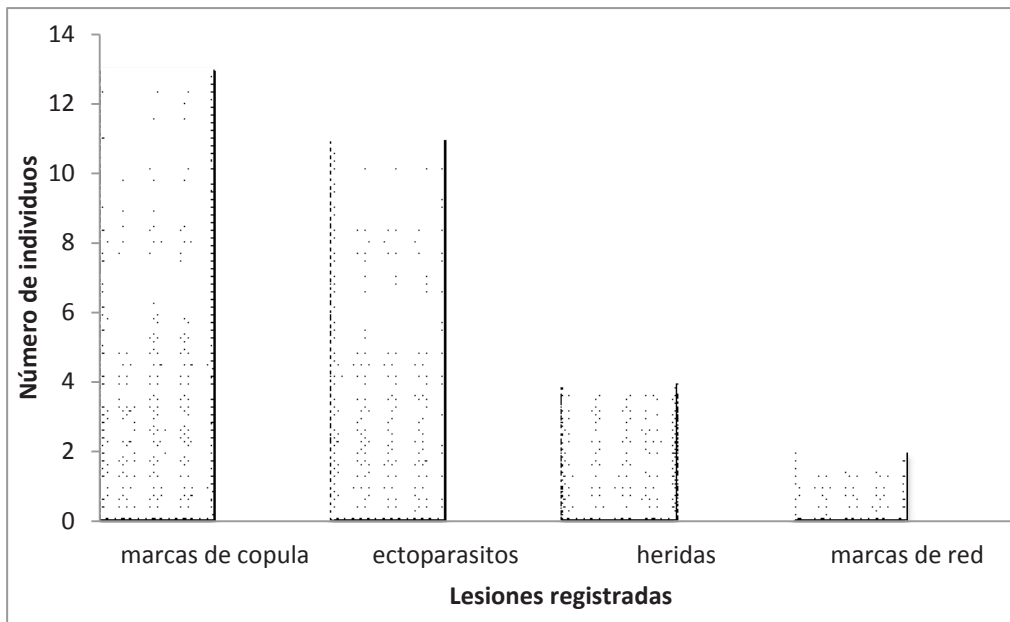


Figura 5. Lesiones registradas en los organismos de tortuga negra (*Chelonia agassizii*) capturadas en la playa de Colola, Michoacán.

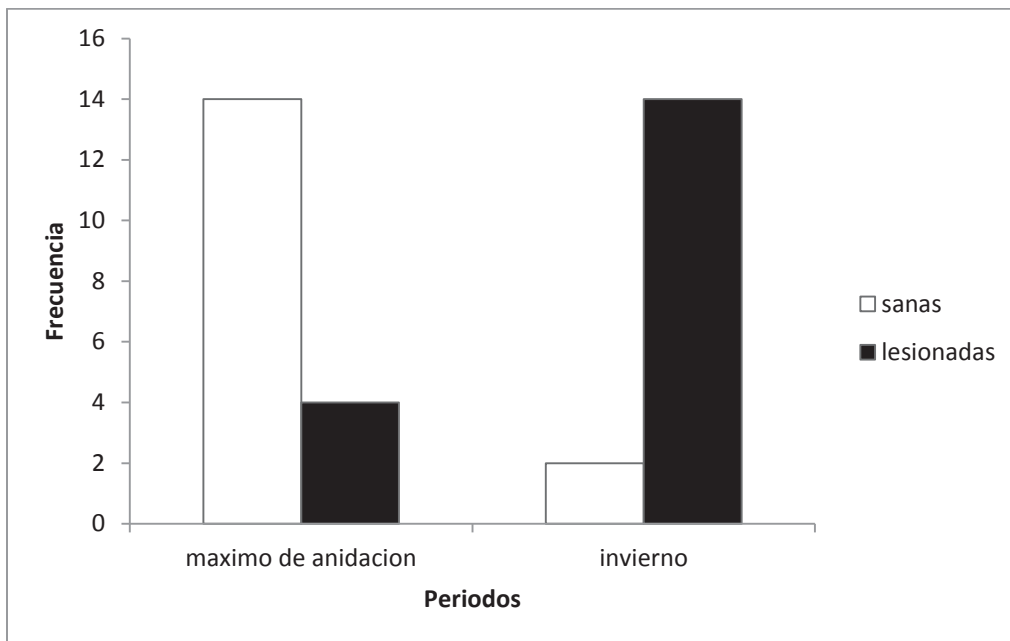


Figura 6. Frecuencia de tortugas negras (*Chelonia agassizii*) capturadas en la playa Colola, Michoacán por periodos de muestreo y apariencia física.

6.1. Índice relativo de condición corporal *Krel*

Los valores promedio de condición corporal estimados por medio del índice relativo (*Krel*) por apariencia física de los animales se presentan en la tabla VI. Se presenta el índice relativo de condición corporal (*Krel*) de todas las hembras capturadas en este estudio, junto a los valores de *Krel* estimados en juveniles de tortuga negra capturados en la península de Baja California Sur (Labrada-Martagón *et al.*, 2010b) (Fig. 7) Las hembras adultas de Michoacán presentaron mayor tamaño, mayor peso y valores de *Krel* más altos en comparación con los valores de *Krel* estimados en los juveniles de la península de Baja California.

Cuando se consideraron a todas las hembras capturadas en general no se encontraron diferencias significativas en la condición corporal *Krel* de las tortugas sanas y lesionadas ($t_{0.05,(2),34}=0.682$ $p>0.05$) (Fig. 8). Tampoco se encontraron diferencias significativas en la condición corporal *Krel* de las tortugas capturadas durante los diferentes periodos, el periodo de máxima anidación con respecto de las capturadas en invierno ($t=1.855$ $p>0.05$) (Fig. 9).

Al evaluar las diferencias de *Krel* durante la temporada de anidación de las tortugas que se capturaron durante el periodo de máxima anidación entre grupos por apariencia física, no observamos diferencia significativa entre sanas y lesionadas (Fig. 10), mientras que en el periodo invierno el *Krel* de las sanas y lesionadas si mostro diferencia significativa entre los grupos, en las tortugas negras lesionadas se registro un *Krel* mayor en comparación con las sanas ($t_{0.05,(2),4.9}=2.666$ $p<0.05$) (Fig. 11). Es importante mencionar que durante el invierno 62% del total de las tortugas capturadas registraron marcas de copula como característica predominante seguido de la presencia de balanos en el carapacho y solo en uno de los individuos se registraron lesiones por redes. En general observamos que las tortugas negras lesionadas que anidaron en el periodo de invierno presentan mejor condición corporal en comparación de las clasificadas como sanas.

Tabla VI. Índice relativo de condición corporal (*Krel*) e índice de condición corporal Fulton de tortuga negra (*Chelonia agassizii*) estimado para todas las hembras en general, sanas y lesionadas anidantes en la playa de Colola, Michoacán.

	<i>Krel</i> (media ± DE)	Fulton (media ± DE)	n
Todas las hembras	0.019±0.003	1.131±0.163	36
Sanas	0.018±0.002	1.103±0.128	16
Lesionadas	0.019±0.002	1.154 ±0.187	20

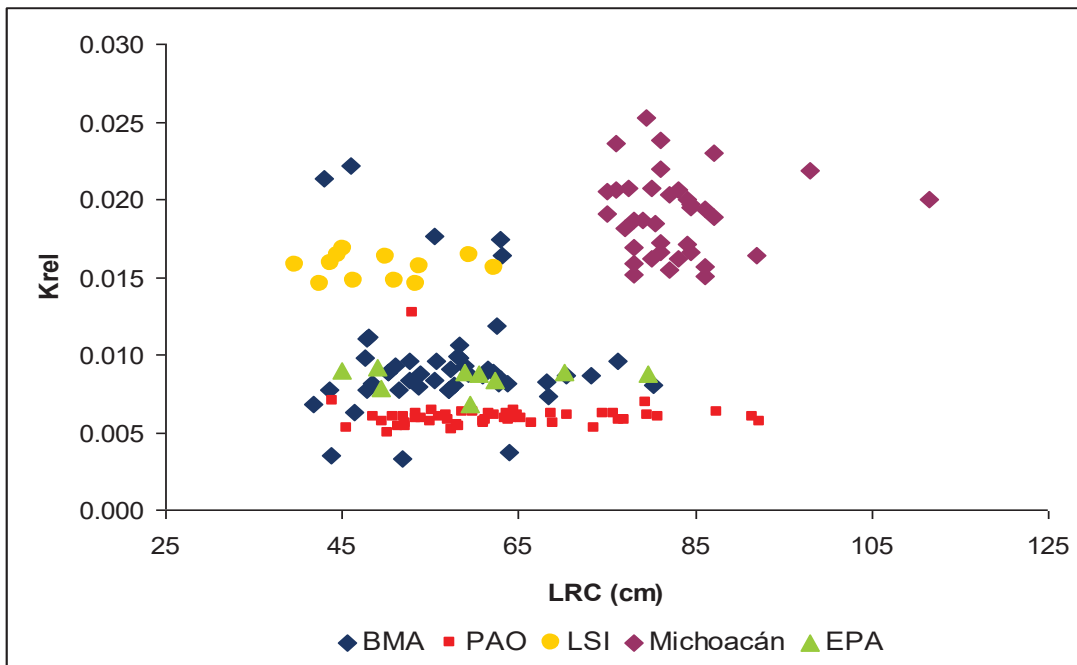


Figura 7. Condición corporal (*Krel*) tortugas negras (*Chelonia mydas agassizii*) juveniles capturadas en la costa occidental de la Península de Baja California Sur y hembras adultas capturadas en la Playa de Colola, Michoacán. BMA=Bahía Magdalena; PAO=Punta Abreojos; LSI=Laguna San Ignacio; EPA=El Pardito. Datos de juveniles tomados de Labrada-Martagón y colaboradores (2010b).

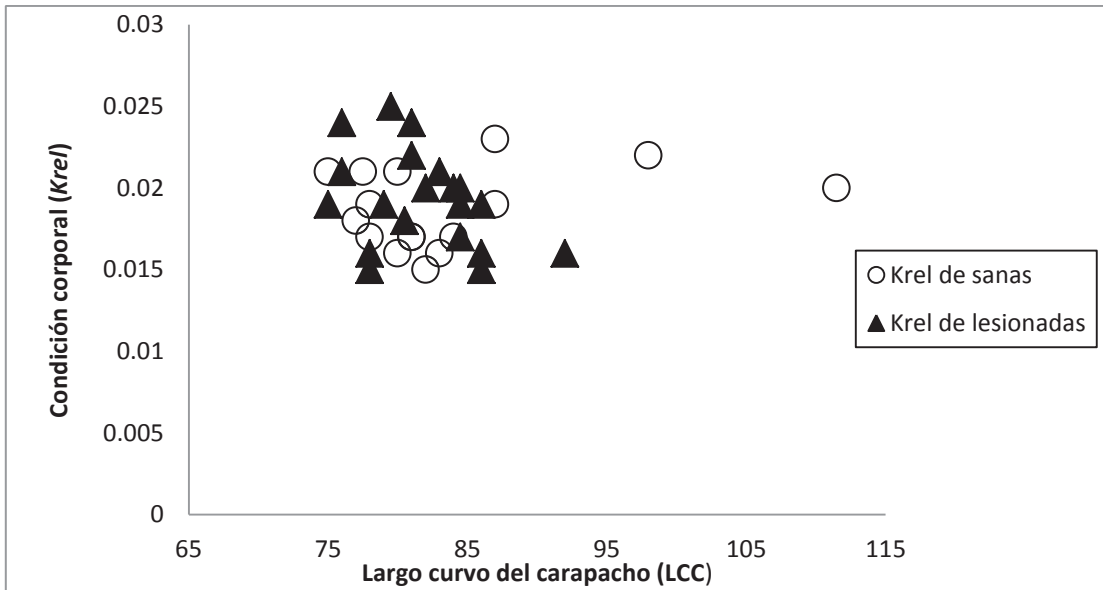


Figura 8. Relación entre el índice relativo de condición corporal (*Krel*) y la talla (LCC) de tortugas negras (*Chelonia agassizii*) capturadas en la Playa de Colola clasificadas por apariencia física (sanas y lesionadas).

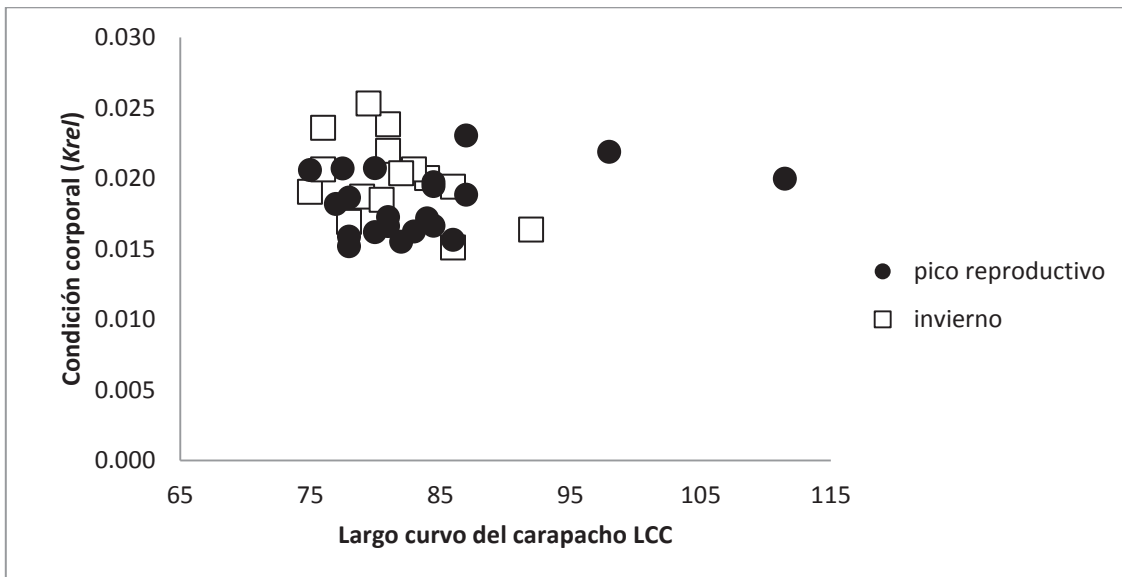


Figura 9. Relación entre el índice relativo de condición corporal (*Krel*) y la talla (LCC) de hembras adultas de tortuga negra (*Chelonia agassizii*) capturadas en la Playa de Colola por periodo de captura.

6.2. Índice de condición Fulton

Los valores promedio de la condición corporal estimada por medio del índice de Fulton se muestran en la tabla VI., Al comparar los valores obtenidos por apariencia física (sanas y lesionadas) de los animales, se encontró que las tortugas tuvieron una condición corporal buena, debido a que la mayoría de las tortugas presentaron un índice de condición mayor a 1.11 de acuerdo a Flint, (2009). Considerando a todas las hembras capturadas, no se encontraron diferencias significativas en el índice de condición corporal de Fulton entre las tortugas sanas y lesionadas ($t_{0.05,(2),34}= 0.682$ $p>0.05$) (Fig.12).

