



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA SUR
AREA DE CONOCIMIENTO DE CIENCIAS DEL MAR
POSGRADO EN CIENCIAS MARINAS Y COSTERAS
(CIMACO).

TESIS

ESTADO DE SALUD Y MORTALIDAD – PATOLOGÍA Y MEDICINA FORENSE
DE LAS TORTUGAS MARINAS DEL PACIFICO DE BAJA CALIFORNIA SUR

QUE COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS MARINAS Y COSTERAS

PRESENTA:

JESÚS EDUARDO RESÉNDIZ MORALES

DIRECTORES:

DR. SERGIO F. FLORES-RAMÍREZ

DR. AMAURY CORDERO-TAPIA

LA PAZ, BAJA CALIFORNIA SUR, JUNIO DE 2015.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA SUR
Área de Conocimiento de Ciencias del Mar
Departamento Académico de Biología Marina
POSGRADO EN CIENCIAS MARINAS Y COSTERAS



DR. ENRIQUE A. GÓMEZ GALLARDO UNZUETA
JEFE DEL DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA MARINA
PRESENTE.

Los abajo firmantes, Miembros del Comité Académico Asesor del trabajo de tesis completamente terminado, titulado:
Estado de salud y mortalidad – Patología y Medicina Forense de las tortugas marinas del Pacífico de Baja California Sur.

Que presentó:

JESÚS EDUARDO RESÉNDIZ MORALES

Otorgamos nuestro voto **aprobatorio** y consideramos que dicho trabajo está listo para su defensa, a fin de obtener el **Grado de Doctor** en Ciencias Marinas y Costeras, con Orientación en Biología Marina.

Comité Académico Asesor:

Sergio Fro. Flores Ramirez
Nombre del Director

[Firma]
Firma

Amarty Cordero Tapia
Nombre de Director Externo

[Firma]
Firma

Juan R. Guzmán Poo
Nombre del Asesor

[Firma]
Firma

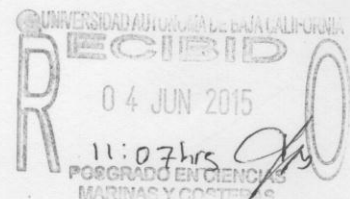
Dr. Hector Reyes Ballea
Nombre del Asesor

[Firma]
Firma

Dra. Ma. Mónica Lara Uc
Nombre del Asesor

[Firma]
Firma

c.c.p Expediente del alumno (CIMACO)



DEDICATORIA

De todas las estrellas del cielo elegimos a la que más brillaba, entonces el cielo se cayó y la vida nos dio su máxima bendición, tu...

A Derek “Huracán” Reséndiz

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Baja California Sur (UABCS) por la atención recibida y el apoyo brindado durante mi desarrollo en esta institución.

A Flor Janeth Huerta por absolutamente todo, no tengo palabras para agradecerte...

Al Dr. Amaury Cordero-Tapia y su familia por compartir sus conocimientos, por su amistad y apoyo incondicional durante mi formación.

Al Dr. Sergio Flores Ramírez por retomar el barco cuando se hundía y dirigir este trabajo, por compartir su experiencia, por tanta paciencia, su amistad y apoyo incondicional.

Al Dr. Juan Guzmán Poo por sus enseñanzas y apoyo durante este proceso.

Al Dr. Volker Koch y la M. en C. Azucena Alvarez por ser fundamentales en este documento de tesis.

A Agnese Mancini por compartir su experiencia, amistad y apoyarme siempre que se lo solicite.

A la familia De ta Toba: Don Vic, Doña Marisel, Soly, Xiomy etc... por adoptarme como un miembro más de su familia y su incondicional apoyo durante la realización de este trabajo.

A la Familia Romero Meza en San Juanico por su amistad y apoyo.

A Kuyima y a Emigdio en La laguna San Ignacio por las facilidades brindadas.

A Joaquín Rivera “ el R for” a Ramiro Zaragoza, Fabian Castillo y Martín Dominguez de la Empresa Exportadora de sal en Guerrero Negro, al Nan Zaragoza, Xavier Leon, Noe López, el Biologo Hector Toledo y Lorena Ventura de la Reserva de la Biosfera “el Vizcaíno” por su excelente labor, sin su participación no hubiera sido posible esta investigación.

A la Familia Hernández Quiroz en Guerrero Negro, gracias por todo ¡Los quiero!

Al Carapacho team: Agnese, Rob, Clara, Susie, ¡Gracias!

A la Dra. Monica Lara por sus aportes y apoyo.

A Jorge Guzmán y Ricardo Cavieses por compartir sus conocimientos, por su asesoría, su amistad y apoyo.

A todos mis amigos de La Paz.

A mi familia: mis padres, hermanos y sobrinos, que aunque estamos lejos geográficamente siempre están en el corazón... ¡los amo!

A mi tía Katy y Jose Alfredo quienes siempre me apoyan en la realización de mis sueños.

Al CONACYT por la beca otorgada para la realización de mis estudios de doctorado y al Earth Watch Institute por el financiamiento del proyecto.

¡Eternamente agradecido!

Índice	Página
Capítulo 1. Taxonomía, Biología y Estado de Conservación de Tortugas Marinas en Baja California Sur	1
1.1. Introducción	1
1.2. Características diagnósticas y Biología de <i>Chelonia mydas</i>	5
1.3. Características diagnósticas y Biología de <i>Lepidochelys olivacea</i>	7
1.4. Características diagnósticas y Biología de <i>Caretta caretta</i>	8
1.5. Características Diagnósticas y Biología de <i>Eretmochelys imbricata</i>	10
1.6. Características Diagnósticas y Biología de <i>Dermochelys coriacea</i>	12
1.7. Estado de Conservación de Tortugas Marinas en Baja California Sur.	14
1.8 Literatura Citada	16
Capítulo 2. Salud y Enfermedad en Tortugas Marinas de Baja California Sur: Análisis Comparativo Base	21
2.1. Introducción	21
2.1.1. Conceptos de Salud y Enfermedad aplicados a animales silvestres	21
2.2. Antecedentes	23
2.2.1. Enfermedades de tortugas marinas	23
2.2.2. Enfermedades de tortugas marinas en México.	25
2.2.3 Enfermedades de Tortugas marinas en Baja California	25
2.3 Justificación	27
2.4. Objetivos	29
2.4.1. Objetivo general	29
2.4.2 Objetivos específicos	29
2.5. Métodos dirigidos por objetivo	30
2.6 Resultados	37
2.6.1. Idoneidad de los estudios de salud y enfermedad de tortugas marinas en BCS: comparación con estudios de salud más amplios de amniotas marinos en libertad, determinantes de éxito y estrategia para optimizar los monitoreos de salud y enfermedad estas tortugas en BCS	37
2.6.2. Diagnóstico	41
2.6.3. Análisis de componentes principales para evaluar el poder de los parámetros hematológicos como indicadores de salud y enfermedad en <i>C. mydas</i> y <i>C. caretta</i>	42
2.7. Discusión y Conclusiones	54

2.8. Literatura citada	64
Anexos	72
Anexo 2.1. Análisis Hematológico	71
Anexo 2.2. Interpretación del Hemograma	73
Anexo 2.3. Análisis exhaustivo de trabajos de salud y enfermedad de tortugas marinas en el mundo	74
Anexo 2.4. Resultados de los exámenes Clínico y Hematológico de 29 <i>Chelonia mydas</i> de Laguna Ojo de Liebre BCS	77
Anexo 2.4.1. Resultados de los exámenes Clínico y Hematológico de 6 <i>Caretta caretta</i> de San Juanico BCS	78
Anexo 2.5. Unidades de expresión de las variables hematológicas de Tortugas marinas utilizadas en el mundo	79
Capítulo 3. Primer reporte de fibropapiloma asociado a herpesvirus en <i>Chelonia mydas</i> de Baja California Sur, México.	80
3.1. Introducción	80
3.2. Antecedentes	81
3.3. Justificación	82
3.4. Métodos	83
3.5. Resultados	84
3.6. Discusión y Conclusiones	90
3.7. Literatura citada	95
Capitulo 4. Mortalidad, Varamientos y Medicina Forense Veterinaria de tortugas marinas en Baja California Sur	101
4.1 Introducción y antecedentes	101
4.1.1 Pesca	102
4.1.2 Posibles causas de muerte de tortugas marinas en BCS	103
4.2 Medicina Forense Veterinaria	103
4.2.1 Escena del crimen	105
4.2.2. Estudios Patológicos en tortugas marinas de la costa de BCS	107
4.3. Justificación	109
4.4. Objetivos	109
4.4.1. Objetivo general	109
4.4.2. Objetivos específicos	109

4.3. Material y Métodos	110
4.3.1. Área de estudio (condiciones generales)	110
4.3.2 Metodología de censos de mortalidad	110
4.3.3 Metodología para los estudios de varamientos	111
4.3.4. Metodología de Medicina Forense Veterinaria	115
4.4 Resultados	116
4.5. Discusión y Conclusiones	122
4.6 Literatura citada	129

Índice de Tablas

Tabla 1.1. Clasificación de las familias de tortugas marinas.	2
Tabla 1.2. Clasificación de las tortugas de acuerdo a sus características generales y específicas.	2
Tabla 2.1. Contaminantes en 3 especies de tortugas marinas de BCS.	26
Tabla 2.2. Pasos generales para el examen físico común en animales domésticos, tomado como base para tortugas marinas en este estudio.	33
Tabla 2.3. Parámetros fisiológicos comúnmente revisados en mamíferos modificados para tortugas marinas.	35
Tabla 2.4. Conversión de los valores hematológicos seleccionados para el análisis de componentes principales y homogeneización en % y $\times 10^3/\text{mL}$ como unidades de expresión.	42
Tabla 2.5. Matriz de correlación de 6 variables hematológicas evaluadas de <i>C. mydas</i>	43
Tabla 2.6. Matriz de componentes principales de 6 variables hematológicas evaluadas en <i>Chelonia mydas</i> .	43
Tabla 2.7. Matriz de componentes principales y % de varianza y varianza acumulada resultante del análisis de 6 variables hematológicas indicadoras de estado de salud enfermedad en <i>C. mydas</i>	44
Tabla 2.8. Valores de la matriz de correlación de valores hematológicos de <i>C. caretta</i>	49
Tabla 2.9. Matriz de componentes principales sus valores propios, % total de varianza, Valor Propio Acumulado y porcentaje acumulado de varianza, resultante del análisis de 3 variables hematológicas en <i>C. caretta</i> .	49
Tabla 2.10. Matriz de componentes principales y % de varianza y varianza acumulada resultante del análisis de 3 variables hematológicas indicadoras de salud y enfermedad evaluadas en <i>Caretta caretta</i>	50

Tabla 4.1. Número de tortugas encontradas varadas muertas en el pacífico de BCS	116
Tabla 4.2. Clasificación del estado del cadáver	118
Tabla 4.3. Clasificación de la posible causa de muerte	119
Tabla 4.4. Alteraciones cadavéricas observadas tortuga <i>Caretta caretta</i> clasificada con cambios post mortem inmediatos (3)	120
Tabla 4.5. Alteraciones cadavéricas observadas en 18 tortugas clasificadas con cambios post mortem mediatos (4).	121
Tabla 4.6. Alteraciones cadavéricas observadas en 29 tortugas marinas clasificadas como caparazón y esqueleto (5).	121
Tabla 4.7. Alteraciones cadavéricas observadas en 52 tortugas marinas clasificados como caparazón solo (6).	121
Tabla 4.8. Alteraciones cadavéricas observadas en 87 tortugas marinas clasificados como caparazón solo (7).	121
Tabla 4.9. Discusión tortuga <i>Caretta caretta</i> clasificada como (3) (Cambios post mortem inmediatos).	124
Índice de Figuras	
Figura 1.1. Ciclo de vida de las tortugas marinas.	4
Figura 1.2. Características diagnósticas y Biología de <i>Chelonia mydas</i> .	5
Figura 1.3. Características diagnósticas y Biología de <i>Lepidochelys olivacea</i> .	7
Figura 1.4. Características diagnósticas y Biología de <i>Caretta caretta</i>	8
Figura 1.5. Características diagnósticas y Biología de <i>Eretmochelys imbricata</i>	10
Figura 1.6. Características diagnósticas y Biología de <i>Dermochelys coriacea</i>	12
Figura 2.1. Países y número de reportes referentes a algún aspecto de salud y enfermedad de tortugas marinas (1980 – 2014).	38
Figura 2.2. Reportes referentes al estudio de salud y enfermedades parasitarias, micóticas y neoplásicas de tortugas marinas.	39
Figura 2.3 Reportes internacionales de la evaluación de salud de tortugas marinas utilizando diversas herramientas diagnósticas.	40
Figura 2.4. Círculo de correlación para 6 variables hematológicas evaluadas en <i>C. mydas</i> de Hawái, Pacífico Mexicano, Caribe Mexicano y Los Emiratos Árabes Unidos definido (CP1 y CP2)	45

Figura 2.5. Círculo de correlación para 6 variables hematológicas evaluadas en <i>C. mydas</i> de Hawái, Pacífico Mexicano, Caribe Mexicano y Los Emiratos Árabes Unidos (CP1 y CP3).	46
Figura 2.6. Agrupación de 4 stocks de <i>C. mydas</i> de distintas zonas geográficas.	47
Figura 2.7. Agrupación de 6 valores hematológicos relacionados a la presencia de parásitos y tumores en 4 stocks de <i>C. mydas</i> de distintas zonas geográficas.	48
Figura 2.8. Círculo de correlación para 3 variables hematológicas evaluadas en <i>C. caretta</i> del Pacífico mexicano, el Atlántico, Japón y un centro de rehabilitación en España (CP1 y CP2).	51
Figura 2.9. Círculo de correlación para 3 variables hematológicas evaluadas en <i>C. caretta</i> del Pacífico mexicano, el Atlántico, Japón y un centro de rehabilitación en España (CP1 y CP3).	52
Figura 2.10. Agrupación de 3 valores hematológicos en 4 stocks de <i>C. caretta</i> de 4 distintas zonas geográficas.	53
Figura 3.1. Lesiones en forma de verrugas de 1x3 cm. en el vértice superior externo de la superficie ocular en una <i>C. mydas</i> .	84
Figura 3.2. Nodulaciones con morfología verrugosa en la superficie interna de la aleta trasera de una <i>C. mydas</i> .	84
Figura 3.3. Corte histológico de una nodulación con morfología verrugosa, muestreada de la base ventral de la aleta posterior trasera de una <i>C. mydas</i> .	85
Figura 3.4. Corte histológico de una neoplasia con morfología verrugosa, muestreada de la base ventral de la aleta trasera izquierda de una <i>C. mydas</i> .	85
Figura 3.5. Corte histológico de un fibropapiloma epitelial muestreado de la base ventral de la aleta trasera izquierda de una <i>C. mydas</i> .	86
Figura 3.6. Ultramicrografía de una célula mesenquimal de un fibropapiloma muestreado de la base ventral de la aleta trasera izquierda de una <i>C. mydas</i> .	87
Figura 3.7. Fotografía electrónica de una célula epitelial de Fibropapiloma de una <i>C. mydas</i> .	88
Figura 3.8. Ultramicrografía de un Fibropapiloma de una <i>C. mydas</i> .	88
Figura 3.9. Ultramicrografía de una célula epitelial de Fibropapiloma de <i>C. mydas</i> .	89
Figura 3.10. Fotografía electrónica del acercamiento de estructuras virales.	89
Figura 4.1. Áreas de estudio con los sitios de monitoreo	111

Figura 4.2. Mapa de la distribución de las tortugas encontradas varadas muertas en BCS, durante los censos que se llevaron a cabo desde Junio de 2010 hasta Mayo de 2011.	117
Figura 4.3. Clase de tallas en centímetros de <i>Caretta caretta</i> y <i>Chelonia mydas</i>	118

Capítulo 1. Taxonomía, Biología y Estado de Conservación de Tortugas Marinas en Baja California Sur.

1.1. Introducción

Las tortugas marinas presentan características propias de la clase Reptilia. Así sus extremidades se ubican laterales al cuerpo y tal disposición de estructuras óseas determinan que en tierra estas más bien se arrastren (Bellairs 1977), diferencia marcada respecto a los mamíferos, cuyas extremidades se ubican por debajo del plano anteroposterior, lo que implica un desplazamiento más eficiente con menor gasto de energía, pues el peso del cuerpo es soportado en gran parte por los huesos y no por músculos (Könin y Liebich 1994). Además, son organismos ovíparos (Carr 1987) para reproducirse las hembras depositan huevos en las playas, los que son incubados mediante la temperatura y humedad del nido entre otros factores (Carr y Meylan 1980).

Las tortugas marinas tienen la piel cubierta de escamas corneas. Su caparazón está constituido por placas óseas de origen dérmico, cuya superficie interna dorsal está fusionada a la columna vertebral y las costillas, siendo su función principal la protección de los órganos internos (Work 2000, Wineken 2004). Externamente, estas placas óseas están recubiertas por escamas de origen epidérmico (escudos) que añaden dureza y rigidez a una estructura llamada carapacho. El mismo puede ser liso, granuloso, rugoso o tener una combinación de todas estas características (Wineken 2000).

El carapacho se conecta a la parte ventral del animal denominada plastrón, mediante placas óseas duras, llamadas puentes laterales (Work 2000). El plastrón es una osificación dermal (generalmente está formado por 9 huesos) a la que se fusionan las clavículas e interclavículas (Wineken 2004).

Las tortugas marinas del mundo están incluidas en dos familias: *Cheloniidae* y *Dermochelyidae* (Tabla 1.1.) que incluyen seis géneros, siete especies y seis subespecies (Tabla 1.2.).

En la tabla 1.1. Se muestran las familias en las que se agrupan las tortugas marinas de acuerdo a Pritchard (1979) y Márquez (1990):

Tabla 1.1. Clasificación de las familias de tortugas marinas (Pritchard 1979 y Márquez 1990).

<i>TESTUDINES</i>	
<i>Cryptodira</i>	
<i>TESTUDINIOIDEA</i>	
1) <i>Chelydridae</i>	Tortugas lagarto dulceacuícolas
2) <i>Kinosternidae</i>	Tortugas casquitos dulceacuícolas
3) <i>Dermatemyidae</i>	Tortugas blancas dulceacuícolas
4) <i>Emyidae</i>	Terraplenes tortugas dulceacuícolas
5) <i>Testudiniidae</i>	Tortugas terrestres
<i>CHELONIOIDEA</i>	
6) <i>Cheloniidae</i>	Tortugas marinas con escudos
7) <i>Dermochelyidae</i>	Tortugas marinas sin escudos
<i>TRIONYCHIOIDEA</i>	
8) <i>Trionychidae</i>	Tortugas de concha blanda dulceacuícolas

En la Tabla 1.2. Se muestra la clasificación taxonómica de las tortugas marinas en la actualidad.

Tabla 1.2. Clasificación de las tortugas de acuerdo a sus características generales y específicas (Márquez 1996).

Clasificación	Característica
Reino <i>Animalia</i>	Poseen membrana nuclear y mitocondrias, carecen de cloroplastos y pared celular, se reproducen por fecundación y su desarrollo incluye el proceso de meiosis, digestión interna y sistema nervioso.
Phylum <i>Chordata</i>	Espina dorsal osteofibrocartilaginosa en forma de tallo longitudinal, que constituye la porción posterior e inferior del esqueleto axial situada la cabeza, pasando por la parte media y posterior del caparazón.
Sub-Phylum Vertebrata	Sistema óseo con huesos articulados entre sí. El esqueleto define el plan corporal y brinda soporte dinámico, colaborando en los movimientos corporales, mediante puntos de anclaje para los músculos. Contiene y protege los órganos internos y es un almacén metabólico. Funciona como amortiguador de concentración e intercambio de calcio y fosfatos.
Súper-Clase <i>Tetrápoda</i>	Tienen cuatro aletas.
Clase <i>Reptilia</i>	Depositán huevos cleidoicos que no dependen del agua como ambiente circundante para su desarrollo, tienen pulmones y respiración aérea y un cuerpo cubierto de escamas.
Orden <i>Testudines</i>	Gran parte del cuerpo está protegida por un caparazón óseo. La columna vertebral es reducida, no tienen dientes. Poseen pico aserrado de queratina.

Las tortugas marinas tienen un cuerpo compacto (hidrodinámico); lo que determina un desplazamiento rápido y energéticamente eficiente en el agua (Mccelland y Read 2007). Son organismos que realizan movimientos migratorios que llegan a abarcar miles de kilómetros. Se estima que durante la migración la tortuga caguama (*C. caretta*) puede alcanzar una velocidad en el agua de entre 20 a 40 Km/día, y puede incrementarse hasta 80Km/día en áreas de corrientes (Stoneburner 1982), Mientras que las tortugas verdes (*C. mydas*) pueden alcanzar velocidades de 1.5 a 3 kilómetros por hora (Luschi *et al.* 1998). Distintas especies de tortugas marinas tienen diferentes capacidades para contener la respiración (apnea) durante su inmersión. Si están en reposo pueden permanecer sumergidas de cuatro a cinco horas. Capacidad que se reduce a una hora o menos cuando están en movimiento (Moon *et al.* 1997). Especialmente cuando nadan rápidamente, debido al estrés, la búsqueda de alimento o huida de depredadores (Standora *et al.* 1990).

El ciclo de vida de las tortugas marinas inicia cuando eclosionan dentro del nido de arena, para emerger del mismo. De inmediato, las crías abandonan la playa donde nacen para iniciar la fase pelágica de su ciclo vital (Carr 1987), en la que flotan pasivamente durante un año o más en los principales sistemas de corrientes oceánicas que les sirven de zonas de crecimiento (Carr y Meylan 1980), donde comúnmente se asocian con objetos flotantes y desechos los que sirven como atrayentes de sus recursos alimenticios y refugio contra depredadores (Nichols *et al.* 2001). La mayoría de las especies eventualmente migran a hábitats costeros ricos en recursos alimenticios, donde forrajean (pastan) y crecen hasta alcanzar la madurez (Figura 1.1., Musick y Limpus 1997, Seminoff *et al.* 2002a).

Ciclo de vida

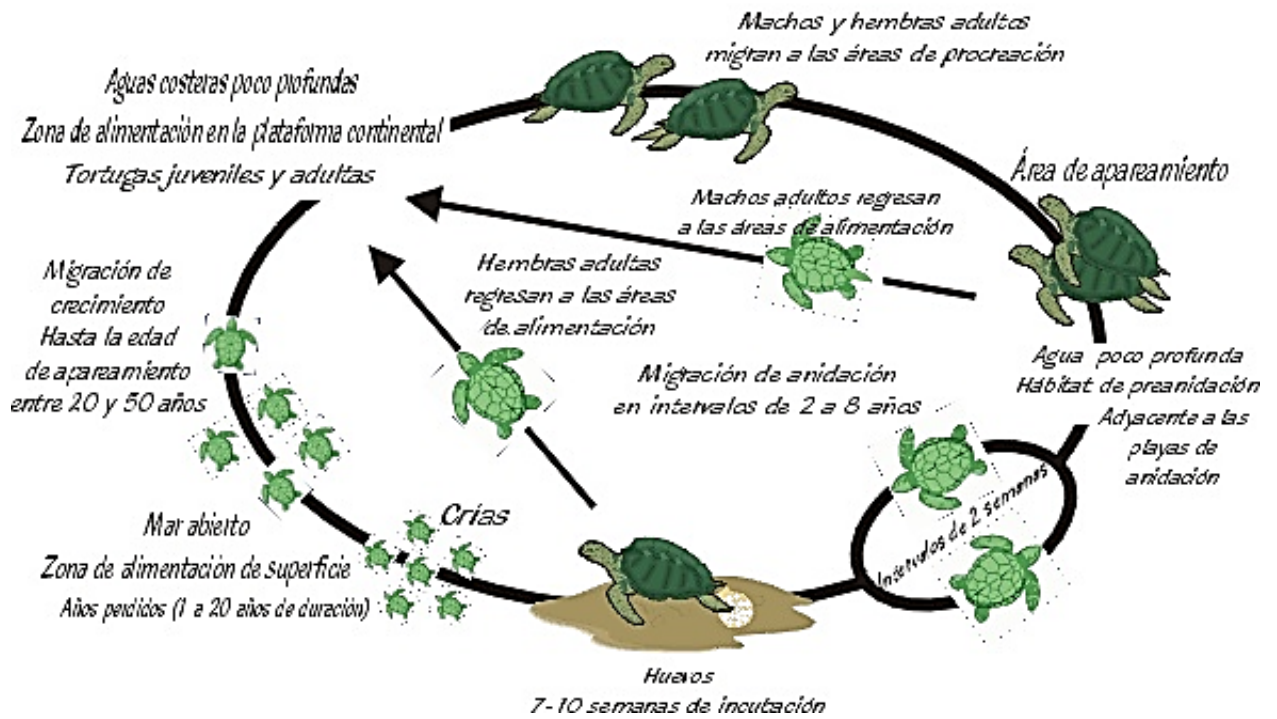


Figura 1.1. Ciclo de vida de las tortugas marinas (Karumbe, 2010).

Dependiendo de la especie, las tortugas marinas pueden alcanzar la madurez sexual entre los 10 y 15 años (Chaloupka y Musick 1997). En estado adulto las tortugas marinas presentan un ciclo reproductivo que comprende su agregación en zonas de alimentación (las que a menudo son costeras) donde en general coinciden con tortugas juveniles (Seminoff *et al.* 2002b). Y su migración reproductiva hacia las costas de apareamiento y playas de anidación y nacimiento que implica atravesar amplias regiones pelágicas y cuyo trayecto puede extenderse miles de kilómetros (Nichols *et al.* 2000, Nichols 2003a).

1.2. Características diagnósticas y Biología de *Chelonia mydas*

Las características diagnósticas de la tortuga negra se resumen en la Fig. 1.2.


Morfología	<p>Cabeza: Mediana y chata, con un par de escamas prefrontales, pico córneo filoso y aserrado en sus bordes.</p> <p>Caparazón: Oval lateralmente escotado en el tercio posterior. Con 13 escudos mayores yuxtapuestos: cinco costales y cuatro pares laterales, el par anterior no está en contacto con el escudo precentral. Plastrón: Con cuatro escudos inframarginales en cada puente, sin poros. Con una uña en el borde anterior de cada aleta.</p>	
Color	<p>Crías: Dorsalmente de color café oscuro casi negro, con márgenes muy claros, ventral color crema, casi blanco con las puntas de las aletas oscurecidas.</p> <p>Adultos: Dorso casi negro, brillante (verdoso mate cuando tienen crecimientos de algas verdes filamentosas), con manchas de tono gris verdoso jaspeado, en forma radial o irregular; en ocasiones de colores brillantes verdes, cafés, amarillentos y rojizos (juveniles y subadultos); la cabeza y las aletas casi siempre son negras. Ventralmente van del crema al gris verdoso, por lo general con manchas difusas e irregulares color azul-verdoso, más oscuras en las aletas.</p>	
Dimensiones	<p>Nidos: El no. de huevos varía de 47 a 145. Promedio: 75. Huevos: diámetro Promedio: 41.6 mm. Peso: de 39.6 g.</p> <p>Crías: longitud media del caparazón: 46.6 mm. Peso: 21.8 g.</p> <p>Adultos: longitud del caparazón (largo recto): 70.5 a 96.0 cm. Promedio: 77.5 cm.</p> <p>Tortugas prietas en BCS: 77.3 cm Largo Curvo (Seminoff et al. 2002b). Peso: 36.4 a 126 kg. promedio: 52.2 kg.</p>	
Distribución	<p>Desde el centro de la península de Baja California y el Golfo de California, hasta el norte de Perú, con áreas de concentración en el Golfo de California, centro de México (de Michoacán al Istmo de Tehuantepec), El Salvador-Nicaragua (Golfo de Fonseca), el suroeste de Colombia, Ecuador (Islas Galápagos y zona Continental) y en el norte de Perú (Península de Paracas). Anida en Michoacán (Colola y Maruata), así como en Revillagigedo, Islas Galápagos (Ecuador), el Golfo de Fonseca en el Salvador e isla de Cañas Panamá y posiblemente en las islas de Cocos, Costa Rica y Malpelo, Colombia. En temporadas muy cálidas pueden observarse hasta Columbia, Canadá y Coquimbo Chile.</p> <p>Época de reproducción: De julio a octubre-noviembre.</p>	

Figura 1.2. Características diagnósticas de la tortuga *Chelonia mydas* (Prieta, negra, verde, agassizzii (Modificado de Márquez 1996).

Las tortugas prietas *C. mydas* (Fig. 2) que se distribuyen en B.C.S. provienen en mayoría de playas de anidación en Michoacán, Islas Revillagigedo (Nichols *et al.* 2000, Nichols 2003b) y Hawái (Dutton 2003). Seminoff *et al.* (2002a) indican que la agregación local está formada tanto por juveniles como por adultos. Las tortugas prietas se alimentan durante el día y la noche, de invertebrados (*Ptilosarcus undulatus*), liebres marinas (*Aplysia* spp.), esponjas (Porifera), medusas y huevos de gasterópodos (Seminoff *et al.* 2002c) además forrajean algas rojas, principalmente *Gracilaria lemaneiformis* y *G. Robusta* (Seminoff *et al.* 2003b) y adicionalmente, otras especies de algas marinas como *Gigartina* sp., *Chaetomorpha* sp., *Ulva lactuca* y *Codium* sp. (Rodríguez-Baron *et al.* 2011).

Actualmente la tortuga prieta está clasificada como en peligro de extinción por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (en adelante IUCN, por sus siglas en ingles) y está incluida en el Apéndice 1 de La convención Internacional de Tráfico de Especies Amenazadas (CITES). La población anidadora en la principal playa de puesta en Michoacán fue estimada en ~25,000 hembras por año a inicios de la década de 1970, pero para la década de 1990, ésta ya había sido diezmada a menos de 500 hembras (Alvarado-Díaz *et al.* 2001). Hoy en día los estudios sobre su población indican que se ha recuperado de manera satisfactoria (Delgado-Trejo 2012).

1.3. Características diagnósticas y Biología de *Lepidochelys olivacea*

Las Características diagnósticas de la tortuga golfina se resumen en la Fig. 1.3.


Morfología	<p>Cabeza: Con dos pares de escamas prefrontales, pico córneo sin sierra en sus bordes, pero con un reborde alveolar interno.</p> <p>Caparazón: casi circular, los márgenes ligeramente levantados; con más de 15 escudos mayores: 5-7 dorsales y 5-7 pares laterales, el par anterior está en contacto con el escudo precentral. Cada puente del plastrón con cuatro escudos inframarginales, cada uno con un poro muy conspicuo en su margen posterior, que es la abertura de la glándula de Rathke. Tiene una o dos uñas en el borde anterior de cada aleta.</p>	
Color	<p>Crías: Dorsal y ventral de color gris oscuro a negro; en ocasiones el caparazón y aletas presentan un delgado borde amarillento.</p> <p>Adultos: dorsal van del olivo-gris al olivo-amarillento, generalmente limpias de epibiontes; cabeza y aletas del mismo color.</p> <p>Ventral van del crema al gris verdoso claro, con manchas oscuras en los extremos de las aletas. Los flancos del cuello a veces ligeramente amarillentos o rosáceos.</p>	
Dimensiones	<p>Nidos: El no. de huevos varía de 54 a 189. Promedio: 110.6.</p> <p>Huevos: diámetro promedio: 39.7 mm. Peso: 34.2 g.</p> <p>Crías: longitud media del caparazón: 43.5 mm. Peso: 16.2 g.</p> <p>Adultos: longitud del caparazón (largo recto): de 51 a 78cm. promedio: 67.6 cm.</p> <p>Tortugas golfinas en BCS: promedio 62.2 (Márquez 1996).</p> <p>Peso: 33 a 52 kg. Promedio: 38.1 kg.</p>	
Distribución	<p>Es la especie más abundante. En el Pacífico oriental se distribuye del noroeste de Baja California y Golfo de California a Chile (Arica, Iquique y Quintero). Se concentra en ciertas áreas de Baja California, sur de Sinaloa, Michoacán, Guerrero y Oaxaca. También en Guatemala, El Salvador, Nicaragua y Costa Rica, la que con México, tiene las poblaciones reproductoras más importantes de América. Entre Panamá y Colombia convergen gran parte de estas colonias para alimentarse. La anidación en la costa americana va de julio a febrero, con máximos en septiembre u octubre.</p> <p>Hábitos reproductivos: Formar arribadas de 2 o 3 noches de hasta 100,000 individuos. Las playas de anidación más importantes en el Pacífico son La Escobilla y Morro Ayuta, Oaxaca, y Ostional y Nancite en Costa Rica.</p> <p>Su alimentación es diurna y la realizan en aguas someras sobre todo de organismos bentónicos; durante las migraciones se alimentan también de organismos pelágicos.</p>	

Figura 1.3. Características diagnósticas de la tortuga *Lepidochelys olivacea* (Golfina, lora, oliva (Modificado de Márquez 1996).

L. olivacea es la tortuga marina más pequeña del Océano Pacífico, en general alcanza solo 70 cm de LC y llega a pesar un máximo de 45 kg; En BCS las tallas varían de 46.1 a 65.8 cm de LC, lo que indica que esta agregación incluye juveniles y adultos (Seminoff 2000). En el noroeste de México, la tortuga golfina tiene sus principales zonas de anidación en BCS en los Cabos (López-Castro *et al.* 2004), y cercanías de Mazatlán, Sinaloa, esta tortuga es omnívora. Se alimenta de cangrejos, camarones, langostas, vegetación marina, algas, caracoles, peces y pequeños invertebrados (Márquez 1996). La tortuga golfina se considera vulnerable por la IUCN y CITES (Apéndice 1), sin embargo se estima que sus poblaciones están en franca recuperación en el sur del país (Márquez *et al.* 1996, Delgado-Trejo 2012, Márquez *et al.* 2002).

1.4. Características diagnósticas y Biología de *Caretta caretta*

Las características diagnósticas de la tortuga amarilla se resumen en la Fig. 1.4.


<p>Morfología</p>	<p>Cabeza: grande, con dos pares de escamas prefrontales, pico córneo muy grueso.</p> <p>Caparazón: cardiforme, cubierto con 15 escudos mayores yuxtapuestos: cinco dorsales y cinco pares laterales, el par anterior está en contacto con el escudo precentral.</p> <p>Plastrón: con tres escudos inframarginales en cada puente, sin poros; dos uñas en el borde anterior de cada aleta.</p>	
<p>Color</p>	<p>Crías: Son de color café oscuro con márgenes claros, excepto las quillas del plastrón, que son más claras.</p> <p>Adultos: Dorsalmente son café-rojizos, con manchas irregulares claras y oscuras, flancos color naranja y parte ventral cremosa. Generalmente presentan epibiontes en abundancia.</p>	
<p>Dimensiones</p>	<p>Nidos: El no. de huevos varía de 40 a 179 huevos, promedio: 104.1. Huevos: diámetro promedio: 39.6 mm. Peso: 40.8 g.</p> <p>Crías: longitud media del caparazón: 43.6 mm. Peso: 20.7 g.</p> <p>Adultos: Longitud del caparazón (Largo curvo): 72.89 a 103.9 cm Promedio: 91.9 cm. Tortugas Amarillas que frecuentan la costa de BCS: 89.0 cm LC. Peso: 65.7 a 107 kg. Promedio: 80 kg.</p>	
<p>Distribución</p>	<p>Se encuentra en aguas costeras tropicales y subtropicales. Marcadamente migratoria. En el Pacífico su época de reproducción va de Junio-septiembre, anida en Japón. En el Pacífico, forma agregaciones de varios cientos de juveniles y subadultos alimentándose de organismos pelágicos al suroeste de BC (entre 1 y 20 km o más de la costa) y dentro del Golfo de California, en aguas profundas (abril –septiembre).</p>	

Figura 1.4. Características diagnósticas y Biología de la Tortuga Caguama *Caretta caretta* (Caguama, perica, amarilla, boba, cabezona) (Márquez 1996).