Al evaluar diferencias en la condición corporal de las tortugas durante los diferentes periodos de muestreo, se encontró la existencia de diferencias significativas en la condición corporal de los animales que se capturaron durante el periodo de máxima anidación y los que fueron capturados durante el invierno ($t_{0.05,(2),27.1}=2.181$ $p<0.05$) (Fig. 13), siendo las tortugas capturadas en el periodo de invierno las que resultaron tener mejor condición. Las tortugas que se capturaron en el periodo de máxima anidación no mostraron diferencias significativas entre los grupos sanas y lesionadas ($t_{0.05,(2),11.9}=-1.600$ $p>0.05$).El mismo resultado se observó para el periodo de invierno, en donde la condición corporal de las tortugas sanas y lesionadas tampoco mostraron diferencias significativas ($t_{0.05,(2),4.9}=2.151$ $p>0.05$).

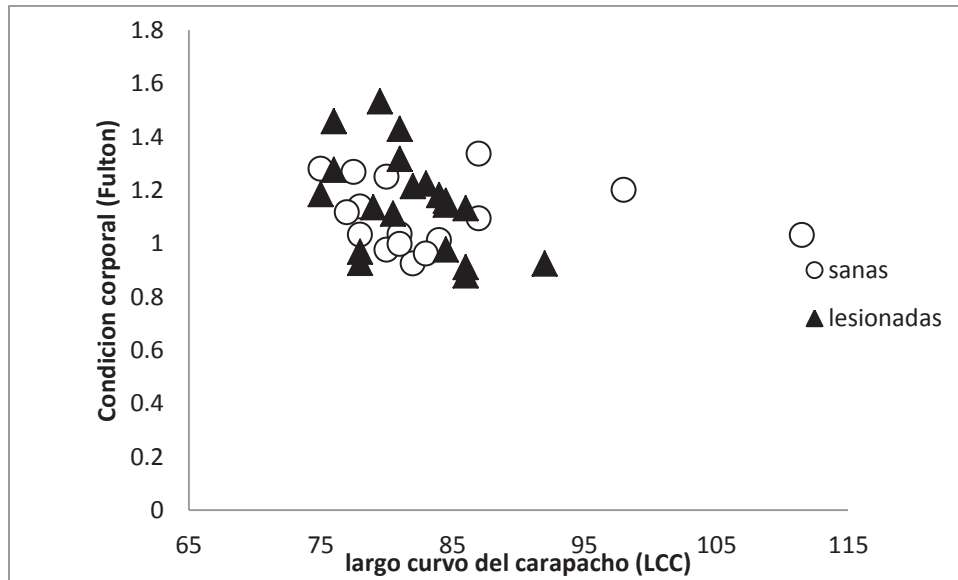


Figura 12. Relación entre el índice de condición corporal de Fulton y la talla (LCC) de tortugas negras (*Chelonia agassizii*) capturadas en la Playa de Colola, Michoacán, clasificadas por apariencia física (sanas y lesionadas).

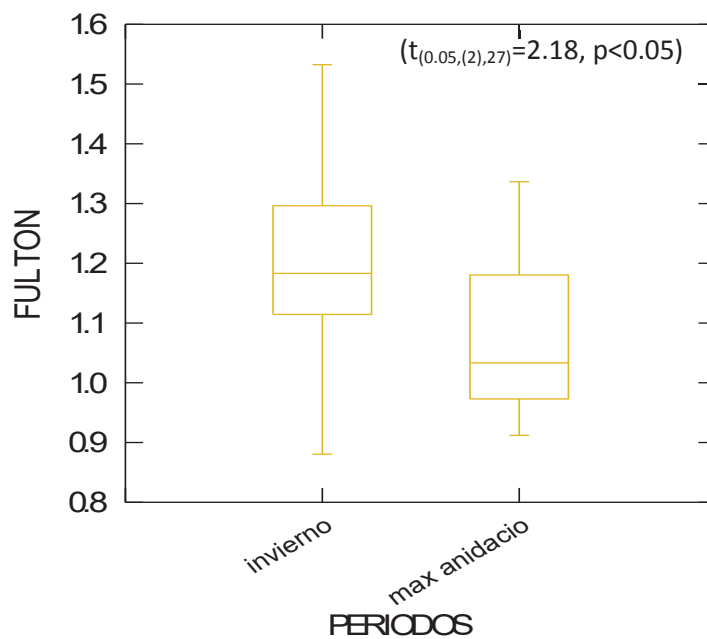


Figura 13. Índice de condición corporal Fulton de la tortuga negra (*Chelonia agassizii*) por periodos de captura.

6.3. Hematología

Se presenta el valor promedio, error estándar y los rangos obtenidos para el peso, el LCC y el tiempo de manipulación, así como los 13 parámetros hematológicos medidos en 41 tortugas negras que anidaron en la playa de Colola durante el periodo 2010-2012, (Tabla VII).

Al determinar que tan diferentes se encontraban los 13 parámetros de todas las hembras capturadas por su apariencia física se encontró que la proporción de heterofilos en las tortugas clasificadas como lesionadas fue mayor en comparación con las sanas ($t_{0.05, (2), 39.8} = 3.534$ $p < 0.05$) (Fig. 16a), mientras que los monocitos se encontraron en mayor proporción en las tortugas sanas ($t_{0.05, (2), 24.1} = -2.311$ $p < 0.05$) (Fig. 16b). La razón H/L fue significativamente mayor en las tortugas lesionadas ($t_{0.05, (2), 27.7} = 2.450$ $p < 0.05$) (Fig. 16c).

Al evaluar diferencias entre los distintos periodos de muestreo, de los 13 parámetros determinados para el total de hembras capturadas, únicamente presentaron diferencias significativas la proporción de heterofilos, la cual fue menor durante el periodo de máxima anidación comparados con el periodo de invierno ($t_{0.05, (2), 38.6} = 2.037$ $p < 0.05$) (Fig. 17a). Por el contrario los monocitos se presentaron en mayor porcentaje durante el periodo de máxima anidación ($t_{0.05, (2), 27.7} = -2.200$ $p < 0.05$) (Fig. 17b).

Considerando solamente el periodo de máxima anidación, ninguno de los parámetros medidos presentó diferencia significativa entre individuos sanos y lesionados ($p > 0.05$). Al determinar que tan diferentes eran los parámetros durante el periodo de invierno por la apariencia física no se presentó diferencia entre ninguno de los parámetros de las tortugas lesionadas en comparación de las sanas ($p > 0.05$).

Se identificaron 5 tipos de leucocitos: heterófilos, eosinófilos, linfocitos, monocitos y basófilos (Fig. 14), con características similares a las que ya han sido reportadas por otros autores en *Chelonia mydas* y en otras especies de tortuga marina. Los

leucocitos de mayor abundancia presentes en este estudio fueron los linfocitos, mientras que los basófilos fueron los leucocitos menos frecuentes con un promedio de 0.79 ± 1.59 % (n=41). Durante el conteo diferencial se observaron restos nucleares de eritrocitos en el 8% de los individuos que anidaron (Fig. 15).

Tabla VII. Parámetros hematológicos de hembras anidantes de tortuga negra capturadas en la playa de Colola, Michoacán.

Parámetro	Media	±SD	Min-Max	n
T (min)	8.02	6.9	1 - 30	41
LCC (cm)	82.8	6.5	75-111.5	41
Peso (Kg)	64.75	18.8	44-143	36
Hto (%)	28.92	3.0	14-33	41
RBC (10^6/mL)	3.8	1.6	1.65-10.9	41
HGB (10^3/g/dL)	9.08	1.0	4.7-11	41
MCV (fL)	85.02	28.95	30-72	41
MCH (pg)	26.73	9.0	8.82-48.48	41
MCHC (g/dL)	31.46	2.4	25-39.28	41
WBC (10^3/mL)	2.8	1.8	0.5-10.2	41
Heterófilos (%)	38.31	13.6	14-80	41
Linfocitos (%)	47.56	13.8	17-76	41
Eosinofilos (%)	3.87	4.3	0-25	41
Monocitos (%)	9.68	8.2	0-40	41
Basófilos (%)	0.79	1.5	0-8	41
H/L	.99	0.84	0.18-4.7	41

Abreviaturas: T, Tiempo; min, Minutos; LCC, Largo curvo del carapacho; Hto, Hematocrito; RBC, Conteo total de eritrocitos; HGB, Hemoglobina; MCV Volumen corpuscular medio; MCH, Hemoglobina corpuscular media; MCHC, Concentración media de hemoglobina corpuscular; WBC, conteo total de leucocitos; H/L, razón Heterófilos/Linfocitos.

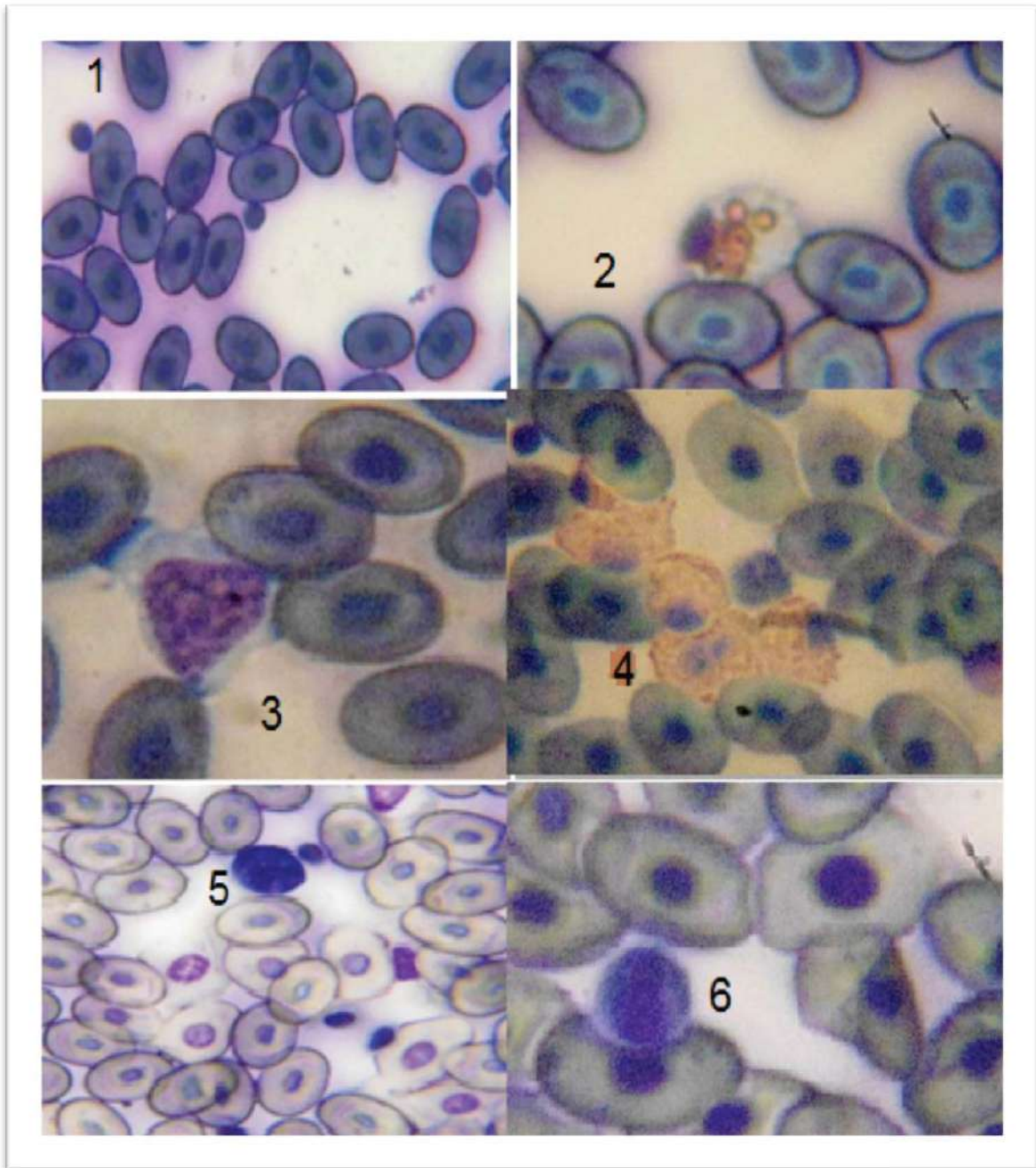


Figura 14. Leucocitos observados en hembras reproductoras de tortuga negra (*Chelonia agassizii*) capturadas en la playa de Colola, Michoacán de acuerdo a Work *et al.*, (1998). Tinción Hycel, lente 100X. 1= Linfocitos; 2=eosinófilo; 3=monocito; 4= heterófilos; 5 y 6= basófilos.

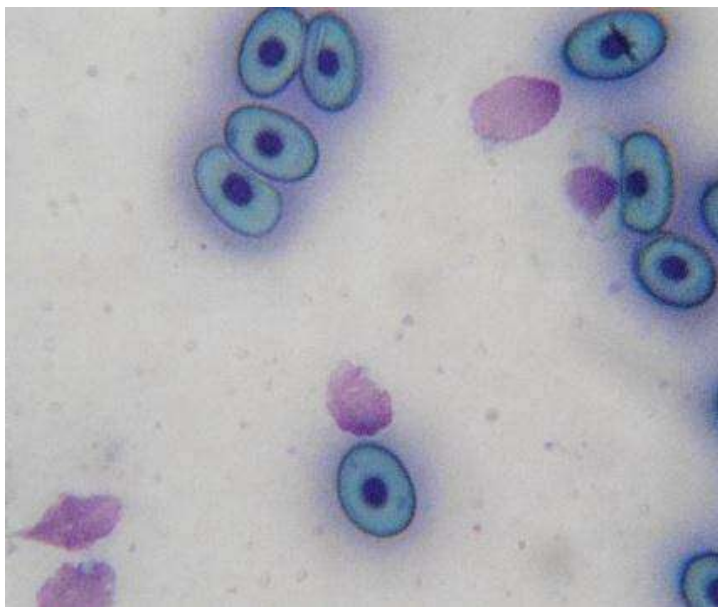


Figura 15. Deshecho nuclear de eritrocitos observados en hembras reproductoras de tortuga negra (*Chelonia agassizii*) capturadas en la playa de Colola, Michoacán teñidos con tinción Hycel, observados con lente de 100X.

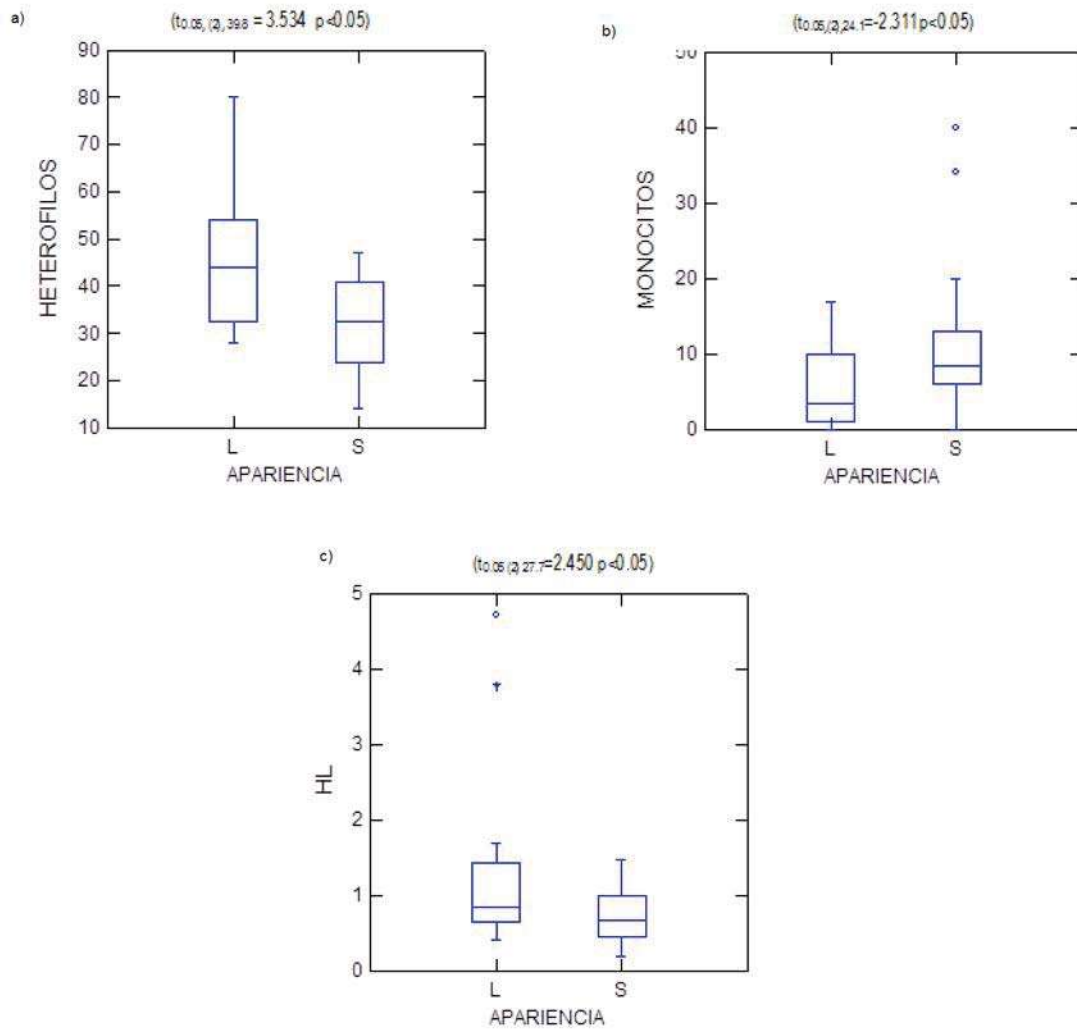


Figura 16. Proporción leucocitaria de hembras de tortuga negra (*Chelonia agassizii*) capturadas en la playa de Colola, Michoacán de acuerdo a su apariencia física. L=lesionadas; S=sanas.

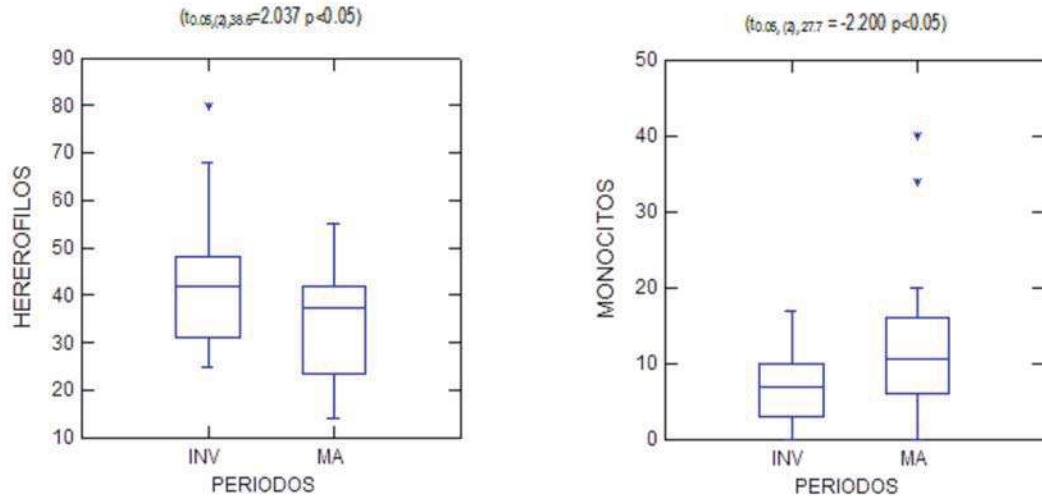


Figura 17. Proporción leucocitaria de hembras de tortuga negra (*Chelonia agassizii*) capturadas en la playa de Colola, Michoacán por periodos de captura. Inv= invierno; MA=Máxima anidación.

6.4. Bioquímica sanguínea

La bioquímica sanguínea se evaluó en un total de 10 muestras de las 41 hembras reproductoras capturadas en la playa de Colola Michoacán (tabla VIII). El 100% de estas muestras fueron tomadas en un tiempo promedio de 11 minutos desde el momento de la captura hasta el momento de tomar la muestra sanguínea. El 50% (n=5) de dichas muestras corresponden a hembras que se clasificaron por apariencia física como lesionadas y el 50% restante a tortugas marinas sanas. Independiente mente de esta clasificación. Todos los organismos se agruparon para presentar la tabla con los valores bioquímicos, debido al tamaño reducido de muestra.

TABLA VIII. Parámetros de química sanguínea de hembras de tortuga negra que anidaron en la Playa de Colola Michoacán.

Parámetro	Promedio	±DE	RANGO
PT (g/dL)	3.5	0.84	1.8-4.4
Albúmina (g/dL)	0.96	0.14	0.7-1.1
Globulina (g/dL)	2.63	0.74	1-3.3
A/G (g/dL)	0.41	0.15	0.3-0.8
GGT (U/L)	6.11	0.90	5-7.5
AST (U/L)	148.4	35.7	102-190
ALT (U/L)	11.4	3.62	4-15
LDH (U/L)	101.2	33.05	48-55
ALP (U/L)	27.41	22.85	22-82.5
Na (mmol/L)	139.31	6.98	128.6-151.7
K (mmol/L)	4.01	0.58	3.4-4.9
Cl (mmol/L)	99	5.50	90.1-106.7
Ca (mg/dL)	11.4	2.15	6.5-13.9
Ácido úrico (mg/dL)	1.06	0.20	0.8-1.5
Creatinina (mg/dL)	0.13	0.08	0-0.2
Nitrógeno ureico mg/dl	2.68	2.40	0.5-6.9
Urea mg/dl	5.68	5.00	1.1-14.8
Colesterol (mg/dL)	314.7	117.00	159-507
Triglicéridos (mg/dL)	555.9	128.85	364-839
LT(mg/dL)	1477.2	463.90	941.4-2327.4
Glucosa (mg/dL)	83.7	9.91	73-104
Bilirrubina total (mg/dl)	0.11	0.05	0-0.2

Abreviaturas: PT, Proteínas totales; A/G; g/dl, gramo/decilitro; A/G Razón Albúmina / Globulina, GGT, Gama glutamiltransferasa; U/L, unidades sobre litro; AST, Aspartato aminotransferasa; ALT, Alanina aminotransferasa; LDH, Deshidrogenasa láctica; ALP, Fosfatasa alcalina; mmol/L, milimol/LitroNa, Sodio; K, Potasio; Cl, Cloro; Ca, Calcio; mg/dL, LT, Lípidos totales; mg/dl, miligramo sobre decilitro.

7. DISCUSION

Al referirnos a la salud de especies en peligro de extinción sin duda debemos hablar de medicina de la conservación, la cual se define como la aplicación de la medicina para la conservación de los ecosistemas y de las especies silvestres (Deem *et al.*, 2001) se sabe que las enfermedades son consideradas como la principal causa de mortalidad en todas las especies de fauna silvestre (Van Riper, 1986 y Combes, 1996) y que los cambios de origen humano en los ecosistemas naturales, el desarrollo de la agricultura y la ganadería, el calentamiento global, el sostenido aumento de la población mundial y el estrecho contacto que existe entre los seres humanos y los animales silvestres y domésticos son las principales causas de su aparición (Aguirre *et al.*, 2002, Smolinski *et al.*, 2003, Daszak *et al.*, 2004, Pearce-Duvel, 2006, Wobeser, 2006).

La mayoría de las enfermedades de las tortugas marinas están presentes tanto en organismos de vida libre como en cautiverio, sin embargo aún no han sido descritas; se sabe que pueden deberse a problemas nutricionales y metabólicos (Glazebrook y Campbell, 1990). Para diagnosticar el estado de salud de las especies es necesaria, la determinación y evaluación de los parámetros hematológicos y bioquímicos ya que tiene relevancia tanto para el trabajo clínico veterinario y por los aportes que puede dar a la conservación (Harper y Lowell, 1998; Flammer, 2004). Al conocer los parámetros normales de las especies se puede valorar cuales de estos rangos pueden estar alterados, facilitando el manejo y conservación de la especie. Por ejemplo, a medida que las poblaciones de tortuga marina y los ecosistemas marinos son intensamente manejados, el potencial de impactar con enfermedades se hace más evidente por lo que el monitoreo de salud puede ser una parte importante del manejo general de las especies, de tal manera que enfermedades potencialmente devastadoras puedan ser descubiertas antes de que amenacen los esfuerzos de conservación o que enfermedades que ya estén presentes puedan ser monitoreadas y controladas (Herbst, 2000). Otra herramienta que puede ser útil y practica en el diagnostico de salud la determinación de la condición corporal mediante los índices de

condición corporal de las tortugas marinas a través de datos de peso y talla (Labrada-Maragon *et al.*, 2010a).

En este estudio se presenta por primera vez el análisis y obtención de condición corporal, la determinación de 13 parámetros hematológicos y 22 parámetros de bioquímica clínica de hembras anidantes de tortuga negra en la playa de Colola Michoacán de acuerdo a su apariencia física y a la época de captura, datos que podrán ser utilizados como parámetros de referencia en futuras evaluaciones de salud dentro de la zona.

Las tallas (LCC) registradas en este estudio están dentro con los rangos reportado por Delgado (2003) (60-110 cm LCC, n=1500) mientras que los datos de peso no pudieron ser comparados con pesos previos para tortugas anidantes en la playa de Colola ya que no existen.

De acuerdo a la clasificación por periodos durante el periodo de máxima anidación se registro el 70% de tortugas sanas y 30% de tortugas lesionadas, mientras que se registro exactamente lo contrario durante el periodo de invierno donde el 70% correspondió a tortugas lesionadas y 30% restante a tortugas sanas diferencia que podría deberse al proceso reproducción, anidación y frecuencia de nidada fases que ocurren en la temporada de anidación, se menciona esto ya que las lesiones que se registraron en este trabajo principalmente son marcas de cópula. Es decir, el periodo reproductivo comienza en los meses de agosto con el arribo de machos y hembras a las playas para reproducirse el periodo de anidación abarca los meses de agosto a marzo, mientras que el pico o máximo de anidaciones ocurre en los meses de octubre y noviembre (Alvarado y Delgado 2003). Es probable que las tortugas que se muestrearon en el periodo de máxima anidación (octubre-noviembre) tuvieran poco tiempo en el área, se sabe que durante el tiempo de su estancia cerca de la playa tienen apareamientos con los machos, Alvarado y Figueroa (1990) y Rostal *et al.*, (1991) reportan apareamientos múltiples durante la temporada de anidamiento en Michoacán, y es probable que las hembras en este periodo de muestreo aun no mostraban

evidencias de apareamiento, a diferencia del muestreo efectuado en enero. Con base en la frecuencia de nidada estimada, Alvarado *et al.*, 2003 calcularon un promedio de 3.1 nidos por temporada para la tortuga negra en Michoacán y un intervalo de 12 días entre cada nidada: Si la mayoría de las tortugas llega a durante los meses de octubre y noviembre entonces estarían realizando sus anidaciones en los meses subsecuentes (diciembre y enero) y abrían tenido ya mayor numero de intentos de copula aumentado las lesiones en las tortugas que se muestrearon en el mes de enero.

El 43% del grupo muestra presento marcas de copula, que son marcas producidas por los machos en los intentos de aparearse ya que se anclan a las hembras con sus uñas de las aletas anteriores lesionando a la hembra en el caparazón aletas y cuello, el 36% de los ectoparásitos encontrados fueron sanguijuelas de la especie localizadas principalmente en el cuello y los balanos encontrados carapacho y aletas. Sarti y Lopez (1992) registraron 67.2% de cirrípedos en tortugas golfinas en las costas de Michoacán, siendo las áreas mas afectadas el caparazón, aletas, cabeza y cuello; el 13% presentaron heridas (carapacho quebrado o lesiones en las aletas), mientras que el 7% especímenes presentaron características como marcas de red o piel despegada.

7.1. Condición corporal

Un objetivo fundamental de la biología de la conservación es garantizar la supervivencia a largo plazo de las especies (Meffe y Carroll, 1997; Hunter 2001; Primack 2006). En la actualidad se sabe que las poblaciones que están aisladas o que el número de sus individuos se ve disminuido se encuentran en riesgo inmediato de extinción, además de que pueden verse afectadas por las actividades humanas (Soule´ y Orians, 2001). Para lograr cambios que ayuden al restablecimiento poblacional es importante considerar que una población prospera o decae en base a la salud de los individuos que la conforman (Stevenson y Woods, 2006).

El término condición corporal se refiere al estado energético y a las reservas de energía del animal, se asume que un animal con buena condición corporal tiene mayores reservas energéticas que un animal con una condición pobre (Harder y Kiripatric, 1996 en Copeland, 2004). Así pues el éxito reproductivo, la supervivencia y la dinámica poblacional dependen de la condición corporal de los organismos (Jones *et al.*, 1990; Stevenson y Woods, 2006)

Este es el primer trabajo donde se presenta la evaluación de la condición corporal de la tortuga negra que anida en la playa de Colola en el estado de Michoacán utilizando el índice relativo de condición corporal (*Krel*), se reporta buena condición en las hembras que anidan en la playa de Colola. La mayor parte de los organismos muestreados presentaron mayor a la condición estimada por Labrada-Martagon *et al.*, 2010a en tortugas juveniles capturadas en la Península de Baja California con tallas entre 40-85 cm LRC. Aunque la mayoría de los organismos mostraron mayor condición es importante mencionar que a pesar del mayor tamaño de las hembras adultas en comparación con el tamaño reducido de los juveniles existieron organismos adultos que presentaron igual condición a la reportada en la Península de Baja California (Labrada-Martagon *et al.*, 2010a), se sabe que las costas de la península de Baja California Sur, son sitios importantes de alimentación para los juveniles de tortuga negra (Marquez, 1990) la mayor abundancia de alimentos que existe en estos sitios sin duda puede conducir a una mejor condición corporal de los individuos (Seminoff *et al.*, 2003) además de que a comparación de los adultos que presentan una dieta herbívora los juveniles tienen una dieta omnívora (Santos, 2008) que puede estar influyendo en un mayor aporte energético traducido en mejor condición corporal, ya que se sabe que el crecimiento de en tortugas marinas es mucho mas rápido en juveniles que en los adultos aunque estos últimos siguen creciendo durante toda su vida el crecimiento se reduce enormemente (Marquez, 1990).

Aunque que los organismos que gocen de mejor condición corporal tienen mas posibilidades de sobrevivir a largos viajes migratorios a consecuencia de la grasa corporal que han acumulado (Merila y Stevenson, 1997), se sabe que las tortugas

negras que anidan en Michoacán encuentran sus sitios de alimentación en los mares de México y centro América (Alvarado y Figueroa, 1990) sería posible que la baja de condición encontrada en algunos organismos este relacionado con el esfuerzo y la energía gastada durante el viaje migratoria hasta su área de anidación.