La tortuga amarilla (Fig. 1.4) realiza una extensa migración durante su desarrollo, la cual inicia en las playas de anidación en Japón (Bowen *et al.* 1995). Después de pasar años alimentándose en el Pacífico Oriental, estas tortugas regresan a las playas donde nacieron para reproducirse y permanecer en el Pacífico Occidental a pasar el resto de su ciclo de vida (Nichols *et al.* 2000, Peckham y Nichols 2003).

En el Golfo de California las tortugas amarillas se establecen en aguas costeras al alcanzar de 30 a 40 cm de Largo Curvo (LC), y cambian su dieta a base de invertebrados bentónicos (Reséndiz *et al.* 1999), mientras que las más grandes tienden a encontrarse dentro de las lagunas (LC = 43.5–92.7 cm LC; Seminoff *et al.* 2004).

Son básicamente carnívoras, con mandíbulas muy poderosas las cuales le permiten destrozarse las conchas y caparazones de moluscos, crustáceos y otros invertebrados que viven en el lecho del mar. Durante los meses de verano un gran número de tortugas *C. caretta* juveniles y subadultas suelen congregarse a lo largo de la costa del pacífico de B.C.S. (Golfo de Ulloa) presumiblemente para forrajear hasta alcanzar la madurez sexual y migrar de regreso a Japón para reproducirse (Nichols 2003, Peckham *et al.* 2008). Con base en los tamaños de las hembras que anidan en Japón (LC = 89.0 cm; Uchida y Nishiwaki 1982), la población de tortuga amarilla en BCS está compuesta principalmente de juveniles y subadultos con sólo algunos adultos ocasionales (Seminoff *et al.* 2002b, Peckham *et al.* 2008).

La tortuga amarilla se encuentra enlistada como en peligro de extinción por la IUCN y en el Apéndice I de CITES, y se está convirtiendo en la especie de tortuga marina más amenazada del Océano Pacífico debido a que es ampliamente capturada incidentalmente por pesquerías marinas (Peckham *et al.* 2008, Koch *et al.* 2013). Se estima que el stock de tortuga amarilla en Japón (origen de todas las tortugas de esta especie de BCS) en la década del 2000 tiene alrededor de 1000 hembras que anidan cada año (Kamezaki *et al.* 2003).

1.5. Características Diagnósticas y Biología de *Eretmochelys imbricata*

Las características diagnósticas de la tortuga carey se resumen en la Fig. 1.5.


Morfología	<p>Cabeza: mediana y estrecha, con dos pares de escamas prefrontales; pico córneo filoso, angosto, sin sierra en sus bordes.</p> <p>Caparazón: Entre cardiforme y elíptico, según la edad; cubierto con 13 escudos mayores imbricados: cinco dorsales y cuatro pares laterales; el par anterior no está en contacto con el precentral.</p> <p>Plastrón: con cuatro escudos inframarginales, en cada puente, sin poros; dos uñas en el borde anterior de cada aleta.</p>	
Color	<p>Crías: dorsalmente son de color café oscuro con márgenes claros; la parte ventral del mismo color, presenta manchas más claras. Con las puntas de las aletas generalmente más oscuras.</p> <p>Adultas: Los escudos dorsales presentan brillantes manchas jaspeadas en forma radial, cafés, amarillentas y rojizas. La cabeza y las aletas son más oscuras que el resto del cuerpo y generalmente sus escamas presentan un borde blanco amarillento. Ventralmente van del color crema al blanco amarillento.</p>	
Dimensiones	<p>Nidos: El no. de huevos varía de 71 a 223. Promedio: 142.6. Huevos: diámetro Promedio: 36.4 mm Peso: 28.8 g.</p> <p>Crías: longitud media del caparazón: 41.3 mm. Peso: 14.9 g.</p> <p>Adultos: Longitud del carapacho (Largo recto): 71.3 a 114cm, promedio: 82.2 cm.</p> <p>Tortugas Carey en BCS: 68.6 cm (Seminoff et al. 2002). Peso: 35.6 a 85 kg, promedio: 53.9 kg.</p>	
Distribución	<p>Se encuentra solitaria o en pequeños grupos alrededor de casi todas las costas rocosas y coralinas continentales e insulares.</p> <p>Su área de distribución está circunscrita principalmente entre las latitudes 25° norte y 35° sur.</p> <p>Es la más costera de todas las especies y vive en aguas particularmente claras, con abundante fauna bentónica, arrecifes coralinos y mantos de algas o zacates marinos.</p> <p>La anidación la efectúan durante la noche. La época de reproducción en México va de abril a julio o agosto.</p> <p>En México las zonas más importantes de reproducción se encuentran en el Golfo de México, en el Pacífico se informa de anidaciones de cierta importancia en zonas insulares particularmente aisladas, como islas Revillagigedo y Tres Marías.</p>	

Figura 1.5. Características diagnósticas de la Tortuga *E. imbricata* (Carey) (Márquez 1996).

E. imbricata tiene una dieta exclusiva de esponjas (Seminoff *et al.* 2003c). La talla de las tortugas de carey en B.C.S. indica que esta agregación esta compuesta por juveniles y subadultos (Seminoff *et al.* 2003b). Aunque son escasos los datos sobre anidación de tortugas de carey en el pacífico oriental, su presencia en los hábitats costeros de la Península de Baja California sugiere que esta especie continua anidando cerca de estas áreas (Seminoff *et al.* 2003a).

Las islas Marías, localizadas en el Pacífico Mexicano a unos 600 km del extremo sur de la Península de Baja California, pueden también seguir teniendo actividades de anidación de las tortugas carey (Márquez 1996). Es evidente la necesidad de información genética de tortugas en zonas de anidación y alimentación para deducir la estructura de la población de tortugas carey y sus movimientos en el Pacífico Oriental. Actualmente se encuentra enlistada como en crítico peligro de extinción por la IUCN e incluida en el Apéndice I de CITES.

1.6. Características Diagnósticas y Biología de *Dermochelys coriacea*

Las características diagnósticas de la tortuga Laud se resumen en la Fig. 1.6.


Morfología	<p>Cabeza: Pequeña, pico córneo filoso, delgado, con dos cúspides en la parte frontal superior y una en la inferior, que de frente dan la apariencia de una W.</p> <p>Cuerpo fusiforme, desprovisto de escudos córneos, cubierto por una piel coriácea gruesa y adiposa. El carapacho abarca aprox. la mitad de la longitud total. Consta de siete quillas longitudinales dorsales. Aletas grandes, sin uñas, las aletas posteriores se unen a la cola mediante la delgada membrana crural.</p> <p>Anatomía y fisiología: presenta vascularización en los huesos largos similar a la de mamíferos, la piel es muy gruesa e impregnada de aceite, y permite mantener una temperatura interna superior en varios grados a la ambiente. Boca y garganta están cubiertas de papilas espinosas dirigidas hacia atrás, que favorecen la ingesta de medusas y calamares.</p>	
Color	<p>Crías: son negras dorsal y ventralmente, su piel está cubierta por una fina retícula escamosa, con pequeñas manchas blancas dispuestas en líneas a lo largo de las quillas y alrededor de las aletas. El pico y los flancos del cuello son más claros.</p> <p>Juveniles: casi siempre más claros, con manchas blancas siguiendo los bordes de las quillas. Cuando están fuera del agua a veces adquieren tonalidades rosadas en los flancos cerca del cuello y en las aletas.</p> <p>Adultos: son negros con manchas blancas en todo el cuerpo, pero más abundantes hacia la parte ventral, que puede ser casi blanca. Las hembras presentan una mancha rosada en la parte superior de la cabeza.</p>	
Dimensiones	<p>Nidos: varían de 55.2 a 147.7 huevos: promedio: 72.9. Huevos: diámetro promedio: 52.3 mm Peso: 77.6 g</p> <p>Crías: Longitud del caparazón promedio: 58.4 mm Peso: 42.4 g.</p> <p>Adultos: longitud de carapacho (largo recto): 130.8 a 256 cm, promedio: 146.5 cm. Peso: 150 a 1069 kg, promedio: 394 kg.</p>	
Distribución	<p>Esta especie esta adaptada para soportar aguas más frías. Se distribuye ampliamente en aguas tropicales y templadas. En el Pacífico Oriental, desde Alaska (Mar de Bering) hasta Chile. Se presenta con mayor abundancia en sus zonas de reproducción y alimentación, en la costa suroeste de Baja California y frente a Michoacán, Guerrero y Oaxaca, en México; también en Guatemala, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica y Panamá. El golfo entre Panamá y Colombia y la región norte del Perú, son áreas importantes donde se alimenta. En el Pacífico americano la anidación se desarrolla de octubre a febrero o marzo, con un máximo entre diciembre y enero.</p> <p>Las playas más importantes de anidación son: Mexiquillo, Michoacán; Tierra Colorada, Guerrero; Chacahua y Barra de la Cruz, Oaxaca; playa Naranjo, Costa Rica. En altamar forma pequeñas flotillas; generalmente se observan nadando en zonas donde se congregan organismos que les sirven de alimento.</p>	

Figura 1.6. Características diagnósticas de *Dermochelys coriacea* (Laud, Baula, siete filos, tinglar) (Márquez 1996).

La tortuga laúd es uno de los vertebrados más grandes que habitan en los océanos del mundo y por lo tanto es considerada la especie de tortuga más grande que existe, su carapacho alcanza más de 2 m de longitud y se estima que su peso corporal puede llegar hasta 800 kg (Grismer 2002). Es el único miembro de la familia *Dermochelyidae*, cuya existencia se remonta a más de 100 millones de años. Su existencia es más pelágica que la de cualquier otra especie de tortuga, su alimentación se basa en el consumo de medusas y otros organismos gelatinosos del megaplancton asociados con la capa de difusión profunda mar adentro (Eckert *et al.* 1989). Su gran tamaño y contenido de grasa corporal les proporciona una considerable inercia térmica que evita que se enfríen excesivamente o se sobrecalienten. Esta termorregulación, parecida a la de los organismos endotérmicos y conocida como “gigantotermia” (Paladino *et al.* 1990) permite a las tortugas laúd acceder a recursos alimenticios de aguas frías que resultan inaccesibles para otras especies de tortugas.

Las tortugas laúd anidan a lo largo de la costa del Pacífico Occidental desde México a Costa Rica, y en la región de Los Cabos de Baja California cerca de Todos Santos (Fritts *et al.* 1982, Seminoff 1994, Spotilla *et al.* 2000). En el Pacífico Oriental se alimentan desde Chile hasta Alaska incluyendo el Golfo de California. Localmente se le conoce como siete filos o laúd, en BCS existen muy pocos datos disponibles sobre la morfología y fisiología de estas tortugas pero se estima que miden entre 113-156 cm de largo curvo (LCC) (Seminoff *et al.* 2002c). Con base en el promedio del LCC de las tortugas que anidan en otras playas de México de 143.8 cm, el rango estimado, indica que la población de tortugas Laud en la península corresponde tanto a juveniles como a adultos.

La tortuga Laud se considera como en crítico peligro de extinción por la IUCN e incluida en el Apéndice I de CITES.

1.7. Estado de Conservación de Tortugas Marinas en Baja California Sur.

La alta productividad y diversidad de hábitats costeros y marinos de la Península de Baja California, proporcionan alimento y protección para cinco de las siete especies de tortugas marinas que existen en el mundo durante las diferentes etapas de su ciclo de vida (Seminoff *et al.* 2002c). La tortuga prieta o negra (*C. mydas*), la tortuga caguama, boba, cabezona ó amarilla (*C. caretta*), la tortuga golfinia (*L. olivacea*), la tortuga de carey (*E. imbricata*) y la tortuga siete filos, baula o laúd (*D. coriacea*) (Márquez 1996), mismas que están bajo un régimen de protección nacional e internacional en los listados de estado poblacional de tres organizaciones reconocidas: la Unión Mundial para la Conservación (IUCN, por sus siglas en inglés), el Acta de Especies en Peligro de los Estados Unidos (USESA), y la Convención sobre Comercio Internacional de Flora y Fauna (CITES).

La salud de las tortugas marinas es un componente importante en la conservación, aunque a menudo se pasa por alto, al igual que los seres humanos y los animales domésticos, las tortugas marinas son susceptibles a enfermedades infecto contagiosas y no contagiosas que pueden causar morbilidad y mortalidad. En poblaciones saludables de tortugas y en algunas especies, es el control natural de la población o para contribuir a la salud genética de esta (Aguirre *et al.* 2009). Lamentablemente, la morbilidad y mortalidad de tortugas marinas se está volviendo cada vez importante con el cambio global inducido por el hombre, y puede tener como consecuencias la pérdida de poblaciones e incluso especies.

La pérdida del hábitat, la degradación y sobreexplotación de las especies pueden poner a las tortugas marinas en mayor riesgo de propagación de enfermedades a través de diversos factores tales como, el contacto con otras poblaciones, otras especies o contaminantes ambientales. Recientemente se han documentado ampliamente diversas preocupaciones de salud de las tortugas marinas y aunque se han realizado grandes esfuerzos para la prevención y control de enfermedades aún no se ha logrado.

Otro factor de riesgo al que se enfrentan las tortugas marinas es la toxicidad de los contaminantes ambientales los cuales pueden causarles daños graves o de largo plazo, como se ha visto con el papel de los pesticidas y organoclorados.

Si bien la salud de las tortugas marinas es una preocupación creciente para la comunidad de conservación, el conocimiento científico en torno a los riesgos para la salud en general para estas especies todavía es limitado, tal es el caso de las mortandades que han sido diagnosticadas con poca frecuencia.

Lo descrito justifica el desarrollar un trabajo como este , que busca establecer la línea base de información respecto al estado de salud y causa de muerte de los individuos de las especies que experimentan impactos antropogénicos importantes en el litoral de Baja California Sur (B.C.S.) basándose en monitoreos permanentes de la salud de los quelonios, los cuales proporcionan información trascendental para su conservación, como el caso de la detección temprana de amenazas y enfermedades.

Estos monitoreos permiten realizar intervenciones rápidas para evitar la propagación de enfermedades, asimismo favorecen a la detección de una especie enferma que puede servir como centinela para la posible propagación a otras especies, ayudan a llevar a cabo la toma de muestras de forma rutinaria, las cuales pueden ser probadas para diagnosticar enfermedades presentes o para estimar su propagación a futuro y finalmente para desarrollar los esfuerzos de conservación pertinentes.

Las evaluaciones de la salud pueden ser integrados en los programas de captura existentes en B.C.S. y una vez que se genere la información científica sobre la salud y los riesgos de enfermedad a los que se exponen las tortugas marinas, podemos trabajar con las Instancias encargadas de la planificación, administración y manejo de vida silvestre, así como con una amplia gama de otros interesados para prevenir o minimizar los riesgos para las tortugas marinas. Y finalmente el fortalecimiento de la infraestructura para la salud de las tortugas marinas en B.C.S. nos permitirá prevenir de manera eficaz los descensos en las especies relacionados con enfermedades.

1.8 Literatura Citada

- Alvarado-Díaz J, Delgado-Trejo C, Suazo-Ortuño I. (2001). Evaluation of black turtle project in Michoacán, México. *Mar. Turtle Newslet.* 92: 4-7.
- Bellairs A.D. Morphology and Biology of Reptiles (Linnean Society symposium series; no. 3) Hardcover-June 1, (1977). C.B. Cox.
- Bowen BW, Abreu-Grobois FA, Balazs GH, Kamezaki N, Limpus CJ, Ferl RJ. (1995). Trans-Pacific migrations of the loggerhead sea turtle demonstrated with mitochondrial DNA markers. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 92: 3731–3734.
- Carr A. 1987. New perspectives on the pelagic stage of sea turtle development. *Cons. Biol.* 1: 103.
- Carr A. Meylan AB. (1980). Evidence of passive migration of green turtle hatchlings in Sargassum. *Copeia* 1980: 366–368.
- Chaloupka MY, Musick JA. (1997). Age, Growth, and Population dynamics. En: PL Lutz, JA Musick (eds.), *The Biology of Sea Turtles*. CRC Press, Boca Raton. Pp. 233–276.
- CITES (2008) CITES Secretariat Web site. <http://www.cites.org>
- Delgado-Trejo C. (2012). Situación actual de la población de tortuga negra en Michoacán: retos y perspectivas. Memorias del 1er. Coloquio Científico: Avances y perspectivas en investigación de tortugas marinas en el Noroeste Mexicano, Enero 27 de 2012 Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR-IPN) La Paz BCS, México. XIV Reunión Anual del Grupo Tortuguero de las Californias.
- Dutton, P.H. (2003). Molecular ecology of the eastern Pacific green turtle. In: Proceedings of the Twenty-Second Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation. U.S. Department of Commerce, NOAA Technical Memorandum, NMFS-SEFSC-503, p. 69.
- Eckert SA, Eckert KL, Ponganis P, Kooyman GL. (1989). Diving and foraging behavior of leatherback sea turtles (*Dermochelys coriacea*). *Can. J. Zool.* 67: 2834-2840.
- Fritts TH, Stinson M, Márquez R. (1982). Status of sea turtle nesting in southern Baja California, Mexico. *Bull. Sout. Calif. Acad. Sci.* 81: 51–60.
- Grismer LL. 2002. *Amphibians and reptiles of Baja California*. University of California Press, Berkeley.

- IUCN (2008). IUCN Red List of Threatened Species. Disponible en: <http://www.iucnredlist.org/>
- Kamezaki N, Matsuzawa Y, Abe O *et al.* (2003). Loggerhead turtles nesting in Japan. En: A Bolten, B Witherington (eds.), *Loggerhead Sea Turtles*. Smithsonian Books, Washington DC. Pp. 210–217.
- Koch V, Peckham H, Mancini A, Eguchi T (2013) Estimating At-Sea Mortality of Marine Turtles from Stranding Frequencies and Drifter Experiments. PLoS ONE 8(2): e56776. doi:10.1371/journal.pone.0056776
- Köning E. y Liebich G. (1994). Anatomía de los animales domésticos: Tomo 1. segunda edición Volumen 2. Editorial medica panamericana.
- López-Castro MC, Carmona R, Nichols WJ. (2004). Nesting characteristics of the olive ridley turtle (*Lepidochelys olivacea*) in Cabo Pulmo, southern Baja California. *Mar. Biol.* 145: 811–820.
- Luschi P, Hays GC, Del Seppia C, Marsh R, Papi F (1998) The navigational feats of green sea turtles migrating from Ascension Island investigated by satellite telemetry. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 265:2279–2284.
- Márquez R. (1996). Las Tortugas marinas y nuestro tiempo. Serie La Ciencia para Todos / 144. Tercera Edición, pp. 151.
- Márquez-M R, Carrasco-A M, Jiménez MC. (2002). The marine turtles of Mexico: An update. In: I Kinan (ed.), *Proceedings of the Western Pacific Sea Turtle Cooperative Research and Management Workshop*. WESTPAC, Honolulu, Hawaii. Pp. 281–285.
- McClellan, C. M., and A. J. Read. (2007). Complexity and variation in loggerhead sea turtle life history. *Biology Letters* 3:592-594.
- Moon DY, Mackenzie D, Owens D. (1997). Simulated Hibernation of sea turtles in the laboratory: 1. Feeding, Breathing frequency, Blood pH, and gases. *The journal of experimental zoology*. 278:372-380
- Musick JA, Limpus CJ. (1997). Habitat utilization and migration in juvenile sea turtles. In: PL Lutz, JA Musick (eds.), *The Biology of Sea Turtles*. CRC Press, Boca Raton. Pp. 137–163.
- Nichols WJ, Aridjis H, Hernandez A, Machovina B, Villavicencio J. (2002). Black market sea turtle trade in the Californias. Unpublished Wildcoast Report. Davenport, California.

- Nichols WJ, Brooks L, Lopez M, Seminoff JA. (2001). Record of pelagic east Pacific Green turtles associated with *Macrocystis* mats near Baja California Sur, Mexico. *Mar.*
- Nichols WJ, Reséndiz A, Seminoff JA, Reséndiz B. (2000). Transpacific loggerhead turtle migration monitored with satellite telemetry. *Bull. Mar. Sci.* 67: 937–947.
- Nichols WJ. (2003^a). Biology and conservation of the sea turtles of Baja California. Unpubl. Ph. D. Dissertation. University of Arizona, Tucson.
- Nichols WJ. (2003b). Sinks, sewers, and speed bumps: the impact of marine development on sea turtles in Baja California, Mexico. En: JA Seminoff (comp.), *Proceedings of the Twenty-Second Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres. Diario oficial de la Federación, México.
- Paladino FV, O'Connor MP, Spotila JR. (1990). Metabolism of leatherback turtles: gigantothermy and thermoregulation of dinosaurs. *Nature* 344: 858–860.
- Peckham SH, Nichols WJ. (2003). Why did the turtle cross the ocean? Pelagic red crabs and loggerhead turtles along the Baja California coast. En: JA Seminoff (comp.), *Proceedings of the Twenty-Second Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-503. Pp. 47–48.
- Peckham S, Maldonado D, Koch V, Mancini A, Gaos A, Tinker M, Nichols J. (2008). High mortality of loggerhead turtles due to bycatch, human consumption and strandings at Baja California Sur, Mexico, 2003 to 2007. *Endang. Sp. Res.* Theme section : Fisheries bycatch, problems and solutions.
- Pritchard, P. C.H (1979), *Encyclopedia of turtles*, T. F. H. Publications, 896 pp.
- Rodríguez-Barón JM, Riosmena-Rodríguez R, Seminoff JA, Hernandez-Carmona G, 2011. *Chelonia mydas* (East Pacific Green Seaturtle) Diet. *Natural History Notes. Herpetological Reviews.* 42(2) p264.
- Seminoff JA, Alvarado J, Delgado C, Lopez JL, Hoeffler G. (2002d). First direct evidence of migration by an East Pacific green sea turtle from Michoacán, México, to a foraging ground on the Sonoran Coast of the Gulf of California. *Southwestern Naturalist* 47: 314–316.

- Seminoff JA, Jones TT, Reséndiz A, Nichols WJ, Chaloupka MY. (2003a). Monitoring green turtles (*Chelonia mydas*) at a coastal foraging area in Baja California, Mexico: multiple indices describe population status. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 83: 1355–1362.
- Seminoff JA, Karl S, Swartz T, Reséndiz, A. (2003b). Hybridization of the green turtle (*Chelonia mydas*) and the hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*) in the Pacific Ocean: Indication of an absence of gender bias in the directionality of crosses. *Bull. Mar. Sci.* 73: 643–652.
- Seminoff JA, Nichols WJ, Reséndiz A, Brooks L. (2003c). Occurrence of hawksbill turtles, *Eretmochelys imbricata*, near Baja California. *Pac. Sci.* 57: 9–16.
- Seminoff JA, Nichols WJ, Reséndiz A. (2000). Natural History Notes: *Chelonia mydas agassizii* (East Pacific Green Turtle), Diet. *Herpetological Rev.* 31: 103.
- Seminoff JA, Reséndiz A, Nichols WJ, Jones TT. (2002c). Growth rates of wild green turtles (*Chelonia mydas*) at a temperate foraging habitat in the Gulf of California, México. *Copeia* 2002: 610–617.
- Seminoff JA, Reséndiz A, Nichols WJ. (2002a). Home range of the green turtle (*Chelonia mydas*) at a coastal foraging ground in the Gulf of California, México. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 242: 253–265.
- Seminoff JA, Reséndiz A, Nichols WJ. (2002b). Diet of the East Pacific green turtle, *Chelonia mydas*, in the central Gulf of California, México. *J. Herpetology* 36: 447–453.
- Seminoff JA, Reséndiz A, Reséndiz B, Nichols WJ. (2004). Occurrence of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) in the Gulf of California, Mexico: evidence of life-history variation in the Pacific Ocean. *Herpetological Rev.* 35: 24–27.
- Seminoff JA. (1994). Conservation of the marine turtles of Mexico: A survey of nesting beach conservation projects. Unpublished M.S. Thesis. University of Arizona, Tucson, 185 pp.
- Spotilla JR, Reina RD, Steyermark AC, Plotkin PT, Paladino FV. (2000). Pacific leather-back turtles face extinction. *Nature* 405: 529–530.
- Standora E, Spotilla JR, Foley RE. (1982). Regional endothermy in the sea turtle *Chelonia mydas*. *J. Therm. Biol.* 7: 159–165.
- Stoneburner, D. L. (1982). Satellite telemetry of loggerhead sea turtle movement in the Georgia Bight. *Copeia* 1982, 400–408.

- Uchida I, Nishiwaki M. (1982). Sea turtles in the waters adjacent to Japan. En: KA Bjorn- dal (ed.), *Biology and Conservation of Sea Turtles*. Smithsonian Inst. Press. Was- hington DC. Pp. 317–319.
- Work T. (2000). Manual de necropsias de tortugas marinas para Biólogos en refugios o áreas remotas, Nacional Wildlife Health Center Hawai Field Station. Disponible en: www.nwhc.usgs.gov/hfs/Globals/Products/turtlm/esp.pdf
<http://www.nwhc.usos.go>
- Wyneken J. (2004) La Anatomía de las Tortugas Marinas. U.S. Department of Commerce NOAA. Technical Memorandum NMFS-SEFSC-470. Miami, NMFS. 172p.

Capítulo 2. Salud y Enfermedad en Tortugas Marinas de Baja California Sur: Análisis Comparativo Base

2.1. Introducción

2.1.1. Conceptos de Salud y Enfermedad aplicados a animales silvestres

La Organización Mundial de la Salud (O.M.S.) en su Constitución de 1948 define la salud humana como el “La ausencia de afecciones o enfermedades y el completo estado de bienestar físico, mental y social,” (O.M.S. 1957). La Organización Panamericana de la Salud (O.P.S.) añade al concepto las condiciones del medio ambiente, indicando que la salud es un derecho individual y social reconocido internacionalmente. Comparativamente, desde los 1990’s la salud animal se define como: “El estado de óptima productividad” (Astudillo 1991). Concepto que en el 2014 Stephen redefine para las poblaciones silvestres, como el resultado de la interacción biológica, social y ambiental que afecta la capacidad de hacer frente a los cambios. Y que no se puede medir solo por la capacidad ausente, sino por las características de los animales y su ecosistema que determinan su vulnerabilidad.

Para entender las fluctuaciones entre salud y enfermedad, se toma como referencia la triada de enfermedad o triada epidemiológica, que pondera el equilibrio entre: 1.- Agentes etiológicos (infecciosos, físicos, químicos, etc.) 2.- Hospedante o huésped (humano, animal) y 3.- Medio ambiente (clima, alimentación, manejo) (Jaramillo *et al.* 2010). La ruptura del equilibrio en esta relación, se le denomina enfermedad (Jaramillo *et al.* 2010, Garza y Arvizu 2012), lo cual indica que salud y enfermedad son altamente multifactoriales y dinámicas (Blood *et al.* 1986, Slauson y Cooper 1990).

En animales silvestres el costo de la enfermedad es ecológico (Aguirre *et al.* 2002) a diferencia de los animales domésticos y de producción en los que el costo es económico (Astudillo 1993). Independientemente de tal diferencia diversos autores coinciden en indicar que para mantener la salud de cualquier población se deben concretar: a) La prevención, b) El diagnóstico, c) El control o erradicación y d) El costo de la enfermedad (económico, ecológico), además de e) La educación (Slauson y Cooper 1990, Valero 1997, Trigo y Valero 2002, Jaramillo *et al.* 2010).

Para acceder a los pasos a) a d), primero es necesario conocer la enfermedad mediante vigilancia epidemiológica, caracterizar al agente causal, la fisiopatología (cuadro clínico), cronicidad y resolución de la enfermedad (muerte o recuperación) (Jaramillo *et al.* 2010). Al respecto, se deben conocer los factores y características de referencia (parámetros), actualizados de la población, frecuencia, periodo del año, grupo etario (clase de edad), etc. (Codero-Tapia y Reséndiz 2014).

En el contexto descrito, la información relativa a la triada de enfermedad o triada epidemiológica, es básica para definir el número de individuos enfermos en una población dentro de un periodo de tiempo determinado (prevalencia) y permite determinar el número de casos nuevos en una población y periodo determinados (incidencia) (Blood *et al.* 1986). Información que puede utilizarse para hacer comparaciones precisas de una enfermedad las cuales indican si la misma puede incidir en una determinada población (Jaramillo *et al.* 2010). (Ramos y Arvizu 2012). Respecto a lo descrito, la magnitud de una enfermedad se puede clasificar por su área geográfica o población afectada en:

- a) Enfermedad endémica: Presencia regular y predecible de una enfermedad en una población, con fluctuaciones relativamente bajas en el patrón que presenta durante el tiempo.
- b) Enfermedad epidémica: Enfermedad que se presenta en exceso a la frecuencia esperada en una población durante un intervalo de tiempo dado.
- c) Enfermedad pandémica: Presencia epidémica de una enfermedad, que afecta grandes extensiones geográficas incluso continentes (Blood *et al.* 1986).

Por otra parte, el Instituto de Medicina de Estados Unidos (I.O.M.) clasifica a las enfermedades acorde a su manifestación, en:

- a) Enfermedades emergentes: Enfermedades cuya incidencia se ha incrementado dos décadas atrás o amenaza incrementarse en un futuro.
- b) Enfermedades reemergentes: Enfermedades que resurgen después de que aparentemente habían sido erradicadas o su incidencia disminuida.
- c) Enfermedades nuevas: Enfermedades que no existían antes del 1900.

Es necesario contar con información epidemiológica oportuna, adecuada y específica para el conocimiento permanente y dinámico del estado de salud de la población, así como de los factores que la condicionan. En la actualidad, los estudios epidemiológicos son de gran ayuda para los eventos de enfermedad animal y ecológica, y se vuelven fundamentales en eventos emergentes donde la comprensión, resolución rápida y prevención de enfermedades, tienen repercusiones de salud pública y social humanas (Jaramillo y Martínez-Maya 2010). En específico, la salud pública se ve afectada por enfermedades del tipo zoonótico y por los cambios en el medio ambiente, tengan estos origen antropogénico o no. Estos cambios, tiene repercusiones severas a poblaciones animales en diferentes estados de protección (Aguirre *et al.* 2002).

Para tomar las medidas necesarias de prevención, control y erradicación de enfermedades, se debe estudiar sistemáticamente a la enfermedad (epidemiología) y mantener la información actualizada y veraz por medio de la vigilancia epidemiológica (Jaramillo *et al.* 2010, Garza y Arvizu 2012).

También es necesario desarrollar estrategias epidemiológicas convenientes utilizando métodos de descripción de la aparición, distribución, extensión y progresión de los eventos de salud y enfermedad en poblaciones o diferentes grupos de una misma población, complementado la información con la derivada de 3 tipos de estudios analíticos: a) retrospectivo, b) prospectivo y c) de corte transversal (de prevalencia e incidencia); buscando relacionar las variables, para encontrar su vinculación y efectos (Jaramillo *et al.* 2010), y aplicar el método experimental, manipulando la supuesta causa de enfermedad y observando los resultados que tal manipulación determina sobre el supuesto efecto (García-Vázquez 1990).

2.2. Antecedentes

2.2.1. Enfermedades de tortugas marinas

Las tortugas marinas visitan diversos ecosistemas a lo largo de su ciclo de vida y se exponen a una amplia gama de factores ambientales y antropogénicos los cuales pueden ocasionarles enfermedades e incluso la muerte.

Las tortugas marinas enfermas suelen mostrar signos de emaciación, debilidad, anemia y depresión, así como afectación ocular y ceguera (Aguirre *et al.* 1994). Además existen descripciones de lesiones que alteran su flotabilidad, reportes de cuadros clínicos asociados a enfermedades respiratorias, descripciones de alteraciones en el sistema digestivo por obstrucción intestinal, descripciones de necrosis por presión del parénquima hepático, diagnósticos de insuficiencia renal por uratosis y muerte por diversas enfermedades e intoxicaciones (Aguirre *et al.* 1999).

La incidencia de estas afecciones puede relacionarse a la susceptibilidad de las tortugas a contaminantes, patógenos y microorganismos como bacterias, hongos, parásitos y virus (Balazs *et al.* 1997, Greenblatt *et al.* 2004) y desembocar en enfermedades infectocontagiosas, no infectocontagiosas e incluso proliferativas causales de muerte (Aguirre 2009).

Las principales descripciones de enfermedades en tortugas marinas son asociadas con agentes virales particularmente con los de la familia herpesviridae, por ejemplo en *Chelonia mydas* la enfermedad de mancha gris (GPD acrónimo en inglés) manifestada por lesiones de ese color en la piel (Coberley S. 2002) y la enfermedad de pulmón, tráquea y ojo (LETD acrónimo en inglés) caracterizada por conjuntivitis, faringitis, traqueítis y neumonía (Greenblatt *et al.* 2004). En contraste con las enfermedades descritas que inciden solo en animales cautivos y cuya prevalencia en poblaciones silvestres no se ha precisado (Ene *et al.* 2005, Chaloupka *et al.* 2009), los reportes de fibropapilomatosis (FP) (Smith y Coates 1938) en poblaciones de tortugas marinas va en aumento (Herbst *et al.* 1999). Esta enfermedad se reconoce por cambios proliferativos en epidermis y dermis, que frecuentemente originan los procesos tumorales que dan nombre a la dolencia (Herbst 1994, Herbst *et al.* 1999, Miller *et al.* 2009, Chaloupka *et al.* 2009). Así, se han reportado fibromas, papilomas y fibropapilomas cutáneos y mediante estudios de histopatología se han descrito lesiones dérmicas y epidérmicas asociadas a agentes virales.

Con microscopía electrónica de transmisión se han evidenciado estructuras virales icosaédricas parecidas a virus con y sin envoltura, las que de acuerdo a su morfología, tamaño y sitio de replicación se han identificado como Herpesvirus, Papilomavirus e Iridovirus (Herbst *et al.* 1999, Aguirre *et al.* 1999, Reséndiz 2007).

Finalmente, mediante biología molecular se ha confirmado la presencia y secuencia genética del Herpesvirus de la tortuga verde GTHV (por sus siglas en Inglés) (Quackenbush *et al.* 2001).