Al comparar la condición corporal *Krel* de las tortugas sanas y lesionadas no se observo diferencia, coincidiendo con los reportes realizados en el Golfo de California (Sminoff *et al.*, 2003) los resultados de esta investigación difieren de lo reportado en juveniles de Bahía Magdalena y Punta Abreojos en la Península de Baja California (Labrada-Martagón *et al.*, 2010a). Estudios han demostrado que los individuos con mejor condición corpórea disfrutar de una mayor éxito en el apareamiento (Cotton *et al.*, 2006) probablemente estos resultados son debido a la clasificación utilizada en esta investigación por apariencia física (Labrada-Martagón *et al.*, 2010) tal vez no fue la mas adecuada para la evaluación de la condición corporal en adultos anidantes de tortuga negra que en general los organismos tienen buena condición pero las lesiones que el 43% de la muestra presento son marcas de copula hechas por el macho con las uñas curvadas de las aletas anteriores (Márquez, 1990) y no de enfermedad aparente como por ejemplo la fibropapilomatosis (Aguirre *et al.*, 2005). Debido a que en esta clasificación no se considera las lesiones de copula, tomando en cuenta que no son indicadores precisamente de enfermedad sería interesante tener una clasificación que considera estas situaciones para futura investigaciones en adultos reproductores.

Las tortugas marinas capturadas presentaron un factor de condición similar durante el invierno en comparación con el periodo de máxima anidación. Tal similitud durante la temporada de anidación en la condición corporal de las tortugas difiere de lo reportado previamente en la península de Baja California donde las tortugas presentaron menor condición durante el invierno (Labrada-Martagón *et al.*, 2010a) específicamente para las lagunas costeras los cambios de condición durante estaciones son a consecuencia de los cambios en la

temperatura y la disponibilidad de alimento (Koch *et al.*, 2003). El no presentar esta diferencia en condición durante los periodos establecidos puede deberse al poco tiempo que paso entre el establecimiento de un periodo y otro, por lo cual seria recomendable que en futuras evaluaciones se evalué la condición corporal en distintas épocas del año (estaciones) de acuerdo a Labrada-Martagón *et al.*, 2010b.

Al evaluar el *Krel* del periodo de máxima anidación entre grupos por apariencia física, no observamos diferencia significativa entre sanas y lesionadas no coincidiendo con lo reportado anteriormente (Labrada *et al.*, 2010a y Koch *et al.*, 2007) quienes reportan diferencias estacionales que atribuyen a cambios de temperatura del agua y a la disponibilidad de alimento. Mientras que para el periodo de invierno en las tortugas lesionadas registraron un *Krel* mayor en comparación con las sanas, resultados que difieren de lo reportado anteriormente en juveniles en las zonas de alimentación al norte del país.

Durante la evaluación del índice de condición Fulton en general se reporto buena condición en los ejemplares de tortuga capturados durante el estudio coincidiendo con lo reportado para tortugas juveniles de la Península y el Golfo de California (Seminoff *et al.*, 2003; Koch *et al.*, 2007; Labrada *et al.*, 2010a) de acuerdo a lo obtenido es posible pensar que las tortuga negras que anidan en las costas de Michoacán están en buen estado de salud.

7.2. Parámetros hematológicos

Uno de los primeros sistemas que deben ser examinados durante la evaluación del estado de salud es el sanguíneo, ya que cumple importantes funciones como el transporte de gases, nutrientes y eliminación de los desechos metabólicos que resultan de dichos procesos por distintas vías del organismo (Koolman y Röhm, 2004).

El procedimiento para realizar un hemograma consiste en el conteo total de eritrocitos y leucocitos en una muestra de sangre en fresco y un conteo diferencial de leucocitos en frotis sanguíneo. Las dos estimaciones en conjunto permiten

inferir estrés agudo (por enfermedad) o estrés crónico (continuo) en los animales. Los conteos diferenciales permiten identificar procesos inflamatorios o infecciosos (bacterias y virus), parásitos y alergias (Doxey, 1987).

Las células principales de defensa del sistema inmunitario son los leucocitos o células blancas (Rodak, 2005). Los leucocitos incluyen varios tipos de células con funciones diferentes entre sí, como los granulocitos, caracterizados por sus gránulos intra citoplasmáticos. Entre ellos se encuentran los heterofilos, los basófilos y los eosinofilos. Siendo los heterofilos responsables de la fagocitosis (destrucción) por lo tanto están asociados con las enfermedades inflamatorias o lesiones de tejido. Los basófilos poseen la capacidad de inmunidad, mientras que los eosinofilos participan en la respuesta inmune y cumplen funciones de fagocitar. Los linfocitos se encargan de la producción de anticuerpos y atacan material extraño. Los monocitos, son producidos en el bazo principalmente y se consideran células fagocíticas (Koolman y Röhm, 2004).

Es importante considerar que la morfología de los eritrocitos y el porcentaje de los leucocitos pueden variar por estados fisiológicos (edad, sexo, periodo reproductivo, etc.), nutrición, parasitosis, enfermedades inflamatorias y otros cuadros patológicos (Reavill, D. 2005; Mussart *et al.*, 2006), así como también por factores ecológicos tales como la altitud, hábitat, estación del año (Acuña, 1975).

Los estudios hematológicos concernientes a tortuga verde (*Chelonia mydas*) inicialmente consistieron en trabajos descriptivos sobre la identificación y caracterización de células sanguíneas. Saint Girons (1970) describe en adultos de tortuga verde (*Chelonia mydas*) nueve tipos de células sanguíneas, los eritrocitos, eosinofilos, basófilos, azurofilos, neutrófilos, linfocitos, monocitos, trombocitos y plasma celular. Otro trabajo que es importante mencionar por ser otro de los pioneros en el tema en tortuga marina es el realizado por Frair (1977) donde comparan parámetros como el volumen del paquete celular y los niveles de hemoglobina entre especies de tortugas marinas. Dicho autor concluye que factores como la edad, tamaño, sexo, salud, habitad y la dieta pueden tener efecto sobre los parámetros hematológicos (Frair, 1977).

Los resultados de los trabajos anteriores no coinciden del todo con el trabajo de Wood y Ebanks (1984) quienes describieron y caracterizaron morfológicamente las células sanguíneas de la tortuga verde, distinguiendo seis tipos de células sanguíneas tanto de juveniles como adultos de tortuga verde en condiciones de cautiverio de la granja Gran Caimán. Su clasificación incluye eritrocitos, linfocitos, neutrofilos, basófilos, monocitos, eosinófilos y trombocitos (plaquetas) (Wood y Ebanks, 1984). Es importante mencionar que la aparente ausencia de los monocitos o granulocitos azurófilos no es rara ya que estos distintos tipos de células no siempre han sido identificados en otras especies de tortugas (Bernstein, 1938, Saint Girons, 1970). El conteo diferencial de glóbulos blancos y las diferencias en los tipos celulares pueden mostrar variaciones de acuerdo a la edad, sin una aparente relación con el sexo de los organismos (Duguy, 1970). El nivel de hemoglobina y el hematocrito de la tortuga verde también pueden aumentar con la edad (Wood y Ebanks, 1984).

Debido a que este es el primer trabajo donde se describen los 13 parámetros hematológicos de hembras adultas de tortuga negra no existe referencia hematológica para esta especie y para establecer los parámetros hematológicos son comparados con trabajos realizados en Hawái, por Aguirre *et al.*, (2005) y Word *et al.*, (1998) en juveniles de tortuga verde; Labrada-Martagon (2010) en juveniles en México; Glumbles *et al.*, (1990) y Lara (2010) en hembras adultas de tortuga negra y tortuga verde en México, Montilla *et al.*, (2006) en Venezuela en adultos de tortuga verde, Wood y Ebanks, 1984 en adultos de tortuga verde de las islas Caimán, Samour *et al.*, 1998 en adultos de tortuga verde y Prieto *et al.*, (2012) en hembras anidantes de Venezuela.

El tiempo promedio de manipulación de las hembras capturadas registrado fue de 8.02 ± 6.9 min y el rango de 1-30 min. Tiempo de manipulación bajo comparado con otras investigaciones (Aguirre *et al.*, 2005; Labrada-Martagón, 2010).

7.2.1. Parámetros de la Serie roja

El conteo total de glóbulos rojos realizado reporta los rangos amplios que se han encontrado en tortugas anidantes, Grumbles *et al.*, 1990 reporta rangos de 2.0-7.2 10^6 /ml siendo los rangos que mas se acercan ha este trabajo, el resto de los trabajos realizados (Aguirre *et al.*, 1995; Lara, 2010; Montilla *et al.*, 2006; Prieto *et al.*, 2012; Samour *et al.*, 1998) presentan variaciones con relación a este estudio de tortuga negra. El limite bajo puede estar relacionada con la presencia de lesiones específicamente con las tortugas lesionadas del carapacho que posiblemente provoquen la perdida sangre por las heridas, ya que se sabe la disminución en este parámetro se relaciona con hemorragias o sangrados frecuentes.

El hematocrito es una medición de la fracción volumétrica de eritrocitos. Se trata de un indicador clave del estado corporal de hidratación, anemia o pérdida grave de sangre, así como la capacidad de la sangre para transportar oxígeno. Los datos mas cercanos que se han reportado con respecto a esta investigación para el hematocrito es la media de los juveniles capturados en las redes durante 3 y 4 horas (28%) registrado por Aguirre *et al.*, 1995 y el hematocrito (29.40 \pm 3.9%) reportado en tortugas verdes adultas de Venezuela que fueron capturadas con redes (Montilla, 2006). Por otra parte la media de hematocrito (30.19 %) de las hembras anidantes de Venezuela (Prieto *et al.*, 2012) y lo reportado en México 31.1 \pm 6.7 % con un rango de 17-40 % (Grumbles *et al.*, 1900) son también los rangos que mas se aproximan a los rangos obtenidos en este trabajo (14-33%). Los rangos mas altos que el autor tenga conocimiento con respecto al hematocrito (37.6-43%) son los reportados por Lara, 2010. Posiblemente la tendencia a la baja de rangos obtenidos puede relacionarse con la existencia de individuos lesionados, ya que los rangos hematocritos de esta investigación son parecidos a los reportados para juveniles enfermos (13-27%) (Aguirre *et al.*, 1995). Es importante señalar que no presentaron síntomas físicos de esta enfermedad, sin embargo se pudieron observar lesiones importantes en el carpacho que puede estar influyendo en el resultado obtenido; ya que se sabe que lecturas reducida de

hematocrito puede deberse a una reducción en la cantidad de eritrocitos debido a anemias o a hemorragias (Bower, J.D. *et al.*, 1979).

El promedio de hemoglobina reportado en este trabajo es parecido a lo reportado por Prieto *et al.*, 2012 para hembras anidantes. Mientras que el promedio para juveniles sanos de Hawái (8.5 g/dl) (Aguirre *et al.*, 1995) es relativamente más bajo con respecto de los obtenidos para tortuga negra. Lara (2010) obtuvo rangos superiores a los de esta investigación (13.11-14.9 g/dl), mientras que los rangos para hembras de Emiratos Árabes (5.3- 12.4 g/dl) (Samour *et al.*, 1998) son los que más se acercan a los que aquí se reportan.

Es importante considerar que los valores del recuento eritrocitario, más los de hematocrito y concentración de hemoglobina, son influenciados por factores de altitud, el hábitat, los periodos reproductivos y los cambios estacionales que sufren las especies en los diferentes sitios de la tierra Duguy (1970).

Son muy pocas las publicaciones en las que se ha considerado el estudio de los índices eritrocitarios, en tortuga marina por lo que el número de comparaciones se hace solo con tres trabajos. El volumen corpuscular medio informa sobre el tamaño de los eritrocitos en esta investigación el valor es más alto comparado con otros resultados (Aguirre *et al.*, 1995 y Prieto *et al.*, 2012). Mientras que ocurrió lo mismo con respecto a la concentración media de hemoglobina se presentan una media más alta con respecto al o reportado anteriormente (Aguirre *et al.*, 1995 y Prieto *et al.*, 2012), este valor sirve para medir el contenido de hemoglobina en los eritrocitos de manera individual (Rodes, 2007). Los resultados de la hemoglobina corpuscular media presentan una media igual a la que se reportó en las hembras anidadoras de Venezuela por Prieto *et al.*, 2012, la cantidad de hemoglobina presente en todos los eritrocitos de las tortugas en promedio es igual a otras tortugas adultas, por lo que se asume que es una población sana la que anida en Michoacán.

En los parámetros de la serie roja (e.g. RBC, Hto, HGB, MCV, MCH, MCHC) no se reporta diferencia en cuanto a la apariencia física (sanas y lesionadas), en

general los datos obtenidos de cada parámetro coinciden con ser datos reportados para tortugas sanas, lo que habla de que las tortugas a pesar de presentar algunas lesiones en general son sanas y las lesiones no necesariamente son por enfermedad en esta población. Tampoco se presentó variación por el periodo de captura durante la temporada de anidación.

7.2.2. Parámetros de la serie blanca

Las células principales de defensa del sistema inmunitario son los leucocitos o células blancas y al parecer son la serie más estudiada en las tortugas marinas, el recuento de glóbulos blancos en este trabajo reporta un rango muy parecido a lo reportado por Grumbles *et al.*, (1990) (.2- $12.25 \times 10^3/\text{ml}$), también han sido reportados rangos $1.32\text{-}8.58 \times 10^3/\text{ml}$ bajos en hembras anidantes (Prieto *et al.*, 2012) comparados a los aquí reportados, el resto de las investigaciones presenta variaciones en el número total de leucocitos los rangos reportados van de .2- $39 \times 10^3/\text{ml}$ (Aguirre *et al.*, 1995; Lara 2010; Montilla *et al.*, 2006; Samour *et al.*, 1998, Wood y Ebanks, 1998; Work y *et al.*, 1998) comparados con este trabajo diferencia que puede deberse principalmente a los métodos de captura de los animales, pues las técnicas aplicadas pueden afectar significativamente el estrés, es importante considerar que el conteo total de leucocitos es influenciado por el lugar de la toma de muestra, edad, actividad muscular, alojamiento y factores de estrés (Rebar *et al.*, 2002). La toma de muestra de las hembras fue realizada al terminar la ovoposición, cuando el animal está relajado situación que reduce el estrés generado por otras técnicas como por ejemplo la captura por redes que ha sido utilizada en otros trabajos (Aguirre *et al.*, 1995, Montilla *et al.*, 2006).

Los leucocitos de la sangre pueden dividirse en varios tipos de acuerdo a sus funciones específicas, sitio de origen o morfología; aunque en esencia la función de todos los leucocitos es defender al cuerpo de agentes extraños (Kodac, 2005). En los reptiles desde la época de los setentas se comenzó con estudios en el área, sin embargo existen discrepancias en la clasificación de los leucocitos en este trabajo se utilizó como referencia para clasificar el trabajo de Word *et al.*, (1998) donde se reporta la existencia de linfocitos, heterofilos, eosinofilos,

monocitos y basófilos, células que fueron también observadas en esta investigación coincidiendo también con lo reportado por Wood y Ebanks, 1984 y Aguirre *et al.*, (1995) solo que en este trabajo no se reportan neutrófilos, que en mamíferos son comúnmente observados, aunque algunos autores también los describen en reptiles, mientras que en otros los reportan como heterofilos, los cuales funcionalmente corresponden a los neutrófilos de los mamíferos (Aguirre *et al.*, 1995; Watson *et al.*, 1999; Work *et al.*, 1998). Los leucocitos de mayor abundancia presentes en este estudio fueron los linfocitos y heterofilos de acuerdo a lo reportado anteriormente (Wood y Ebanks, 1998; Work *et al.*, 1998). Los linfocitos son los responsables de iniciar la respuesta inmunológica, ya que producen anticuerpos (Benjamín 1991). Mientras que los heterofilos tienen como función principal la fagocitosis y digestión de material extraño (bacterias, parásitos, protozoarios, virus hongos y otras partículas de materia), mediante el contenido de sus diversos gránulos participan también en inflamaciones agudas (Benjamín, 1991; Jain, 1993).