2.2.2. Enfermedades de tortugas marinas en México.

En las costas del Pacífico Mexicano se han reportado tortugas con signos clínicos característicos del diagnóstico de encefalitis y enteritis (Gordon *et al.* 1993). También lesiones consistentes con traqueítis, conjuntivitis, neumonías e infecciones de pulmón y riñón (Gámez *et al.* 2006), y con fibropapilomatosis de origen viral (Nigro *et al.* 2004; Reséndiz 2007, Gámez *et al.* 2009).

2.2.3 Enfermedades de Tortugas marinas en Baja California.

En Baja California Sur (BCS), los trabajos sobre estado de salud de tortugas marinas se iniciaron evaluando histológicamente las lesiones de las etiologías comunes y asociadas a FP Cordero-Tapia (2005) demostró la presencia de FP subclínico (presencia de neoplasias sin manifestaciones clínicas evidentes) en una tortuga prieta de Bahía Magdalena, asimismo, otros estudios analizan factores relativos al estado de salud como la incidencia de contaminantes organoclorados en tejidos de individuos vivos y muertos de tres especies de tortugas marinas, concluyendo que en BCS estos quelonios tienen bajas concentraciones de DDT y PCB's pero altas concentraciones de clordano y de HCB en comparación con otras áreas del mundo (Tabla 2.1.) (Juárez 2004).

Tabla 2.1. Contaminantes en 3 especies de tortugas marinas de BCS, Juárez (2004).

CONCENTRACIÓN DE CONTAMINANTES					
Especie	no. Indiv.	DDT	PBC	CLORDANO	HCB
<i>C. caretta</i>	10	45.81ng/g ⁻¹	-	39.99ng/g	1.52
<i>L. olivacea</i>	10	14.72ng/g ⁻¹	-	24.12ng/g	15.27
<i>C. mydas</i>	10	13.71ng/g ⁻¹	-	28.78ng/g	23.35

También se ha registrado la acumulación de metales pesados (Pb, Se, Cd, Ni, Fe, Cu, Zn y Mn) en hígado y riñón de cuatro especies de tortugas marinas en BCS, señalando que los niveles altos de toxicidad podrían provocarles la muerte (Fitzgerald 2004). En cuanto a la presencia de agentes patógenos, también se reportó la presencia invasiva simple de huevos de *Laeredius learedi* (Trematoda) en órganos de *C. mydas*. (Cordero-Tapia et al. 2004). Además mediante un estudio histopatológico (*C. mydas*, n=53), Cordero-Tapia (2005) reportó la incidencia de fibromas renales (n=2), lesiones herpéticas en piel y cambios degenerativos asociados a huevos y adultos de Tremátodos. En el estudio mencionado, el autor también diagnosticó infecciones bacterianas, aislando bacterias Gram negativas aeróbicas, y la presencia de biotoxinas de tipo paralíticas y diarreicas y mediante serología reveló la presencia de títulos de Rabdovirus, Herpesvirus, Ortomixovirus y ocho serotipos de *Leptospira interrogans* (Cordero-Tapia 2005). Además se ha intentado determinar el estado de salud de tortugas prietas con estudios hematológicos y presencia de pro-oxidantes y antioxidantes en tejidos de tortugas muertas (Valdivia 2004), evaluando la relación de los parámetros analizados con la presencia de FP en tortugas diagnosticadas con FP de Hawái y sin FP de BCS (Aguirre et al. 1998), reportándose que la mayor actividad de las enzimas SOD (Superóxido dismutasa), GST (Glutation s-transferasa) y CAT (Catalasa) y la mayor concentración de TBARS (Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico) se centra en el hígado de la tortuga verde en comparación con otros tejidos; y que las correlaciones entre las enzimas antioxidantes CAT, t-SOD y GST con los OC y elementos traza sugieren que, por su función detoxificante, pueden ser biomarcadores útiles y sensibles a la exposición a contaminantes químicos persistentes en la tortuga verde del Pacífico Oriental (Valdivia et al. 2007) sin confirmar su asociación a la presencia de tumores.

Estudios más recientes han buscado aclarar la relación entre los elementos inmunológicos de la sangre (particularmente Linfocitos T y B) y las enfermedades que se manifiestan al alterarse estos. También se ha buscado determinar deficiencias de los valores bioquímicos sanguíneos de las tortugas prietas, concluyendo que las diferencias entre el estado de salud y los valores bioquímicos sanguíneos varían dependiendo de la edad, la zona y la temporada del año (Rossi 2009, Labrada *et al.* 2010).

2.3 Justificación

Como se aprecia en los antecedentes, las aguas aledañas a la Costa Pacífico de BCS presentan condiciones que favorecen la presencia de cinco de las siete especies de tortugas marinas existentes (Seminoff *et al.* 2002). Para algunas de estas especies se han descrito y analizado indicadores de salud poblacional como la incidencia de contaminantes (*e.g.* Juárez 2004); descripciones de incidencia, diagnóstico y desarrollo de enfermedades (*e.g.* Cordero-Tapia 2005) y estimaciones del estado de salud a través de marcadores fisiológicos (*e.g.* Labrada *et al.* 2011). Solo un par de estos estudios han sido publicados (Labrada *et al.* 2010a; Labrada *et al.* 2010b), en ese sentido, son escasos los estudios en que se ha determinado con certeza el estado de salud y diagnosticado enfermedades (Cordero-Tapia 2005) de los animales analizados y son aún menos los casos en que se han publicado los resultados. Los antecedentes descritos, indican que se siguen realizando trabajos dirigidos a diagnosticar el estado de salud de manera no concluyente. Lo anterior y las recientes mortandades de tortugas caguamas (Proyecto Mortalidad Tortuga Amarilla CONANP-UABCS-CICIMAR-CIBNOR 2013-2014), acaecidas en el litoral en los meses (de mayo a noviembre del 2012), justifican analizar la problemática implícita en el estudio científico de la salud de tortugas marinas. En primer lugar, precisar la idoneidad de los estudios de salud y enfermedad de tortugas marinas en BCS, comparándolos a estudios de salud más amplios de amniotas marinos silvestres, para identificar las debilidades de los primeros y sugerir una estrategia para optimizar los resultados de monitoreos de salud y enfermedad en tortugas marinas de BCS. Esto se considera primordial puesto que se ha apreciado que los objetivos, conceptos y metodologías de investigación de salud de vida silvestre han empezado a divergir de manera importante respecto a los de animales domésticos y de vigilancia salubre.

Las tortugas marinas distan mucho de ser animales domésticos, pues sus características evolutivas, zoológicas, conductuales y ecológicas son sustancialmente diferentes. Características que deben ser consideradas en la planeación, implementación e interpretación de los datos relativos a su salud. En perspectiva del autor es posible que se requieran nuevas definiciones, métodos y procedimientos, tomando en cuenta las condiciones únicas en las que se lleva a cabo el monitoreo de la salud de tortugas marinas.

Por otra parte, dada la importancia de la “Información Para la Acción”, se justifica desarrollar un Meta-análisis de los datos de los estudios de salud de dos especies de tortugas marinas (*Chelonia mydas* y *Caretta caretta*) para evaluar objetivamente el poder combinado de los exámenes físicos basados en la descripción y clasificación de los cambios patológicos observados en la anatomía morfológica y función de los sistemas de las tortugas marinas, con los exámenes clínicos de laboratorio basados en el estudio de los elementos inmunológicos de la sangre, en relación a las enfermedades manifiestas.

En tal contexto, este trabajo se propuso analizar los datos colectados de estas especies en el Pacífico de BCS mediante técnicas de Veterinaria (Blood *et al.* 1986) y de Patología Clínica Veterinaria (Sykes y Klaphake 2009), buscando verificar su idoneidad e identificar posibles agentes etiológicos y enfermedades en la península.

2.4. Objetivos

2.4.1. Objetivo general

Evaluar el estado de salud de tortugas marinas en BCS; precisando la idoneidad de los estudios de su salud y enfermedad en BCS, comparándolos con estudios de medicina de tortugas marinas libres. Además analizar datos obtenidos mediante exámenes físicos y técnicas de Patología Veterinaria en el marco de criterios estandarizados de salud y enfermedad derivados del Meta-análisis de estudios de salud de *Chelonia mydas* y *Caretta caretta* evaluando con objetividad el poder de los parámetros hematológicos como indicadores de salud y enfermedad en estas especies.

2.4.2 Objetivos específicos

- 2.4.2.1. Precisar la idoneidad de los estudios de salud y enfermedad de tortugas marinas en BCS, comparándolos a estudios de salud más amplios de amniotas marinos silvestres, identificando los determinantes de éxito diferencial.
- 2.4.2.2. Efectuar un meta-análisis de estudios de salud de *C. mydas* y *C. caretta* evaluando estadísticamente el poder de los parámetros hematológicos como indicadores de salud y enfermedad en estas especies.
- 2.4.2.3. Evaluar estadísticamente el poder de un examen físico y técnicas hematológicas, para determinar el estado de salud de las tortugas marinas vivas muestreadas en San Juanico y Laguna Ojo de Liebre Baja California Sur, en el contexto de los resultados del análisis estadístico derivado del Objetivo 2.
- 2.4.2.4. De la consecución de los objetivos particulares 2.2.4.1. a 2.2.4.3., identificar los determinantes de éxito en el monitoreo de salud, detección y reacción ante enfermedades de animales marinos, que podrían implementarse en los monitoreos de salud y enfermedad de estas tortugas en BCS, proponiendo una estrategia para su implementación.

2.5. Métodos dirigidos por objetivo.

2.5.1. Para precisar la idoneidad de los estudios de salud y enfermedad de tortugas marinas en BCS, comparándolos con estudios de salud más amplios de amniotas marinos en libertad, e identificar determinantes de éxito para recomendar una estrategia para optimizar los monitoreos de salud y enfermedad estas tortugas en BCS:

- a. Se revisó si el concepto de salud y enfermedad que maneja la OMS y es compatible con el manejo en animales domésticos y el de poblaciones silvestres. Se revisaron los conceptos: enfermedad; patógeno; patogenicidad; virulencia, respecto a la definición actual de salud en poblaciones silvestres y su aplicación en los trabajos antecedentes de salud de tortugas marinas en BCS.
- b. Se efectuó un análisis diacrónico comprendiendo la comparación temporal de los objetivos de los distintos tipos de monitoreo de salud más amplios de amniotas marinos en libertad con los considerados en los trabajos antecedentes de salud de tortugas marinas en BCS.
- c. Similarmente se compararon los procedimientos de selección y colecta de muestras, y los métodos y equipo de diagnóstico, aplicados en los estudios de salud más amplios de amniotas marinos en libertad, con los considerados y aplicados en los trabajos antecedentes de salud de tortugas marinas en BCS.
- d. Además, se comparó la importancia que han dado los estudios de salud más amplios de amniotas marinos en libertad a la colecta, administración y sistematización de información histórica y datos base, con la de trabajos antecedentes de salud de tortugas marinas en BCS.
- e. Finalmente, se comparó la importancia que han dado los estudios de salud más amplios de amniotas marinos en libertad a identificar y evaluar factores de riesgo, con la de trabajos antecedentes de salud de tortugas marinas en BCS.

2.5.2. Para efectuar el meta-análisis de estudios de salud de *C. mydas* y *C. caretta* y con ello evaluar con objetividad el poder de los parámetros hematológicos como indicadores de salud y enfermedad en estas especies.

Se solicitó a los autores que han analizado parámetros hematológicos como índices de la salud de *C. mydas* y *C. caretta* justificaran su enfoque; además de los datos crudos con que calcularon las medidas de tendencia central de cada parámetro (e.g. hematocrito; conteo de eritrocitos; basófilos; eosinófilos, etc.). Cuando no se obtuvo respuesta se procedió a aplicar técnicas de meta-análisis como la estadística inversa para calcular con base en el tamaño de muestra y las medidas de tendencia central reportadas una aproximación precisa de los datos crudos en cada caso. Acto seguido se procedió a estratificar los datos de cada variable hematológica de acuerdo a las variables independientes: *i*) Área de muestreo; *ii*) Clase de edad reportada para los individuos del muestreo (Adulto, juvenil, cría); *iii*) Estado reproductivo (hembras anidantes) y *iv*) estado aparente del individuo (Sano; Enfermo). Acto seguido se aplicaron técnicas de estadística exploratoria multivariada (Análisis de Componentes Principales y Análisis Discriminante), con el fin de evaluar si las variables hematológicas presentan cambios significativos en relación a cada una de las variables independientes, teniendo como hipótesis nula principal que: los valores de las variables hematológicas en combinación son indicativos del estado de salud de los individuos, independientemente del Área de Muestreo; Clase de Edad y Estado Reproductivo de los individuos, determinados (Manly 1986).

2.5.3. Para evaluar estadísticamente el poder de un examen físico y técnicas hematológicas, en el contexto de los resultados del Meta-Análisis derivado del Objetivo 2.5.2, para determinar el estado de salud de tortugas marinas. Se capturaron 6 individuos vivos de *Caretta caretta* durante dos salidas al mar en San Juanico BCS (SJU), atrapando a cada tortuga mientras termo regulaba en superficie. Además en la Reserva de la Biosfera "El Vizcaíno" (REBIVI-Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas), en la Laguna Ojo de Liebre (LOL) se capturaron 29 individuos vivos de *Chelonia mydas* cercándolos con una red modificada ("Red Castillo" Ing. Fabián Castillo), con apoyo de personal de la REBIVI, de Exportadora de Sal S.A. (ESSA) y del Grupo Tortuguero de las Californias (GTC). Además en junio de 2010 se capturaron 14 individuos vivos de *Chelonia mydas* en Laguna San Ignacio BCS (LSI), usando redes de enmalle con ayuda de miembros del GTC y siguiendo los métodos de Koch et al. 2007 y López-Castro et al. 2010).

A estos individuos se les colocó un sistema de rastreo de alta frecuencia (VHF acrónimo en inglés) y un geoposicionador satelital (GPS) (Senko *et al.* 2010). Todos los individuos capturados fueron identificados a nivel de especie (Pritchard *et al.* 1999), se les midió el largo curvo del caparazón, marcó (Bolton 1999), y se les realizó un examen físico general (Blood *et al.* 1986), observando tres aspectos: el animal, su historia y su ambiente (Nuñez y Bouda 2007).

En animales silvestres es imposible contar con la historia clínica del individuo. Así, se infirió la misma a partir de otros factores como: el registro y antecedentes de incidencia de enfermedades en el área de estudio; la variación del ambiente, el historial de enfermedades que ha aquejado a la especie, población a la que pertenece el individuo Aguirre *et al.* (2002), para seguir con el examen físico, la toma de muestras, su análisis en laboratorio e interpretación de los resultados.

A detalle, el examen físico (Tabla 2.2.) inició con la observación y manipulación física de la tortuga, seguido de la palpación, percusión, auscultación, revisión de la frecuencia cardíaca y ritmo respiratorio. Se evaluaron sus características genéticas y describieron morfológica, anatómica y funcionalmente los cambios patológicos aparentes observados en los sistemas del cuerpo (Blood *et al.* 1986, Trigo y Valero 2002), buscando evidenciar signos clínicos determinantes de la condición del ejemplar y de ser posible identificar si cursaba por alguna enfermedad, para orientar la toma de muestras para laboratorio (Latimer *et al.* 2005) y emitir un diagnóstico preciso (Nuñez y Bouda 2002, Aguirre 2009).

Tabla 2.2. Pasos generales para el examen físico común en animales domésticos, tomado como base para tortugas marinas en este estudio. (Pérez 1990, Valero 1997, Trigo 1998).

Rubro	Evaluación
Apariencia general	Emaciación, deshidratación, descuidado, con ectoparásitos, mal olor, alerta o deprimido o muestra cambios anormales de conducta que justifiquen suponer enfermedad (Aguirre <i>et al.</i> 1994, 1998, 1999, Herbst <i>et al.</i> 1994, 1999).
Sistema Tegumentario	Piel y escamas reflejan el estado de salud general del animal. Verificar la presencia de ectoparásitos o de su incidencia en áreas corporales donde se concentran.
Ojos	Verificar el sistema visual usando un oftalmoscopio o una lámpara. Evidenciando anomalías. En tortugas marinas el examen de las membranas mucosas deberá realizarse a nivel de la conjuntiva. Revisando a detalle las coyunturas y tercer párpado pues varias enfermedades se evidencian por cambios en estos. Condiciones anormales a verificarse: defectos en los párpados, enrojecimiento, cataratas, inflamación de la córnea, úlceras corneales, defectos en retina, inflamación de la cámara anterior del ojo, etc. (Aguirre <i>et al.</i> 1994, Herbst <i>et al.</i> 1999).
Nariz y Garganta	Verificar y describir inflamación, descarga anormal, dificultad para deglutir, tos, estornudos, etc.
Cavidad Bucal	En las comisuras del pico verificar la presencia de verrugas y/o enrojecimiento, pues en esta zona se manifiesta la FP.
Sistema Respiratorio	Verificar sonidos. Evaluar la forma de respirar del animal, si muestra dificultad al inspirar o viceversa.
Sistema Circulatorio	Auscultar el corazón, registrar frecuencia cardíaca y posibles arritmias, y sonidos anormales cuando las válvulas se cierran o cuando la sangre pasa por las distintas estructuras. Importante evaluar, el llenado capilar en la piel.
Ventral	Auscultar las zonas blandas ventrales para detectar posible aumento del tamaño del bazo, hepatomegalia, anomalías en riñones, cálculos urinarios grandes, acumulación de líquido, etc.
Sistema Gastrointestinal	Verificar si hay dolor o algún cambio notable; se puede escuchar con estetoscopio el aumento de los movimientos peristálticos.
Sistema Urogenital	Hacer un examen externo y de ser posible interno de los genitales, y poner atención a cualquier descarga genital.
Sistema Nervioso	En ejemplares normales es suficiente con evaluar superficialmente los nervios craneales, los nervios espinales, la locomoción, la actitud y reflejos.
Sistema Óseo y Locomotor	Huesos y músculos deben evaluarse conjuntamente. Animales que presentan anomalías óseas en alguna región por lo general van a tener afectada también su masa muscular.
Nódulos Linfáticos	Es importante notar si existe alguna anomalía regional o generalizada, signos que podrían relacionarse con alguna infección o tumor.

El examen físico se ejecutó con la mayor suavidad y tranquilidad posible evitando estresar al individuo y alterar su ritmo cardíaco y respiratorio, de forma sistemática y ordenada, examinando al ejemplar en posición decúbito prono, con orientación cráneo caudal y dorso ventral, al evaluar todos los sistemas del cuerpo se prestó especial atención a los ojos (tercer párpado) y zonas de unión del pico, zonas axilares e inguinales, a los sonidos emitidos por el animal, ingesta o tipo de dieta, defecación, posición, movimientos, constitución y conformación ósea, muscular y de la piel, registrando todo cambio anatómico estructural, morfológico y funcional observado y se describieron los signos clínicos observados (Tabla 2.3.).

Tabla 2.3. Parámetros fisiológicos comúnmente revisados en mamíferos domésticos (Blood *et al.* 1986 y Pérez, 1990), modificados y adaptados para tortugas marinas en este estudio.

Parámetros	Abreviatura	Descripción o unidad
Peso	Kg.	kg/g depende la especie y la edad (Bolton 1999, Wineken 2004, Phelan y Ecker, 2006).
Condición corporal	CC	1/5 a 5/5 (emaciado, delgado, normal, sobrepeso, obeso) (Pérez 1990, Aguirre <i>et al.</i> 1994, Phelan y Ecker 2006).
Estado mental	EM	Alerta, deprimido, estupuroso, comatoso, chocado, responsivo, no responsivo. (Pérez 1990).
Temperatura	T°	<i>C. mydas</i> 25 °C. <i>C. caretta</i> 22°C. (Deem <i>et al.</i> 2009).
Frecuencia cardíaca	FC	Tortugas depende de la especie y el estado de captura (estrés) de 30 a 150 pulsaciones por minuto (Aguirre <i>et al.</i> 1995, Pires 2009).
Frecuencia respiratoria	FR	10 – 30 Resp/min. o jadeo (Blood <i>et al.</i> 1986).
Auscultación Campos pulmonares	CP	Normales o anormalidad presente (crepitación, sibilancia, estridor) (Pérez 1990).
Palmopercusión de campos pulmonares	PP	Positiva (tos) o Negativa (Núñez y Bouda 2002).
Auscultación de corazón	No aplica	Sonidos normales o presencia de soplos (Núñez y Bouda 2002).
Pulso arterial	Pulso	Fuerte, correspondiente a la frecuencia cardíaca (F,LL,C) (Núñez y Bouda 2002).
Membranas mucosas	MM	Rosadas (normal) o color presente (ictéricas, hiperémicas, pálidas, cianóticas o blancas) (Pérez 1990, Núñez y Bouda 2002).
Tiempo de llenado capilar	TLLC	Seg., Normal, aumentado, disminuido (Núñez y Bouda 2002).
Linfonódos	LN	Linfonodos palpables (Submandibulares, prescapulares, inguinales y poplíteos) (Pérez 1990, Núñez y Bouda 2002).
Porcentaje de deshidratación	%Deshidratad % Hidratado	Normal o deshidratado (Aguirre <i>et al.</i> 1998, Herbst <i>et al.</i> 1999; Núñez y Bouda 2002)
Orificios naturales de cabeza y cara	No aplica	Normales o presencia de secreciones (Núñez y Bouda 2002).
Reflejo tusígeno	RT	Normal (positivo o Negativo) o anormal (hiperactivo) (Pérez 1990; Núñez y Bouda 2002).
Reflejo deglutorio	RD	Positivo o negativo (Pérez 1990).
Palpación abdominal	PA	Normal o anormalidad presente (dolor, estructura anormal palpable, etc.) (Pérez, 1990, Núñez y Bouda 2002, Wineken 2004).

En el laboratorio, el estado de salud cada animal se valoró mediante hemogramas (CSC: Conteo sanguíneo completo, o biometría hemática, Campbell, 2006), buscando detectar condiciones que afecten las células sanguíneas (*e.g.* anemia, enfermedades inflamatorias, parasitosis; desórdenes hematopoyéticos y alteraciones hemostáticas, Aguirre y Balazs, 2000). La muestra de cada animal se obtuvo acorde a los criterios de Campbell (2006), Sykes y Klaphake (2008) y Pires *et al.* (2009). El conteo celular se realizó manualmente pues los contadores electrónicos se calibran para células sanguíneas de mamíferos, distintas a las de los reptiles, cuyos eritrocitos y trombocitos son nucleados (Sykes y Klaphake 2008). En general los reptiles poseen menor cantidad de eritrocitos que las aves y mamíferos (Campbell 2006), pero de mayor tamaño. Los quelonios poseen los eritrocitos más grandes entre los reptiles (500 fl) y en menor cantidad (≤ 500.000 GR/ μ L) y las tortugas marinas están dentro de ese rango (Aguirre y Balazs 2000). En los anexos 2.1 y 2.2 se describe la técnica de medición y la interpretación de los hemogramas respectivamente. Una vez obtenidos los datos del hemograma de cada individuo, estos se integraron a la base de datos resultante de la consecución del Objetivo Específico 2.4.2. y con la base de datos resultante se procedió a estratificar los datos de cada variable hematológica de cada especie, de acuerdo a las variables independientes: *i*) Área de muestreo; *ii*) Clase de edad reportada para los individuos del muestreo (Adulto, juvenil, cría); *iii*) Estado reproductivo (hembras anidadoras) y *iv*) estado aparente del individuo (Sano; Enfermo).

Se llevo a cabo una búsqueda exhaustiva de artículos científicos en los cuales se estudio el estado de salud de tortugas marinas mediante hematología, y se seleccionaron aquellos que evaluaran las mismas variables hematológicas a las usadas en este experimento.

Los datos fueron generados a partir de la media y desviación estándar mediante estadística inversa con el programa GraphPad <http://graphpad.com/quickcalcs/randomN1.cfm>. Acto seguido se aplicaron técnicas de estadística exploratoria multivariada (Análisis de Componentes Principales), con el fin de evaluar si las variables hematológicas presentan cambios significativos en relación a cada una de las variables independientes, teniendo como hipótesis nula central que independientemente del Área de Muestreo; Clase de Edad y Estado Reproductivo de los individuos, determinados valores de las variables hematológicas en combinación son indicativos del estado de salud de los individuos (Manly 1986).

2.6 Resultados

2.6.1. Idoneidad de los estudios de salud y enfermedad de tortugas marinas en BCS: comparación con estudios de salud más amplios de amniotas marinos en libertad, determinantes de éxito y estrategia para optimizar los monitoreos de salud y enfermedad estas tortugas en BCS.

Al contrastar los conceptos de salud y enfermedad propuestos por la O.M.S. en tratados de medicina Veterinaria, con aquellos propuestos en la última década por organizaciones dedicadas a evaluar los estados de salud y enfermedad en poblaciones de animales silvestres se encontró que para estos últimos el concepto de salud se refiere a el resultado de la interacción biológica, social y ambiental que afectan la capacidad de hacer frente a los cambios. No se puede medir solo por lo que está ausente, sino por las características de los animales y su ecosistema que afectan su vulnerabilidad (Stephen 2014). Sin embargo, en estos artículos destaca que las evaluaciones de salud propuestas recientemente, no interpretan la patogenia de los agentes causales y potenciales de enfermedades, así como, la descripción de agentes que pueden causar enfermedad en humanos (zoonosis), tampoco se describen los cambios hemáticos asociados a infecciones crónico activas ni su asociación con agentes etiológicos. Por lo tanto no son representativos de incidencia y prevalencia de enfermedades (Figura 2.1) Por otra parte, se encontró después de una búsqueda exhaustiva que de un total de (11) evaluaciones de salud y enfermedad de animales marinos realizadas en el último lustro (2008-2013), 4 (36.36%) adoptaron los conceptos de salud y enfermedad propuestos por la O.M.S. y el 2 (18.18%) adoptaron los conceptos expuestos en tratados de medicina veterinaria, mientras que en 5 (45.45%) adoptaron los propuestos en la última década por organizaciones dedicadas a evaluar los estados de salud y enfermedad en animales silvestres Tabla a (Anexos 2.3).

Al respecto es interesante notar que del total de estudios dirigidos a evaluar el estado de salud de tortugas marinas en BCS (n= 5), 2 (40%) adoptaron los conceptos de salud y enfermedad propuestos por la O.M.S. y 1 (20%) adoptaron los conceptos expuestos en tratados de medicina Veterinaria, mientras que 2 (40%) adoptaron los propuestos en la última década por organizaciones dedicadas a evaluar los estados de salud y enfermedad en animales silvestres.

Además, al revisar los conceptos: enfermedad; patógeno; patogenicidad; virulencia, en el marco de las definiciones más actuales de salud en animales silvestres se encontró que del total de estudios dirigidos a evaluar el estado de salud de tortugas marinas en BCS (n= 0 de 5) adoptaron los conceptos de enfermedad; patógeno; patogenicidad; virulencia, en el marco de las definiciones de salud y enfermedad propuestos por la O.M.S. y 2 (40%) adoptaron estos conceptos a partir de tratados de medicina veterinaria, mientras que 3 (60%) adoptaron modificaciones a estos conceptos propuestos recientemente por organizaciones dedicadas a evaluar salud y enfermedad en animales silvestres. divergencias importantes comparándose con el concepto de salud que manejaron los trabajos antecedentes de salud de tortugas marinas en BCS.

Por otra parte, el análisis diacrónico arrojó que los países con más incidencia en estudios de salud y enfermedad de tortugas marinas en un periodo de 34 años, son Estados Unidos (EU) Costa Rica y México y destaca el papel preponderante de EU y México en este tipo de estudios en los últimos años (Fig.2.1.).

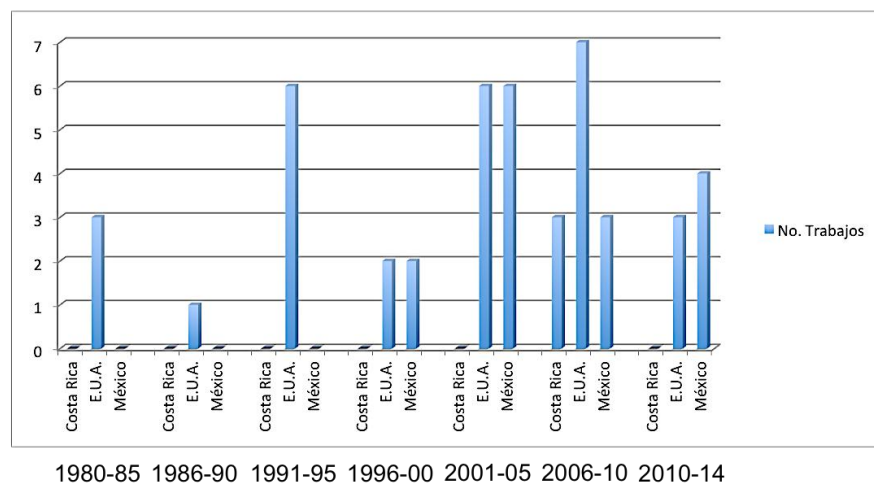


Figura 2.1. Países y número de reportes referentes a algún aspecto de salud y enfermedad de tortugas marinas (1980 – 2014, n= 84).

Por otra parte, en el primer lustro (1980 a 1985), con base en el mismo análisis se evidenció la predominancia de los estudios parasitológicos en Estados Unidos y Gran caimán preponderantemente dirigidos a la identificación de trematodos causantes de espiroquidiasis (40%), seguido de estudios de enfermedades respiratorias producidas por hongos (20%), estudios de identificación de Neoplasias (20%) y evaluaciones parciales de salud mediante hematología y química sanguínea (20%) Figura 2.2.

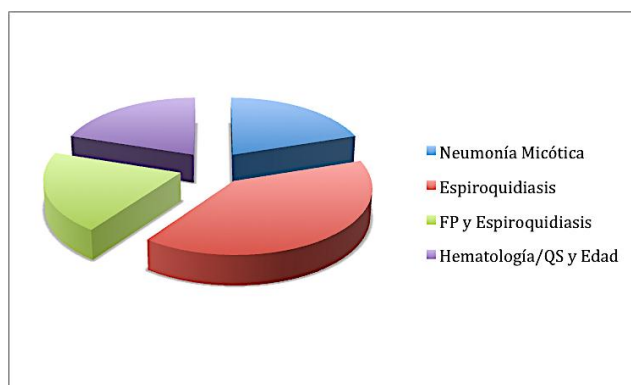
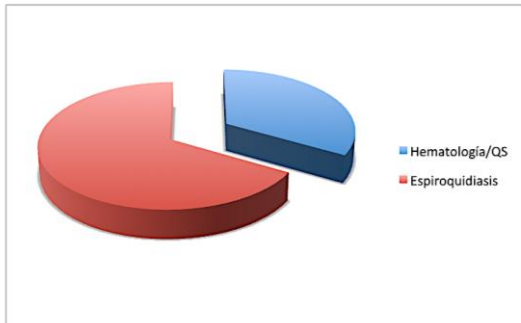


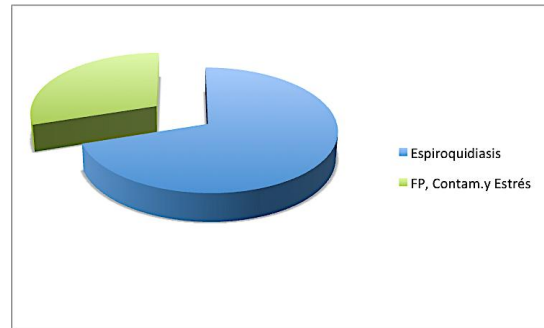
Fig. 2.2. Reportes referentes al estudio de salud y enfermedades parasitarias, micóticas y neoplásicas de tortugas marinas (1980 – 1985 n= 6).

Además el análisis diacrónico en lapsos de 5 años entre 1986 y 2014, evidenció que los países que realizan estos estudios, relativos a salud y enfermedad de tortugas marinas en libertad (E.U., Australia, México, Brasil, Costa Rica, Italia y España) se han expandido y modernizado con el uso de técnicas más específicas y sensibles.

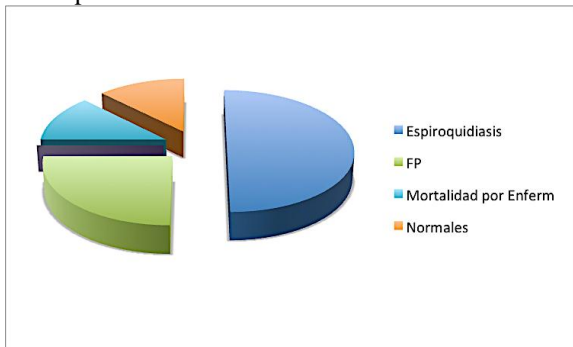
Destacan la importancia de la colecta de muestras, la administración y sistematización de información histórica y datos base para diagnosticar los estados de salud de las poblaciones de estos organismo. Este proceso de actualización, se muestra en las Figuras 2a, b, c, d, e y f. Pasando de estar enfocado mayormente sobre estudios parasitológicos Fig.2.3.a), a comprender estudios relacionados con contaminantes y la presencia de neoplasias (Fig. 2.3.b), para después abarcar problemáticas relativas a la evaluación de la salud y mortalidad de las tortugas marinas mediante técnicas de Patología Veterinaria (Fig.2.3.c) y terminar diversificándose para abarcar otros campos de estudio tales como el estudio de los cambios morfológicos, funcionales y estructurales de los órganos mediante Histopatología, así como el estudio de las características físicas y químicas de las células. Mediante citometría de flujo y la aplicación de técnicas mas sensibles (Biología molecular) para estimar la salud y mortalidad de tortugas marinas (Fig. 2.3.d-f).



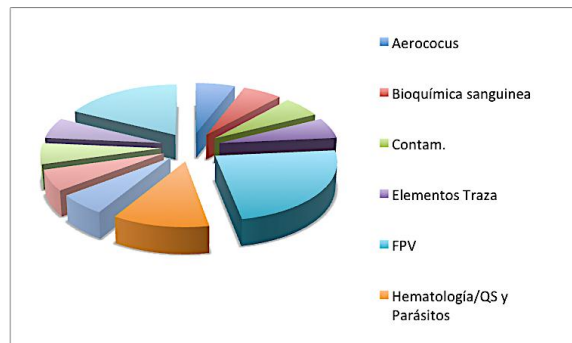
a. Estudios parasitológicos (67%), hematológicos y químicos sanguíneos (33%) para evaluar la salud de tortugas marinas en E.U. y Australia respectivamente desde 1986 a 1990.



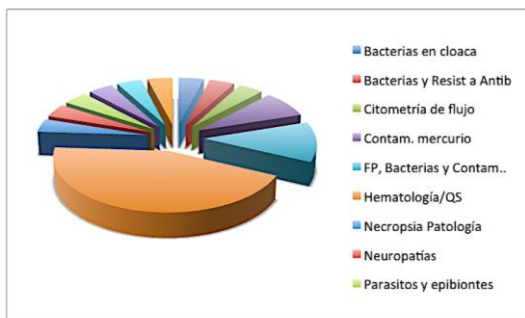
b. Estudios de salud mediante Parasitología (70%), Toxicología, hematología y Neoplasias (30%), desde 1991 a 1995, con muestras provenientes de E.U. y Puerto Rico.