De acuerdo a su apariencia física las tortugas negras anidantes lesionadas presentaron mayor proporción de heterofilos. Durante el análisis de acuerdo a los distintos periodos se encontró mayor cantidad de heterofilos durante el invierno. Que al parecer son los más comúnmente observados en tortugas marinas, seguidos de los linfocitos (Aguirre *et al.*, 1995;; Montilla *et al.*, 2006; Labrada-Martagon, 2010; Lara, 2010; Samour *et al.*, 1998; Prieto *et al.*, 2012) seguidos de los eosinofilos, monocitos y basófilos en orden de acuerdo a su abundancia. Los eosinofilos cuyas funciones consisten en la regulación de respuestas alérgicas y de inflamaciones agudas (Jain, 1993) por lo general en reptiles se registran porcentajes bajos menores del 2% (Jacobson, 1992) los rangos que se encontraron en este trabajo son bajos en comparación de los reportados anteriormente para tortugas de la playa de Colola (3-61%) (Grumbles, *et al.*, 1990) diferencia que puede ser atribuida a que en ese momento la población atravesaba un cuadro de respuesta a algún agente que pudiera alterar el porcentaje. El porcentaje de eosinofilos observados en las hembras anidantes de Colola que aquí se reporta es más alto comparado con lo reportado anteriormente (Montilla *et*

al., 2006 Samour *et al.*, 1998; Prieto *et al.*, 2012) al contrario de los reportes realizados por Aguirre *et al.*, 1998; Lara, 2010; Wood y Ebanks, 1984 donde se obtuvieron porcentajes mas altos comparados con esta investigación.

Por otra parte los monocitos son células consideradas fagocíticas, presentaron un promedio de 9.6% que se asemeja a lo descrito por Labrada-Martagón, 2010 quienes reportan valores de entre 1-21% en juveniles de *Chelonia Mydas* en Baja California Sur, a pesar de que los valores de este trabajo se asemejan nosotros reportamos un rango mas amplio situación que podría deberse a que los monocitos tienen como función principal fagocitar bacterias o agentes extraños que causen daño al organismo, lo que puede indicar que hay tortugas que están pasando por algún proceso de inflamación o infección. La monocitosis sugiere un proceso infeccioso crónico o de estimulación inmunogénica (Aguirre *et al.*, 1995). El porcentaje de monocitos obtenidos en este estudio son rangos elevados comparado a los reportes previos ha esta investigación (Montilla *et al.*, 2006; Samour *et al.*, 1998; Prieto *et al.*, 2012).

Las tortugas negras clasificadas como sanas presentaron mayor proporción en los monocitos y durante el periodo de invierno los monocitos se presentaron en mayor porcentaje con respecto al periodo de máxima anidación, de acuerdo a su apariencia física. Al considerar solo el periodo los monocitos se presentaron en mayor porcentaje durante el periodo de máxima anidación. En reptiles se ha considerado que los monocitos tienen poca variación estacional y que su numero permanece relativamente constante (Muñoz, 2003).

Coincidiendo con otros estudios se registraron basófilos (Aguirre *et al.*, 1995; Wood y Ebanks, 1984; Prieto *et al.*, 2012) en menor cantidad a resto de los leucocitos observados. La proporción H/L 0.99 es más alta de acuerdo a lo reportado por previamente (Aguirre *et al.*, 1995 y Labrada-Martagón, 2010) de acuerdo a su apariencia las tortugas negras anidantes lesionadas presentaron mayor proporción en la razón heterofilos/linfocitos se ha reportado que los incrementos en la relación H/L se asocian a cuadros de estrés, con estresores que operan de manera intensa y durante breves lapsos de tiempo Davis *et al* 2000.

En general las células sanguíneas (eritrocitos y leucocitos) que se pudieron reportar en esta investigación son de alguna manera parecidos a los reportados previamente en la mayoría de las investigaciones en tortuga verde, es importante considerar que la morfología de los eritrocitos y el porcentaje de los leucocitos pueden variar por estados fisiológicos (edad, sexo, periodo reproductivo, etc.), nutrición, parasitosis, enfermedades inflamatorias y otros cuadros patológicos, (Reavill, 2005; Mussart *et al.*, 2006) o por factores ecológicos (altitud, hábitat, estación del año) (Acuña, 1975).

Durante el conteo diferencial se observaron restos nucleares de eritrocitos en 8% de las muestras. Coincidiendo con lo reportado anteriormente (Labrada-Martagón, 2010) en hematología veterinaria son conocidos como células fantasma.

7.3. Bioquímica sanguínea

Los resultados de este estudio están basados en los valores obtenidos en México (Labrada-Martagón *et al.*, 2010b y Lara 2010) y otros países como Australia, Emiratos Árabes Unidos, EUA, Taiwan y Venezuela (Hamann *et al.*, 2006; Whiting *et al.*, 2007; Hasbún *et al.*, 1998; Aguirre y Balazs, 2000; Bolten y Bjorndal 1992; Stamper *et al.*, 2005; Fong *et al.*, 2010; y Montilla *et al.*, 2008) Para *C. mydas* y para otras especies como *Caretta caretta* (Deem *et al.*, 2009; Delgado *et al.*, 2000; Bolten *et al.*, 1992) y *Lepidochelys kempi* (Canon, 1992). Por lo que estos resultados son los primeros en obtenerse y reportarse en México, para hembras adultas anidadoras de tortuga negra (*Chelonia agassizii*) por lo cual no existen valores de referencia para esta especie.

7.3.1. Concentración de proteínas

La media de las proteínas totales (3.5g/dL) en la investigación son los valores mas parecidos o cercanos a los obtenidos por Aguirre *et al.*, 1995 (3.96g/dL) se reporta una ligera hipoproteinemia, los rangos encontrados en este trabajo son ligeramente mas bajos (1.8- 44g/dL), comparados con los reportes hechos para tortugas con fibropapilomatosis en Hawaii. Los resultados de Labrada-Martagón *et*

al., 2010b en tortugas juveniles verdes que habitan en las costas de la Península de Baja California reflejan una mayor concentración (6.63g/dL) casi el doble de proteínas totales comparado con el resultado de este trabajo. Con respecto al resto de los trabajos se reportan los valores aumentados por ejemplo lo reportado por Fong *et al.*, (2010) (5.88g/dL) para tortugas juveniles en Taiwán y Lara (2010) (7.19g/dL) en México para tortuga verde. También presentaron disminución con respecto a los valores reportados por Montilla *et al.*, (2008) (4.37 g/dL); Aguirre y Balazs (2000) (4.2g/dL) y Hasbún *et al.*, (1998) (8.06g/dL), referente a los valores que reporta Stamper *et al.*, (2005) (36.0g/L) y Hamann *et al.*, (2006) (37.9 g/dL). La hipoproteanemia es la reducción de las proteínas totales de la sangre, por lo general se asocia a hemorragias severas, a un estado de hambre o de carencia por deficiente absorción intestinal (Díaz *et al.*, 1997).

La albumina presentó similitud a los valores reportados Aguirre *et al.*, 1995 (.93 d/dL) quien reporta valores bajos en comparación a lo reportado por Labrada-Martagon *et al.*, 2010b (1.47 d/dL), El trabajo de Montilla, *et al.*, (2008) (1.50g/dL); Aguire y Balazs (2000) (1.7g/L) y Hasbún *et al.*, (1998) (1.92g/dL), mientras que los valores que reportaron Stamper *et al.*, (2005) (13g/L) y Hamann *et al.*, (2006) (18.3g/dL), son valores muy elevados con respecto a los valores obtenidos en la presente investigación donde se observaron valores disminuidos. Las globulinas reportadas en este estudio muestran una media de 2.63g/dL valor bajo en comparación a lo reportado por Labrada-Martagón *et al.*, 2010b (5.16g/dL) con respecto a los resultados de otros autores en otros países Aguirre *et al.*, 1995 reportaron 2.98g/dL valor que se asemeja a lo reportado para tortugas verdes con fibropapiloma. La razón A/G encontrado en el presente trabajo fue 0,41 g/dl fue relativamente mas alto a lo reportado por Labrada-Martagón *et al.*, 2010b para juveniles de tortuga verde en la península de Baja California (.33g/dl) y a los juveniles de Hawaii reportado por Aguirre *et al.*, (1998) (.35g/dl). El resultado obtenido en esta investigación coincide con los reportes de Bolten *et al.*, (1992) (0,4 ± 0,1) para tortuga Caguama (*C. caretta*) de estados Unidos.

7.3.2. Actividad enzimática

De acuerdo a los reportes anteriores la media de ALT Alanina aminotransferasa obtenida para este estudio es cercana a lo reportado por Fong *et al.*, 2010 (13 U/L) y Hamann *et al.*, 2006 en tortugas adultas. Mientras que Labrada-Martagón *et al.*, 2010 (47.43 U/L) para los juveniles de la península de Baja California reporta valores mas altos comparados con esta investigación.

La media de AST Aspartato aminotransferasa reportada por Fong *et al.*, 2010 (117.5 U/L) para tortugas adultas de Taiwán y la reportada por Aguirre *et al.*, 2005 para juveniles de Hawaii (141.0 U/L) son levemente mas bajas a la encontrada en esta investigación. Mientras que Labrada-Martagón *et al.*, 2010 en juveniles de México y Hamann *et al.*, 2006 en adultos de Australia reportan una media elevada a comparación de lo obtenido en las hembras anidantes de Colola. La AST se utiliza para evaluar desordenes musculares y hepáticos. Aumenta en casos de daño hepático, daño muscular esquelético y cardiaco, septicemia, toxemia y hemolisis. Su disminución no tiene implicaciones patológicas (Bush, 1999)

La media Fosfatasa alcalina (ALP) que se obtuvo en este trabajo es mas baja comparada con determinaciones previas hechas en Hawái, en México en juveniles de tortuga verde y Venezuela en adultos de la misma especie con rangos de 42.40 a 118.26 U/L. Solamente el trabajo reportado por Fong *et al.*, 2010 reporta valores medios mas bajos (25.9 U/L) a los que se encontraron en esta investigación, sin embargo son los mas cercanos a estos resultados. Se sabe que aumento en el nivel de fosfatasa alcalina es producido principalmente por la obstrucción biliar, daño hepático, enfermedad ósea extensa generalizada, neoplasia, septicemia, inanición y regeneración hepática; sin embargo de acuerdo a los resultados obtenidos es posible que el observar rangos disminuidos en las hembras adultas de esta investigación a comparación de los valores medios reportados para los juveniles tenga relación con el hecho de que los niveles de ALP aumentan en animales en crecimiento (Bush, 1999).

Hamann *et al.*, 2006 reportan un valor promedio de LDH (249.9 U/L) superior a lo encontrado para hembras anidantes de la playa de Colola, valor que es mas

parecido al promedio observado en tortugas de Taiwán de 109.4 U/L (Fong *et al.*, 2010).

La Gama glutamiltransferasa (GGT) solo ha sido reportada en México en adultos mayores a 85cm LRC que habitan las costas de Baja California valor considerablemente bajo comparado al presente estudio, al igual que los valores promedios establecidos por Aguirre *et al.*, 1998 en juveniles de tortuga verde tanto sanas como lesionadas son valores muy por debajo a lo que aquí se reporta. La distribución de la GGT en tejidos de animales domésticos varía entre especies, encontrándose en mayor concentración en el hígado, riñón, páncreas e intestino (Braun *et al.*, 1983). El aumento de GGT se ha asociado a alteraciones metabólicas, cardíacas, diabetes, hipertensión, desórdenes hepato-biliares y daño hepático, tanto en humanos como en ganado, animales domésticos, de granja y mamíferos en vida libre (Braun *et al.*, 1983; Bossart *et al.*, 2001; Grundy, 2007; Lee *et al.*, 2007).

7.3.3. Electrolitos

El sodio constituye un 90% de los componentes osmóticamente activos del plasma en tortugas marinas (Dessauer, 1970). Los niveles de sodio obtenidos en esta investigación (139.1 meq/L) fueron similares al compararlos con Hasbún *et al.*, (1998) reportó valores de (146meq/L), ligeramente disminuidos al compararlos con lo reportado por Dessauer (1970) y Aguirre y Balazs (2000), en dos Islas Hawaianas (158.0 y 154.0meq/L). Los resultados reportados por Bolten y Björndal (1992), (172meq/L) y Labrada-Martagón *et al.*, 2010 reportan (168meq/L) son los que se presentan mas elevados con respecto a los resultados obtenidos en la presente investigación.

El nivel de potasio de 3 a 6 meq/L, caracteriza a todos los reptiles (Dessauer, 1970); los resultados obtenidos en el presente estudio (3.4-4.9meq/L) se encuentran dentro de los valores reportados por Aguirre *et al.*, (1995), de (4.98 meq/L), Labrada-Martagón *et al.*, 2010 (3.93meq/L), Lara, 2010 (3.7meq/L). Igualmente, Hasbún *et al.*, (1998) reportaron (5.61meq/L) en tortuga hembras adultas. Aguirre y Balazs, (2000) obtuvieron valores de (5.2 y 4.8meq/L) en dos

sitios de Hawái. Podemos decir que en este estudio la tortuga negra (*Chelonia agassizii*) esta dentro de los rangos normales reportados para otras tortugas marinas.

El nivel de cloro 99 meq/L comparado con Aguirre et al., (2010) 109meq/L es parecido, valor que se ve aumentado en comparación de lo reportado por Lara (2010) 15meq/L. La presencia de cloro en el organismo es necesaria puesto que participa en la conducción de impulsos eléctricos y en la formación de ácido clorhídrico del estomago.

Los niveles de calcio muestran una media de 11.4mg/dL con rangos de 6.5-19.9 mg/dL en la presente investigación, mismos que se encuentran más elevados en comparación los reportados por Aguirre *et al.*, (1995) (8.42mg/dL), mientras que Aguirre y Balazs (2000) reportaron valores de (9.1mg/dL) y (11.2mg/dL) para tortugas de Kiholo y Kona, Hawaii. En Taiwán (Fong *et al.*, 2010) se determino un valor de 9.1mg/dL y Lara (2010) (15mg/dL). Valores más bajos de (6.86mg/dL) en tortugas hembras son atribuidas al proceso de formación de huevos en los Emiratos Árabes Unidos (Samour *et al.*, 1998). Las causas de aumento de calcio en los reptiles son fisiológica (desarrollo folicular en hembras), exceso alimentario o parental de vitamina D3 o calcio (Ferrando, 2010)

Las diferencias de algunos de los analitos puede ser debidas a varios factores como la zona de alimentación y desove, la edad, la temperatura, el estrés durante la toma de la muestra sanguínea y el tiempo transcurrido fuera de su hábitat natural sin alimentación regular (Aguirre y Balazs, 2000).