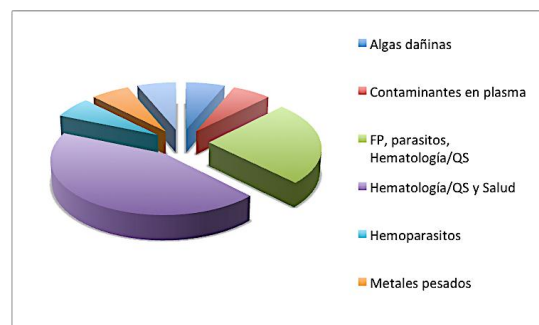
c. Estimaciones de salud mediante Parasitología, Hematología y Patología respectivamente. Llevados a cabo en México (50%), Australia (8.3%), E.U. (8.3%) Italia (8.3%), España (12.5%) y Emiratos Arabes Unidos (12.5), de 1996 hasta el 2000.



d. Evaluaciones de salud por medio de técnicas para identificar hongos y parásitos. Estudios de Toxicología, identificación de metales pesados, técnicas de Hematología, Histopatología y Biología molecular para estimar la salud y mortalidad de tortugas marinas en España, Brasil, México y E.U. del 2001 al 2005.



e. Estudios de salud mediante Bacteriología, Toxicología, Citometría de flujo, Toxicología y Metales pesados. Técnicas de Hematología y Patología en Costa Rica, Brasil, E.U. México y España desde el 2006 a 2010.



f. Técnicas de Parasitología, Toxicología, Hematología y metales pesados. Para estimar la salud de tortugas marinas en México, E.U. e Italia desde el 2011 al 2014.

Figura 2.3 Reportes internacionales de la evaluación de salud de tortugas marinas utilizando diversas herramientas diagnósticas (desde 1986 al 2014).

Al comparar la importancia que han dado los estudios de salud más amplios de amniotas marinos en libertad a identificar y evaluar Factores de Riesgo, con la de trabajos antecedentes de salud de tortugas marinas en BCS se encontró que estos últimos se asemejan mucho a lo reportado por los especialistas en el área, sin embargo podrían complementarse con estudios específicos.

De las comparaciones se identificaron los siguientes determinantes de éxito, que sería deseable se implementaran en el monitoreo de salud y detección y reacción ante enfermedades de tortugas marinas en BCS.

- Examen físico completo
- Parasitología
- Bacteriología
- Toxicología
- Hematología (BH, QS, Gasometría, Pruebas de función hepática).
- Toma de Biopsias (Histopatología, Microscopía electrónica de transmisión, de barrido y Biología molecular).

2.6.2. Diagnóstico

Con base en los resultados obtenidos, se diagnosticaron “Clínicamente sanos” 6 especímenes *Caretta caretta* sub adultos de San Juanico BCS y 25 especímenes *Chelonia mydas* sub adultos y 4 adultos de la Laguna Ojo de Liebre en Guerrero Negro BCS capturados en agosto y septiembre de 2010 respectivamente.

2.6.3. Análisis de componentes principales para evaluar el poder de los parámetros hematológicos como indicadores de salud y enfermedad en *Chelonia mydas* y *Caretta caretta*

Al revisar la literatura internacional, se observó que en su gran mayoría, los valores hematológicos reportados difieren entre sí de acuerdo al tipo de técnica hematológica utilizada y la heterogeneidad en la evaluación de los elementos celulares, así como en las unidades en las que son reportadas. Para realizar el análisis de componentes principales se seleccionaron las variables Hematocrito, Leucocitos, Linfocitos, Monocitos, Eosinófilos y Heterófilos para *C. mydas* y Hematocrito, Linfocitos y Heterófilos para *C. caretta* con respecto a las analizadas en este estudio bajo los siguientes criterios: 1. En la literatura especializada, los autores no evalúan todas las variables hematológicas por lo tanto es difícil compararas. 2. Los trabajos internacionales no utilizan las mismas técnicas por lo tanto existen diferencias marcadas en la evaluación de las variables 3. Un gran número de trabajos que utilizan hematología son descriptivos. Una vez seleccionadas las variables se generaron los datos completos de cada autor a partir de la media y desviación estándar mediante estadística inversa y se generó una base de datos. Al mismo tiempo se observó que hay diferencias entre las unidades en que se reportan los valores y son complejas y confusas, por lo tanto para facilitar su manejo, volverlos prácticos y de fácil acceso se procedió a convertir las unidades en $\times 10^3/\text{mL}$ para homogeneizar los datos (Tabla 2.4).

Tabla 2.4. Conversión de los valores hematológicos seleccionados para el análisis de componentes principales y homogeneización en % y $\times 10^3/\text{mL}$ como unidades de expresión.

Autor y año	Valores hematológicos estimados					
	Hematocrito (%)	Leucocitos $\times 10^3/\text{mL}$	Linfocitos $\times 10^3/\text{mL}$	Monocitos $\times 10^3/\text{mL}$	Eosinófilos $\times 10^3/\text{mL}$	Heterófilos $\times 10^3/\text{mL}$
Aguirre <i>et al.</i> 199	26	928	46	0	1	10
Work <i>et al.</i> 1999	38	1192	77	1	1	13
Lara 2011	39	585	543	18	0	54
Samour <i>et al.</i> 1998	33	184	40	12	11	13
Rossi 2009	34.53	-	32.85	-	-	56.03
Kakizoe <i>et al.</i> 2007	30.46	-	49.81	-	-	43.42
Deem <i>et al.</i> 2009	32.63	-	28.47	-	-	36.46
Casal <i>et al.</i> 2009	28.41	-	16.42	-	-	81.67
Pires <i>et al.</i> 2009	33.75	-	19.22	-	-	75.59

Una vez homogeneizados los datos, se llevo a cabo el análisis de componentes principales, en la tabla 2.5. se muestra la matriz de valores de correlación entre 6 variables hematológicas evaluadas en *C. mydas*. Se observa la correlación positiva del número total de los Leucocitos con el de los Linfocitos, lo cual es indicativo de que hay animales que están cursando por un proceso infeccioso (Aguirre *et al.* 1994, Balazs y Work 1995).

Tabla 2.5. Matriz de correlación de 6 variables hematológicas evaluadas de *Chelonia mydas*.

	% Hematocrito	# Leucocitos	# Linfocitos	# Monocitos	# Eosinófilos	#Heterófilos
% Hematocrito	1.00					
# Leucocitos	-0.07	1.00				
# Linfocitos	-0.05	0.73	1.00			
# Monocitos	0.19	-0.48	-0.24	1.00		
# Eosinófilos	0.03	-0.32	-0.15	0.25	1.00	
# Heterófilos	0.30	-0.55	-0.78	0.24	0.07	1.00

La tabla 2.6. muestra la Matriz de componentes principales (CP) sus valores propios (eigenvalues, V.P.), % total de varianza, Valor propio acumulado y porcentaje acumulado de varianza, resultante del análisis de 6 variables hematológicas y la clasificación del % de Hematocrito, el número total de leucocitos, Linfocitos, Monocitos, Eosinófilos y Heterófilos en *C. mydas*. Se aprecia que el Componente principal 1, el 2 y el 3 explican casi el 81% total de la varianza.

Tabla 2.6. Matriz de componentes principales de 6 variables hematológicas evaluadas en *Chelonia mydas*.

CP	V.P.	%Total de Varianza	Valor propio Acumulativo	% Acumulado de varianza
1	2.72	45.47	2.72	45.47
2	1.09	18.23	3.82	63.70
3	1.03	17.23	4.85	80.94
4	0.70	11.80	5.56	92.74
5	0.30	5.12	5.87	97.86
6	0.12	2.13	6.00	100.00

La tabla 2.7. muestra la Matriz de componentes principales correspondientes a cada una de las 6 variables hematológicas evaluadas y su contribución al modelo. Para el CP1 que expresa el 45% de la varianza total, los valores más representativos son de Linfocitos, Leucocitos y de manera inversa los Heterófilos. Para el CP2 que expresa el 18% de la varianza total son los Eosinófilos y para el CP3 (17.23%) la variable ponderada es el % de Hematocrito.

Tabla 2.7. Matriz de componentes principales y % de varianza y varianza acumulada resultante del análisis de 6 variables hematológicas indicadoras de estado de salud enfermedad en *C. mydas*.

Variab les	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5	CP6
<i>% Hematocrito</i>	-0.28	-0.18	0.90	0.19	-0.14	0.05
<i># Leucocitos</i>	0.87	-0.12	0.18	0.11	0.39	0.13
<i># Linfocitos</i>	0.86	0.28	0.30	-0.07	-0.00	-0.26
<i># Monocitos</i>	-0.57	0.45	0.28	-0.58	0.18	0.04
<i># Eosinófilos</i>	-0.36	0.75	-0.02	0.53	0.09	0.00
<i># Heterófilos</i>	-0.82	-0.42	0.02	0.13	0.30	-0.18
Variable explicada	2.72	1.09	1.03	0.70	0.30	0.12
Probabilidad Total	0.45	0.18	0.17	0.11	0.05	0.02
% Varianza Total	45.47	18.23	17.23	11.80	5.12	2.13
% Acumulada	45.47	63.70	80.94	92.74	97.86	100.0

La figura 2.4. muestra el círculo de correlación definido por los ejes de los componentes principales CP1 y CP2 de *C. mydas*. Se observa la relación positiva de los Linfocitos para los modelos CP1 y CP2, asimismo se aprecia que los Eosinófilos y Monocitos están correlacionados de manera inversa en el CP1 y directamente correlacionados para el CP2. En el caso del % del Hematocrito y el No. total de Heterófilos se advierte que están correlacionados de manera inversa para ambos componentes y finalmente el % del Hematocrito esta poco correlacionado para CP1 y CP2.

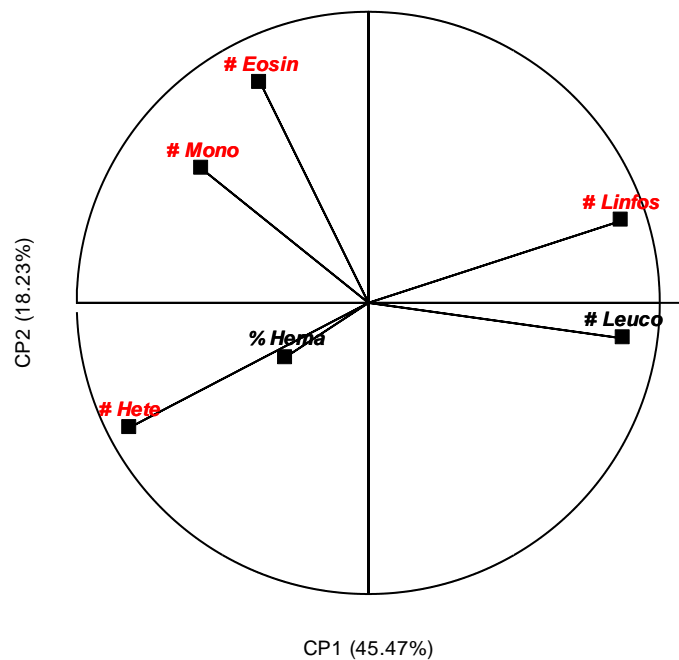


Figura 2.4. Círculo de correlación para 6 variables hematológicas evaluadas en *C. mydas* de Hawái, Pacífico Mexicano, Caribe Mexicano y Los Emiratos Árabes Unidos definido por los ejes de los componentes principales CP1 y CP2.

La figura 2.5. muestra el círculo de correlación definido por los ejes de los componentes principales CP1 y CP3 de *C. mydas*. Se observa la correlación positiva entre los Leucocitos y los Linfocitos y su correlación negativa con los Heterófilos en el CP1.

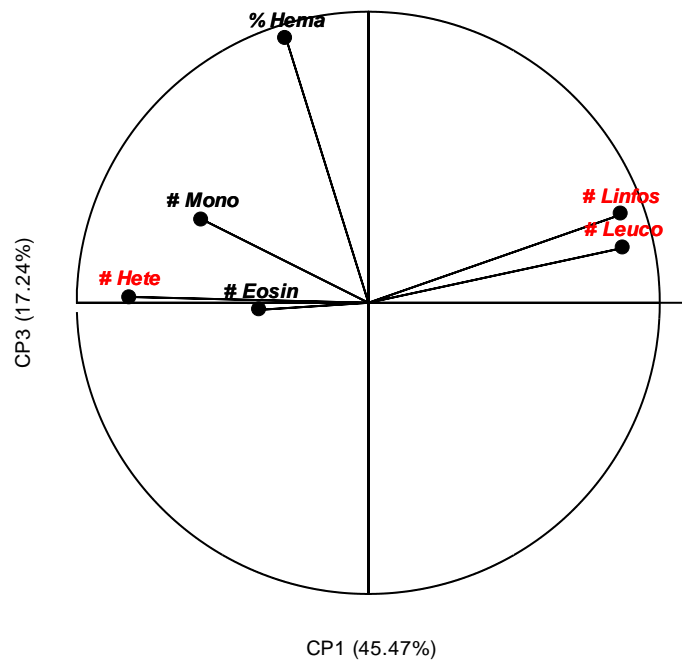


Figura 2.5. Círculo de correlación para 6 variables hematológicas evaluadas en *C. mydas* de Hawái, Pacífico Mexicano, Caribe Mexicano y Los Emiratos Árabes Unidos, definido por los ejes de los componentes principales CP1 y CP3.

La figura 2.6. Muestra la agrupación de 4 stocks de *C. mydas* de distintas zonas geográficas: Emiratos Árabes Unidos (Samour *et al.* 1998), Hawái (Aguirre *et al.* 1994 y Work *et al.* 1999), Caribe Mexicano (Lara Uc 2011). Lo cual indica que los valores del Hematocrito y el número total de los Leucocitos, Linfocitos, Monocitos, Eosinófilos y Heterófilos son independientes y específicos para cada población.

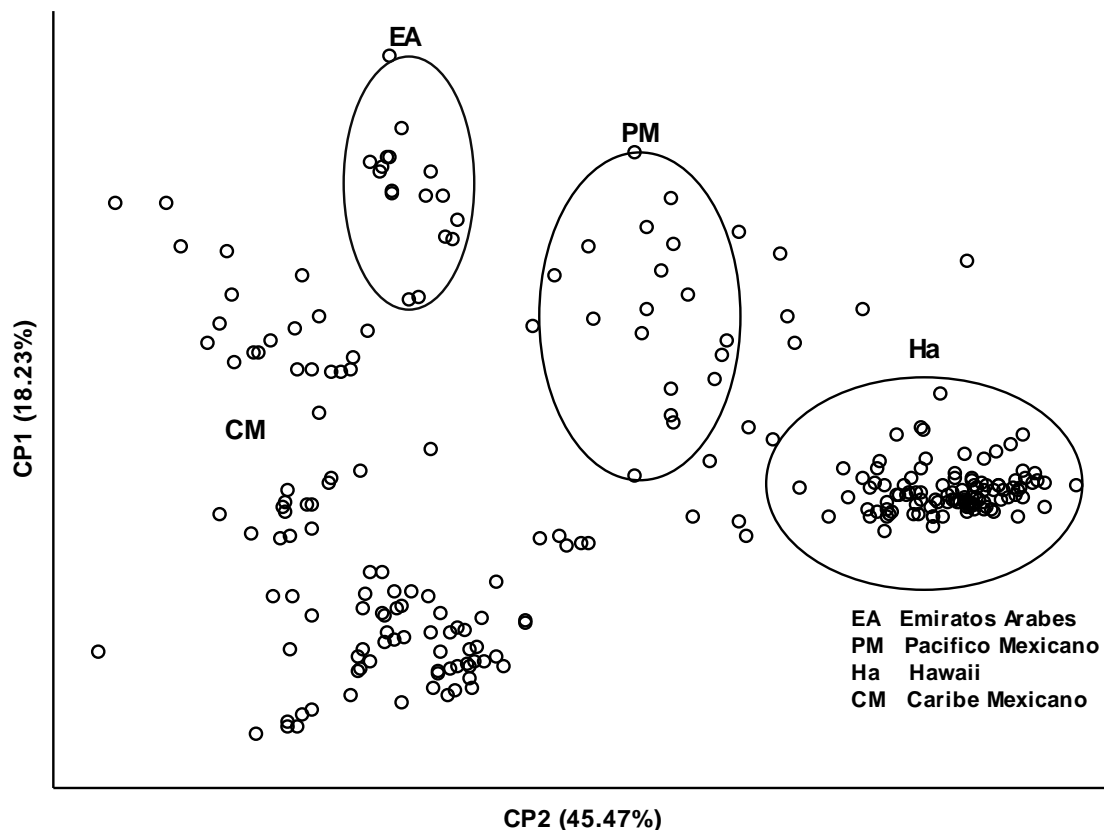


Figura 2.6. Agrupación de 4 stocks de *C. mydas* de distintas zonas geográficas (Acorde al reanálisis de datos publicados por Aguirre *et al.* 1994, Samour *et al.* 1998, Work *et al.* 1999, Lara Uc 2011).

La Figura 2.7. Muestra la agrupación de 6 valores hematológicos indicadores de salud y enfermedad en 4 stocks de *C. mydas* de distintas zonas geográficas. Los valores muy altos o muy bajos de sus componentes principales en las poblaciones de Hawái y el Caribe mexicano son específicos, este incremento se asocia a la presencia de neoplasias y parásitos respectivamente.

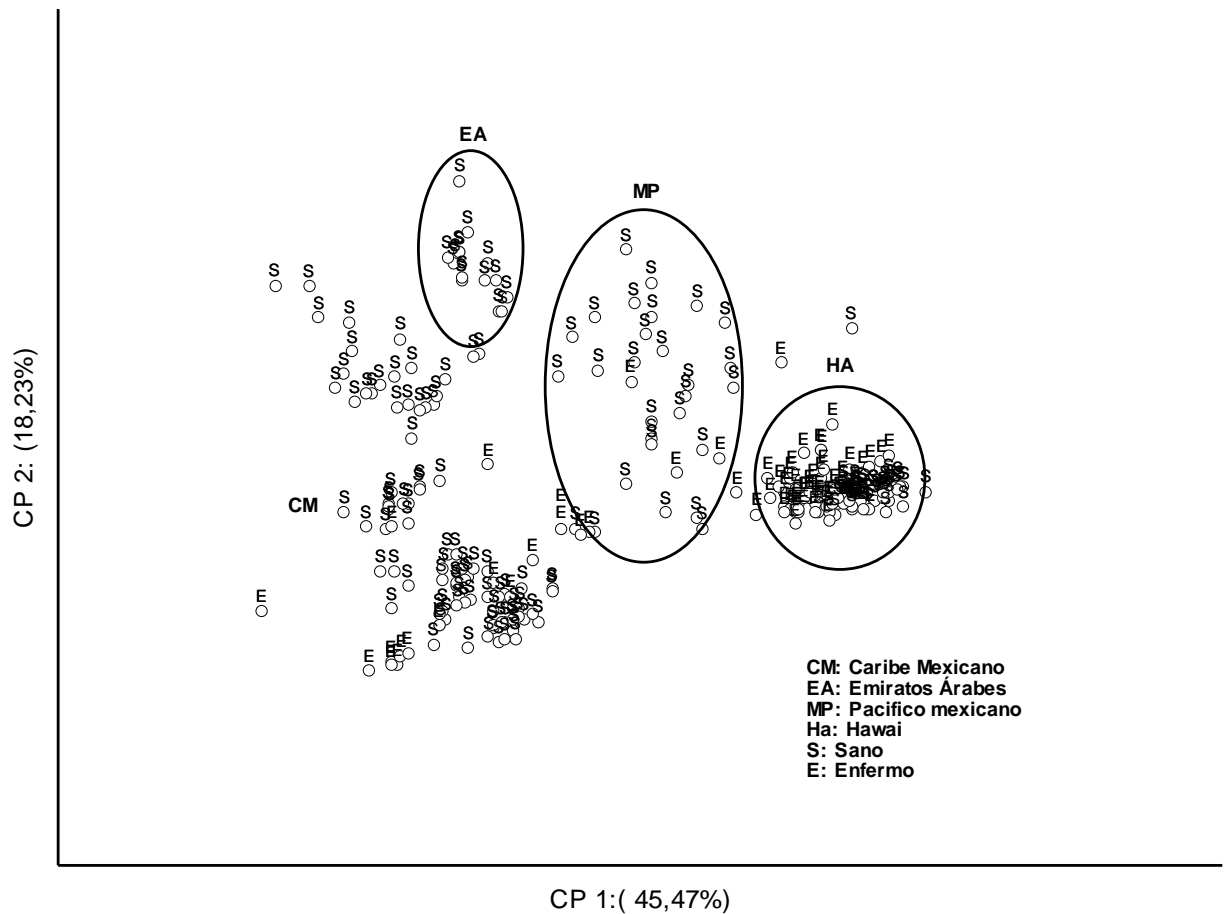


Figura 2.7. Agrupación de 6 valores hematológicos relacionados a la presencia de parásitos y tumores en 4 stocks de *C. mydas* de distintas zonas geográficas, Hawái (Aguirre *et al.* 1994, Work *et al.* 1999), Emiratos Árabes Unidos (Samour *et al.* 1998), Caribe mexicano (Lara Uc 2011).

Caretta caretta

La tabla 2.8. muestra la matriz de valores de correlación entre 3 variables hematológicas indicadoras de salud y enfermedad evaluadas en *C. caretta*. Se observa una baja correlación entre el porcentaje de hematocrito y el número total de Linfocitos, así como la correlación negativa entre de los Linfocitos y los Heterófilos, proceso fisiológico que se puede asociar al estrés en animales jóvenes y a la actividad física prolongada respectivamente (Núñez y Bouda 2002).

Tabla 2.8. Valores de la matriz de correlación de los valores hematológicos de *Caretta caretta*.

Variables	% Hematocrito	# Linfocitos	# Heterófilos
<i>% Hematocrito</i>	1.00		
<i># Linfocitos</i>	0.07	1.00	
<i># Heterófilos</i>	-0.18	-0.37	1.00

La tabla 2.9. Muestra la Matriz de componentes principales sus valores propios (eigenvalues, V.P.), % total de varianza, Valor propio acumulado y porcentaje acumulado de varianza, resultante del análisis de 3 variables hematológicas y la clasificación del % de Hematocrito, el número total de Linfocitos, y Heterófilos clasificadas en *C. caretta*. Se aprecia que el Componente principal 1 y el Componente principal 2 explican casi el 80% del total de la varianza.

Tabla 2.9. Matriz de componentes principales sus valores propios (eigenvalues, V.P.), % total de varianza, Valor Propio Acumulado y porcentaje acumulado de varianza, resultante del análisis de 3 variables hematológicas (% de Hematocrito, el número total de Linfocitos y Heterófilos) en *Caretta caretta*.

CP	V.P.	%Total de Varianza	Valor propio Acumulativo	% Acumulado de varianza
1	1.45	48.52	1.45	48.52
2	0.93	31.27	2.39	79.80
3	0.60	20.19	3.00	100.00

La tabla 2.10. muestra la Matriz de componentes principales correspondientes a cada una de las 3 variables hematológicas evaluadas y su contribución al modelo. Para el CP1 que expresa el 48.52% de la varianza total los valores mas representativos son los Linfocitos y de manera inversa los Heterófilos y para el CP2 que expresa el 31% de la varianza total, la variable ponderada es el % del Hematocrito.

Tabla 2.10. Matriz de componentes principales y % de varianza y varianza acumulada resultante del análisis de 3 variables hematológicas (% de Hematocrito, el número total de Linfocitos y Heterófilos) indicadoras de salud y enfermedad evaluadas en *Caretta caretta*.

Variables	CP1	CP2	CP3
% Hematocrito	0.46	0.86	0.17
# Linfocitos	0.75	-0.41	0.50
# Heterófilos	-0.81	0.11	0.56
Varianza explicada	1.45	0.93	0.60
Probabilidad total	0.48	0.31	0.20
% Varianza total	48.52	31.27	20.19
Acumulativo	48.52	79.80	100.00

CP Componentes Principales.

La figura 2.8. muestra el círculo de correlación definido por los ejes de los componentes principales CP1 y CP2 de *C. caretta*. Se aprecia la proyección de las variables % de Hematocrito la cual explica la baja correlación de CP1 y la alta correlación del CP2. Así mismo se observa la correlación positiva de los Heterófilos en el CP2 y la correlación positiva de los Linfocitos en el CP1.

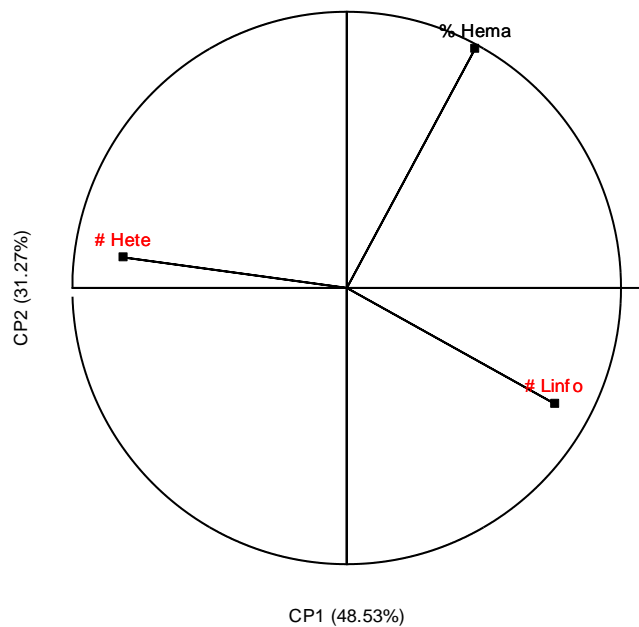


Figura 2.8. Círculo de correlación para 3 variables hematológicas evaluadas en *C. caretta* del Pacífico mexicano, el Atlántico, Japón y un centro de rehabilitación en España, definido por los ejes de los componentes principales CP1 y CP2.

La Figura 2.9. muestra el círculo de correlación definido por los ejes de los componentes principales CP1 y CP3 *C. caretta*. Se observa la correlación negativa entre los Linfocitos y los Heterófilos en el CP1. Indicativos de estrés en animales jóvenes y aumento de la actividad física (Núñez y Bouda 2002).

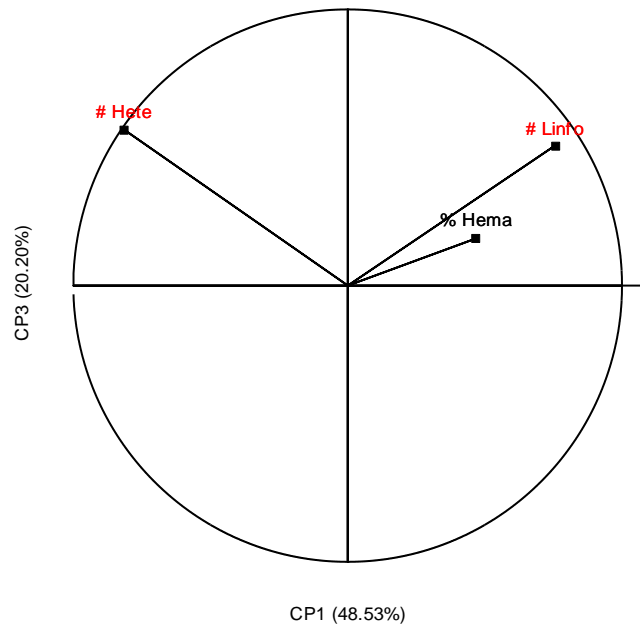


Figura 2.9. Círculo de correlación para 3 variables hematológicas evaluadas en *C. caretta* del Pacífico mexicano, el Atlántico, Japón y un centro de rehabilitación en España, definido por los ejes de los componentes principales CP1 y CP3.

La figura 2.10 Muestra la agrupación de 4 stocks de *C. caretta* de distintas zonas geográficas: Pacífico mexicano (Rossi 2009), Japón (Kakizoe *et al.* 2007), Atlántico (Deem *et al.* 2009) y un centro de rehabilitación (Casal y Oros *et al.* 2009).

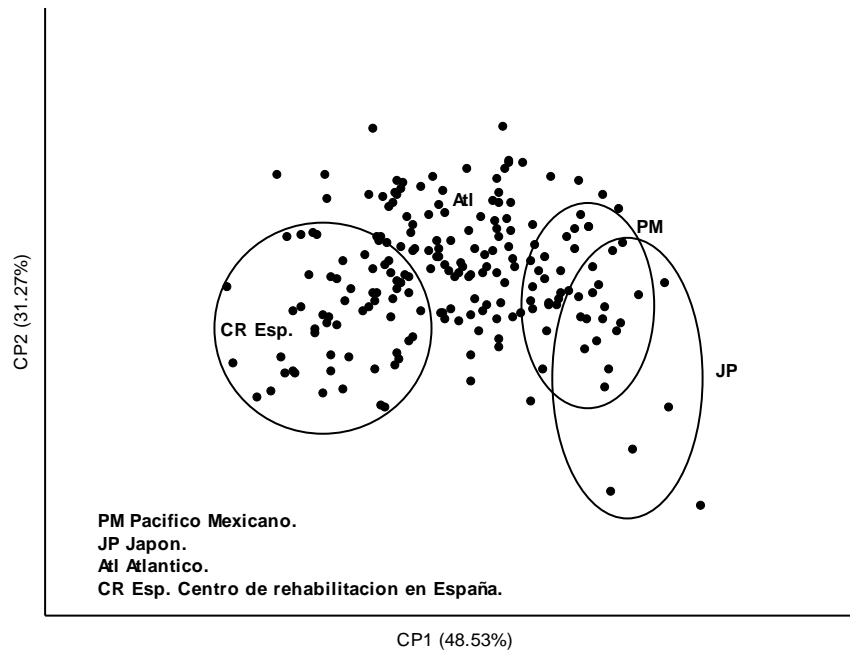


Figura 2.10. Agrupación de 3 valores hematológicos en 4 stocks de *C. caretta* de 4 distintas zonas geográficas (Kakizoe *et al.* 2007, Rossi 2009, Deem *et al.* 2009, Casal y Oros 2009).

2.7. Discusión y Conclusiones

Al determinar la idoneidad de los estudios de salud y enfermedad de tortugas marinas en BCS: comparación con estudios de salud más amplios de amniotas marinos en libertad, se constató que, en el caso de los trabajos antecedentes dirigidos a monitorear la salud y enfermedad de tortugas marinas en BCS, estos se asemejan mucho en cuanto a sus objetivos y al tipo de monitoreo en delfines, focas monje y algunas especies de ballenas, sin embargo no en todos los casos se puede manipular a los animales para obtener algunos otros datos indicativos de enfermedades. Estas características los hace comunes entre si sobre todo por la gran dificultad que implica el tener acceso a estos animales para evaluarlos. Al comparar la importancia que han dado los estudios de salud más amplios de amniotas marinos en libertad a la colecta, administración y sistematización de información histórica y datos base, con la de trabajos antecedentes de salud de tortugas marinas en BCS. Se encontró que estos últimos abarcan campos muy limitados (sobretudo enfocados a parásitos y FP) y eso los hace divergentes a los estudios en otros amniotas reportados en la literatura internacional.

Se encontró que del total de estudios dirigidos a evaluar el estado de salud de tortugas marinas en BCS (n= 0 de 5) adoptaron los conceptos de enfermedad; patógeno; patogenicidad; virulencia, en el marco de las definiciones de salud y enfermedad propuestos por la O.M.S. y 2 (40%) adoptaron estos conceptos a partir de tratados de medicina veterinaria, mientras que 3 (60%) adoptaron modificaciones a estos conceptos propuestos recientemente por organizaciones dedicadas a evaluar salud y enfermedad en animales silvestres. divergencias importantes comparándose con el concepto de salud que manejaron los trabajos antecedentes de salud de tortugas marinas en BCS.

Consideramos que este tipo de estudios de salud no son idóneos o bien están incompletos, en su mayoría han sido abordados con enfoques de salud generales mientras que otros se basan en definiciones de salud de animales domésticos, además en muchos casos están dirigidos a estudiar la salud de manera individual, por lo tanto no son estudios representativos de salud poblacional. Algunos de estos estudios se centran en diagnosticar la salud por medio la apreciación visual y palpación manual por ejemplo del nivel de reservas corporales de los animales, tal es el caso del diagnóstico de salud por medio del índice de condición corporal, este índice se enfoca a conocer el porcentaje de grasa en el cuerpo.

Es uno de los mejores indicadores del “estado nutricional” de los animales (Blood *et al.* 1986), y por lo tanto un importante determinante del desempeño reproductivo de estos, sobre todo en los animales destinados a la producción para consumo humano (Pardo 1997). La condición corporal es un sistema que clasifica a los animales según la apreciación visual, según su peso, talla, e incluso las mediciones de grasa subcutánea. Este indica de manera “general” su nivel de reservas corporales (Pérez 1990), es el mejor indicador del peso vivo o cambios en el peso vivo de un animal (Blood *et al.* 1986). No obstante este índice NO es un método diagnóstico de salud y enfermedades, debido a que no determina daños celulares, ni etiologías, enfermedades sin manifestación clínica ni cambios patológicos en órganos internos, tampoco procesos infecciosos bacterianos o virales, mucho menos la presencia de neoplasias en órganos mesenquimatosos (Slauson y Cooper 1990), es un método de uso exclusivo para estimar de manera general “el estado nutricional” del animal y no procesos etiológicos y patológicos que modifiquen la salud de un organismo (Trigo 1998).

Con el paso del tiempo, otro método diagnóstico de salud enfermedad que se popularizo fue el análisis de los valores de Química Sanguínea (QS) y Biometría Hemática (BH), estos valores varían con los factores especie, sexo, edad, peso, tipo de dieta, etapa de desarrollo y reproductiva, si están en migración o si son residentes (Aguirre *et al.* 1994). La QS es una herramienta de orientación para el diagnóstico, los metabolitos que se analizan, NO especifican el daño en los tejidos u órganos (Núñez *et al.* 2007). Por lo tanto no es un método eficaz para diagnosticar correctamente o completo el estado de salud de ninguna especie (Quiroz *et al.* 2010, Cordero-Tapia y Reséndiz 2014). La BH es una herramienta de orientación diagnóstica para diversos agentes causales de enfermedades. Solo es diagnóstica cuando el agente o el daño afectan directamente a las células sanguíneas (Mahaffey y Latimer 2003), ejemplo: presencia de hemoparásitos, casos de linfocitosis, heterofilia, leucocitosis, glóbulos rojos con inclusiones intracitoplasmáticas, restos de organelos, hemoglobina precipitada, etc. (Meyer y Harvey 2001) los cuales se reportan en la literatura como cambios asociados a procesos infecciosos crónicos y activos (Núñez *et al.* 2007, Cordero-Tapia y Reséndiz 2014).