7.3.4. Productos de excreción

La concentración media de creatinina fue $0.13 \pm 0,08$ mg/dl, la cual es menor a la observada en las tortugas verdes juveniles del Islas de Hawái (.26mg/dl) registrados por Aguirre *et al.*, (1995) y la media registrada por Fong *et al.*, (2010) (.29mg/dl) para juveniles de tortuga verde en Taiwán. La media (0,17 mg/dl) obtenida por Montilla *et al.*, (2008) en Alta Guajira en individuos adultos *C. mydas* fueron mayores respecto al presente trabajo. Con respecto a los trabajos

realizados en México Labrada-Martagón *et al.*, 2010 quienes reportaron una media de 2.32mg/dl para juveniles de tortuga verde que habita las costas de la Península de Baja California Sur.

La urea registró una media de 5.68 mg/dl coincidiendo con los valores reportados por Bolten (1992) (7 ± 5 mg/dl). Montilla *et al.*, (2008) ($27,60 \pm 17,02$ mg/dl) presenta valores mas altos en relación a los obtenidos en esta investigación. Por otro lado, Aguirre *et al.*, (1995) realizó un estudio en tortugas verdes juveniles de Hawái obtuvo valores medios de 5,2 mg/dl y 6,1 mg/dl en dos agregaciones de juveniles (Aguirre, 2000). Cabe destacar que las medias reportadas en el Océano Pacífico (Hawaii) son menores que en el Atlántico (Sur de las Bahamas, Alta Guajira). Los niveles bajos de urea en sangre se producen por la reducción de la síntesis debido a una función hepática anormal o por ingesta reducida de proteínas (Bush,1999). Por lo que en especies herbívoras como el caso de tortuga negra (*Chelonia agassizii*) es de esperarse una reducción en la concentración de urea, al contrario de especies carnívoras como el caso los reportes de Bolten *et al.*, 1994 de *C. Caretta* de La Florida, en los Estados Unidos determinaron un valor de 39 ± 28 mg/dl y en la Península de Nicoya, Costa Rica, la media fue de 37,8mg/dl en hembras y 46,8 mg/dl en machos de *L. Olivacea* (Santoro y Meneses, 2007). La alimentación en cautiverio podría haber influido en los valores altos de urea ($135,9 \pm 41,12$ mg/dl), encontrados en las cuatro tortugas verdes de Ubatuba (Baldassin *et al.*, 2003). Las diferencias registradas entre los valores del presente trabajo y aquellas registradas para juveniles de la misma especie por Bolten (1992) y Montilla *et al.*, (2008) sugieren que las tortugas del presente estudio habrían ingerido alimento menos rico en proteínas comparado con las tortugas de los casos anteriores.

En reptiles, el ácido úrico es el producto catabólico final en la eliminación del Nitrógeno, cuyo aumento se ha asociado a la dieta (Stahl, 2006). El valor promedio de acido úrico encontrado en este estudio fue de 1.6 el cual entra dentro de los rango reportados por Aguirre 1998 (.6-1.2meq/dL) al igual que lo reportado por Hasbum (1998) 0.82 ± 0.56 meq/dL y Fong *et al.*, (2010) 1.34 meq/dL. Valores

mas altos fueron reportados por Labrada-Martagón *et al.*, (2010) 4.58meq/dL y Lara (2010) reporto 2.8meq/dL, el valor bajo de acido úrico en este estudio puede atribuirse a la alimentación de la especie asume a la tortuga negra adulta junto con la verde como herbívora ya que consume principalmente pastos marinos y algas aunque incidentalmente puede consumir medusas, tunicados y esponjas (Marques, 1990). La mayoría de los estudios realizados han sido en tortugas verdes juveniles con excepción de Lara, 2010.

Reportamos el nivel de BUN con una media de 2.68 mg/dL valor que cercano con lo reportado por Aguirre *et al.*, (1998) 3.66 mg/dL., sin embargo los trabajos realizados por Fong *et al.*, (2010) y Lara (2010) reportan valores altos de 37.3 mg/dL y 34.1 mg/dL respectivamente. El BUN se refiere al nitrógeno ureico en la sangre es el principal catabólico final de la proteína, el nitrógeno no proteico y purinas en tortugas terrestres y representa del 80 al 90% del nitrógeno total excretado por los riñones. Su concentración es mayor en carnívoros que en herbívoros. Las tortugas marinas excretan urea acido úrico y amoniaco a diferencia de las tortugas dulceacuícolas que eliminan partes iguales de amoniaco y urea. Común mente se utiliza la concentración de BUN y creatinina para la detección de enfermedades renales en los mamíferos. Sin embargo estos parámetros bioquímicos son malos indicadores del funcionamiento de los riñones en reptiles, porque la fisiología de estos órganos es diferente. El valor de BUN suele ser bajo en los reptiles (.10mg/dL) (Campbell, 2006).

7.3.5. Lípidos

Todos los datos que se han reportado de colesterol hasta el momento en tortugas marinas han sido bajos en compara de este trabajo (314.7mg/dL) a diferencia de lo reportado Labrada *et al.*, (2010) en juveniles de tortuga verde de Baja California sugiere rangos de 81-171mg/dL mismos que están por debajo de nuestro resultado, Fong *et al.*, (2010) y Montilla *et al.*, (2008) reportan rangos de (207.5 ±109.6) y (123-393 mg/dL) resultando así ser los mas cercano de manera importante con los rangos reportados para tortuga negra (159 a 507mg/dL), no obstante se siguen observando valores mas elevados en nuestros resultados.

Hasbún *et al.*, (1998) reportaron (226mg/dL) de Colesterol, en comparación a los valores obtenidos en la presente investigación que están disminuidos (314mg/dL), y en comparación con los valores reportados por Aguire y Balazs (2000) (140mg/dL), son más lejanos al valor que se obtuvo en esta investigación. Esta variable es un indicador de condiciones fisiológicas y patológicas; generalmente los valores elevados están asociados con enfermedades en el hígado, hipotiroidismo, dieta alta en grasa, entre otros.

En cuanto a la relación con el tamaño corporal, Montilla *et al.*, 2008 reportó que existían diferencias significativas entre los niveles de colesterol para sub adultos y adultos *C. mydas* lo cual también fue registrado por Hasbun (1998) y Casal *et al.*, (2009) en este último caso entre juveniles y hembras anidadoras de *C.caretta*. Este autor asoció este fenómeno a la vitelogénesis, momento en el cual se registran altos valores de colesterol. Es posible que en este trabajo el valor aumentado tenga que ver con el fenómeno de vitelo génesis ya que la mayoría de los trabajos reportados se han llevado a cabo en juveniles y no en hembras anidantes. La vitelo génesis que es el proceso en el cual las proteínas y lípidos son progresivamente almacenados en los ovocitos en desarrollo (futuros óvulos) de los animales ovíparos, incluidos los reptiles (Guraya, 1989 en Hamann *et al.*, 2003) Se ha asumido que los niveles en la sangre de vitelogenia (VTG) deberían de ser normalmente encontrados en hembras de tortugas marinas sexualmente maduras preparándose para la anidación (Herbs, *et al.*, 2003)

Los valores de triglicéridos (555.9mg/dL) comparados con Hasbún *et al.*, (1998) reportaron los valores promedios de (433.85mg/dL) para tortugas hembras adultas. Son los valores mas parecidos coincidentemente los dos trabajos realizados en hembras adultas. Los datos obtenidos por Labrada-Martagón *et al.*, (2010) (318mg/dL) para tortugas juveniles de la Península de Baja California son menores en comparación a los que aquí se reportan. Aguirre *et al.*, 1995 (181.8mg/dL) y Lara, 2010 (107.9mg/dL) son datos bajos comparados con estos resultados. El trabajo de Fong *et al.*, 2010 (47.5mg/dL) es 10 veces menor a la meda obtenida en este trabajo. Al igual que el colesterol el valor que se reporta en

el presente trabajo puede estar bajo la influencia de la vitelogenina que es una proteína que transporta e incorpora de material lipídico (triglicéridos, carbohidratos, calcio y grupos fosfatos a los ovocitos en desarrollo (revisado por Labrada-Martagón et al., 2010; Hamann et al., 2003; Sifuentes, 2004).

7.3.6. Otros

La media de la glucosa para *C. agassizii* (87.7mg/dL), en comparación con Aguirre *et al.*, (2005), son similares, quien reportó valores (86,60mg/dL) para tortugas muestreadas a 0 horas de captura, los cuales después de 3 a 4 horas de captura sus valores se incrementaron a (143,40mg/dL). En este estudio también se reporta un tiempo de manipulación de menos de una hora. Valor que esta dentro de los valores de referencia utilizados para tortuga verde (70-120mg/dL). Rangos que coinciden con los reportes que realizados en esta investigación para tortuga negra (73, 104mg/dL). Los valores obtenidos difieren de lo reportado por Montilla et al 2008 quien reporta una media mas alta (122 mg/dL) este incremento en el valor puede estar influenciado por el método de captura con redes lo que incrementa el estrés en el organismo. Al igual que Ladrada-Martagon *et al.*, (2010) reporta una media de 164mg/dL valor que resulta el mas alto de los estudios revisados en tortuga marina, reporto la existencia de correlación entre el tiempo de manipulación de las tortugas y valores de glucosa.

Bilirrubina total deriva de la degradación de los eritrocitos viejos por parte del sistema mononuclear fagocitario, especialmente en el bazo. El incremento en plasma se debe a enfermedad hemolítica, hemorragia interna, (Bush,1999). El valor promedio encontrado en este trabajo fue de .11mg/dl valor que coincide particularmente con lo reportado por Aguirre *et al.*, 1998 (.14 mg/dl) valores mas altos fueron reportados por Fong *et al.*, 2010 y Lara, 2010 (1.3 -1.79 mg/dl) Para tortugas verdes juveniles y hembras anidadoras respectivamente.

8. CONCLUSIONES

La condición corporal y la apariencia física de las hembras anidantes de la playa de Colola se consideran saludables de acuerdo a los índices de condición empleados y a que la mayoría de las lesiones que presentaron denotaron actividad reproductiva reciente, sin signos de enfermedad aparente.

Las tortugas que anidaron durante el periodo de invierno presentaron mejor condición corporal en comparación con las que anidaron durante el periodo de máxima anidación. El mismo patrón se encontró en las tortugas negras clasificadas como lesionadas las cuales presentaron mejor condición corporal durante el invierno.

Se determinaron por vez primera 13 parámetros hematológicos y 22 parámetros bioquímicos en hembras de tortuga negra (*Chelonia agassizii*) que anida en las costas de Michoacán durante el periodo 2010-2012. Los rangos de los diversos parámetros de salud coincidieron con los reportes previos realizados en poblaciones sanas de tortuga verde *Chelonia mydas*, por lo que se concluye que la población de hembras reproductoras que anidan en la playa Colola es una población sana.

Se observó un aumento significativo en la proporción de heterófilos y en la razón heterófilo/linfocitos en las tortugas clasificadas como lesionadas. Las tortugas lesionadas presentaron a su vez una menor proporción de monocitos en comparación con los individuos sanos. Ambos casos pudieran estar relacionados con algún cuadro infeccioso en hembras lesionadas.

Las hembras que anidaron durante el periodo de máxima anidación presentaron una mayor proporción de monocitos y una menor proporción de heterófilos en comparación con aquellas hembras que anidaron durante el invierno.

9. LITERATURA CONSULTADA

Acuña M. L. 1975. Hematología normal de *Iguana iguana* (Linee, 1758) aspectos cito morfológicos y comparaciones intra específicas. Caribbean Journal of Science., 15: 1-2.

Aguirre, A. A., G. H. Balazs, T. R. Spraker, y T. S. Gross.1995. Adrenal and hematological responses to stress in juvenile green turtles (*Chelonia mydas*) with and without fibropapillomas. Physiological Zoology., 68: 831–854.

Aguirre, A., T. R. Spraker, G. H. Balazs, y B. Zimmerman.1998. Spirorchidiasis and fibropapillomatosis in green turtles from the Hawaiian Islands. Journal of Wildlife Diseases., 34: 91–98.

Aguirre A. A. y G. H. Balazs. 2000. Blood biochemistry values of green turtles, *Chelonia mydas*, with and without fibropapillomatosis. Comp. Haematol. Int., 10: 132-137.

Aguirre A., R. Ostfeldt, G. Tabor, C. House y M. Pearl. 2002. Conservation medicine: Ecological health in practice. Oxford University Press, Nueva York, páginas.

Aguirre, A. A y P. L. Lutz. 2004. Marine turtles as sentinels of ecosystem health; Is fibropapillomatosis an indicator? EcoHealth, 1: 275-283.

Alvarado J. y A. Figueroa. 1989. Breeding dynamics of the black turtle (*Chelonia agassizi*) in Michoacán, Mexico. En: Eckert, S. A., K. L. Eckert y T. H. Richardson (Eds.). Proceedings of the ninth Annual Workshop on Sea Turtle Biology and Conservation, NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFC- 232, Jekyll Island, Georgia. 5-9 pp.

Alvarado-Díaz J., E. Arias-Coyotl y C. Delgado-Trejo. 2003. Evaluation of the black turtle project in Michoacán, México. Marine Turtle Newsletter., 92: 4-7.

Alvarado D. J. y C.T. Delgado. 2005. Tortugas Marinas de Michoacán. Historia Natural y Conservación. More vallado Editores. Morelia, Michoacán. México. 152pp.

Aranda C. N. 2001. Alimentando al mundo, envenenando al planeta: eutrofización y calidad del agua. Avance y Perspectiva., 20: 293-303.

Atkinson S. N. y M. A. Ramsay. 1995. The effects of prolonging fasting of the body composition and reproductive success of female polar bears (*Ursus maritimus*). *Functional Ecology*, 9: 559–567.

Atlas Geográfico De Estado de Michoacán. 2003. Secretaria del Estado de Michoacán y Universidad Michoacana de san Nicolás de Hidalgo. 2da.Ed. EDDISA, Morelia, Michoacán, 205 pp.

Balazs, G. H. 1985. Impact of ocean debris on marine turtles: entanglement and ingestion. En: Shomura R. S. y H. O. Yoshida (Eds.). *Proceedings of the Workshop on the Fate and Impact of Marine Debris*. NOAA Technical Memorandum NMFS-SWFC-54. U.S. Department of Commerce, 387-429 pp.

Balazs, G. H., 2000. Factores a considerar en el mercado de tortugas. En: Eckert, K. L., K. A. Bjorndal, F. A. Abreu-Grobois y M. Donnelly. (Eds.). *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas*. (Traducción al español). Grupo Especialista en Tortugas Marinas, UICN/CSE Publicación No. 4, D.C., 116-125 pp.

Benjamín, M. M. 2001. Manual de Patología clínica veterinaria. 3era ed. Limusa. México, D.F. 421pp.

Bernstein E. 1938. Blood cytology of the tortoise *Testudo geometrica*. *S. African. J. Sci.*, 35: 327-331.

Berrio M., M. C. Correa y M. E. Jiménez. 2003. El hemograma; análisis e interpretación con las tres generaciones. Universidad de Antioquia, Medellín, 138 pp.

Beverton, R. J .H. y S.J., Holt. 1957. On the Dynamics of Exploited Fish Population. Chapman and Hall, London, 230 pp.

Bjorndal K. A. 1997. Foraging ecology and nutrition of sea turtles. En: P.L. Lutz and J.A. Musick (eds.) *The biology of sea Turtles*, CRC Press, Boca Raton, Fl. 199-231 pp.