En la literatura especializada se señala el uso de métodos diagnósticos de salud enfermedad mediante cambios autolíticos con los que se podría determinar el “estado de salud” de las tortugas marinas “muertas”. En un cadáver no se puede determinar el estado de salud (Achaval 1994, Linacre 2009). Para considerar una evaluación del estado de salud se incluyen factores como llenado capilar, ritmo cardíaco, frecuencia respiratoria, temperatura corporal, sangrado (en su caso) etc. (Blood *et al.* 1986, Pérez 1990) por obvias razones es un término mal utilizado que se presta a confusión, sin embargo, con estos cambios SI se puede estimar la causa y fecha probable de muerte (Linacre 2009).

Con el paso del tiempo y el desarrollo y la aplicación de la tecnología en las ciencias biológicas, se han utilizado métodos muy diversos como herramientas diagnósticas para evaluar la salud y enfermedades de las tortugas marinas alrededor del mundo, en este sentido existen estudios que van desde los muy específicos (como los relativos a las especies reactivas de Oxígeno y los de Biología molecular) hasta los descriptivos y cualitativos así como los que llevaron a cabo muestreos invasivos en el método de captura y toma de muestras, no obstante la característica principal de este tipo de investigaciones es que están enfocados a evaluar la salud de manera individual lo cual limita el panorama, dista mucho de ser representativo e impide lograr altos índices de validez a nivel poblacional.

A partir de la década del 2000 y con el uso de técnicas diagnósticas básicas y específicas, los estudios de salud enfermedad modificaron su perspectiva de trabajo con la intención de proyectar las evaluaciones a nivel poblacional, sin embargo en últimos años los estudios muestran debilidad en este contexto, si bien a nivel global hay interés por monitorear la salud de las poblaciones de tortugas, en nuestro país se siguen desarrollando trabajos cuyos objetivos sobre especializados limitan su aplicación y no permiten confirmar si existe una relación causa efecto entre el evento y los cambios que podrían afectar la salud poblacional, en este caso el uso de un ensayo aleatorizado es la estrategia que se reconoce como más poderosa para establecer relaciones causa efecto. Sin embargo, no se ha utilizado este tipo de diseño en estudios de tortugas marinas (por ejemplo cuando se evaluaron los efectos de la exposición a contaminantes organoclorados y metales pesados), lo que determina que en conjunto estos resultados manifiesten muy poco lo que acontece con las poblaciones de tortugas marinas.

Por otra parte, ninguno de estos estudios son referentes al resultado de la interacción biológica, social y ambiental de las tortugas marinas que afectan la capacidad de hacer frente a los cambios.

El uso de estos métodos diagnósticos es incompleto, tanto los resultados reportados a nivel internacional como los obtenidos en este estudio no son representativos a pesar de estar dentro de los “parámetros” previamente documentados. En ambos casos, no deben ser tomados como parámetros o como datos de prevalencia o incidencia (Cordero-Tapia y Reséndiz 2014) dado que no calculan la tasa de las enfermedades (Jaramillo y Martínez-Maya 2010, Garza y Arvizu 2012). Y no se cumple con las características estadísticas de la epidemiología espacial (García-Vázquez 1990, Jekel *et al.* 2007). Sin embargo si pueden ser utilizados como valores comparativos y/o de referencia para evaluar el estado de salud de otros stocks de tortugas marinas.

Se sugiere complementar los estudios de salud en tortugas marinas con dos perspectivas, la primera a nivel individual llevando a cabo una secuencia ordenada de la práctica médica, iniciando con la anamnesis (o bien la información y datos generales del lugar y la especie animal), seguida de una evaluación sistemática y ordenada con orientación cráneo caudal y dorso ventral de las tortugas, posteriormente se propone describir los signos clínicos y los cambios patológicos aparentes observados, así como los cambios anatómicos y morfológicos funcionales que se evidencien.

Esta información generada permite definir la condición del paciente y ayuda a determinar que tipo de muestras tomar para enviar al laboratorio, además de que indica en que otros exámenes complementarios podemos apoyarnos (electrocardiogramas, radiografías, ecocardiografías, etc.) (Núñez y Bouda 2002).

Y la segunda a nivel poblacional, iniciando con la descripción y análisis de la influencia que tiene el medio ambiente sobre el desarrollo de los cambios en la salud y la presencia de enfermedades, especialmente desde el concepto de salud y enfermedad en poblaciones silvestres (Stephen 2014), así como el concepto de riesgo (Garza y Arvizu 2012). La identificación de los factores de riesgo y de los grupos vulnerables.

Se propone monitorear las enfermedades posibles (conocer la tasa de enfermedad), así como conocer a los patógenos comunes que afectan a las tortugas marinas y su mecanismo de acción, patogenicidad y virulencia, en el marco de las definiciones más actuales de salud en animales silvestres con el uso de técnicas de Parasitología, Bacteriología, Toxicología, Hematología (QS, Gasometría, Pruebas de función hepática, etc.). Así como la toma de Biopsias para evaluarlas mediante Histopatología, Microscopía electrónica (transmisión y barrido) y Genética molecular como de “rutina” también con el fin de estimar la presencia de agentes etiológicos y potencialmente zoonóticos, estimar la presencia de neoplasias con y sin manifestación clínica, desarrollar los diseños epidemiológicos pertinentes (por ejemplo con técnicas de epidemiología espacial) (Garza y Arvizu 2012), establecer la frecuencia, prevalencia e incidencia de enfermedades y factores de riesgo, y establecer las relaciones causales entre determinados factores de riesgo y los problemas concretos de salud enfermedad, para emitir un diagnóstico de salud enfermedad poblacional completo y confiable.

Del análisis de componentes principales para evaluar el poder de los parámetros hematológicos como indicadores de salud y enfermedad en *Chelonia mydas* y *Caretta caretta* se observó que las unidades de expresión de las variables hematológicas de tortugas marinas reportadas en la literatura internacional difieren de acuerdo al tipo de técnica utilizada, así como al tipo de estudio realizado y pueden prestarse a confusión dado que los investigadores no miden los mismos valores hematológicos, aunado a que los datos se reportan en diferentes unidades de medida, lo anterior tiene como consecuencia un amplio desorden para la interpretación y comparación de los datos, en este estudio se hizo una revisión exhaustiva de la literatura y se seleccionaron las unidades de expresión más accesibles para manejar los valores, se realizó su conversión y posteriormente se homogeneizaron (Tabla 2.4). Se propone estandarizar el uso de (%) para la variable Hematocrito y Proteínas Totales, y el uso de $\times 10^3/\text{mL}$ para las variables Eritrocitos, Leucocitos, Linfocitos, Eosinófilos, Basófilos, Heterófilos y Monocitos para unificar los criterios de evaluación y por su practicidad para manejar los datos.

De la matriz de valores de correlación entre 6 variables hematológicas evaluadas en *C. mydas* solo se observó la correlación positiva del número total de los Leucocitos con el de los Linfocitos, lo cual indica que los animales están cursando por un proceso infeccioso (Núñez y Bouda, 2002) en el caso de los animales de Hawái un proceso neoplásico (Aguirre et al. 1995, Work y Balazs 1999) en este caso se propone seleccionar estas dos variables para ser monitoreadas rutinariamente particularmente porque son relativas a una respuesta proliferativa (FP). Para el caso de *C. caretta* la matriz de valores de correlación entre 3 variables hematológicas muestra una baja correlación entre el porcentaje de hematocrito y el número total de Linfocitos, así como la correlación negativa entre de los Linfocitos y los Heterófilos, este comportamiento fisiológico se puede asociar al estrés en animales jóvenes y a la actividad física prolongada respectivamente (Núñez y Bouda 2002). Se propone considerar que estas variables pueden verse alteradas por el tipo de capturas, el manejo de los animal y el método de colecta de muestras.

La Matriz de componentes principales sus valores propios (eigenvalues, V.P.), % total de varianza, Valor Propio Acumulado y porcentaje acumulado de varianza resultante del análisis de 6 variables hematológicas (% de Hematocrito y el número total de células blancas, leucocitos, Linfocitos, Monocitos, Eosinófilos y Heterófilos), indica que el Componente principal 1, el 2 y el 3 explican casi el 81% total de la varianza en el caso de *C. mydas*, mientras que la Matriz de componentes principales resultante del análisis de 3 variables hematológicas (% de Hematocrito, el número total de Linfocitos y Heterófilos) en *C. caretta*, señala que el Componente principal 1 y el Componente principal 2 explican casi el 80% del total de la varianza.

En el caso de la Matriz de componentes principales correspondientes a cada una de las 6 variables hematológicas evaluadas indica su contribución individual al modelo, en el caso de *C. mydas*, el CP1 expreso el 45% de la varianza total y los valores más representativos son los linfocitos, los leucocitos y de manera inversa los Heterófilos. El CP2 expreso el 18% de la varianza total y las células mas representativas son los eosinófilos y para el CP3 (17.23%) la variable ponderada es el % de hematocrito.

En el caso de *C. caretta*, el CP1 expreso el 48.52% de la varianza total y los valores más representativos fueron los Linfocitos y de manera inversa los Heterófilos, para el CP2 que expreso el 31% de la varianza total, la variable ponderada es el % del Hematocrito. En ambos casos esta interpretación es suficiente para determinar que a pesar del tamaño de muestra estas variables son las mas importantes como indicadores de salud y enfermedad con base en la proporción de varianza y deben ser medidas de manera rutinaria en los monitoreos de salud mediante hematología de tortugas marinas. Estos análisis sugieren que los valores de Linfocitos-Heterófilos están afectados al aumentar y disminuir respectivamente en las hembras anidadoras, lo cual podría deberse principalmente a los diferentes métodos empleados para la captura de los animales, el manejo y la toma de muestra, pues las técnicas aplicadas pueden alterar significativamente los valores leucocitarios por efecto del estrés por manejo (Aguirre *et al.*, 1995), La toma de muestra en las hembras anidadoras se realiza durante el proceso de ovoposición (Prieto-Torres *et al.*, 2012), tiempo durante el cual el animal se encuentra relajado, requiriendo una manipulación mínima para obtener la muestra; asumiendo así que el estrés generado es menor que en el caso de los organismos capturados por las técnicas de redes y rodeo. Aun así la técnica de rodeo es propuesta como una de las más adecuadas tanto para el manejo como para la obtención de la muestra ya que es prácticamente inmediata y evita que se registren reacciones proliferativas graves por estrés, impidiendo así que se alteren los valores hematológicos. Aunado a esto, diversos autores proponen que existen otros factores que inciden sobre los valores hematológicos de reptiles tales como las variaciones climáticas o ambientales (Campbell 1995, Whiting *et al.* 2007) sin embargo su papel es controversial. Asimismo, se ha planteado la existencia de factores como las diferencias en tallas, sexo, temperatura, hidratación corporal, período y estado reproductivo como causantes de las variaciones en los parámetros hematológicos obtenidos en una población (Campbell 1995, Christopher *et al.* 1999).

Por otra parte, en el caso específico de la morfología de las células sanguíneas observadas (eritrocitos y leucocitos) fue similar a lo descrito por Aguirre *et al.* (1995) y Work *et al.* (1998) en tortugas verdes sanas, y por Casal y Oros (2009) para tortugas *Caretta caretta* sanas.

Los valores del hematocrito y el número total de los Linfocitos, Monocitos, Eosinófilos y Heterófilos en *C. mydas*, son independientes y específicos para cada población y zona geográfica: Emiratos Árabes Unidos (Samour *et al.* 1998), Hawái (Aguirre *et al.* 1994 y Work *et al.* 1999), Caribe Mexicano (Lara Uc 2011) y este estudio en el Pacífico Mexicano, y se asocian a la edad, etapa reproductiva, disponibilidad de alimento y posiblemente al uso de hábitat (Koch *et al.* 2010). Estos datos concuerdan con lo reportado por (Dutton *et al.* 2008) quien indica que la población de Hawái es un grupo cerrado el cual cumple su ciclo de vida completo alrededor de las islas. En ese contexto, se sugiere que los organismos del pacífico mexicano son una agregación de zonas como Michoacán, Malpelo y Revillagigedo, entre otros. Los valores observados para la población del Caribe mexicano también indican independencia y su variabilidad se asocia a la etapa reproductiva (hembras anidadoras jóvenes y adultas).

A pesar de que los valores del hematocrito difieren entre grupos, se consideraron 29 *C. mydas* y 6 *C. caretta* sanos y por lo tanto durante el examen físico (Trigo 1998) no se observaron signos clínicos (Latimer *et al.* 2005) como anemia, deshidratación, sangrado, desnutrición (Núñez y Bouda 2002), ni la presencia de posibles enfermedades respiratorias, renales, gastrointestinales, ni enfermedades inflamatorias e infecciosas crónicas, así como neoplasias (Work y Balazs 1999).

Los leucocitos observados en este estudio según su predominancia numérica fueron: Linfocitos, Heterófilos, Monocitos, Eosinófilos, y Basófilos para *C. mydas* mientras que para *C. caretta* predominaron los Heterófilos, seguidos por los Linfocitos, Eosinófilos, Monocitos y Basófilos. Los valores de linfocitos tuvieron una media de $68 \pm 5.20 \times 10^3$ /mL para *C. mydas* y $24 \pm 3.14 \times 10^3$ /mL para *C. Caretta*. Con estos valores se excluye la posibilidad de que los animales estudiados estén cursando por cualquier proceso infeccioso (Aguirre y Balazs, 2000). Al documentar el predominio de Heterófilos, difieren de lo obtenido por Prieto-Torres 2012 y Lara Uc (2011) seguramente por el método de captura, el tipo de muestreo utilizado, al reportar una superioridad de linfocitos, las discrepancias observadas en los conteos podrían deberse a la dificultad para diferenciar trombocitos de linfocitos pequeños, ocasionando un sobre conteo o subconteo de linfocitos al ser confundidos con trombocitos.

No obstante estos valores del conteo Leucocitario diferencial esta dentro de los intervalos señalados en la literatura (Pires *et al.* 2009 y Flint *et al.* 2010) y se excluye la posibilidad de que los animales estudiados estén cursando por cualquier proceso infeccioso (Aguirre y Balazs 2000).

Cabe señalar que no existe un criterio definido que describa con exactitud los diferentes tipos de leucocitos. Investigaciones realizadas por varios autores (Work y Balazs 1999, Prieto-Torres *et al.* 2012) describen en frotis de tortugas verde la presencia de Eritrocitos, Eosinófilos, Basófilos, Azurófilos, Neutrófilos, Linfocitos, Monocitos y Trombocitos utilizando microscopio de luz. Aguirre y col. 1995, empleando la misma metodología clasifica a los leucocitos como: Heterófilos, Neutrófilos, Linfocitos, Eosinófilos y Basófilos. La discrepancia en la clasificación de leucocitos, se debe a que en estos estudios no se ha realizado la diferenciación de las células mediante caracterización citoquímica y/o estudio ultraestructural con el uso de microscopía electrónica (Casal y Oros 2009), que corroboren sus resultados. Algunos autores describen la presencia de neutrófilos en reptiles, mientras que otros los reportan como Heterófilos, los cuales funcionalmente corresponden a los Neutrófilos de mamíferos (Rosskopf 2000, Rossini 2002). La literatura denomina Heterófilos a los polimorfonucleares que con mayor frecuencia se presentan en la sangre de reptiles y aves (Campbell 1996, Work *et al.* 1998, Whiting *et al.* 2007) y bajo esta denominación se describieron en esta investigación.

Por otra parte, se observo la agrupación de 3 valores hematológicos en los 4 stocks de *C. caretta* (Pacífico mexicano, Rossi 2009, Japón, Kakizoe *et al.* 2007, Atlántico, Deem *et al.* 2009 y un centro de rehabilitación Casal y Oros *et al.* 2009), En este caso los valores del hematocrito y el número total de los Linfocitos y Heterófilos son independientes y específicos para la población del Atlántico y del centro de rehabilitación en España sin embargo estos valores convergen en el stock de tortugas del Pacífico mexicano y Japón estos valores coinciden porque los organismos que se alimenta en el Pacífico mexicano en su etapa juvenil, provienen de las costas de Japón y cumplen parte de su ciclo de vida en aguas cercanas a la Península de BCS (Peckham *et al.* 2008). Mediante este estudio no se puede confirmar que los valores hematológicos estén fuertemente relacionados a las condiciones ambientales del lugar, a la edad, etapa reproductiva y disponibilidad de alimento entre otros.

Debido a que los tamaños de muestra son muy reducidos, asimismo la dispersión de las variables respecto a la medida de tendencia central es grande, lo que resulta en que propiamente cada uno de los eigenvalores de cada dato (resultante de la correlación de las tres variables referidas para *C. caretta*), tenga una dispersión muy grande respecto al centroide que resume cada caso y finalmente a diferencia de lo que se observa en *C. mydas*, (trazar elipses para agrupar las nubes de datos comunes), en el caso de *C. caretta* es muy difícil.

2.8. Literatura citada

- Aguirre A, Balazs G, Spraker T, Gross T. (1995). Adrenal and hematological responses to stress in juveniles Green turtles (*Chelonia mydas*) with and without fibropapillomas. *Physiological Zoology* 68:831-854.
- Aguirre A, Balazs G, Zimmerman B, Spraker T. (1994). Evaluation of Hawaiian Green turtles (*Chelonia mydas*) for potential pathogens associated with fibropapillomas. *J. of wildl. dis.* 30. 1: 8-15.
- Aguirre A, Balazs G. (2000). Blood biochemistry values of green turtles, *Chelonia mydas*, with and without fibropapillomatosis. *Comparative Haematology International*, 10:132–137.
- Aguirre A, Gómez A. (2009). Essential Veterinary education in Conservation Medicine and ecosystem health: A global perspective *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 28. 2: 597-603.
- Aguirre A, Lutz P. (2004). Marine Turtles as Sentinels of Ecosystem Health: Is fibropapillomatosis an Indicator? *EcoHealth DOI:3: 275-283.*
- Aguirre A, Ostfeld R, Tabor G, House C, Pearl M. Conservation Medicine. Ecological health in practise. (2002). Oxford University press. new York, pp 411.
- Aguirre A. (2009). Essential Veterinary education in zoological and wildlife medicine: a global perspective. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 28. 2: 605-610.
- Alcantara G. (2008). La definición de salud de la Organización Mundial de la Salud y la interdisciplinaria *Sapiens*, Vol. 9, Núm. 1, junio, pp. 93-107 Universidad Pedagógica Experimental Libertador Caracas, Venezuela.
- Arvizu Tovar Laura y Márquez Rábago Sergio Ricardo. 2008. Marco Legal de la Medicina Veterinaria (Defensa Jurídica del Gobernado). Ed. El Manual Moderno, México D.F.
- Astudillo V. (1991). Desarrollo Ganadero y Salud Animal en Latinoamérica. Boletín No 57 CPFA/OPS.
- Astudillo V. (1993). Análisis Epidemiológico y Atención Veterinaria en Salud Animal. Boletín No 59 CPFA/OPS.
- Blood D, Radostits O, Henderson, Arundel J, Gay C. Medicina Veterinaria. Sexta edición. (1986) Nueva Editorial Interamericana, México D.F. pp. 1441.

- Bolton A. (1999). Techniques for measuring sea turtles. In Eckert, K, Bjorndal K, Abreu-Grobois A, y Donnelly M, eds. Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles. IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication No. 4.
- Bush B. (1999) Interpretación de los análisis de laboratorio para clínicos de pequeños animales. Barcelona. Ediciones S. 616 p.
- Campbell T. (2006) Clinical pathology of reptiles. En: Mader, R. D. Reptile Medicine and Surgery, 2a. ed., Missouri. Elsevier. p. 453-470.
- Campbell T. Avian Hematology. In: Campbell T. (Ed). Avian Hematology and Cytology. 2nd Ed. Iowa State Press. Pp 3-156 1995.
- Casal A. Orós J. (2009). Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells of juvenile loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*), Research in Veterinary Science 82: 158-165.
- Christopher M. Berry K. Wallis I. Nagy K. Henen B. Peterson C. Reference intervals and physiologic alterations in hematologic and biochemical values of free ranging desert tortoises in the Mojave Desert. J. Wild. Dis. 35(2):212-238. 1999.
- Coberley S. (2002). The role of herpesviruses in marine turtle disease. Tesis de Doctorado Universidad de Gainesville, Florida, EUA.
- Cordero-Tapia A, Gardner S, Arellano J, Inohuye R. (2004). *Learedius learedi* infection in black turtles *Chelonia mydas* in Baja California Sur México J. Parasitol. 90: 645-647.
- Cordero-Tapia A. (2005). Evaluación histopatológica de las etiologías comunes y asociadas a fibropiloma en la Tortuga prieta (*Chelonia mydas agassizii*) de Bahía Magdalena, Baja California Sur, México. Tesis de Doctorado CIBNOR.
- Cordero-Tapia Amaury, Reséndiz Morales Eduardo. 2014. Reporte Médico y Forense de la Tortuga Amarilla (*Caretta caretta*) en Bahía de Ulloa B.C.S. México. Informe final de investigación. Proyecto: Estudio Sobre las Causas de Muerte de la Tortuga Amarilla (*Caretta Caretta*) en la Costa Occidental de Baja California Sur (Golfo De Ulloa). Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas, Universidad Autónoma de Baja California Sur, Centro interdisciplinario de Ciencias Marinas del IPN, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. Pp. 115, 122-195. Julio 2014.
- Delahay RJ, Smith GC, Hutchings MR: 2009. The science of wildlife disease domestic ungulates in Europe. Vet Res, 42:70.

- Ferrando V. (2010). Bioquímica sanguínea de la tortuga verde juvenil (*Chelonia mydas*) en Cerro Verde, Rocha, Uruguay. Tesis de grado en Ciencias Veterinarias. Facultad de Veterinaria Universidad de la República Montevideo, Uruguay.
- Fitzgerald S. (2004). Los metales pesados en cuatro especies de tortugas marinas de Baja California, México. Tesis de maestría CIBNOR.
- Flint M. Morton J. Colin J. LIMPUS C. Patterson K. Murray P. Mills P. Development and application of biochemical and hematological reference intervals to identify unhealthy green sea turtles (*Chelonia mydas*). The Vet. J. 185:299-304. 2010.
- Flint M. Morton J. Limpus C. Patterson-Kane J. Mills P. (2010). Reference intervals for plasma biochemical and hematologic measures in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) from Moreton bay Australia. Journal of wildlife diseases 46(3) pp.731-741.
- Gómez S, García J, Osorio S, Vázquez L, Constantino F. (2009). Patología de las tortugas marinas (*L. olivácea*) que arribaron las playas de Cuyutlán, Colima, México. Veterinaria México 40.1: 69-78.
- Gómez S, Osorio S, Peñaflores C, Hernández G, Lezama J. (2006). Identificación de parásitos y epibiontes de la tortuga Golfina (*L. olivacea*) que arribó a las playas de Michoacán y Oaxaca, México. Vet Méx. 37: 431-439.
- García-Vázquez Z. (1990). Epidemiología Veterinaria y Salud Animal. Noriega Editores Primera edición Ed. Limusa. 211p.
- Garza Ramos Juan y Arvizu Tovar Laura. Hacia Una Salud Propuesta en el marco de la Administración Pública Federal en México. 2012 primera edición. Imagen Editorial Yire. México D.F.
- Herbst L, Jacobson E, Klein P, Balazs G, Moretti R, Brown T, Sundberg J. (1999). Comparative Pathology and Pathogenesis of spontaneous and experimentally induced fibropapillomas of Green turtles (*Chelonia mydas*) Veterinary Pathology 36:551-564.
- Herbst L. (1994). Fibropapillomatosis of marine turtles. Annual Review Fish Diseases 4:389-425.
- Hoff L, Frye F, Jacobson E. (1994). Disease of amphibians and reptiles. New York (USA): Division of Plenum Publishing Corporation.
- Huber M, Knottnerus JA, Green L, van der Horst H, Jadad AR, Kromhout D, Hudson P. Rizzoli A. Grenfell B. Heesterbeek H. Dobson A. (2002). The Ecology of Wildlife Diseases. Oxford University Press. New York, pp. 197.
- Jaramillo Arango Carlos Julio Martínez-Maya José Juan Morales Saavedra Jose Luis. Epidemiología Veterinaria. 1ra. Edición. Ed: El Manual Moderno. 2010. 198p.

- Jaramillo C, Martínez-Maya J. (2010). Investigación de epidemias. En *Epidemiología Veterinaria*, Capítulo 8. El Manual Moderno, México 2010.
- Jekel J, Katz D, Elmore J, Wild D. (2007) *Epidemiology Biostatistics and Preventive Medicine*. Third Edition. Saunders, Elsevier, 409p.
- Jones T, Hunt R. (1984). *Patología Veterinaria*. Ed. Hemisferio Sur.
- Juárez J. (2004). Determinación de contaminantes organoclorados en tres especies de tortugas marinas de Baja California Sur. Tesis de maestría. CIBNOR.
- Kitt T, Schulz L. (1985). *Tratado de Anatomía Patológica general*. Ed. Labor
- Koch V, Nichols J, Brooks L. (2007). Population Ecology of the green/black turtle (*Chelonia mydas*) in Bahía Magdalena, Mexico. *Marine Biology* 153.1:35-46.
- Labrada V, Méndez L, Gardner S, López-Castro M, Zenteno-Savin T. (2010a) Health Indices of the Green Turtle (*Chelonia mydas*) Along the Pacific Coast of Baja California Sur, Mexico. I. Blood Biochemistry Values *Chelonian Conserv. and Biol.* 9. 2: 162–172g. Chelonian Research Foundation.
- Latimer K, Mahaffey E, Prasse K. (2005). Duncan & Prasse's. *Patología Clínica Veterinaria*. 4a. ed. Oxford. Multimédica. 551p.
- Leonard B, Lorig K, Loureiro MI, van der Meer JWM, Schnabel P, Smith R,
- Lu Y, Wang Q, Yu A, Aguirre A, Balazs G, Nerurkar V, Yanagihara R. (2000). Detection of herpesviral sequences in tissues of green turtles with fibropapilloma using polymerase chain reaction. *Arch. Virology* 145:1885-1893.
- Lutz P, Dunbar-Cooper A. (1987). Variations in the blood chemistry of the loggerhead sea turtle, *Caretta caretta*. *Fishery bulletin* 85: 37-43.
- Mahaffey E, Latimer K, Prasse K, Duncan & Prasse. *Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*. 4a edición. 2003. Iowa: Blackwell Publishing.
- Manly, B.F.J. 1986. *Multivariate Statistical Methods: A Primer*. Chapman and Hall Ltd. 159p.
- Martin C, Pastoret P-P, Brochier B, Humblet M-F, Saegerman C. 2011: A survey of the transmission of infectious diseases/infections between wild and
- Meyer D, Harvey J. *Veterinary Laboratory Medicine: Interpretation & Diagnosis*. 2a. Edición. 2001. Philadelphia: Saunders Company.
- Nichols J, Brooks L, Lopez M, Seminoff J. (2001). Record of pelagic East pacific Green turtles associated with Macrocystis mats near Baja California Sur, Mexico. *Marine Turtle Newsletter* 93:10-11.
- Nichols J. (2003). *Biology and Conservation of the sea turtles of the Baja California Peninsula, Mexico*. Ph.D. *Dissertation*, University of Arizona, Tucson.

- Nigro O, Aguirre A, Lu Y. (2004). Nucleotide sequence of the UL28 assembly protein (UL28) gene of green turtle herpesvirus pathogenically associated with green turtle fibropapilloma. *J. of virol. Meth.* 120: 107-112
- Núñez O, Bouda J. *et al.* Patología Clínica Veterinaria. 2007. México DF. FMVZ-UNAM.
- Organización mundial de la salud (OMS) serie de informes técnicos no. 137. "Medición del nivel de salud". Informe de un grupo de estudio. Ginebra 1957. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_137_spa.pdf
- Pardo F. (1997). Anatomía Patológica. Ed Mosby Doyma libros.
- Pérez R. (1990). Principios de Patología. Editorial Médica Panamericana. México, D.F. 372p.
- Phelan, Shana M. y Karen L. Eckert. 2006. Procedimientos para Atender Traumas en Tortugas Marinas. Red de Conservación de Tortugas Marinas del Gran Caribe (WIDECAST) Informe Técnico No. 4. Beaufort, North Carolina USA. 71 pp.
- Pires T, Rostan G, Bittencourt T, Giunaraes J. (2009). Hemograma e bioquímica sérica da tartarugas cabeçudas (*Caretta caretta*) de vida livre e mantidas em cativeiro, no litoral norte da Bahia. *Brazilian Journal Veterinarian Research*, 46(1), 348-353.
- Pirofski L, Casadevall A: Q and A 2012. What is a pathogen? A question that begs the point. *BMC Biol*, 10:6.
- Pritchard P, Mortimer J. (1999). Taxonomy, external morphology y species identification. In Eckert, K, Bjorndal K, Abreu-Grobois A, Donnelly M, eds. *Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles*. IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication No. 4.
- Quackenbush S, Casey R, Murceck R, Thomas P, Whork T, Limpus C, Chaves A, Dutoit L, Vasconcelos J, Aguirre A, Spraker T, Horrocks J, Lotus A, Balazs G, Casey J. (2001). Quantitative analysis of herpesvirus sequences from normal tissue and fibropapillomas of marine turtles with real-time PCR. *Virology* 287:105-111.
- Quiroz R, Jardón H. *et al.* Manual de Prácticas de Patología Clínica Veterinaria. 2010. México DF. FMVZ-UNAM.
- Reséndiz E. (2007). Fibropapilomatosis en Tortuga golfina (*Lepidochelys olivácea*) de la playa "Escobilla" Oaxaca, México. Tesis de Maestría en Ciencias de la Producción y Salud Animal. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad Nacional Autónoma de México (FMVZ-UNAM).
- Rossini M. Determinación de los parámetros hematológicos de la Baba (*Caiman crocodylus*) en hábitat silvestre. Universidad Central de Venezuela. Cátedra de Patología. Trabajo de Ascenso. 73 pp. 2002.

- Roskopf W.J. Disorders of reptilian leukocytes and erythrocytes. In: Fudge A.M. (Ed.). Laboratory Medicine: Avian and exotic pets. W.B. Saunders, Philadelphia. Pp 198-204. 2000.
- Santoro M, Meneses A. (2007). Haematology and plasma chemistry of breeding olive ridley sea turtles (*Lepidochelys olivácea*). Veterinary Record 161: 818-819.
- Sanz H. (2004). Tipos Sociales Agrarios y Practicas Ganaderas, FLACSO.
- Seminoff J, Jones T, Resendiz A, Nichols J, Chaloupka M. (2003). Monitoring green turtles (*Chelonia mydas*) at a coastal foraging area in Baja California, Mexico: multiple indices describe population status. Journal of Marine Biology Assoc. UK 283:1355–136.
- Senko J, Koch V, Megill W, Carthy R, Templeton R, Nichols J. (2010). Fine scale daily movements and habitat use of East Pacific green turtles at a shallow coastal lagoon in BCS, Mexico. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 391:92-100.
- Slauson D, Cooper B. (1990). Mechanisms of disease: a textbook of comparative general Pathology. 2nd ed Williams & Wilkins.
- Smith G, Coates C. (1938). Fibro-epithelial growths of the skin in large marine turtles, *Chelonia mydas* (linnaeus). Zoologica 23:93-98.
- Swimmer J. (2000) Biochemical responses to fibropapilloma and captivity in the green turtle. Journal of Wildlife Diseases 36: 102–110.
- Sykes J, Klaphake E. (2008). Reptile Hematology. Vet. Clin. Exot. Anim. 11 481-500.
- Thomson R. (1989). Anatomía Patologica General Veterinaria. Ed. Acribia.
- Torrent A, Déniz S, Ruiz A, Calabuig P, Sicilia J, Oros J. (2002). Esophageal diverticulum associated with *Aerococcus viridans* infection in a loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*). J Wild Dis. 38: 221–223.
- Trigo F. (1998). Patología Sistémica Veterinaria. McGraw Hill- Interamericana, México, D.F. 225p.
- Trigo F. Valero G. (2002). Patología General Veterinaria. Tercera edición, 2002. D.R. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Ciudad Universitaria, México 04510, D.F. 468p.
- Valdivia P. (2003). Metabolismo oxidativo asociado a la presencia de tumores en tortugas marinas. Tesis de maestría CIBNOR.
- Valdivia, P.A., Zenteno-Savín, T., Gardner, S.C., Aguirre, A.A., 2007. Basic oxidative stress metabolites in eastern Pacific green turtles (*Chelonia mydas agassizii*). Comp. Biochem. Physiol. C 146, 111–117.

- Valero G. (1997). Diagnóstico Veterinario. 2a. ed. Sociedad Mexicana de Patólogos Veterinarios, A.C., México.
- Van Weel C, Smid H: How should we define health? BMJ 2011, 343:d4163
- Work T, Balazs G, Wolcott M, Morris M. (2004). Bacteraemia in Free-ranging Hawaiian green turtles *Chelonia mydas* with fibropapillomatosis. Diseases of aquatic organisms 53:41-46.
- Work T, Balazs G. (1999). Relating tumor score to hematology in Green Turtles with fibropapillomatosis in Hawaii, Journal of Wildlife Diseases, 35(4): 804-807.
- Work T, Raskin R, Balazs G.; Whittaker S. Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells from Hawaiian green turtles. AJVR. 59(10):1252- 1257. 1998.
- Wyneken, J. 2001. The Anatomy of Sea Turtles. U.S. Department of Commerce NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC, 172 pp.

ANEXO 2.1.

Análisis Hematológico

El plasma obtenido se utilizó para la determinación de proteínas totales usando un refractómetro. Se hicieron frotis y fueron teñidos con la técnica H&E modificada para su posterior revisión al microscopio y conteo diferencial. Se determinó el microhematocríto llenando un tubo capilar con la sangre.

El procedimiento del conteo de leucocitos se efectuó mediante la técnica de Neubauer. Se observó al microscopio y se hicieron los conteos de los leucocitos en los cuatro cuadrantes de los extremos (Sykes y Klaphake 2008).

-Técnica

Se centrifugó (10 min a 3300 rpm) para obtención de suero y plasma que se alicuotó en crioviales, 1 ml. El plasma obtenido se utilizó para la determinación de proteínas totales usando un refractómetro.

-Cada tubo se homogeneizó agitando suavemente 40 veces aproximadamente y se hicieron frotis, que posteriormente fueron fijados en alcohol (de 2 a 3 minutos) y fueron teñidos con la técnica H&E modificada para su posterior revisión al microscopio y conteo diferencial.

-Se determinó el microhematocríto llenando un tubo capilar con la sangre, se centrifugó y se determinó el porcentaje de eritrocitos usando la tabla respectiva.

-Para el procedimiento del conteo de leucocitos, se preparó una dilución 1:200 con solución salina después 1:20 con el colorante (azul de metileno) previamente diluido.

-Se llenó la cámara de Neubauer con la dilución final y se dejó reposar por 2 minutos para dar tiempo a que las células se estabilicen.

-Se observó al microscopio y se hicieron los conteos de los leucocitos en los cuatro cuadrantes de los extremos. Al hacer los conteos se descartaron aquellas células que tocaron los bordes externos y superiores y se contaron aquellas que tocaron los bordes internos e inferiores (Sykes y Klaphake 2008).

El número final de células se calculó con la siguiente ecuación:

$$\frac{\# \text{ células X dilución X } 10}{4} = \text{ leucocitos/mm}^3$$

Procedimiento para el conteo de eritrocitos:

- Se preparo una dilución 1:200 (primero 1:10 con solución salina y de esa se hizo otra 1:20 con el colorante previamente diluido 1:2).
 - Se lleno la cámara de Neubauer con la dilución final.
 - La cámara se dejó reposar por 2 a 3 minutos para dar tiempo a que las células se estabilicen
 - Se observó al microscopio y se hicieron los conteos de los eritrocitos en el cuadrante central.
- Al hacer los conteos se descartaron aquellas células que tocaron los bordes externos y superiores, y se contaron aquellas que tocaron los bordes internos e inferiores (Sykes y Klaphake 2008).

-El número final de células se calcula con la siguiente ecuación:

$$\frac{\# \text{ células X dilución X } 10 \text{ X } 400}{80} = \text{eritrocitos/mm}^3$$

ANEXO 2.2.

Interpretación del Hemograma

Al volumen ocupado por los eritrocitos sin restos de plasma contenido en un volumen determinado de sangre se le considera como valor del hematocrito (Sykes y Klaphake 2008). En el hemograma, se determina el **micro hematocrito** el cual puede variar según factores fisiológicos así como patológicos en tortugas marinas (Aguirre y Balazs 2000).

- a) El Microhematocrito mide en porcentaje el peso de la hemoglobina corpuscular media (HCM) (Pires *et al.* 2009). El propósito de determinar el volumen corpuscular medio del animal (VCM), es revelar el tamaño de los hematíes, es decir la proporción de células (según su tamaño) y líquidos en la sangre (Casal y Oros 2007). Un VCM elevado indica hematíes macrocíticos (hematíes grandes) y viceversa y se utiliza, entre otras cosas, para determinar los diferentes tipos de anemia (Sykes y Klaphake 2008). (Valores de referencia de Micro hematocrito).

- b) La principal función de los eritrocitos, es la de transportar oxígeno y CO₂ (Pires *et al.* 2009). Se utiliza el micro hematocrito y la **cuenta de eritrocitos** para calcular los índices de volumen corpuscular medio, concentración media de la hemoglobina corpuscular y la hemoglobina corpuscular media (Lutz y Dunbar-Cooper 1987) (Valores de referencia de conteo de eritrocitos).

La cuenta diferencial de leucocitos de manera general, es el conteo del número de los distintos tipos de leucocitos presentes en sangre: linfocitos, monocitos, eosinófilos, basófilos y heterófilos (Santoro y Meneses 2007), con el objetivo de identificar a los individuos con una mayor susceptibilidad a una infección y diversas enfermedades específicas (Work y Balazs 1999). (Valores de referencia del conteo leucocitario diferencial).

Anexos 2.3. Tabla a. Análisis exhaustivo de trabajos de salud y enfermedad de tortugas marinas en el mundo.

Autor (año)	Año	País	Costa	Conclusión	Estado del animal	
Jacobson (1979)	1	1979	EUA	Florida	Neumonía Micótica	Vivo
Wolke (1982)	2	1982	EUA	Atlántico EUA	Espiroquidiasis	Muerto
Wood (1984)	3	1984	Gran Caimán	Atlántico Gran Caimán	Hematología y Edad	Vivo
Aguirre (1998)	4	1984	EUA	Hawái	Fibroapiloma y Espiroquidiasis	Vivo
Rand (1985)	5	1985	Bermuda	Bermuda	Espiroquidiasis	Vivo
Lutz (1987)	6	1987	EUA	Florida	Química Sanguínea	Vivo
Cribb (1998)	7	1988	Australia	Australia	Espiroquidiasis	Muerto
Glazebrook (1989)	8	1989	Australia	Australia	Espiroquidiasis	Muerto
Dailey (1991)	9	1991	EUA	Hawái	Espiroquidiasis	Muerto
Dyer (1991)	10	1991	Puerto Rico	Puerto Rico	Espiroquidiasis	Muerto
Dailey (1993)	11	1993	EUA	Hawái	Espiroquidiasis	Muerto
Aguirre et al. (1994)	12	1994	EUA	Hawái	Fibropapiloma	Vivo
Aguirre (1994)	13	1994	EUA	Hawái	Fibropapiloma y Contaminantes.	Vivo
Aguirre y Balasz 1995	14	1995	EUA	Hawái	Fibropapiloma Y Estrés	Vivo
Dyer (1995)	15	1995	Puerto Rico	Puerto Rico	Espiroquidiasis	Muerto
Dyer (1995)	16	1995	Puerto Rico	Puerto Rico	Espiroquidiasis	Muerto
Dyer (1995)	17	1995	Puerto Rico	Puerto Rico	Espiroquidiasis	Muerto
Graczyk (1995)	18	1995	EUA	Hawái	Espiroquidiasis	Muerto
Perez (1996)	19	1996	México	Oaxaca México	Espiroquidiasis	Muerto
					Hematología y Química Sanguínea	
Samour et al 1998	20	1998	Emiratos Árabes	Cautiverio	Normales	Vivo
Oros (1998)	21	1998	España	España	Mortalidad por Enfermedades	Muerto
Raidal (1998)	22	1998	Australia	Australia	Espiroquidiasis	Muerto
Aznar (1998)	23	1998	Italia	Mediterráneo	Helminetos	Muerto
Gordon (1998)	24	1998	Australia	Australia	Espiroquidiasis	Muerto
Work y Balaz (1999)	25	1999	EUA	Hawái	Fibropapiloma	Vivo
Lu (2000)	26	2000	EUA	Hawái	Fibropapiloma	Vivo
Matushima (2001)	27	2001	Brasil	Brasil	Espiroquidiasis y sanguijuelas	Muertos y Vivos
Quakenbush (2001)	28	2001	Global	Cautiverio	Fibropapiloma y PCR	Vivo
Cray (2001)	29	2001	EUA	Hawái	Fibropapiloma	Vivo
Torrent (2002)	30	2002	España	España	Aerococcus	Muerto
Coberley (2002)	31	2002	EUA	Florida	Herpes virus	Vivo

Autor (año)	Año	País	Costa	Conclusión	Estado del animal	
Deus santos (2003)	32	2003	Brasil	Brasil	Bioquímica sanguínea	Vivo
Work (2003)	33	2003	EUA	Hawái	Fibropapiloma	Vivo
Valdivia (2003)	34	2003	México	B.C.S.	Metabol. Oxidativo	Vivos y Muertos
Gardner (2003)	35	2003	México	Pacifico Este	Contaminantes	Muerto
Greenblatt (2004)	36	2004	EUA	Hawái	Fibropapiloma y sanguijuelas	Vivo
Inohuye (2004)	37	2004	México	B.C.S.	Espiroquidiasis	Muerto
Fitzgerald (2004)	38	2004	México	B.C.S.	Metales pesados	Muerto
Juarez (2004)	39	2004	México	B.C.S.	Organoclorados Contaminantes	Muerto
Keller (2004)	40	2004	EUA	Carolina del Norte	Hematología y Contaminantes	Vivo
Stamper (2005)	41	2005	EUA	Carolina del Norte	Hematología y Espiroquidiasis	Vivo
Cordero T (2005)	42	2005	México	B.C.S.	Espiroquidiasis	Muerto
Mafucci (2005)	43	2005	Italia	Mediterráneo	Elementos Traza	Vivos y Muertos
Montilla 2006	44	2006	Venezuela	Alta Guajira	Hematología y Química sanguínea	Vivo
Kelly (2006)	45	2006	Costa Rica	Costa Rica	Bacterias y Resistencia a Antibióticos	Vivo
Santoro (2006)	46	2006	Costa Rica	Costa Rica	Bacterias en cloaca	Vivo
Gámez (2006)	47	2006	México	Oaxaca y Michoacán.	Espiroquidiasis y epibiontes	Vivos y Muertos
Jacobson (2006)	48	2006	EUA	Florida	Neuropatías	Vivo
Casal (2007)	49	2007	Atlántico Este	Cautiverio	Hematología	Vivo
Santoro (2007)	50	2007	Costa Rica	Cautiverio	Hematología y Química sanguínea	Vivo
Valente (2007)	51	2007	España	España	Tomografía	Vivo
Day (2007)	52	2007	EUA	Carolina del sur	Contaminantes (mercurio)	Muerto
Valente (2008)	53	2008	Atlántico Este	Cautiverio.	Hematología y Ultrasonido	vivos y Muertos
Arthur (2008)	54	2008	EUA y Australia	EUA y AUS	Fibropapiloma y Bacterias	Vivo
Deem (2009)	55	2009	EUA	Georgia	Hematología y Química sanguínea	Vivo
Rossi (2009)	56	2009	México	B.C.S.	Salud y valores reproductivos	Vivos y Muertos
Kakizoe (2007)	57	2009	Japón	Japón	Hematología y Química sanguínea	Vivo
Casal y Oros 2009	58	2009	Atlántico Este	Cautiverio	Hematología y Química sanguínea	Vivo
Pires 2009	59	2009	Brasil	Brasil	Citometria de flujo	Vivo
Casal (2009)	60	2009	Atlántico Este	Cautiverio	Hematología y Química sanguínea	Vivo
Gelli (2009)	61	2009	Atlántico Este	Cautiverio	Hematología y Química sanguínea	Vivo
Innis (2009)	62	2009	EUA	Massachusetts E.U.	Necropsia Patología	Muerto

Autor (año)	Año	País	Costa	Conclusión	Estado del animal	
Rossi (2009)	63	2009	México	B.C.S	Fibropapiloma	Vivo
Van Houtan (2010)	64	2010	EUA	Hawái	Relación Algas Tumores	Vivos y Muertos
Flint (2010)	65	2010	Australia	Bahía Moreton	Química Sanguínea	Vivo
Flint (2010)	66	2010	Australia	Bahía Moreton	Hematología y Química Sanguínea	Vivo
Day (2010)	67	2010	EUA	Atlántico	Contaminantes. (Mercurio)	Muerto
Dos santos (2010)	68	2010	Brasil	Brasil	Fibropapiloma y Contaminantes	Vivo
Lara Uc 2011	69	2011	México	Yucatán	Fibropapiloma, Espiroquidiasis, hematología y Química Sanguínea	Vivo
Labrada (2011)	70	2011	México	B.C.S.	Estado de salud Química sanguínea	Vivo
Núñez (2011)	71	2011	México	Golfo de California, B.C.S.	Algas dañinas	Vivos y Muertos
Anderson (2011)	72	2011	EUA	Carolina del Norte, E.U.	Hematología, Química sanguínea y Frio paralizante	Vivo
Delgado (2011)	73	2011	Brasil	Brasil	Hematología	Vivo
Ley (2011)	74	2011	México	B.C.S	Metales pesados	Vivos y Muertos
Prieto 2012	75	2012	Venezuela	Caribe	Hematología	Vivo
Basile (2012)	76	2012	Italia	Mediterráneo.	Hematología	Vivo
Di Santi (2012)	77	2012	Italia	Mediterráneo.	Hemoparasitos, Espiroquidiasis.	Vivo
Fazio (2012)	78	2012	Italia	Mediterráneo	Hematología y Salud	Vivo
Keller (2012)	79	2012	EUA	Hawái	Contaminantes en plasma	Vivo
Rodenbush (2012)	80	2012	Brasil	Brasil	Química sanguínea	Vivo
Warwick (2013)	81	2013	Gran Caimán	Cautiverio	Revisión en cautiverio y riesgos de Consumo	Muerto
Reséndiz (2014)	82	2014	México	B.C.S.	Fibropapiloma y Hematología	Vivo
Alfaro (2014)	83	2014	Global	Global	Fibropapiloma	Vivos y Muertos
Keller (2014)	84	2014	EUA	Hawái	Fibropapiloma	Vivo

Anexos 2.4. Resultados de los exámenes Clínico y Hematológico, realizados en 29 tortugas (*Chelonia mydas*) de Laguna Ojo de Liebre BCS.

Id	Sp	Examen clínico macroscópico (Resumen)						Análisis Hematológico								
		Cabeza ¹	Aletas Ant ²	Aletas Post ³	Caparazón	Plastrón	Cola y Cloaca	Hct (%)	PT	E	L	Linfocitos	Monocitos	Eosinófilos	Basófilos	Heterófilos
T11ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	55	4.7	385	433	67	5	1	1	24
T21ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	40	4.3	311	651	60	5	3	1	32
T31ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	45	4	588	385	71	18	9	1	21
T41ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	40	5.1	665	345	66	8	9	0	16
T51ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	35	3.9	353	380	61	7	8	0	31
T61ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	40	4.3	672	274	74	20	2	2	32
T71ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	35	3.5	1071	465	66	6	2	0	20
T81ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	40	3.9	893	492	72	10	0	0	2
T91ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	40	4.2	720	349	74	21	9	2	29
T101ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	36	3.4	664	887	73	12	3	1	7
T111ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	41	3.8	721	776	75	18	9	0	5
T121ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	44	4.3	662	982	61	6	7	0	31
T131ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	49	5.7	777	688	64	3	2	0	18
T141ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	50	4.9	734	887	75	3	2	0	27
T151ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	42	4.1	823	965	67	3	7	0	27
T161ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	30	3.3	676	765	65	17	6	1	31
T171ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	33	3.6	762	782	68	10	7	0	23
T181ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	44	4.5	543	888	75	13	9	0	13
T191ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	41	4	764	871	68	13	10	2	15
T201ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	45	4.7	654	334	62	17	10	2	19
T211ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	52	5.8	765	987	69	13	9	1	24
T221ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	58	5	789	876	61	5	1	0	1
T231ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	39	4.5	789	876	60	21	1	0	1
T241ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	36	3.7	887	654	73	6	6	0	17
T251ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	50	5.2	782	678	72	1	10	0	19
T261ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	44	5.1	761	888	75	17	8	0	4
T271ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	35	4.1	965	654	64	1	9	0	20
T281ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	46	4.3	434	659	74	10	7	0	12
T291ol	<i>C.m</i>	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	55	5.6	763	765	70	8	1	0	35

Cabeza (ojos, boca, lengua, cuello); 2. Aletas anteriores, dorsal y ventral; 3. Aletas posteriores, dorsal y ventral. SJU= San Juanico BCS; *C.m.*= *Chelonia mydas*; SCPa= Sin cambios Patológicos aparentes; Mhct (%)= (%) Microhematócrito; PT= Contenido de Proteínas totales en plasma; E= Contenido de Eritrocitos; L= Contenido de Leucocitos.

Anexos 2.4.1. Resultados de los exámenes Clínico y Hematológico, realizados en 6 tortugas caguamas (*Caretta caretta*) de San Juanico BCS.

Id	Sp	Examen clínico macroscópico (Resumen)						Análisis Hematológico									
		Cabeza ¹	Aletas Ant ² .	Aletas Post ³ .	Caparazón	Plastrón	Cola y Cloaca	Hct (%)	PT	E	L	Linfocitos	Monocitos	Eosinófilos	Basófilos	Heterófilos	
T1S	C.c.	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	39					22	3	4	1	63
T2S	C.c.	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	30	3.6	45	11	28	5	6	2	57	
T3S	C.c.	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	36	4.1	49	16	23	2	5	2	52	
T4S	C.c.	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	33	3.7	43	12	26	4	2	2	61	
T5S	C.c.	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	32	3.8	45	13	23	3	4	1	54	
T6S	C.c.	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	SCPa	31	3.2	49	17	19	1	5	2	55	

1. Cabeza (ojos, boca, lengua, cuello); 2. Aletas anteriores, dorsal y ventral; 3. Aletas posteriores, dorsal y ventral. SJU= San Juanico BCS; C.c.= *Caretta caretta*; SCPa= Sin cambios Patológicos aparentes; Mhct (%)= (%) Microhematócrito; PT= Contenido de Proteínas totales en plasma; E= Contenido de Eritrocitos; L= Contenido de Leucocitos.

Anexo 2.5. Unidades de expresión de las variables hematológicas de Tortugas marinas utilizadas en el mundo.

Variable	Abreviatura	Unidades
Hematocrito / Volumen del paquete celular	HCTO / VCM	%
Proteínas totales	PT	g/dl g/l mg /dl mg /L %
Eritrocitos	Eri.	mmol /kg $\times 10^6 / \text{mm}^3$ $\times 10^3 / \text{ml}$ $\times 10^3 / \mu\text{l}$ $\times 10^6 / \mu\text{l}$ $\times 10^9 / \mu\text{l}$ $\times 10^3 / \text{L}$ $\times 10^6 / \text{L}$
Leucocitos	Leu	$\times 10^6 / \text{mm}^3$ $\times 10^3 / \text{ml}$ $\times 10^3 / \mu\text{l}$ $\times 10^6 / \mu\text{l}$ $\times 10^9 / \mu\text{l}$ $\times 10^3 / \text{L}$ $\times 10^6 / \text{L}$
Linfocitos	Info	$\times 10^6 / \text{mm}^3$ $\times 10^3 / \text{ml}$ $\times 10^3 / \mu\text{l}$ $\times 10^6 / \mu\text{l}$ $\times 10^9 / \mu\text{l}$ $\times 10^3 / \text{L}$ $\times 10^6 / \text{L}$
Eosinófilos	Eos	$\times 10^6 / \text{mm}^3$ $\times 10^3 / \text{ml}$ $\times 10^3 / \mu\text{l}$ $\times 10^6 / \mu\text{l}$ $\times 10^9 / \mu\text{l}$ $\times 10^3 / \text{L}$ $\times 10^6 / \text{L}$
Basófilos	Baso	$\times 10^6 / \text{mm}^3$ $\times 10^3 / \text{ml}$ $\times 10^3 / \mu\text{l}$ $\times 10^6 / \mu\text{l}$ $\times 10^9 / \mu\text{l}$ $\times 10^3 / \text{L}$ $\times 10^6 / \text{L}$
Heterófilos	Hetero	$\times 10^6 / \text{mm}^3$ $\times 10^3 / \text{ml}$ $\times 10^3 / \mu\text{l}$ $\times 10^6 / \mu\text{l}$ $\times 10^9 / \mu\text{l}$ $\times 10^3 / \text{L}$ $\times 10^6 / \text{L}$
Monocitos	Mono	$\times 10^6 / \text{mm}^3$ $\times 10^3 / \text{ml}$ $\times 10^3 / \mu\text{l}$ $\times 10^6 / \mu\text{l}$ $\times 10^9 / \mu\text{l}$ $\times 10^3 / \text{L}$ $\times 10^6 / \text{L}$
Proteínas totales	PT	g/dl g/l mg /dl mg /L % mmol /kg

Capítulo 3. Primer reporte de fibropapiloma asociado a herpesvirus en *Chelonia mydas* de Baja California Sur, México.

3.1. Introducción

La fibropapilomatosis ha sido documentada en taxas terrestres tales como ganado vacuno, camélidos, cérvidos y caprinos (Jelinek y Tachezi 2005), comúnmente en estas especies los tumores son considerados benignos y se ha documentado su regresión espontánea (Jacobson et al. 1991a). En tortugas marinas la fibropapilomatosis (FP) es una enfermedad neoplásica proliferativa comúnmente asociada a un herpesvirus (Aguirre et al. 1994) se caracteriza por el desarrollo y división celular que frecuentemente llevan a cabo una proliferación anormal tal como metaplasias y/o displasias (Greenblatt et al. 2004). Las células que producen FP en tortugas marinas, siempre progresan a una neoplasia (Herbst y Klein 1995.) no coordinada con la de los tejidos normales en la periferia, ocasionando en última instancia un tumor (Herbst et al. 1994). Los múltiples factores en el proceso de malignización de una neoplasia (carcinoma) y la complejidad en el estudio de tortugas marinas en vida libre, dificultan precisar la etiología y patogénesis de FP en estos organismos (Aguirre et al. 1998, Aguirre y Lutz 2004), y los impactos que tiene esta enfermedad en sus poblaciones (Aguirre y Balazs, 2000). Neoplasias similares a la descrita en este reporte, fueron documentadas por primera vez en 1938 en una tortuga verde (*Chelonia mydas*) (Smith y Coates 1938) y se le dio el nombre de Fibropapiloma de tortuga verde (GTFP por sus siglas en inglés) (Herbst et al. 1994) y desde entonces, se ha confirmado que FP afecta a las poblaciones de tortugas *C. mydas* de todo el mundo (Balazs y Chaloupka 2004a, Dethmers et al. 2006). Siendo más frecuente en regiones cálidas como el Caribe (Greenblatt et al. 2005), Hawai, Australia y Japón (Aguirre y Lutz 2004). Igualmente se ha asociado con áreas que tienen bajas tasas de renovación de agua, en particular cuando los residuos humanos entran en los cursos de este elemento (Aguirre et al. 1995, Herbst y Klein 1995). Hoy en día, esta enfermedad ya no es específica para las tortugas marinas verdes, con frecuencia se observa en tortugas amarillas, las tortugas lora y tortugas golfinas (Balazs y Jacobson 1990, Aguirre et al. 1999, Greenblatt et al. 2005). Específicamente en el Océano Pacífico, la evidencia genética indica que las tortugas verdes de Hawái pertenecen a una sola población y sugieren que la enfermedad es endémica en zonas específicas (Dutton et al. 2008) (es decir, al este de Hawái) (Work et al. 2004).

3.2. Antecedentes

La Fibropapilomatosis (FP) en tortugas marinas se caracteriza por la presencia de tumores fibroepiteliales simples y múltiples, histológicamente benignos (Aguirre *et al.* 1999) con un rango en su tamaño que varía de 0.1 cm a más de 30 cm de diámetro, los cuales se encuentran en las zonas blandas de la piel (Herbst *et al.* 1999, Work y Balazs 1999).

La incidencia de este tumor con frecuencia se presenta en orden decreciente, desde el tercer párpado y en los tejidos que rodean al ojo, conjuntiva, esquinas y zonas de unión del pico o boca, cuello, hombros, regiones axilares e inguinales, base de la cola y cloaca (Aguirre *et al.* 1994, Brooks *et al.* 1994, Herbst 1994). En primera instancia las tortugas afectadas por FP, manifiestan signos de emaciación, debilidad, anemia y depresión (Aguirre *et al.* 2002) y en algunos casos presentan lesiones graves (Greenblatt *et al.* 2004) que pueden ocasionar ceguera. Asimismo se pueden observar signos que sugieren metástasis con otros tumores en los órganos internos de los individuos afectados (Aguirre *et al.* 1994, Jacobson *et al.* 1991b). Por último, dado que las tasas de crecimiento de los tumores varían considerablemente (Herbst 1994, Work y Balazs 1999), su tamaño puede poner en peligro la flotabilidad (Herbst *et al.* 1994), causar insuficiencia renal, oclusión gastrointestinal y la muerte por inanición ocasionada por la oclusión esófago (Aguirre *et al.* 2002, Chaloupka *et al.* 2009). Después de su registro, diversos estudios han descrito las características histológicas más importantes de FP así como sus procesos degenerativos (Herbst *et al.* 1999, Jacobson *et al.* 1991). Mientras que con estudios de Microscopía electrónica de transmisión (MET) se han detectado y caracterizado la presencia de partículas virales asociadas a las lesiones específicas de FP (Matushima *et al.* 2001, Reséndiz 2007).

3.3. Justificación

Entre los años 2007 y 2010, La Fundación Earthwatch y la Universidad Autónoma de Baja California Sur (UABCS) realizaron un proyecto destinado a describir el uso del hábitat de *Chelonia mydas* en la Laguna de San Ignacio (LSI) en Baja California Sur (BCS) México (López-Castro *et al.* 2010). Durante el monitoreo biológico, fueron capturadas *C. mydas* de vida libre usando redes de pesca (López-Castro *et al.* 2010, Lopez-Mendilaharsu *et al.* 2005), Los individuos capturados fueron marcados con un radio rastreador de muy alta frecuencia (VHF) y un sistema de Geoposición satelital (GPS) con el objetivo de registrar sus movimientos y su uso de hábitat (Senko *et al.* 2010). Durante las actividades se evaluó el estado de salud de cada individuo capturado con un examen físico general.

Además, se realizaron varios censos a lo largo de la playa en busca de tortugas marinas varadas muertas y/o vivas y se registraron las posibles causas de la muerte de los animales.

Presentamos el primer reporte de Fibropapilomatosis asociada a un herpesvirus en Baja California Sur, México.

3.4. Métodos

Durante las actividades de marcaje llevadas a cabo el 5 de julio de 2010, se capturo un individuo *C. mydas* en la zona denominada “La Pocita” (Lat. N: 26°54’00.8” Long. W: 113°08’42.4”), al realizar el examen físico (Adaptado de Pérez 1990) el animal mostró lesiones compatibles con las descritas para FP (Herbst *et al.* 1999). Se tomaron biopsias de tejido de aproximadamente 1cc de las lesiones situadas en la base ventral de las aletas posteriores del animal, las cuales se fijaron en una solución de formaldehído amortiguado al 10% y se procesaron con los protocolos de rutina para Histopatología (HP) (Bancroft y Stevens 1982) y Microscopía Electrónica de Transmisión (MET) (Hunter 1993, Vázquez Nin 2000). Adicionalmente se colectaron biopsias de piel (0.5cc) de la parte dorsal del cuello del animal, las cuales se fijaron en etanol al 70% y se enviaron al laboratorio de Ecología Molecular del Departamento de Biología Marina de la UABCS. Donde uno de nosotros (SFR) evaluó la población de procedencia del espécimen por medio del método de asignación de población (Sambrook *et al.* 1989) basado en la asignación de una secuencia bayesiana (Munch *et al.* 2008). En resumen, el ADN total se purificó a partir de la muestra a través de un estándar de precipitación fenol-cloroformo (Munch *et al.* 2008).

El ADN y los cebadores HDCM2 y LTCM2 (Posada 2004) obtenidos, se utilizaron para amplificar 488 pares de bases a partir del extremo 5' de la región mitocondrial por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Utilizando una fusión de polimerasa de alta fidelidad (Finnzymes, Espoo, Finland) descritas en (Sambrook *et al.* 1989) en un termociclador Techne Genious. El tamaño esperado de los productos del PCR obtenidos se evaluó a través de electroforesis EtBr-1% en un gel de agarosa. Cinco productos de PCR mostraron el tamaño esperado y se purificaron (kit de purificación de PCR Qiaquick, Qiagen ®) y automáticamente se secuenciaron en ambas cadenas (Macrogen Inc., Seúl, Corea). Se analizaron las secuencias obtenidas de bases, utilizando un kit Sequencher 3.1.1 (Gene Codes ®), para encontrar que los 5 CR contigs obtenidos) comparten homología absoluta a través del análisis COLLAPSE v1.2. (LeRoux *et al.* 2003, Posada 2004). Finalmente la procedencia del espécimen se valoró con el software SAP (Lahanas *et al.* 1994) mediante la evaluación de la homología de su secuencia de CR, con las secuencias CR de *C. mydas* registradas en otras áreas geográficas y almacenadas en el GenBank. Y por la nomenclatura del haplotipo se deduce que es igual a la que informó previamente el Southwest Fisheries Science Center (<http://swfsc.noaa.gov/prd-turtles.aspx>).

3.5. Resultados

El espécimen juvenil *C. mydas* referido midió 50.3 cm de largo curvo del caparazón y pesó 16 kg. Durante el examen físico se registro la presencia de un nódulo en el vértice superior externo de cada ojo, cubriendo un área de aproximadamente 1 x 3 cm, los cuales eran de superficie granular, textura rugosa y de color grisáceo/rosa/blanquecino (Figura 3.1).



Figura. 3.1. Lesiones en forma de verrugas de 1x3 cm. En el vértice superior externo de la superficie ocular en una *C. mydas*, capturada y liberada en la Laguna San Ignacio Baja California Sur México (07/05/2010).

Asimismo en la base ventral de las aletas posteriores se encontraron múltiples nodulaciones de aproximadamente 2 cm de diámetro los cuales eran de forma verrugosa con superficie granular, textura rugosa y de color grisáceo/rosa pálido/blanquecino. (Figura 3.2).



Figura 3.2. Nodulaciones con morfología verrugosa en la superficie interna de la aleta trasera de una *C. mydas*. Se aprecia un FP de textura rugosa en el centro de la imagen.

La microscopía de luz de las neoplasias referidas reveló hiperqueratosis ortoqueratósica, hiperplasia epidermal, diferenciación papilar en dermis y cuerpos de inclusión anofílicos. Todos los cambios observados se asociaron a herpesvirus (figura 3.3 y 3.4).

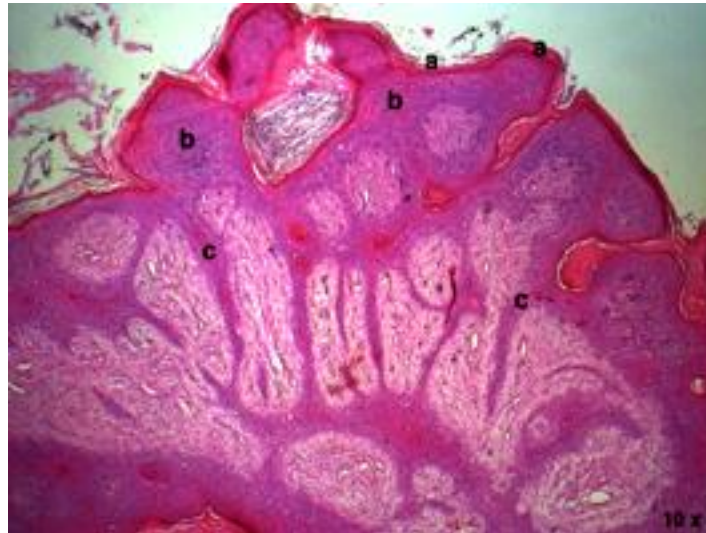


Figura 3.3. Corte histológico teñido con Hematoxilina y Eosina (H-E) de una nodulación con morfología verrugosa, muestreada de la base ventral de la aleta posterior trasera de una *C. mydas*. Se observan Hiperqueratosis (a). Hiperplasia epidermal (b). y Proyecciones papilares, característicos de esta neoplasia (c).

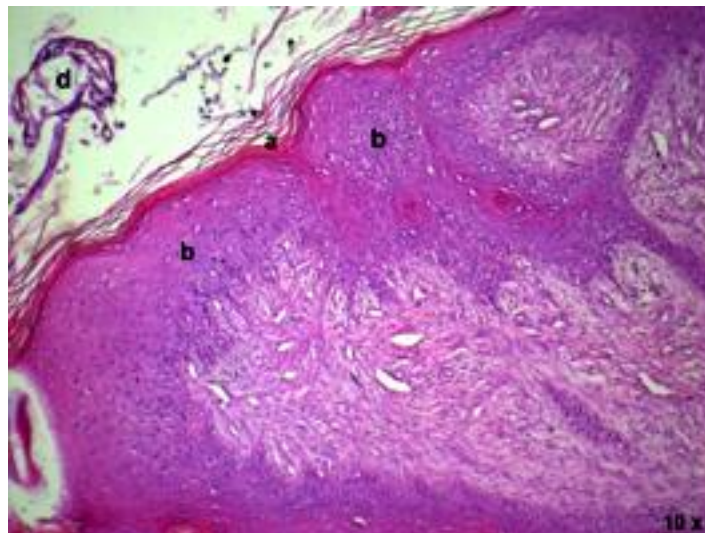


Figura 3.4. Corte histológico (H-E) de una neoplasia con morfología verrugosa, muestreada de la base ventral de la aleta trasera izquierda de una *C. mydas*. Se observa Hiperqueratosis ortoqueratósica (a). Hiperplasia epidermal (b) y la presencia de un parásito (d).

Además se apreció necrosis degenerativa en el estrato basal de la epidermis y ligero infiltrado celular mononuclear perivascular (espongiosis) (figura 3.5).

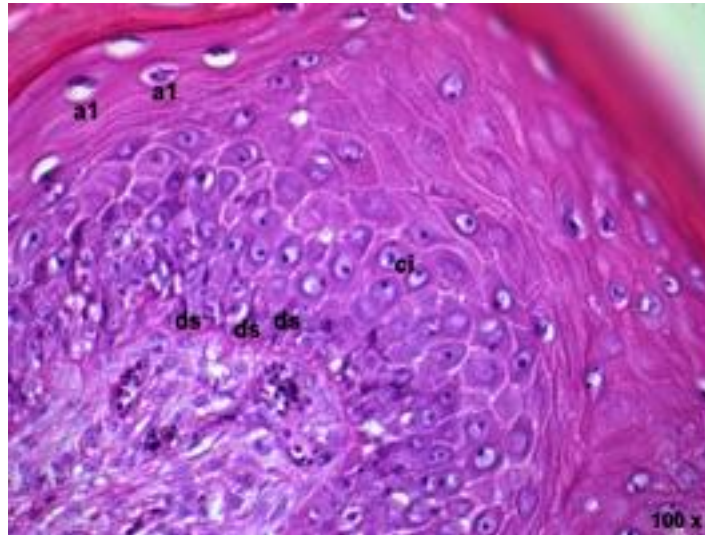


Figura 3.5. Corte histológico (H-E) de un fibropapiloma epitelial muestreado de la base ventral de la aleta trasera izquierda de una *C. mydas*. Se observan lesiones características de Fibropapilomatosis: Hiperplasia epidermal mostrando degeneración balonoide (**a1**). Desmosomas (**ds**) y cuerpos de inclusión intranucleares anfífilicos en células basales (**ci**).

Mediante MET se observaron escasas células mesenquimales inmersas en fibras de colágena madura, las cuales mostraron cantidades moderadas de citoplasma, retículo endoplasmático rugoso un poco dilatado, núcleo excéntrico con bordes irregulares y escasa heterocromatina adosada a la envoltura nuclear, y en algunos casos nucléolos (Figura 3.6).

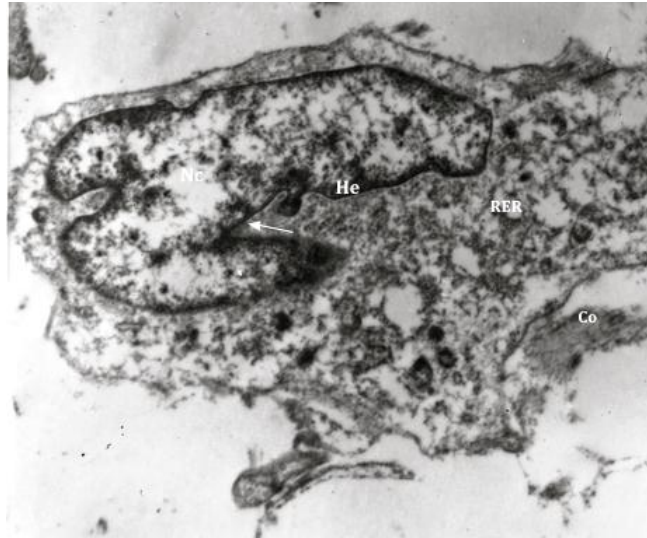


Figura 3.6. MET ultramicrografía de una célula mesenquimal de un fibropapiloma muestreado de la base ventral de la aleta trasera izquierda de una *C. mydas*. la célula esta rodeada por fibras de colágena madura. (Co). El citoplasma esta expandido y el retículo endoplasmico rugoso (RER) esta aumentado de tamaño. La flecha indica al núcleo excéntrico con bordes irregulares y escasa heterocromatina (He) adosado a su membrana. Técnica de contraste acetato de uranilo y citrato de plomo: 7,000x.