Bjorndal, K. A., A. B. Bolten y M. Y. Chaloupka. 2000. Green turtle somatic growth model: evidence of density dependence. *Ecol. Appl.*, 10(1): 269-282.

Blanckenhorn W. U. y D. J. Hosken. 2003. Heritability of three condition surrogates in the yellow dung fly. *Behavioral Ecology*, 14: 612–618.

Bolten A. B. y K. A. Bjørndal. 1992. Blood profiles for a wild population of greenturtles (*Chelonia mydas*) in the southern Bahamas: size-specific and sex-specific relationships. *J. Wildl. Dis.*, 28(3): 407-413.

Bolten, A. B., E. Jacobson y K. Bjørndal. 1992. Effects of anticoagulant and autoanalyzer on biochemical values of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). *Am J. Vet. Res.*, 53: 2224-2277.

Bolten A. B. 2000. Técnicas para la medición de Tortugas. En: Eckert, K.L., K.A. Bjørndal, F.A. Abreu y M. Donnelly (Eds.). Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas. Traducción al español. Grupo de Especialistas en Tortugas marinas IUNC/CSE Publicación No. 4.D.C., 126-131pp.

Braun, J. P., P. Bernard, V. Burgat y A. G. Rico. 1983. Gamma glutamil transferase in domestic animals. *Vet. Res. Comm.*, 6: 77-90.

Brown M.E. 1996. Assessing body condition in birds. *Current ornithology*, 15: 67-135.

Bowen, W.B., A.B. Meylan, J.P. Ross, C.J. Limpus, G.H. Balazs y C.J. Avise. 1992. Global population structure and natural history of the green turtle (*Chelonia mydas*) in terms of matriarchal phylogeny. *Evolution*, 46: 865-881.

Bush B. M. 1999. Interpretación de los análisis de laboratorio paraclínicos de pequeños animales. Ediciones S., Barcelona, 616 pp.

Cabrera P.M. 2008. Valores hematológicos de la tortuga motelo (*Geochelone denticulata*), mantenidos en cautiverio en la ciudad de Iquitos-Perú. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. 55 pp.

Calle, P.P., M.P. Rives, J.T. Muñoz, E. Thorbjarnson, W. Dierenfeld, W.E. Holmstrom, W.E. Braselton, y W. B. Karesh. 1994. Health assessment of free-ranging anacondas (*Eunectes murinus*) in Venezuela. *J. Zoo. Wildl. Med.*, 25: 53-62.

Campbell T. 1996. Clinical Pathology. En: Mader D. R, (Ed.). Reptile medicine and surgery. WB Saunders, Philadelphia., 474-483 pp.

Cannon M.S. 1992. The morphology and cytochemistry of blood leukocytes of Kemp's redley sea turtle (*Lepidochelys kempii*). *Can. J. Zoo.*, 70: 1336-1340.

Casal A.B., F. Freire, G. Bautista, A. Arencibia y J. Oros. 2007. Ultrastructural characteristics of blood cells of juvenile Loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) Anat. Histol. Embryol., 36: 332-335.

Cash W.B., Holberton RL Knight SS. 1997. Corticosterone secretion in response to capture and handling in free-living red-eared slider turtles. Gen. Comp. Endocrinol., 108 (3):427-33.

Carr, G.C. 1955. The green turtle in British Columbia. Report of the Provincial Museum of Natural History and Antropology (British Columbia). 1954: 77-78.

Ceballos A.M. 2004. Generalidades sobre Hematología veterinaria. Universidad de Caldas: Departamento de Salud Animal, Programa de Medicina Veterinaria, Manizales, Colombia, 145 p.

Cliffton, K., D. Cornejo y R. Felger 1982. Sea turtles of the Pacific costs of Mexico. En: K.A. Bjorndal, ed. Biology and Conservation of Sea Turtles. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C., 199-209 pp.

Cliffton, K., D.O. Conrejo, y R.S. Felger. 1995. Sea turtles of the Pacific coast of Mexico. En: K. A. Bjorndal (Ed.). Biology and conservation of sea turtles. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C., 199-209 pp.

Combes C.1996. Parasites, biodiversity and ecosystem stability. Biodiversity and Conservation, 5: 953-962.

CONANP 2002. Programa de trabajo. Comisión Nacional de Áreas Naturales protegidas, 2001-2006. 2da. edición. SERMARNAT, México.

Cordero-Tapia, A., S. C. Gardner, J. Arrellano-Blanco y R. B. Inohuye-Rivera. 2004. Learedius learedi infection in black turtles (*Chelonia mydas agassizii*), Baja California Sur, Mexico. J. Parasitol., 90(3): 645-647.

Cotton, S., J. Small, y A. Pomiankowski. 2006. Sexual selection and condition-dependent mate preferences. Current Biology, 16: R755–R765.

Daszak P, G. Tabor, A. Kilpatrick, J. Epstein, J. y R. Plowright. 2004. Conservation medicine and a new agenda for emerging diseases. Annals of the New York Academy of Sciences, 1026: 1-11.

Davis, G.S., K.E. Anderson, and A.S. Carroll. 2000. The effects of long-term caging and molt of Single Comb White Leghorn hens on heterophil to lymphocyte ratios, corticosterone and thyroid hormones. Poult. Sci., 79(4): 514-8.

Deem S. L., Karesh W. B. y Weisman W. 2001. Putting theory into practice: wildlife health in conservation. *Conservation Biology*, 15: 1224-1233.

Demm, S.L. Terry M. Norton, Mark Mitchell, Al Segars, A.Rick Alleman, Carolyn Cray, Robert, H. Poppenga, Mark Dodd and William B. Karesh. 2009. Comparison of blood values in foraging, nesting, and stranded Loggerhead turtles (*Caretta caretta*) along the coast of Georgia, USA. *J. Wildl. Des.*, 45: 41-56.

Delgado, T. C. 2003. Historia de vida y conservación de la población de tortuga negra (*Chelonia agassizii*) que anida en Michoacán. Tesis de Maestría. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Michoacán, México, 128 p.

Dessauer H. 1970. Blood chemistry of reptiles: Physiological and evolutionary aspects. En: C. Gangs y T.C. Parsons (eds). *Biology of the reptilian*. Academic Press. London and New York. USA, 1-72 pp.

Díaz, P., T. Fernández y T. Paredes. 1997. Aspectos básicos de química Clínica. Editorial Díaz de Santos, Madrid, España, 304 p.

Doxey D. 1987. Patología clínica de diagnóstico en veterinaria. 2ª ed. México: Ed El Manual Moderno, 316 p.

Duguy, R. 1970. Number of blood cells and their variation. En: Gans (ed.) *Biology of the Reptilia*. Academic press. London y New York, 93-109 pp.

Dutton, P.H.,T.G. Davis, y D. Owens.1996. Molecular phylogeny for marine turtles based on sequences of the ND4-Leucine tRNA and control region of mitochondrial DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 5: 511-521

El Ridi, R. 1994. Reptilian immune system. En: Roitt, (Ed.). *Encyclopedia of immunology*. Academic Press, 1313-1316 pp.

Felger, R.S. y M.B. Moser. 1987. Sea turtles in Seri Indian culture *Environ. Southwest*, Fall 1987: 18-21.

Flammer, K. 2004. Companion Avian Emergency Care. *Proceedings of American Association Avian Vets*, editor, Orlando, FL, 50-51 pp.

Ferguson, G. M., K. L. Brown y V. G. Damarco. 1982. Selective basis for the evolution of variable egg and hatchling size in some iguanid lizard. *Herpetologica*, 38: 178-188.

Feiyan, Z., C. Hualin, X. Zhongrong y L. Pipeng. 2009. Blood cells and hematology of *Eretmochelys imbricata* and *Chelonia mydas* Chinese Journal of Zoology, , 44(6): 113-121.

Figueroa, A. y J. Alvarado. 1990. Morphometric comparison of the Cheloniapopulations of Michoacán, Mexico, and Tortuguero, Costa Rica. En: Richardson, T. H., Richardson J.I. y M. Donnelley. (Eds.). Proceedings of the Tenth Annual Workshop on Sea Turtle Biology and Conservation, NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFC- 278, Miami, 179-182 pp.

Flint, M., J. Morton., J. Colin., J. Limpus, K. Patterson, P. Murray y P. Mills. 2010. Development and application of biochemical and hematological reference intervals to identify unhealthy green sea turtles (*Chelonia mydas*). The Vet. J., 185: 299-304.

Frair, W. 1977. Turtle red blood cell packed volumes, sizes and numbers. Herpetological, 33: 167-190.

Fong, C. H., I. Chen, y I. Cheng. 2010. Blood profiles from wild populations of green sea turtles in Taiwan. Journal of Veterinary Medicine and Animal Health, 2(2): 008-010.

Fox, L. R. 1975. Canibalism in natural population. Ann. Rev. Ecol. Syst., 6: 87-106.

Froese, R. 2006. Cube law, condition factor and weight-length relationships: History, meta-analysis and recommendation. Journal of Applied Ichthyology, 22: 241-253.

George, R. H. 1997. Health problems and diseases of sea turtles. En: P.L. Lutz, y J. A. Musick (Eds.). The biology of sea turtles, CRC Press, Boca Raton, 363-385 pp.

Glazebrook, J. S. y Campbell, R. S. 1990. A survey of the diseases of marine turtles in northern Australia I. Farmed turtles. Dis. Aquat. Org., 9: 83.

Glazebrook, J. S., Campbell, R. S. & Thomas, A. T. 1993. Studies on an ulcerative stomatitis-obstructive rhinitis-pneumonia disease complex in hatchling and juvenile sea turtles, *Chelonia mydas* and *Caretta caretta*. Dis. Aquat. Org., 16: 133.

Grumbles, J., D. Rostal, J. Alvarado y D. W. Owens. 1990. Hematology study on the black turtle, *Chelonia agassizii*, at Playa Colola, Michoacán, México. En: Richardson, T. H., J. I. Richardson y M. Donnelley (Eds.). Proceedings of the

tenth Annual Workshop on Sea Turtle Biology and Conservation. NOAA, Technical Memorandum NMFS-SEFC-278, Miami. 235-237 pp.

González, S. 1987. “Estudio preliminar sobre la composición del zooplancton de la bahía de Maruata, Mich.” Tesis profesional. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, México, 94 p.

Hamman, M., C. J. Limpus y D. Wm. Owens. 2003. Reproductive cycles of males and females. En: Lutz, P. L., J. A. Musick y J. Wyneken. (Eds.). The biology of sea turtles. Volume II. CRC Press, Boca Ratón, 135-161 pp.

Hamann, M., C.S. Schäuble, T. Simon, S. Evans. 2006. Demographic and health parameters of green sea turtles *Chelonia mydas* foraging in the Gulf of Carpentaria, Australia. Endang. Species. Res., 2: 81–88.

Hampel, M. R., D. W. Robinson, W. Baverstock y K. Hyland. 2009. Haematology and biochemistry blood parameters of juvenile hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*). Wildlife Middle East. EUA, 4: 3-22.

Harder, J. D. y R. L. Kirpatrick. 1996. Physiological methods in wildlife research.

En: Bookhout, T. A. (Ed.). Research and Management techniques for Wildlife and Habitats. The Wildlife Society, U.S.A, 275–306 pp.

Harper, E.J. y B. Lowell 1998. Hematology values in a colony of Budgerigars (*Melopsittacus undulatus*) and changes associated with aging. J. Nutr., 128: 2639-2640.

Hasbún, C. R., A. J. Lawrence, J. Naldo, J. H. Samour y S. M. Al-Ghais. 1998. Normal blood chemistry of free-living green sea turtles, *Chelonia mydas*, from the United Arab Emirates. Comp. Haematol. Int., 8: 174-177.

Herbst, L. 2000. Enfermedades Infecciosas en Tortugas Marinas. En Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas. En: K. L. Eckert, K. A. Bjorndal, F. A. Abreu-Grobois, M. Donnelly (Eds.). UICN/CSE Grupo Especialista en Tortugas Marinas Publicación No. 4, (Traducción al español), 239-245 pp.

Herbst, L. H., E. C. Greiner, L. M. Ehrhart, D. A. Bagley y P. A. Klein. 1998. Serologic association between spirorchidiasis, herpesvirus infection, and fibropapillomatosis in green turtles (*Chelonia mydas*) from Florida. Journal of Wildlife Diseases, 34(3): 496- 507.

Herbst, L. H., L. L. Siconolfi-Baez, J. H. Torelli, P. A., Klein, M. J., Kerben y I. M. Schumacher, 2003. Induction of vitellogenesis by estradiol-17 and development of enzyme-linked immunosorbant assays to quantify plasma vitellogenin levels in green turtles (*Chelonia mydas*). *Comp. Biochem. Physiol., B*, 135: 551-563.

Hirayama, R.1998. Oldest know sea turtle. *Nature*, 392: 705-707.

Huilliver, G. 1840. On the blood corpuscles of cocodilia. *Proc. Zool. Sot. Lend.*, 8: 131-133.

Hunter M.L. 2001. *Fundamentals of conservation biology*. 2nd edition. Malden, MA: Blackwell Science, Inc. 486 p.

INEGI, 1985. Síntesis geográfica de Michoacán. INEGI, México.

IUCN, 2001. Union internacional para la conservación de la naturaleza y los recursos naturales. Categorías de Lista roja: version 3.1. Prepared by the IUCN Species Survival Comission. IUCN. Gland, Switzetlandand Cambridge, UK.

Jackson O.F. 1999. Quelonios. En: Beynon, Peter H. y Cooper, John E. (Eds.) *Manual de Animales Exóticos*. Hardcourt Brace de España, I: 247-271.

Jain N. C. 1993. *Essentials of veterinary hematology*. Ed. Lea & Febiger. Philadelphia, EU, 417 p.

Jessop, T. S., C.J. Limpus, y J.M. Whittier. 1999. Plasma steroid interactions during high-density green turtle nesting and associated disturbance. *General and Comparative Endocrinology*, 115: 90-100.

Jessop, T. S., J.Sumner, c.J. Limpus, y J.M. Whittier. 2004. Interplay between sex, body condition and plasma hormone profiles in juvenile Hawksbill turtles subjected to a capture stress protocol. *Journal of Comparative Physiology and Biochemistry, A*, 137:197-204.

Jones, R. E., R. J. Petrell y D. Pauly. 1999. Using modified length–weight-relationships to assess the condition of fish. *Aquacult. Eng.*, 20: 261–276.

Kakizoe, Y. K., F. Sakaoka, M. Kakizoe, M. Yoshi y H. Nakamura. 2007. Sucessive changes of hematologic characteristics and plasma. Chemistry values, of juvenile loggerhead turtles (*Caretta caretta*). *J. Zoo. Wildl. Med.*, 38 (1):77-94.

Kamezaki N y Matsui M 1995. Geographic variation in the skull morphology of the green turtle, *Chelonia mydas*, with a taxonomic discussion. *Journal of Herpetology* 29: 1-60

Karesh, W.B., W. Rothstein, H. Green, W. Reuter, A. Braselton y R.A. Cook. 1997. Health evaluation of free-ranging and hand-reared macaws (*Ara* spp.) in Peru. *Journal of Zoo and Wildlife medicine*, 28: 368-377.