Adicionalmente se apreció la expansión del espacio intercelular entre los queratinocitos. Mismos que mostraron núcleos más largos de lo normal con escasa heterocromatina adosada a la envoltura nuclear y en algunos casos se evidenciaron nucléolos prominentes. Se encontraron un escaso número de partículas icosaédricas que midieron entre 125 a 150 nm de diámetro sin envoltura, inmersas en fibras de colágena (Figuras 3.7 y 3.8).

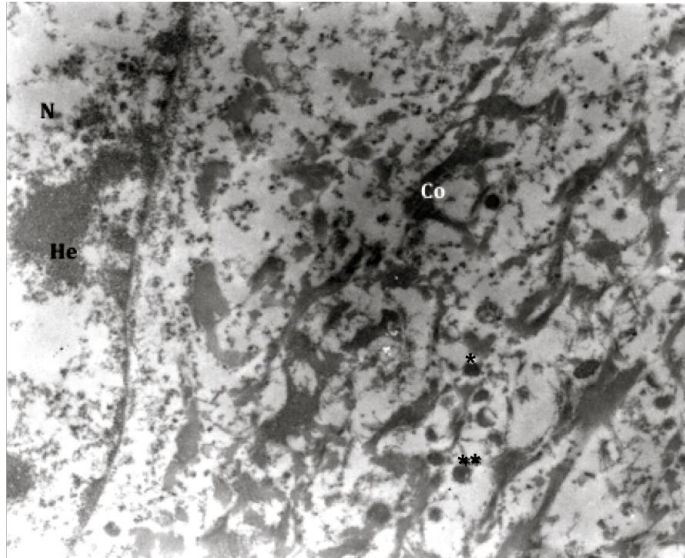


Figura 3.7. MET Fotografía electrónica de una célula epitelial del Fibropapiloma muestreado de la base ventral de la aleta trasera izquierda de una *C. mydas*. Se observa el citoplasma rico en fibras de colágena (Co) se aprecian partículas virales icosaedricas electrodensas sin envoltura (*:125-150 nm de diámetro), y con envoltura (**:200 nm de diámetro). Núcleo (N), heterocromatina (He). Técnica de contraste acetato de uranilo y citrato de plomo: 7,000x.

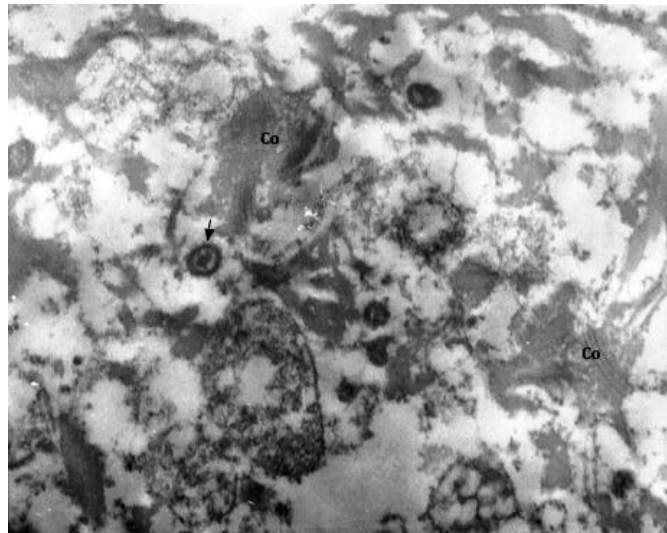


Figura 3.8. MET ultramicrografía de una célula epitelial del Fibropapiloma muestreado de la base ventral de la aleta trasera de una *C. mydas*. Acercamiento de las células del citoplasma, mostrando partículas virales icosaedricas desnudas (125-150 nm de diámetro, flecha), entre las fibras de colagena (Co). Mitocondria tumefacta (mt). Técnica de contraste acetato de uranilo y citrato de plomo: 12,000x

Además se encontraron partículas virales similares en forma que midieron 200 nm de diámetro y presentaron envoltura y un centro electrodensó (Figuras 3.9 y 3.10).

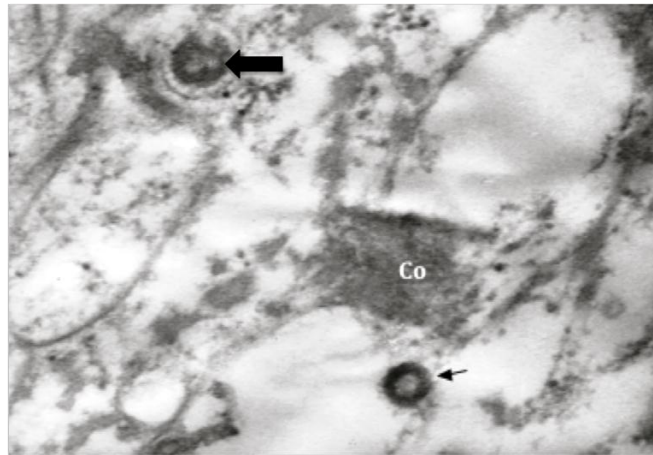


Figura 3.9. MET ultramicrografía de una célula epitelial del Fibropapiloma muestreado de la base ventral de la aleta trasera de una *C. mydas*. Se observa una estructura similar a una partícula viral icosaédrica desnuda de: 125 to 150 nm de diámetro (Flecha delgada); y una estructura similar a una partícula viral icosaédrica con envoltura de: 200 nm de diámetro (Flecha gruesa) entre algunas fibras de colágena (Co), en el citoplasma de las células. Técnica de contraste acetato de uranilo y citrato de plomo: 50,000x.

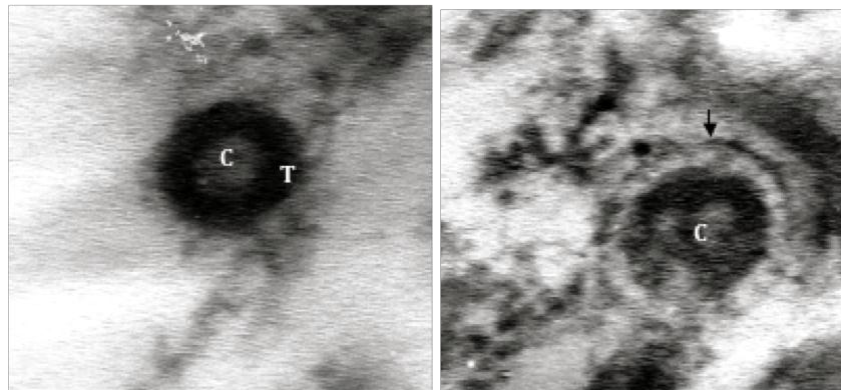


Figura 3.10. Fotografía electrónica de células epiteliales. (Izquierda) Acercamiento de las estructuras virales de morfología icosaédrica no envueltas que miden de 125 a 150 nm de diámetro, Cápside icosaédrica (C), tegumento (T). (Derecha) estructuras virales de morfología icosaédrica envueltas que miden 200 nm, Cápside icosaédrica (C), envoltura externa (flecha). Técnica de contraste general con acetato de uranilo y citrato de plomo. Aumento 75,000x.

Con base en estas observaciones, se determino que las lesiones descritas son consistentes con Fibropapilomatosis de tortuga verde asociada a herpesvirus, lo cual nos llevó a dilucidar el origen geográfico del individuo a través de los análisis genéticos de 480 pb. de la muestra de ADNmt RC como se describe en la sección de métodos. El análisis realizado con el software de SAP señaló que la secuencia de ADNmt RC de la muestra fue 100% idéntica a un haplotipo que se ha reportado previamente como específico de una población de Hawái: CMP2 (número de acceso GenBank: AY540056) (Dutton 2003, Dutton *et al.* 2008).

3.6. Discusión y Conclusiones

Actualmente la epidemiología, etiología y patogenia de FP en tortugas marinas no es del todo clara, sin embargo reportes previos indican que se asocia a un herpesvirus (Jacobson *et al.* 1991b, Lu *et al.* 2000). Los signos clínicos de la enfermedad (Tumores fibroepiteliales con prevalencia en ojos y base de las aletas) han sido registrados en *C. mydas* juveniles, subadultos y adultos (Aguirre *et al.* 1994, Aguirre *et al.* 1995, Balazs *et al.* 1997, Aguirre y Balazs 2000) y se ha observado mayor vulnerabilidad en las hembras de todas las edades en comparación con individuos juveniles y sub-adultos machos (Aguirre *et al.* 1994, Aguirre *et al.* 1995, Balazs *et al.* 1997, Aguirre *et al.* 1998, Aguirre y Balazs 2000) estos patrones se atribuyen a su comportamiento ecológico y las conductas de sociabilización de estos organismos a lo largo de su ciclo de vida (Aguirre y Lutz, 2004, Arthur *et al.* 2008). Diversas teorías sobre epidemiología y transmisión de FP indican que puede ser multifactorial, y los autores sugieren que los individuos se infectan en las zonas de alimentación y/o anidación (Arthur *et al.* 2008, Flint *et al.* 2010, Herbst 1994, Work, *et al.* 2004) es decir, en zonas con alta densidad de tortugas, lo cual favorece el contacto directo entre organismos enfermos y susceptibles y por lo tanto hacen a estos grupos más vulnerables a padecer la enfermedad (Aguirre y Lutz 2004). Igualmente se sospecha que las sanguijuelas marinas (*Ozobranchus margoï*) (Greenblatt, *et al.* 2004) y otros ectoparásitos (Gámez *et al.* 2009) actúan como vectores mecánicos de acuerdo a los altos niveles de secuencias herpesvirales que contienen en su ADN (Lu *et al.* 2000, Greenblatt *et al.* 2004). En México, los trabajos de presencia FP incluyen reportes descritos mediante HP y MET para *L. olivacea* en Colima (Gámez *et al.* 2009) y la costa de Oaxaca (Reséndiz 2007) respectivamente, y con *C. mydas* en BCS (Cordero-Tapia 2005) donde se comprobó la presencia de agentes etiológicos asociados a FP y fibromas (Valdivia 2003; Cordero-Tapia 2005).

En 2005 Cordero-Tapia demostró las lesiones histológicas reportadas para herpesvirus pero sin llegar a una identificación positiva y precisa del agente causal y el curso de la enfermedad. Es hasta este estudio que con MET se demuestra la presencia de partículas virales asociadas a herpesvirus y se relacionan a las lesiones tumorales. De manera tal que este es el primer reporte de la incidencia de FP en *C. mydas* asociado a la presencia de un herpesvirus (Herbst *et al.* 1999) en uno de los lugares más importantes de alimentación de esta especie en el Pacífico Mexicano: Laguna de San Ignacio Baja California Sur (Seminoff *et al.* 2003). La enfermedad fue diagnosticada en una hembra juvenil *C. mydas* por medio de un análisis morfológico, histopatológico y ultraestructural (MET) y posteriormente se determinó el lugar de origen del animal por medio de un análisis de homología mitocondrial.

Las neoplasias y las lesiones degenerativas descritas coinciden con los reportes previos de Fibropapilomatosis asociada a herpesvirus (Jacobson *et al.* 1991a, Aguirre *et al.* 1994). En este estudio se observaron neoplasias oculares (1x3 cm de diámetro) y epiteliales en la base ventral de las aletas caudales (0.2 a 2 cm de diámetro). La descripción morfológica y distribución de las neoplasias observadas en este estudio son similares a las descripciones previas de FP en *C. mydas* por Work y Balazs en 1999; Y todas las lesiones descritas mediante histopatología en este estudio coinciden de manera consistente con las que producen los herpesvirus (Herbst y Klein 1995, Herbst *et al.* 1999). Sin embargo, en este caso no se apreciaron signos clínicos que pudieran asociarse a metástasis con otros tumores (Aguirre *et al.* 1999, Quackenbush *et al.* 2001). Tampoco se apreciaron características para definir su desarrollo o cronicidad por el tamaño (Work y Balazs 1999, Aguirre *et al.* 2002) o su regresión tumoral (Bennett *et al.* 2000, Guimarães *et al.* 2013).

Los análisis mediante MET indican que los FP's descritos presentan características ultraestructurales que concuerdan con los reportes previos de infecciones herpesvirales (Matushima *et al.* 2001, McGavin *et al.* 2007) de acuerdo a la separación de las capas de queratina del estrato corneo (Cedillo *et al.* 2006) y la presencia de partículas virales en el estrato espinoso y granuloso (Reséndiz 2007). Ambos estratos presentaron características exclusivas de infecciones herpesvirales (Cheville 1994) tales como el aspecto de células de ovals a poliédricas con desmosomas y hemidesmosomas, la presencia de abundantes filamentos de queratina y escasos organelos en el citoplasma de los queratinocitos (Matushima *et al.* 2001).

Las características de las partículas virales observadas en el núcleo y citoplasma de las células tumorales tales como, morfología, tamaño y sitio de replicación (Cheville 1994, Cedillo *et al.* 2006) son específicos de Herpesvirus (Cheville 1994, Aguirre *et al.* 2002, Jones 2004, Cedillo *et al.* 2006) y por tales motivos se descarta la presencia de Iridovirus (Reséndiz 2007) y Papilomavirus (Herbst *et al.* 1999). La región control del haplotipo (CMP2) del ADN mitocondrial del espécimen señala que probablemente llegó desde Hawái, ya que dicho haplotipo solamente se encuentra entre las poblaciones de tortugas verdes Hawaianas (Chaloupka y Balazs 2007) lo cual explica la condición del individuo; se sabe que la FP de tortugas verdes es un fenómeno generalizado en tal archipiélago Hawaiano (Bowen *et al.* 1992, Work *et al.* 2004) (excepto en la costa oriental, donde la incidencia de la enfermedad es baja o ausente) (Work *et al.* 2004). Se precisa la población de procedencia del individuo, en este contexto existen diversos estudios que han aclarado la estructura de la dispersión y la conducta reproductiva de las poblaciones de *C. mydas* a través de análisis de ADN mitocondrial de herencia materna (Bowen *et al.* 1992, Dethmers *et al.* 2006). El cual indica la divergencia entre las poblaciones de *C. mydas* del Atlántico y el Pacífico (Dutton *et al.* 1996, Dutton 2003), la existencia de varias unidades evolutivas significativas de *C. mydas* dentro de estos océanos (Bowen *et al.* 1992, Whiting *et al.* 2006) y la discreción de la población de Hawái en el Pacífico (Chaloupka y Balazs 2007, Dutton *et al.* 2008). De manera tal que los estudios mencionados y el análisis de stocks mixtos (Dutton *et al.* 2008) indican que Hawái es visitado con poca frecuencia por animales de colonias fuera del archipiélago, que >99% de las tortugas verdes que ocurren en Hawái comprenden un stock genético estable (LeRoux *et al.* 2003, Dutton *et al.* 2008) y que se congregan en un banco de forrajeo en las Fragatas Francesas (FFS) (LeRoux *et al.* 2003, Chaloupka y Balazs 2007, Dutton *et al.* 2008). Sin embargo, nuestros resultados indican que aunque existe una fuerte desconexión espacial debido al aislamiento geográfico y las condiciones oceanográficas que impiden la dispersión de la *C. mydas* Hawaiana más allá del Pacífico central (Dutton *et al.* 2008), algunos individuos pueden llegar a aguas mexicanas (Dutton 2003, Dutton *et al.* 2008), y no solo alcanzar la parte más oriental del Pacífico mexicano (La guardería de tortuga verde: Revillagigedo, México) (Dutton *et al.* 2008), sino también las zonas de alimentación frente al sur de Baja California.

Nuestros resultados no solo pueden ser explicados por el comportamiento de la migración anormal de un solo individuo encontrado "fuera del camino", sino también por el comportamiento de adaptación que los nómadas muestran durante las expansiones de las poblaciones (Read 1999, Webster *et al.* 2002, Russell *et al.* 2004, Healey 2009), como la experimentada por las tortugas verdes de Hawái durante los últimos 38 años, hasta que se detuvo la destrucción de su hábitat y la sobreexplotación de su anidación alrededor de 1974 (Balazs y Chaloupka 2004a, Balazs y Chaloupka 2004b, Chaloupka y Balazs 2007). Finalmente consideramos improbable que el espécimen contrajera FP a lo largo de su migración (por ejemplo, las tortugas visitan las zonas contaminadas y convergen con individuos enfermos y portadores) (Balazs y Jacobson 1990, Brooks *et al.* 1994, Bennett *et al.* 2000, Dethmers *et al.* 2006, Dutton *et al.* 2008, Chaloupka *et al.* 2009), o en Baja California Sur (donde después de 15 años de monitoreo ninguna de las 2,000 *C. mydas* capturadas habían mostrado signos de FP (Seminoff *et al.* 2002, Koch *et al.* 2007, Senko *et al.* 2010, López-Castro *et al.* 2010, Dos Santos 2011), lo cual plantea tres posibles panoramas: 1. Si la conectividad entre las tortugas verdes de Hawái que se alimentan en el Pacífico mexicano ha sido históricamente mayor a lo registrado (lo cual parece poco probable), la presencia de este individuo infectado no debería plantear grandes preocupaciones sobre la propagación de la FP, ya que aparentemente las condiciones ambientales para su contagio (Arthur *et al.* 2008) no son favorables en aguas mexicanas.

2. Es probable que la llegada fortuita de tortugas infectadas a las zonas de alimentación en Baja California, implique una amenaza de infección real para las tortugas de esta zona. Y 3. Podría llegar a ser grave para los distintos segmentos de la población de *C. mydas* y cuatro especies de tortugas marinas que visitan la zona (*Caretta Caretta*, *Dermochelys coriacea*, *Eretmochelys imbricata* y *Lepidochelys olivacea*). En particular si los inmigrantes Hawaianos infectados aumentan con el tiempo durante el proceso de recuperación de sus poblaciones, y la temperatura del mar se eleva en la zona debido al cambio climático, ya que se considera que la aparición de la FP depende de la interacción de factores ambientales como la temperatura del agua (Chaloupka *et al.* 2009), la inmunosupresión (Aguirre *et al.* 1995, Work y Balazs 1999), la contaminación, las algas tóxicas (Arthur *et al.* 2008) y vectores mecánicos (Greenblatt *et al.* 2004).

En conclusión, este es el primer estudio que asocia inequívocamente FP a partículas herpesvirales por medio de MET en Baja California Sur, donde además de *C. mydas*, números importantes de otras especies de tortugas marinas se congregan con fines de reproducción y alimentación.

La naturaleza viral, la morbilidad de la enfermedad y sus efectos perjudiciales, hacen un llamado importante para su estrecha vigilancia en el Pacífico Mexicano. En general, se debe intensificar la vigilancia de la salud de las tortugas marinas en la zona, para generar información confiable y aclarar la etiología de esta enfermedad, así como registrar su aumento o disminución en relación con la historia de vida de las tortugas, y los factores ambientales y antropogénicos. Se sugiere que las líneas de investigación incluyan pruebas específicas de ADN herpesviral para determinar la verdadera prevalencia de fibropapilomatosis y otras amenazas (enfermedades). En esta región de tan alto valor de conservación, la presencia de esta enfermedad también hace suponer un riesgo para la salud de las personas que aún consumen tortugas marinas.

3.7. Literatura citada

- Aguirre A, Balazs G, Spraker T, Gross T. 1995. Adrenal and hematological responses to stress in juveniles green turtles (*Chelonia mydas*) with and without fibropapillomas. *Physiological Zoology* 68:831-854.
- Aguirre A, Balazs G, Spraker T, Murakawa S, Zimmerman B. 2002. Pathology of oropharyngeal fibropapillomatosis in green turtles (*Chelonia mydas*). *Journal of Aquatic Animal Health* 14.4:298-304.
- Aguirre A, Balazs G, Zimmerman B, Spraker T. 1994. Evaluation of Hawaiian green turtles (*Chelonia mydas*) for potential pathogens associated with Fibropapillomas. *Journal of Wildlife Diseases* 30.1:8-15.
- Aguirre A, Balazs G. 2000. Plasma biochemistry values of green turtles (*Chelonia mydas*) with and without fibropapillomas in the Hawaiian Islands. *Comparative Haematology International* 10.3:132-137.
- Aguirre A, Lutz P. 2004. Marine turtles as sentinels of ecosystem health: Is Fibropapillomatosis an indicator?. *Ecohealth Doi*: 3: 275-283.
- Aguirre A, Spraker T, Balazs G, Zimmerman B. 1998. Spirorchidiasis and fibropapillomatosis in green turtles of the Hawaiian Islands. *Journal Of Wildlife Diseases*. 34. 1:91-98.
- Aguirre A, Spraker T, Chaves A, Du Toit L, Eure W, Balazs G. 1999. Pathology of Fibropapillomatosis in Olive ridley turtles *Lepidochelys olivacea* nesting in Costa Rica. *Journal Of Aquatic Animal Health* 11:283-289.
- Arthur K. Limpus C. Balazs G. Capper A. Udy J. Shaw G. Keuper-Bennet U. Bennett P. 2008. The exposure of Green turtles (*Chelonia mydas*) to tumour promoting compounds produced by the cyanobacterium *Lyngbya majuscula* and their potential role in the aetiology of fibropapillomatosis. *Harmful algae* 7 (2008) 114-125.
- Balazs G, Aguirre A, Murakawa S. 1997. Occurrence of oral Fibropapillomas in the Hawaiian green turtle: Differential disease Expression. *Marine Turtle Newsletter* 76:1-4.
- Balazs G, Jacobson E. 1990. Health advisory for Fibropapilloma disease. *Marine Turtle Newsletter* 49:27.
- Balazs, G.H. and M. Chaloupka. 2004a. Thirty-year recovery trend in the once depleted Hawaiian green sea turtle stock. *Biological Conservation*, 117:491-498.
- Balazs, G.H. and M. Chaloupka. 2004b. Spatial and temporal variability in somatic growth of green sea turtles (*Chelonia mydas*) resident in the Hawaiian Archipelago. *Marine Biology*, 145: 1043-1059. 2004b.

- Bancroft J, Stevens A, 1982. Theory and practise of Histological techniques. Second edition. Churchill Livingstone.
- Bennett P, Keuper-Bennett U, Balazs G. 2000. Photographic evidence for the regression of Fibropapillomas afflicting green turtles at Honokowai, Maui, in the Hawaiian Islands. In H. Kalb and T. Wibbels (Comps.), Proceedings Of The Nineteenth Annual Symposium on Sea Turtle Conservation and Biology, March 2-6, 1999, South Padre Island, Texas, P. 37-39. U.S. Dep. Commer. NOAA Tech. Memo. NMFS-SEFSC-443.
- Bowen B, Meylan A, Ross J, Limpus C, Balaz G, & Avise J. 1992. Global population structure and natural history of green turtle (*Chelonia mydas*) in terms of matriarchal phylogeny. *Evolution* 46:865-881.
- Brooks D, Ginn P, Miller T, Bramson L, Jacobson E. 1994. Ocular Fibropapillomas of green turtles (*Chelonia Mydas*). *Veterinary Pathology* 31:335-339.
- Cedillo C, Salas G, Constantino F. 2006. Diagnostico ultraestructural de agentes virales. Estudio recapitulativo de 1996 a 2005. Memorias Del XV Congreso Nacional de Patología Veterinaria; Zacatecas Zac. México. Sociedad Mexicana de Patólogos Veterinarios P164-171.
- Chaloupka M. Balazs G. Work T. 2009. Rise and Fall over 26 years of a marine epizootic in hawaiian Green Sea turtles. *Journal of Wildlife diseases*. 45(4) pp. 1138-1142.
- Chaloupka, M. and G.H. Balazs. 2007. Using Bayesian state-space modeling to assess the recovery and harvest potential of the Hawaiian green sea turtle stock. *Ecological Modeling*. 205: 93–109.
- Cheville N. 1994. Ultrastructural Pathology an Introduction to Interpretation. Iowa State University Press/Ames.
- Cordero-Tapia A. 2005. Evaluación Histopatológica de las etiologías comunes y asociadas a Fibropapiloma en la tortuga prieta (*Chelonia mydas agassizii*) de Bahía Magdalena, Baja California Sur, México. Tesis De Doctorado en Ciencias. Centro De Investigaciones Biológicas Del Noroeste (CIBNOR).
- Dethmers, K.E.M., D. Broderick, C. Moritz, N.N. Fitzsimmons, C.J. Limpus, S. Lavery, S. Whiting, M. Guinea, R.I.T. Prince, and R. Kennett. 2006. The genetic structure of Australasian green turtles (*Chelonia mydas*): exploring the geographical scale of genetic exchange. *Molecular Ecology*. 15(13): 3931-3946.

- Dos Santos Dias B. 2011. Abundancia de la tortuga negra *Chelonia mydas* (Linnaeus 1758) a través de datos de Marcaje-Recaptura en áreas de alimentación de Baja California Sur, México. Tesis de Maestría en Ciencias Marinas y Costeras (CIMACO). Universidad Autónoma de Baja California Sur.
- Dutton P, Balazs G, Leroux R, Murakawa S, Zarate P, Sarti Martinez L. 2008. Composition of Hawaiian green turtle foraging aggregations: Mtdna Evidence for a distinct regional population. *Endangered Species Research* 5:37-44.
- Dutton, P.H. 2003. Molecular ecology of the eastern Pacific green turtle. In: *Proceedings of the Twenty-Second Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*. U.S. Department of Commerce, NOAA Technical Memorandum, NMFS-SEFSC-503, p. 69.
- Dutton, P.H., S.K. Davis, T. Guerra & D. Owens, 1996. Molecular phylogeny for marine turtles based on sequences of the ND4-Leucine tRNA and control region of mitochondrial DNA. *Mol. Phylogenet. Evol.* 5: 511-521.
- Flint M. Limpus C. Patterson-Kane J. Murray PJ. Mills P.C. Reference intervals for plasma biochemical and hematologic measures in Loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) from Moreton bay, Australia 2010. *J. Comp. Path.* Vol.112,341-346.
- Gámez V, García J, Osorio S, Vázquez L, Constantino F. 2009. Patología de las tortugas Marinas (*Lepidochelys olivacea*) que arribaron a las playas de Cuyutlán, Colima, México. *Veterinaria México* 40.1: 69-78.
- Greenblatt R, Whork T, Dutton P, Sutton C, Spraker T, Casey R, Diez C, Parker D, Leger J, Balazs G, Casey J. 2005. Geographic variation in marine turtle Fibropapillomatosis. *Journal Of Zoo And Wildlife Medicine* 36:3 527-530.
- Greenblatt R, Work T, Balazs G, Sutton C, Casey R, Casey J. 2004. The *Ozobranchus* Leech is a candidate mechanical vector for the Fibropapilloma-associated turtle herpesvirus found latently infecting skin tumors on Hawaiian green turtles (*Chelonia mydas*). *Virology* 321:101-110.
- Guimarães S., Gitirana H., Wanderley A., Monteiro-Neto C., Lobo-Hajdu G. 2013. Evidence of regression of fibropapillomas in juvenile green turtles *Chelonia mydas* caught in Niterói, southeast Brazil. *DISEASES OF AQUATIC ORGANISMS* Vol. 102: 243–247.
- Healey, M. 2009. Resilient salmon, resilient fisheries for British Columbia, Canada. *Ecology and Society* 14(1): 2.
- Herbs L, Jacobson E, Klein P, Balazs G, Moretti R, Brown T, Sundberg J. 1999. Comparative Pathology and Pathogenesis of spontaneous and experimentally induced Fibropapillomas of green turtles (*Chelonia mydas*) *Veterinary Pathology* 36:551-564.

- Herbst L, Jacobson E, Moretti R, Brown T, Klein P. 1994. Green Turtle Fibropapillomatosis: Transmission study update. In K.A. Bjorndal, A.B. Bolten and D.A. Johnson (Comps.), Proceedings of the Fourteenth annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation, March 1-5, Hilton Head, South Carolina, P.55. U.S. Dep. Commer. Noaa Tech. Memo. Nmfs Sefsc-351.
- Herbst L, Klein P. 1995. Green Turtle Fibropapillomatosis: Challenges to assessing the role of environmental cofactors. In R. Rolland, M. Gilbertson and T. Colburn (Eds.) Environmental Health Perspective 103.4:27-30.
- Herbst L. 1994. Fibropapillomatosis of Marine Turtles. Annual Review Fish Diseases 4:389-425.
- Hunter E. 1993. Practical Electron Microscopy. A Beginner's Illustrated Guide. Second edition. Cambridge University Press.
- Jacobson E, Buergelt B, Williams J, Harris R. 1991a. Herpesvirus in cutaneous Fibropapillomas of the green turtle (*Chelonia Mydas*). Diseases of Aquatic Organisms 12.1:1-6.
- Jacobson E, Simpson S, Sundberg S. 1991b. Fibropapillomas in Green Turtles. In G.H. Balazs and S.G. Pooley (Eds.), Research Plan for Marine Turtle Fibropapilloma, P.99-100. U.S. Dep. Commer. Noaa Tech. Memo. Nmfs-Swfsc-156.
- Jelinek F, Tachezi R. Cutaneous Papillomatosis in Cattle. 2005. J. Comp. Path. Vol. 132, 70–81.
- Jones A. 2004. Sea Turtles: Olds Viruses and New Tricks. Current Biology 14:842-843.
- Koch V, Nichols J, Brooks L. 2007. Population Ecology of The Green/Black Turtle (*Chelonia mydas*) in Bahía Magdalena, México. Marine Biology 153.1:35-46.
- Lahanas PN, Miyamoto MM, Bjorndal KA, Bolten AB (1994) Molecular evolution and population genetics of greater Caribbean green turtles (*Chelonia mydas*) as inferred from mitochondrial DNA control region sequences. Genetica 94:57–67.
- LeRoux, R.A., G.H. Balazs, and P.H. Dutton. 2003. Genetic stock composition of foraging green turtles off the southern coast of Moloka'i, Hawai'i. In: Proceedings of the Twenty-Second Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation. U.S. Department of Commerce, NOAA Technical Memorandum, NMFS-SEFSC-503, p.251-252.
- López-Castro M, Koch V, Mariscal Loza A, Nichols J. 2010. Long Term monitoring of black turtles (*Chelonia mydas*) at coastal foraging areas of the Baja California Península, México. Endangered. Species. Research 11:35-45.
- Lopez-Mendilaharsu M, Gardner S, Seminoff J, Riosmena R. 2005. Identifying critical foraging habitats of the green turtle (*Chelonia mydas*) along the pacific coast of the Baja California Península, México. Aquat. Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst. 15:259 269.

- Lu Y, Wang Q, Yu A, Aguirre A, Balazs G, Nerurkar V, Yanagihara R. 2000. Detection of herpesviral sequences in tissues of green turtles with Fibropapilloma using Polymerase Chain Reaction. *Arch. Virology* 145:1885-1893.
- Matushima E, Longatto A, Di Loreto C, Kanamura C, Sinhorini I, Gallo B, Baptosole C. 2001. Cutaneous Papilomas in Green Turtles: A Morphological, Ultrastructural and Immunohistochemical in Brazillian Specimens. *Brazilian Journal Of Veteterinary Research in Animal Science. Sao Paulo* 38.2:51-54.
- McGavin, M. Donald and James Zachary. *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 4th Edition. St. Louis: Elsevier, 2007.
- Munch K, Boomsma W, Huelsenbeck P, Willerslev E, Nielsen N. 2008. Statistical assignment of DNA sequences using Bayesian Phylogenetics. *Systematic Biology* 57.5:750-757.
- Posada D. 2004. Collapse V1.2: [Http://Darwin.Uvigo.Es/Software/Collapse.Html](http://Darwin.Uvigo.Es/Software/Collapse.Html)
- Quackenbush S, Casey R, Murceck R, Thomas P, Whork T, Limpus C, Chaves A, Dutoit L, Vasconcelos J, Aguirre A, Spraker T, Horrocks J, Lotus A, Balazs G, Casey J. 2001. Quantitative analysis of Herpesvirus sequences from normal tissue and Fibropapillomas of Marine Turtles With Real-Time PCR. *Virology* 287:105-111.
- Read. J.L.1999. Longevity, reproductive effort and movements of three sympatric Australian arid-zone geckos. *Australian Journal of Zoology* 47(3) 307 – 316.
- Reséndiz E. 2007. Fibropapilomatosis en tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*) De La Playa “Escobilla” Oaxaca, México. Tesis de Maestría en Ciencias de la Producción s Salud Animal. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad Nacional Autónoma de México (FMVZ-UNAM).
- Russel E.M., Yom-Toy Y., Geffen E. 2004 Extended parental care and delayed dispersal: Northern tropical, and southern passerines compared. *Behavioral Ecology* 15 (5): 831-838.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T (1989) *Molecular cloning: A laboratory manual*, 2nd edn. Cold Spring Harbor Labo- ratory Press, New York.
- Seminoff J, Jones T, Reséndiz A, Nichols J, Chaloupka M. 2003. Monitoring green turtles (*Chelonia mydas*) at a coastal foraging area in Baja California, México: Multiple indices describe population status. *Journal of Marine Biology Assoc. Uk* 283:1355–136.
- Senko J, Koch V, Megill W, Carthy R, Templeton R, Nichols J, 2010. Fine scale daily movements and Habitat use of East Pacific green turtles at a shallow coastal lagoon In Baja California Sur, México. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 391:92-100.
- Smith G, Coates C. 1938. Fibro-epithelial growths of the skin in large marine turtles *Chelonia mydas* (L.). *Zoologica* 23:9.

- Valdivia P. 2003. Metabolismo oxidativo asociado a la presencia de tumores en tortugas marinas. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro De Investigaciones Biológicas Del Noroeste (CIBNOR).
- Vazquez Nin G. 2000. Introducción a la Microscopia Electrónica Aplicada a las Ciencias Biológicas. Ed. Fondo de Cultura Económica UNAM.
- Webster S, Marra P, Haig M, Bensch S, Holmes T, 2002. Links Between Worlds: Untraveling migratory connectivity. *Trends in Ecology and Evolution*. 17.2: 76 -83.
- Whiting, M. Guinea, R.I.T. Prince, and R. Kennett. 2006. The genetic structure of Australasian green turtles (*Chelonia mydas*): exploring the geographical scale of genetic exchange. *Molecular Ecology*. 15(13): 3931-3946.
- Work T, Balazs G, Wolcott M, Morris M. 2004. Bacteraemia in Free-Ranging Hawaiian green turtles *Chelonia mydas* with Fibropapillomatosis. *Diseases of Aquatic Organisms* 53:41-46.
- Work T, Balazs G. 1999. Relating tumor score to Hematology in green turtles with Fibropapillomatosis in Hawaii. *Journal of Wildlife Diseases*. 35.4:804-807.