Karl, S.A., B.W. Bowen, y J.C. Avise. 1992 Global population genetic structure and male-mediated gene flow in the green turtle (*Chelonia mydas*): RFLP analyses of anonymous nuclear loci. *Genetics*, 131: 163- 173.

Karl, S.A. y W.B. Bowen.1999. Evolutionary significant units versus geopolitical taxonomy: Molecular systematics of an endangered sea turtle (genus *Chelonia*). *Conservation Biology*, 13: 990-999.

Koch, V., L. Brooks y W. J. Nichols. 2007. Population ecology of the green/blackturtle (*Chelonia mydas*) in Bahía Magdalena, México. *Mar. Biol.*, 153(1): 35-46.

Kooalman, J.y K.H. Pöhm. 2004. *Bioquímica Texto y Atlas 3ª*. Ed. Madrid; Medica Panamericana, 492 p.

Ladrada-Martagón, V. 2010. Evaluación del estado de salud de la tortuga verde del pacífico oriental (*Chelonia mydas*) que habita en la costa de baja california sur, a través de biomarcadores fisiológicos. Tesis de doctorado. CIBNOR. La Paz Baja California, Sur. México, 269 p.

Labrada-Martagon, V. L.C. Mendez, S.C. Garder, M. Lopez, y T. Zenteno. 2010a. Health indices of the green turtle (*Chelonia mydas*) along the Pacific coast of Baja California Sur, Mexico. I. Blood biochemistry values. *Chelonian. Conserv. Biol.*, 9: 162–172.

Labrada-Martagón, V., L.C. Méndez-Rodríguez, Gardner, V.H. Cruz,T. Zenteno. 2010b. Health indices of the Green turtle (*Chelonia mydas*) along the Pacific coast of Baja California Sur, Mexico. II. Body condition index. *Chelonian. Conserv. Biol.*, 9: 173–183.

Lara U.M. 2010. Establecimiento de valores hematológicos y bioquímicos de las tortugas Carey (*Eretmochelys imbricata*) y blanca (*Chelonia mydas*), con y sin parásitos o fibropapiloma, que anidan en Yucatán”. Tesis de doctorado. Facultad de medicina veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán. México. 105 p.

Lopez-Mendilaharsu, M., S. C. Gardner y J. A. Seminoff. 2003. *Chelonia mydas agassizii* (East Pacific Green Sea turtle) Diet. *Herpetol. Rev.*, 34(2): 139-140.

Lopez S.C. y M.L. Sarti. 1992. Epibiontes y estado físico de las tortugas *Lepidochelys olivacea* y *Dermochelys coriácea* en el playón de Mexiquillo, Michoacán, durante la temporada de anidación 1988.1989; *Publ Soc Herpetol Mex.*, 2,1925- 1992.

Lowell A. 1998. Diagnostics procedures: hematology. En: A. Lowell (ed.) *The biology, husbandry and health care of reptiles.* EU, 703-713 pp.

Lutcavage, M.E. y P.L. Lutz. 1997. Diving Physiology. En: Lutz, J.A. and Musick, J.A., (Eds.) *The biology of sea turtles.* CRC Press, Boca Raton, Florida, USA 277-296 pp.

Mandl, L. 1839. Note ser les glovules sanguine de proote et des cocodiliens. *Am. Sci. Nat.*, 12 (2): 289-291.

Márquez, M.R. 1990. Sea Turtles of the world. An Annotated and Species Catalogue of Sea Turtle Species Known to Date. *FAO Species Catalogue, FAO Fisheries Synopsis*, 11(125).

Márquez, R. 1996. Las tortugas marinas y nuestro tiempo. 1era. Ed. Fondo de cultura económica. México.197 p.

Márquez, R. A. 2002. Las tortugas marinas y nuestro tiempo. La ciencia para todos, 3ª edición. Fondo de Cultura Económica, secretaría de Educación pública y Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, 197 p.

Medway W., J. Prier y J. Wilkinson. 1986. Patología clínica veterinaria. Ed Hispano Americana. México.536 pp.**Meffe G.K y C.R. Carroll. 1997.**Principles of conservation biology. 2nd edition. Sunderland, MA: Sinauer Associates, 673 p.

Mendoza, J. 1992. Mastofauna Silvestre de la región costera del estado de Michoacán. Tesis profesional. Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia Mich., 72 p.

Merilä, J. y E. Svensson, 1997. Are fat reserves in migratory birds affected by condition in early life? *Journal of Avian Biology*, 28, 279–286

Metcalf y Eddy. 1995. Ingeniería de las Aguas Residuales: Tratamiento, Vertido y Reutilización. Editorial McGraw-Hill, 505 p.

Milton, S.L. y P.L. Lutz. 2003. Physiological and Genetic Responses to Environmental Stress. En: Lutz, P.L., J.A. Musick & J. Wyneken (Eds). The Biology of Sea Turtles. Volume II. CRC Press, Roca Raton, 163-197 pp.

Mittermeir R.A. 1988. Primate diversity and the tropical forest: case studies from Brazil and Madagascar and the importance of megadiversity countries. En: Wilson E.O., (Ed.). Biodiversity Washinton (DC): National Academy Press, 145-154 pp.

Montilla A.J., J.L. Hernández y M.C. Alvarado. 2006. Valores hematológicos de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) presente en la Alta Guajira, 16: 219-226.

Montilla, F., R. Hernández, L. Jim, y M.C. Alvarado. 2008. Valores bioquímicos de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) presente en la alta guajira., Rev. C., 4: 431-436.

Moya-Laraño, J. 2002 Senescence and food limitation in slowly ageing spider. Functional Ecology, 16: 734–741.

Møller, A.P. y N.Saino.1994. Parasites, immunology of hosts, and host sexual selection. Journal of Parasitology, 80: 850–858.

Muñoz, T. F. A. 1997. Evaluación inmunológica de tortugas blanca cautivas (*Chelonia mydas*) con dermatitis ulcerativa. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de México, México, 67 p.

Mussart N.B., N.N. Barboza, S.A. Fioranelli, G.A. Kosaws y J.A. Coppo. 2006. Age, sex, year, season and handling system modif. The leukcytal parameters from captive caiman latirostris and caiman yacare (*Crocodylia: Alligatoridae*). Rev. Vet., 17 (1): 3-10.

Natt, M. P. y C.A. Herrick. 1952. A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. Poultry Science, 31(5): 236-238.

Nash, R. D. M., A. H. Valencia y A. J. Geffen. 2006. The origin of Fulton's conditionfactor, setting the record straight. Fisheries, 31(5): 236-238.

Navarro Ch. C. y G. Vargas. 1995. “La marginación por regiones en el estado de Michoacán (1970-1990)”. Coloquio Marginación y pobreza en las ciudades medias. Centro de Investigación y desarrollo del Estado de Michoacán. Escuela de Economía, Universidad Michoacán de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Mich.México Inédito, 94 p.

Diario oficial de la federación. 2010. NOM-059-SEMARNAT-2010. Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres- Categorías de

riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio- lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación.

Novoa, F.D., T.I. Benítez, M.J. Corredor y P.J. Rodríguez. 2008. Hallazgos hematológicos en Iguana verde sudamericana (*Iguana iguana*) de ejemplares ubicados en zona urbana y suburbana de Villavicencio (Meta). Orinoquia, 12(1): 67-79.

Orrego, C.M. 2002. Enfermedades de las tortugas. Refugio de Vida Silvestre Ostional (RNVSO), Área de Conservación Tempisque, Ministerio del Medio Ambiente y Energía (Minae). Costa Rica.

Owens, D. y G. Ruiz. 1980. New methods of obtaining blood and cerebrospinal fluid from marine turtles. Herpetol., 36: 17-20.

Pearce, D. J. 2006. The origin of human pathogens: evaluating the role of agriculture and domestic animals in the evolution of human disease. Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society, 81: 369-382.

Persing, D. H., T. F. Smith, F. C. Tenover y T. J. White.1993. Diagnostic molecular microbiology: principles and applications. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 641 p.

Prieto T. D., J.L. Hernández; A.R. Bravo, M. Alvarado, M. O. Dávila y J.S. Quiroz. 2012. Valores hematológicos de la población anidadora de tortuga verde (*Chelonia mydas*) en el refugio de fauna silvestre Isla de Aves, Venezuela. Redalib., 22(3): 273-280.

Primack, R. 1995. A primer of conservation biology . Sinauer- Sunderland. USA, 277 p.

Primack R.B. 2006. Essentials of conservation biology.Fourth Edition. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc., 530 p.

Pritchard, P.C. 1997. Evolution, phylogeny, and current status. En: L. Lutz y A.J. Musick (Eds.).The Biology of Sea Turtles. CRC Press, 1-28 pp.

Pritchard, P.C.1999. Status of the black turtle. Conservation Biology, 13: 1000-1003.

Pritchard, P. C. y J. A..Mortimer. 2000. Taxonomía, Morfología Externa e Identificación de las Especies. En: Eckert, K. L., K .A. Bjorndal, F. A. Abreu–Grobois y M. Donnelly. (Ed.). Técnicas de investigación y manejo para la

conservación de las tortugas marinas. Grupo de especialistas en tortugas marinas UICN/CSE Púb. (Traducción al español). USA., 23-41 pp.

Prieto T. D., J.L. Hernández; A.R. Bravo, M. Alvarado, M. O. Dávila y J.S. Quiroz. 2012. Valores hematológicos de la población anidadora de tortuga verde (*Chelonia mydas*) en el refugio de fauna silvestre Isla de Aves, Venezuela. Redalib., 22(3): 273-280.

Reavill, D. 2005. Selected topics en: reptile clinical pathology. Lecture given at the University of California, Davis Avian/ Exotic. animal Symposium. California.

Rebar AP, W. Mac y F. Metzeger. 2002. Manual de Hematología de perros y gatos. Multimédica S.A. Barcelona, España, 263 p.

Ricker, W. E. 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fishpopulations. Bull. Fish. Res. Board Can., 191: 1–382.

RodaK, B.F. 2005. Hematología, fundamentos y aplicaciones. Ed. Panamericana 2da. Edición. 856 p. México.

Rodés, J., J. Piqué, A. Trilla. El libro de la salud. Ed. Fundación BBVA. 1era. Edición. 784p. Bilbao.

Rostal, D. J., J.Alvarado, J. Grumbles y D. Owens. 1991. Observations on the reproductive biology of the black turtle, *Chelonia agassizii*, at playa Colola, Michoacan, México. En: T. Richardson, J. Richardson, M Donelly (Eds.). Proceedings of the 10th Annual Workshop on Sea Turtle concervación and biology, NOAA tech. Memo. NMFS-SEFC-278, Miami, Fl., 225-226 pp.

Saintgiron, M. C. 1970. Morphology of the circulating blood cells. En: C. Gans and T. S. Parsons (Eds.). Biology of the Reptilia, Academic Press, New York, 3: 73-91.

Santos-Baca, L. 2008. Evaluación de los hábitos de alimentación de la tortuga verde *Chelonia mydas* en Bahía Magdalena, BCS, México, utilizando la técnica de isótopos estables. Tesis de Maestría en Ciencias, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, México.

Samour, J.H, J.C. Howlett, C. Silvanose, C.R. Hasbún and S.M. Al-Ghais. 1998. Normal Haematology of Free-living Green Sea Turtles, *Chelonia mydas*, from the United Arab Emirates. Comp. Haematol. Inter., 8: 102-107.

Seminoff, J. A., W. J. Nichols, A. Resendiz y A. Galvan. 2000. Diet composition of the black sea turtle, *Chelonia mydas agassizii*, near Baja California, Mexico. En: Abreu-Grobois, F. A., R. Briseño-Dueñas, R. Márquez y L. Sarti. (Eds.). Proceedings of the 18th Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation. NOAA Tech. Memo NMFS-SEFSC-436, U.S. Miami, 166-168 pp.

Seminoff J.A., A. Resendiz y W.J. Nichols. 2002. Diet of East Pacific green turtles (*Chelonia mydas*) in the central Gulf of California, México. J. Herpetol., 36: 447–453.

Sifuentes I. 2004. Caracterización parcial de vitelogenina de *Chelonia mydas agassizii* y validación de un ensayo inmunoenzimático (ELISA) para su detección en plasma como potencial biomarcador de xenoestrógenos. Tesis de Maestría, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, México, 81 p.

Soule´ M.E y G.H. Orians. 2001. Conservation biology: research priorities for the next decade. Washington DC: Island Press, 307 p.

Stahl, S. J. 2006. Reptile hematology and serum chemistry. En: NAVC (Ed.). Small animal and exotics. Proceedings of the North American Veterinary Conference, NAVC, Orlando, Fl. USA, 20: 1673-1676.

Smolinski M. S., M.A., Hamburg y J. Lederberg. 2003. Microbial threats to health: emergence, detection, and response. The National Academies Press, Washington, DC., 367 p.

Stamper, M. A., C. Harms, S.P., Epperly, J. Braun-McNeill, L. Avens, M. Stoskopf. 2005. Relationship between barnacle epibiotic load and hematologic parameters in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*), a comparison between migratory and residential animals in Pamlico Sound, North Carolina. Journal of Zoo and Wildlife Medicine, 36: 635–641.

Stevenson, R.D. y W.A., Woods, 2006. Condition indices for conservation: new uses for evolving tools. Integrative and Comparative Biology, 46: 1169–1190.

Van Riper C., S.G. Van Riper y M.L. Goff. 1986. The epizootiology and ecological significance of malaria in Hawaii land birds. Ecol. Monogr., 56: 32-344.

Walsh, M. 2000. Rehabilitación de Tortugas Marinas. En: Eckert, K. L., K .A. Bjorndal, F. A. Abreu–Grobois y M. Donnelly. (Editors). Técnicas de investigación y manejo para la conservación de las tortugas marinas. Grupo de especialistas en tortugas marinas UICN/CSE Púb. No. 4. (traducción al español), 23-41 pp.

Wilmoth, K.A. 1994. Laboratory manual of reptilian hematology. 2nd Ed. Houston Zoological Gardens. USA, 14 p.

Whiting S., M. Guinea, C. Limpus y K. Fomiatti. 2007. Blood chemistry reference values for two ecologically distinct populations of foraging green turtles, Eastern Indian Ocean. *Comp. Clin. Pathol.*, 16: 109–118.

Wood, E.F y K. G. Ebanks. 1984. Blood cytology and hematology of the green sea turtle, *Chelonia mydas*. *Herpetologica*, 40(3): 331-336.

Wobeser, G.A. 2006. Essentials of disease in wild animals. *Journal of Wildlife Diseases*, 43(1): 145-149.

Work, T. M., R. E. Raskin, G. H. Balazs y S. D. Whittaker. 1998. Morphologic statistics of fish populations. *Bulletin of the blood cells from Hawaiian green turtles. AJVR.*, 59(10): 1252-1257.

WORK, T. W. 2000. Sea turtle necropsy manual for biologists in remote refuges. U.S. Geological Survey National Wildlife Health Center, Hawaii Field Station. 25 p.

Zuvieta, T., J. Alvarado y E. Valdivia. 1999. Cría y conservación de iguana verde. En la costa Michoacana el caso de Maruata. Universidad de Chapingo. 1era. Impresión, Morelia, Michoacán. México, 92 p.

Zuzan, A.G., M.F. Galindo y G. G. Ceballos, 2000. La importancia del estudio de enfermedades en la conservación de fauna silvestre. México: Departamento de etología y fauna silvestre Facultad de medicina y zootecnia Universidad Nacional Autónoma de México.