Capítulo 4. Mortalidad, Varamientos y Medicina Forense Veterinaria de tortugas marinas en Baja California Sur (BCS).

4.1 Introducción y antecedentes

En las últimas décadas el impacto humano ha aumentado considerablemente en los ecosistemas marinos (Aguirre 2009) esto ha tenido como consecuencia la degradación y destrucción del hábitat incluyendo la acumulación de contaminantes tóxicos y cambios en la transmisión de enfermedades; afectando a muchos organismos, procesos ecosistémicos y en casos graves causando la extinción de algunas especies (Aguirre y Gómez 2009). En la actualidad, la sobre explotación pesquera ha generado el declive de muchas poblaciones tanto de especies objetivo de la pesca como especies capturadas incidentalmente (FAO 2004). Esto fue provocado principalmente por el incremento dramático del esfuerzo pesquero, el uso de técnicas de pesca destructivas y el aumento de la pesca ilegal, las cuales en conjunto han agravado el problema reduciendo la biodiversidad y degradando los hábitats marinos (Thome *et al.* 2007).

Como se menciona en los capítulos anteriores, la alta productividad y diversidad de hábitats costeros y marinos de la Península de Baja California, proporcionan alimento y protección para cinco de las siete especies de tortugas marinas que existen en el mundo, mismas que están bajo un régimen de protección nacional e internacional. Las aguas costeras, especialmente las lagunas y bahías de BCS son consideradas como importantes zonas de alimentación y crecimiento para *C. mydas* (Seminoff *et al.* 2002). Asimismo, en la zona del pacífico de BCS ocurren agregaciones de *C. caretta* compuestas por individuos juveniles que usan estas aguas como zona de desarrollo hasta alcanzar la madurez sexual (Peckham *et al.* 2007). Otros autores documentan que la *L. olivacea* utiliza esta zona para alimentación y en la parte sur de la península existen algunas playas de anidación, donde también es protegida la *D. coriacea* (Márquez 1996, Seminoff 2002).

4.1.1 Pesca

Debido a sus condiciones oceanográficas, las aguas de BCS son consideradas una de las zonas más productivas para pesquerías artesanales en México (CONAPESCA 2003). En BCS se practican diferentes tipos de pesca, tales como la pesca de altura (mayor de 10 ton.) que comprende la pesca industrial; la pesca ríverena (menor de 10 ton.) la cual incluye la pesca artesanal y la deportiva (INE 2000).

En este sentido, desde la década pasada existen estudios que abordan un asunto grave, la mortalidad de tortugas marinas asociada a la captura incidental (Mancini 2009).

La pesca incidental se define de manera general como la captura involuntaria de especies distintas a las especies objetivo (NOAA 1997). En este contexto se considera que miles de tortugas marinas pueden morir ahogadas (Peckham *et al.* 2008) en lugares donde coinciden áreas de pesca (cimbras y redes de enmalle, entre otras) con zonas de alimentación (Gardner y Nichols 2001; Seminoff *et al.* 2006). A nivel internacional se ha determinado el impacto de la captura incidental en la supervivencia de las poblaciones de tortugas marinas (Nichols y Palmer 2006) tal es el caso de Work y Balasz (2010) quienes consideran que unas 1,000 tortugas mueren incidentalmente cada año por ahogamiento o ingesta de anzuelos de pesca en Estados Unidos y a nivel mundial se estima que más de un millón de tortugas (Secretaría CIT 2006) y mamíferos marinos mueren cada año por estas causas (NOAA 2007, FAO 2007), por tales motivos, la captura incidental se considera un asunto significativo asociado a la mortalidad de tortugas marinas (Peckham *et al.* 2008). Recientemente en BCS los reportes de mortalidad y varamientos de quelonios relacionados a captura incidental han aumentado significativamente (Seminoff *et al.* 2002, Peckham y Nichols 2005, Koch *et al.* 2006) y hasta ahora el principal instrumento para estimar los impactos de la captura incidental asociada a la mortalidad de “caguamas” en esta zona han sido los estudios de varamientos (Koch *et al.* 2006, Mancini 2009). Autores como Peckham *et al.* (2007), Koch *et al.* (2006) y Mancini (2009) definieron que el área de mayor frecuencia de varamientos de tortugas marinas en BCS es la bahía de Ulloa (desde el norte de Punta Abreojos hasta el sur de Cabo San Lázaro). En esta zona Mancini y Koch (2009) documentaron 1014 tortugas muertas de Marzo de 2006 a febrero de 2008 en la Península de BCS, determinaron que de estas, 461 fueron consumidas en todo el estado y concluyeron que las principales causas de muerte de estas tortugas se relacionan a la captura incidental y a la captura dirigida para consumo y respectivamente.

4.1.2 Posibles causas de muerte de tortugas marinas en BCS

Otra amenaza para la supervivencia de Tortugas marinas en la Península de Baja California es la captura dirigida para el consumo de carne y sus derivados, se ha estimado que en más de 300 comunidades pesqueras se consumen una o dos tortugas por semana (Nichols y Palmer 2006) y que más de diez mil por año son destinadas al mercado negro en zonas urbanas como Tijuana, Ensenada, Mexicali, La Paz, los Cabos, Mazatlán, Culiacán y los Mochis y exportadas hasta las ciudades fronterizas en los EUA (Mancini 2009). No obstante, existen otros factores considerados importantes que pueden ocasionar la muerte de las tortugas marinas, los cuales se resumen en: la presencia de depredadores (NOOA 2007), los accidentes con embarcaciones (Cliffon *et al.* 1995), la denominada patología medioambiental derivada de actividades humanas, tales como el enmallamiento (Coberley 2002), la ingestión de restos antropogénicos y contaminantes tóxicos (Juárez 2004, Mafucci *et al.* 2005), los diversos factores ambientales que modifican o afectan su comportamiento y crecimiento (Coberley 2002), las condiciones nutricionales (Balasz y Jacobson 1990) y las enfermedades de tipo metabólicas e infecciosas, las cuales a su vez son dependientes de fenómenos ambientales e intrínsecos (Work *et al.* 2004, Aguirre 2009). En la actualidad para estudiar las diversas causas de muerte de los animales silvestres, así como para comprobar la presencia de enfermedades y prevenir brotes, intoxicaciones y zoonosis se ha propuesto el uso de la Medicina Forense Veterinaria.

4.2 Medicina Forense Veterinaria (MFV)

La MFV siendo una rama de la Medicina Veterinaria se encarga del estudio y tratamiento de las enfermedades de los animales de manera individual o epidemiológico cuando es requerido formalmente por el Ministerio Público o por la autoridad judicial competente (Cordero-Tapia y Reséndiz 2014). Esta disciplina vincula la acción jurídica con la medicina biológica (Montiel 2008), por medio del estudio del área del suceso (escena del crimen), de los atentados o hechos contra la vida de animales, sean estos con intención, por imprudencia o natural (Linacre 2009).

En esta área, el médico veterinario actúa como perito forense y debe tener conocimientos precisos teórico prácticos en Patología, además pericia con el material, los elementos, los procesos y procedimientos necesarios para la toma de evidencia y del análisis de las mismas (pruebas periciales), y en la interpretación científica de los resultados (dictamen) (Cooper y Cooper 2010). Asimismo, debe mantener imparcialidad, integridad y una alta ética y moral para el manejo de los casos, y en procesos penales debe trabajar en conjunto con la entidad judicial respectiva. El dictamen pericial, es el documento o la declaración verbal donde consta su juicio sobre las evidencias (pruebas periciales) que le fueron sometidos a análisis (Cooper y Cooper 2007).

El estudio en general se lleva a cabo para definir la causa del evento (muerte o daños), clasificando las características y tipos de las lesiones, el tiempo transcurrido de que fueron producidas o el tiempo muerte, el agente causal (biológico, tóxico, físico, etc), las áreas físicas asociadas, los individuos involucrados (Linacre 2009) y en eventos de mortandad o donde se presentan muertes repentinas en animales, es imprescindible determinar si ocurrió por causas naturales o por causa criminal (intencional o no) (Cooper 2009).

La principal fuente de indicios o evidencia son:

- El lugar de los hechos
- La víctima (de existir)
- El causante y sus ambientes.
- Otros involucrados
- Otros sitios asociados a la investigación.

La evidencia pueden ser:

- Mecánica
- Física
- Química
- Biológica

(Linacre 2009, Cooper y Cooper 2010).

Los métodos utilizados son similares a los usados en criminalística o patología forense en humanos (Montiel 2008), estos se aplican con base en la experiencia y de acuerdo a las necesidades científicas de las diferentes disciplinas.

- Método científico: Este método aplica protocolos sistemáticos de acuerdo al problema planteado y aunque puede haber variables debe seguir siendo sistemático y ordenado (observación, problema, hipótesis, experimentación, teoría, ley o principio).
- Método inductivo: Se basa en el razonamiento, en este método se establecen principios universales a partir de fenómenos particulares (observación, hipótesis, experimentación).
- Método deductivo: en este método, al caso en estudio se le reconocen fenómeno(s) desconocido(s) a partir de principios conocidos (premisa mayor, premisa menor y conclusión).
- Método analógico: Argumenta semejanza o parecido de alguna(s) característica(s) de fenómeno(s), hecho(s) u objeto(s) de un evento con otros, con la probabilidad de que el resto de particularidades sean semejantes.
- Método analítico o sintético: Cuando un caso es complicado o confuso se separa en partes, para procesarlas cada una y se reintegra de manera analítica. (Cooper y Cooper 2007).

4.2.1 Escena del crimen

La escena del crimen o lugar de los hechos, no necesariamente es donde se encuentre el cuerpo (cadáver). Puede existir más de uno, por ejemplo donde sucedió la muerte y donde fue transportado el cadáver. En cualquiera de ellos se estudia siguiendo estos pasos:

- Protección de la escena: Cercado perimetral de 50 metros.

- Observación de la escena: Desde un punto periférico se realiza una observación en forma de abanico y posteriormente, tomando el sujeto de estudio como punto central, se observa en forma de espiral hasta llegar a la periferia.
- Fijación de la escena: Es necesario llevar a cabo la descripción de la escena por medio de fotografías, dibujos, entre otros. En este caso las fotografías deben ser con vistas generales, medias, acercamiento y gran acercamiento y en el desplazamiento, se marcan en el orden que fueron observadas las evidencias.
- Levantamiento de evidencias: Empacado y descripción detallada de cada evidencia.
- Envío de evidencias a laboratorio: La muestra debe estar empacada y rotulada con las características necesarias para el estudio solicitado, es decir debe tener todos los datos del caso y de la evidencia.
- Las actividades o puntos básicos para la medicina forense veterinaria se pueden conjuntar en:
 - La observación y registro de cualquier tipo de posible pista; objeto de características determinadas, síntomas, horario, tiempo climático, comportamiento del sospechoso, etc.
 - La medición métrica en la escena del crimen y en el caso de los cuerpos los datos morfométricos.
 - La descripción de las características de los objetos presentes o investigados. Puede ser cuantitativa y cualitativa, estructural y funcional, general y parcial; se realiza de forma oral o escrita, utilizando cifras, símbolos, dibujos, etc. y puede apoyarse en la comparación (Oates 1992, Schettino 2007, modificado de Montiel 2008, Linacre 2009).

4.2.2. Estudios Patológicos en tortugas marinas de la costa de BCS

En el estado de Baja California sur, se han realizado análisis forenses de tortugas marinas y se han podido caracterizar algunas lesiones ocasionadas por diferentes agentes tanto infectocontagiosos como no infectocontagiosos.

De estos estudios en tortugas marinas (principalmente negra *Chelonia mydas*) del área de Isla Magdalena, se recuperaron 27 especies de 12 géneros de bacterianos gram negativos aerobios en un total de 58 aislamientos.

La bacteria con mayor prevalencia fue *Escherichia coli* (12.06%) aislada de boca, cloaca y bazo. Seguida de *Salmonella* spp (10.34%) aislada de pulmón, cloaca y boca. *Shigella* spp (6.89%), *Serratia* spp y *Yersinia kinshaseni* (5.17%). El 3.44% de prevalencia fue para los géneros, *Alcaligenes faecali*, *Aeromona hidrofila*, *Aeromona salmonicida*, *Enterobacter* spp, *Moraxella* spp, *Serratia plymuthica*, *Yersinia* spp. *Yersinia Fredriksenni* (Cordero-Tapia 2005). Asimismo se obtuvieron resultados positivos de sueros a diferentes pruebas diagnósticas: veinticinco sueros positivos contra ocho serotipos de *Leptospira interrogans*, tres mostraron anticuerpos contra Rabia (*Rabdovirus*), dos contra Aujezky (Herpesvirus) y uno de estos contra Influenza (Mixovirus). Todos los sueros fueron negativos a Rinitis infecciosa bovina (IBR, Herpes virus) y a Parainfluenza-3 (PI3, Paramixovirus).

En los estudios parasitológicos efectuados, se han obtenido hasta 75 ejemplares de *Learedius learedi* en un solo organismo, particularmente en el corazón, siendo este, el único género parasitario reportado (Cordero-Tapia *et al.* 2004). Por medio de histopatología se han reportado estructuras compatibles con huevos de trematodos en el 97.5% de los tejidos evaluados, Asimismo se observó la migración de los huevos a través del parénquima pancreático y de las vellosidades intestinales, alcanzando la luz intestinal (Inohuye *et al.* 2004, Cordero-Tapia 2005). Histopatológicamente, la presencia de estructuras compatibles con huevos de tremátodos spirorchidos, se encontró en todos los tipos de tejido analizado. Estas estructuras desplazan y lesionan los tejidos. La prevalencia y proporción de los huevos en los tejidos fue la siguiente: Intestino: 14 de 18 (0.77); riñón: 7 de 22 (0.31); pulmón: 8 de 19 (0.42); músculo esquelético: 6 de 19 (0.31); estómago: 3 de 7 (0.42); corazón: 4 de 11 (0.33); piel: 2 de 15; hígado: 3 de 20; páncreas: 2 de 5; bazo: 8 de 14; cerebro 2 de 2.

Y se reportó que las estructuras parasitarias son compatibles con *Eimeria* sp. en 2 de 18 (0.11) y *Cryptosporidium* sp. en 3 de 18 (0.16) (Cordero-Tapia et al. 2004, Inohuye et al. 2004, Cordero-Tapia 2005). La infección por parásitos de diferentes géneros y especies en diversos estadios mostró una prevalencia del 99.56% (Cordero-Tapia et al. 2004).

En los estudios realizados para descartar biotoxinas marinas se llevaron a cabo bioensayos en ratón, y en lo que respecta a biotoxinas hidrosolubles con extractos de hígado, uno de *C. caretta* y tres de *C. mydas*, se observaron signos clínicos semejantes a los descritos para la presencia de toxinas del tipo parálíticas.

Referente a las biotoxinas liposolubles, tres extractos de *C. mydas* presentaron signos clínicos semejantes a los descritos para DSP-toxinas (toxinas diarreicas). Dos extractos de hígado de diferentes *C. mydas* causaron signos inespecíficos de intoxicación. Ningún extracto causó la muerte de los ratones.

Además se reportaron lesiones herpéticas asociadas FP, describiendo la presencia de vacuolización citoplasmática de moderada a severa en células basales y en estrato espinoso, así como núcleos con cromatina densa y cuerpos de inclusión en 4 de 15 (0.26) tejidos epidérmicos (Cordero-Tapia 2005). Asimismo se describieron cambios hiperplásicos compensatorios, de reparación o de sustitución en los diferentes tejidos, riñón (0.13), intestino (0.05), pulmón (0.52), hiperplasia de ductos biliares (0.1). Particularmente, los cambios hiperplásicos neoplásicos (fibroma) se observaron en riñón (0.9). Otro cambio observado fue la degeneración miofibrilar de ligera, moderada y severa en dos de 19 (0.10), muestras de músculo esquelético. Así como la atrofia linfoide moderada en dos muestras bazo de 14 (0.14). Atrofia del epitelio traqueal de moderado a severo en dos de siete muestras (0.28), Se observó la presencia de colonias bacterianas y la atrofia de vellosidades de moderada a severa en dos de 18 (0.11) muestras de intestino (Cordero-Tapia 2005). Histológicamente se reportaron cambios degenerativos asociados a la presencia de agentes infecciosos en el 100% de los especímenes analizados (Cordero-Tapia 2005).

4.3 Justificación

El pacífico de BCS es una de la áreas que presenta gran diversidad y abundancia de tortugas marinas (Seminoff *et al.* 2002) y es considerada una de las zonas más productivas para los diferentes artes de pesca que se realizan en México (CONAPESCA 2003); Existen antecedentes de miles de tortugas marinas varadas muertas en la zona y se ha estimado que la mortalidad se debe principalmente a la captura incidental y a la captura dirigida para consumo (Peckham y Nichols 2005, Koch *et al.* 2006, Mancini 2009, Mancini y Koch 2009). Sin embargo solo en algunos casos se ha estudiado otras posible causas de muerte (Cordero-Tapia 2005). Por tales motivos proponemos el uso de técnicas de Medicina Forense Veterinaria con el fin de identificar la (s) causa (s), manera (s) y mecanismo (s) de muerte de las tortugas marinas en BCS.

4.4 Objetivos

4.4.1. Objetivo general

- Determinar las principales causas de muerte de las tortugas marinas encontradas varadas en el pacífico de BCS mediante Técnicas de Medicina Forense Veterinaria.

4.4.2. Objetivos específicos

- Contabilizar los varamientos de las tortugas marinas en el pacifico de BCS durante un año.
- Examinar macroscópicamente los cadáveres varados de las tortugas.
- Aplicar las técnicas de Medicina Forense Veterinaria a los cadáveres de tortugas marinas encontrados varados en el pacífico de BCS.
- Evaluar las causas de muerte en las tortugas marinas con medicina Forense Veterinaria y Patología Veterinaria.
- Describir los cambios morfológicos y anatómicos encontrados en los cadáveres.

4.3. Material y Métodos

4.3.1. Área de estudio (condiciones generales)

Baja California Sur (BCS) está ubicada en la parte sur de la península de Baja California de los 28°N a los 23°N de latitud y los 116° W y 110° W de longitud. Al oeste está delimitado por el Océano Pacífico y al este por el Golfo de California (o Mar de Cortés) (Mancini 2009). Se distingue por ser la entidad federativa con el litoral más largo del país, contando con aprox. 2,200 km de costa (Secretaría de Pesca 1987). Según datos de INEGI (1991) al litoral de BCS le corresponden 52,303 km² de mar territorial, 23,555 km² de plataforma continental y 224,000 hectáreas de aguas protegidas (CONANP 2008). En la costa oeste de BCS existen planicies costeras donde se han formado varios complejos lagunares, los principales son: La Laguna Ojo de Liebre, Laguna de San Ignacio y Bahía Magdalena (Arizpe 1998). Estas lagunas se caracterizan por su alta productividad primaria y por lo tanto tienen una gran importancia para la pesca, albergando muchas especies de interés comercial (Zaytsev *et al.* 2003). Las temperaturas en BCS varían de 14°C a 23°C entre verano e invierno en la parte norte y de 20°C a 23°C desde Bahía Magdalena hacia Cabo (Arizpe 1998).

La salinidad es cerca de 35 ppm (Arizpe 1998). Las mareas son de tipo mixto-semidiurno, con 2 pleamares y 2 bajamares en el día (Mancini 2009).

4.3.2 Metodología de censos de mortalidad

Para el estudio de los varamientos se llevaron a cabo 12 censos de mortalidad mensuales en cuatrimoto (Gardner S. y Nichols J. 2001) y a pie respectivamente de junio de 2010 a mayo de 2011 en la playa Santo Domingo (ALM), San Juanico (SJU), Laguna de San Ignacio (LSI), playa Isla Arena en Guerrero Negro (GNO) y Punta Abreojos (PAB). Estos sitios fueron seleccionados con base en la cobertura de un porcentaje representativo de la costa del estado, los lugares en que ya se realizaron o se están realizando censos de tortugas muertas (Koch *et al.* 2006, Mancini 2009), la presencia de miembros del Grupo Tortuguero de las Californias (GTC) y estudios previos de mortalidad y varamientos (Mancini 2009, Mancini y Koch 2010).

La playa Santo domingo (ALM) se ubica en el municipio Comondú en el estado de Baja California Sur en las coordenadas geográficas latitud 25.490556 y longitud -111.920000.

San Juanico (SJU) se localiza en el Municipio Comondú del estado de Baja California Sur México y se encuentra en las coordenadas GPS: Latitud (dec): 26.255833 y Longitud (dec): -112.478611.

La Laguna de San Ignacio (LSI) 26°54'N 113°13'O Es una laguna costera en aguas del pacífico Mexicano, localizada en el municipio de Mulegé en el estado de Baja California Sur a 59 kilómetros de la ciudad de San Ignacio y la Carretera Federal.

Punta Abreojos (PAB) Se localiza en el Municipio Mulegé del Estado de Baja California Sur México y se encuentra en las coordenadas GPS: Latitud (dec): 26.714444 y Longitud (dec): -113.574167.

Isla arena (GNO) se encuentra en la laguna de Guerrero Negro BCS en el municipio de Mulegé en las coordenadas: latitud 27.958889 y longitud -114.056111. (Fig. 4.1).

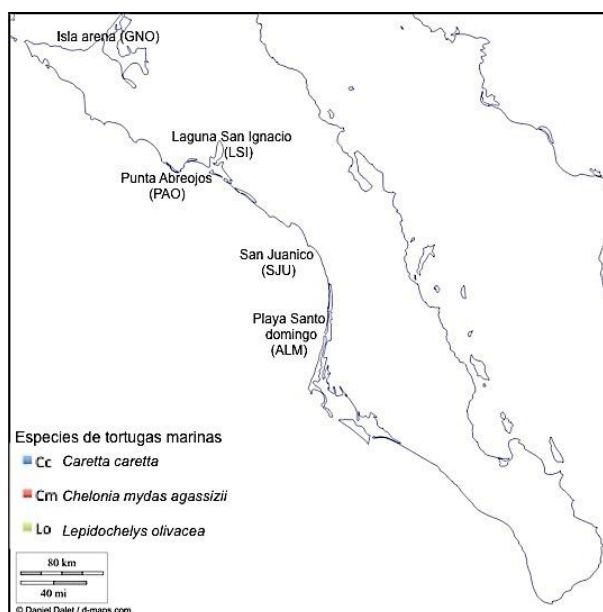


Figura 4.1. Áreas de estudio con los sitios de monitoreo

4.3.3 Metodología para los estudios de varamientos

Los cadáveres de tortugas marinas fueron identificados (genero y especie) según la metodología descrita por Pritchard *et al.* (1999), fueron medidos del largo curvo del caparazón y marcados (Bolton 1999), se tomaron fotografías para la base de datos y se registró su posición geográfica utilizando un Geo posicionador satelital (GPS) de la marca Garmin (modelo 72) según los métodos descritos por Koch *et al.* en 2006; De manera paralela, se tomaron muestras de piel, grasa y hueso para análisis genético.

Se describieron y clasificaron las condiciones de los cadáveres de la siguiente manera:

1. Vivo y/o herido (Mancini 2009)

2. Recién muerto o Fresco

-Inició la pérdida de las funciones biológicas básicas o vegetativas (Adaptado de Trigo y Poumian 1986).

-Inicio de la muerte celular o tisular.

Alteraciones cadavéricas: Cese de la circulación sanguínea, caída de la tensión arterial y silencio auscultatorio (Modificado de Jones y Hunt 1984).

-Ausencia de movimientos respiratorios en las paredes toraco-abdominales, ausencia de la actividad del SNC, (inmovilidad, insensibilidad, areflexia, pérdida de conciencia (Adaptado de Vásquez Fanego 2003).

-Periodo “cadavérico” comienzan a aparecer las alteraciones morfológicas (cambios post mortem) y el inicio de la biodegradación natural (Adaptado de Ibargoyen 2010).

-Viable para hacer necropsia, tomar muestras para histopatología, bacteriología, toxicología, microscopia electrónica, PCR, etc.

Ejemplo: El caparazón puede presentar extravasación de líquidos celulares y/o de moderada a gran cantidad de aceite, se pueden observar balanos vivos en el caparazón, la piel se oscurece un poco y la carne se aprecia de tonalidad roja oscura aunque se considera fresca, el olor no es fuerte (< 5 días), muy hinchada (periodo enfisematoso: 2-7 días) (Modificado de Mancini 2009).

3. Con cambios post mortem inmediatos

-Se observaran cambios autolíticos moderados.

Alteraciones cadavéricas: Deshidratación cadavérica, Algor mortis, rigidez cadavérica (Adaptado de Trigo y Poumian 1986) lividez cadavérica, hipostasia visceral, enfisema postmortem, destrucción parcial del cadáver (Slauson y Cooper 1990).

Estos cambios dependen del tiempo, la temperatura humedad ambiente, tamaño corporal, estado nutricional y tipo de dieta, especie, estado de salud, entre otros (Adaptado de Ibargoyen 2010).

Ejemplo: el caparazón empieza a doblarse por el sol, la piel y los músculos se tornan de color oscuros y endurecidos; el organismo puede estar hinchado, el olor es fuerte y desagradable (> 1 mes) (Modificado de Mancini 2009).

4. Con cambios post mortem mediatos

-La tortuga presenta cambios autolíticos avanzados, notables cambios degenerativos (Adaptado de Thompson 1989).

Signos: Imbibición post mortem, seudomelanosis, pérdida de color, enfisema postmortem y/o ruptura postmortem, desplazamiento post mortem (Modificado de Kitt y Schultz 1985) destrucción del cadáver por factores exógenos (Adaptado de Ibargoyen 2010).

Estos cambios dependen del tiempo, la temperatura humedad ambiente, tamaño corporal del animal, estado nutricional y tipo de dieta, especie, estado de salud, entre otros (Adaptado de Ibargoyen 2010).

Ejemplo: El caparazón se mantiene duro, los escudos empiezan a separarse del caparazón, la piel es de consistencia dura al tacto, acartonada y seca y/o se aprecian los huesos de las aletas y cráneo casi no se observa carne y se aprecia seca y de color muy oscuro (> 5 meses) (Modificado de Mancini 2009).

5. Caparazón y esqueleto

-Ultimo periodo del proceso de descomposición descrito como reducción esquelética o esqueletización (Adaptado de Linacre 2009).

Esta es una tapa caracterizada por la desaparición total de los restos cadavéricos blandos, con excepción de los huesos que componen el esqueleto óseo como ultimo remanente del cadáver (Adaptado de Ibargoyen 2010).

Ejemplo: El caparazón esta seco y duro, queda muy poco tejido, se ha perdido la sucesión vertebral y por lo general la cabeza y los huesos están dispersos (Modificado de Mancini 2009).

6. Caparazón solo

-Por lo general el caparazón se encuentra quemado sin unión a huesos y sin piel ni carne (Modificado de Mancini 2009).

7. Solo huesos

-Huesos encontrados dispersos próximos entre sí (Modificado de Mancini 2009).

Se categorizó la causa de muerte con base en el estado del cadáver:

1. Consumo

Cuando la muerte fue producida por una causa violenta o no violenta, como resultado de la acción premeditada cuyo objetivo primario fue la muerte del animal por ejemplo: captura dirigida para consumo, cuando el caparazón o los restos mostraron signos de vitalidad de una lesión (Modificado de Fraraccio 1989 y Vásquez Fanego 2003) (rastros de quemaduras, cuchillo o arpón sobre el tejido vivo) (Modificado de Mancini 2009) y se interpreto su finalidad de dañar o mutilar.

2. Captura incidental

Cuando la muerte se produjo por una causa violenta o no violenta como resultado de una circunstancia accidental (Adaptado de Achaval 1994). Cuando los cadáveres tenían presencia de anzuelos, restos de redes, cuerdas, jivas o marcas y lesiones (cicatrices) sobre tejido vivo (modificado de Mancini 2009, Achaval 1994).

3. Mortalidad natural

Cuando se considero que la muerte se produce por una causa natural, no violenta, por lo general como resultado de enfermedades (fibropapilomas u otras) o depredadores (Mordida de tiburón) (Modificado de Mancini 2009).

4. Otra causa

Principalmente choque con pangas.

5. Causa desconocida o Indeterminada

Cuando la muerte se produjo por una causa que no fue posible determinar o fue totalmente desconocida.

Al final, cada animal se marcó con pintura y/o cinchos de plástico para evitar doble conteo (Mancini 2009).

4.3.4. Metodología de Medicina Forense Veterinaria

a) Al encontrar cada cadáver:

-Se observo el área circundante al mismo

-Se registró en una bitácora, fecha y hora de hallazgo y las condiciones climáticas generales.

-Se hizo una inspección ocular general de izquierda a derecha, de arriba abajo y viceversa y se describió la zona (observación en abanico).

-Se tomaron fotografías panorámicas que brindaron un aspecto general del lugar.

-Se tomaron fotos de acercamiento a cada objeto o elemento en el lugar.

-Se tomaron fotos y la disposición del animal, para su ubicación y se registro su posición geográfica

(Adaptado de Schettino 2007, Cooper y Cooper 2007, Linacre 2009).

-Se identificó el cadáver o los restos que se encontraron, (género, especie) según la metodología descrita por Pritchard et al. (1999) y fueron medidos del largo curvo del caparazón (Bolton 1999) y marcados.

b) Examen del cadáver

-Se llevó a cabo un análisis ordenado y sistemático de cada uno de los cadáveres (Work 2000, S. de Aluja y Casas 2002).

Inspección externa:

-Se realizó un examen clínico-macroscópico del animal con orientación cráneo caudal y dorso ventral evaluando todos los sistemas del cuerpo para valorar su estado por medio de los cambios autolíticos (cambios postmortem) y se describió todo cambio anatómico estructural externo observado en el cadáver (S. de aluja y Casas 2002; Cooper y Cooper 2007).

Todos los datos se registraron en una bitácora y se hizo un reporte foto documentado individual (Linacre 2009).

4.4 Resultados

-De junio de 2010 a mayo de 2011 se documentaron un total de 187 cadáveres de tres especies de tortugas marinas: 56 amarillas, 23 prietas y 2 golfinas en Playa santo Domingo (PLM); 25 prietas y 22 amarillas en San Juanico (SJU); 19 prietas en Laguna San Ignacio (LSI); 16 prietas y 11 amarillas en Punta Abreojos (PAB); 10 prietas y 3 amarillas en Isla arena (GNO).

En la tabla 4.1 se muestra la zona, el número total de cadáveres y la especie de tortugas marinas encontradas varadas.

Tabla 4.1. Número de tortugas encontradas varadas muertas en el pacífico de Baja California Sur.

Zona	Especie	No. de tortugas muertas	(%)
PLM	<i>Cc</i>	56	51.52
PLM	<i>Cm</i>	23	21.39
PLM	<i>Lo</i>	2	-
SJU	<i>Cm</i>	25	23.25
SJU	<i>Cc</i>	22	20.24
LSI	<i>Cm</i>	19	17.67
PAB	<i>Cm</i>	16	14.88
PAB	<i>Cc</i>	11	10.12
GNO	<i>Cc</i>	3	2.7
GNO	<i>Cm</i>	10	9.3

PLM: Playa santo Domingo, SJU: San Juanico, LSI: Laguna de San Ignacio, PAB: Punta Abreojos, GNO: Isla arena. *Cc*: *Caretta caretta* (Tortuga amarilla); *Cm*: *Chelonia mydas* (Tortuga prieta); *Lo*: *Lepidochelys olivacea* (Tortuga golfina).

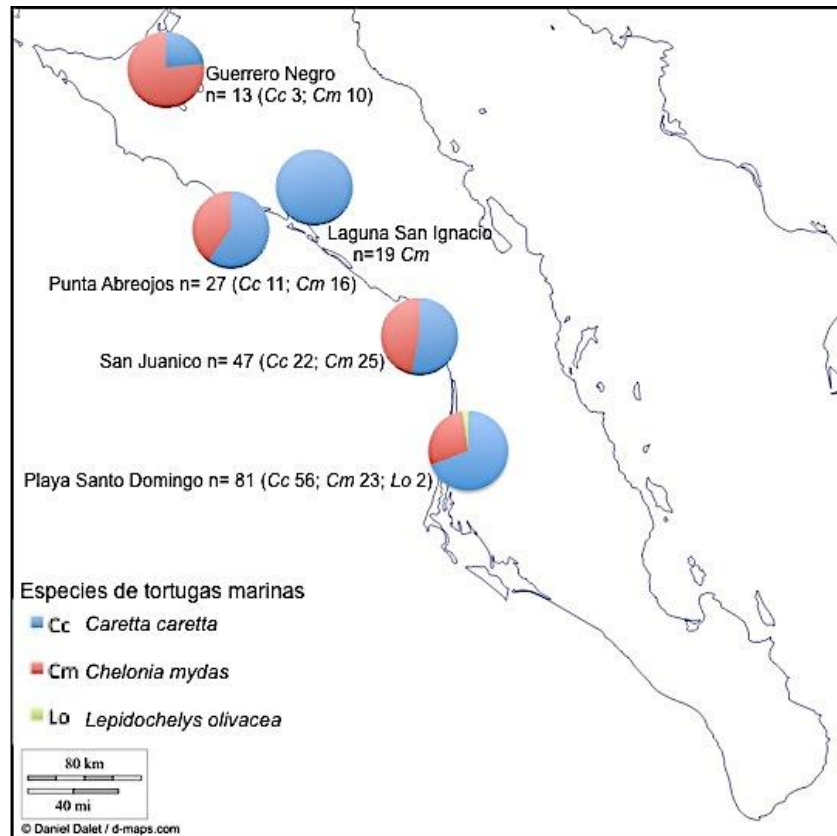


Figura 4.2. Mapa de la distribución de las tortugas encontradas varadas muertas en BCS, durante los censos que se llevaron a cabo desde Junio de 2010 hasta Mayo de 2011.

Clasificación del cadáver:

- En 87 casos se encontraron solo algunos huesos y fueron clasificados como estado (7).
- 52 cadáveres se clasificaron como estado 6 (caparazón solo)
- 29 cadáveres fueron clasificados 5 (caparazón y esqueleto).
- 18 cadáveres presentaron cambios autolíticos avanzados y se clasificaron como estado 4.
- Solo 1 presento cambios autolíticos moderados y se clasifico como 3 (Tabla 4.2).
- Durante los censos, No se encontraron animales vivos ni recién muertos, no se realizaron necropsias ni se determino el sexo debido al avanzado estado de descomposición en que se encontraron los cadáveres.

Tabla 4.2. Clasificación del estado del cadáver

Estado del cadáver	no. de tortugas
1. vivo	0
2. recién muerto	0
3. Cambios P. I.	1
4. Cambios P. M.	18
5. Caparazón y esqueleto	29
6. Caparazón solo	52
7. Solo huesos	87

PI: cambios postmortem inmediatos, PM: Cambios postmortem mediatos

Talla de las tortugas marinas encontradas varadas muertas:

En la Figura 4.3 se muestra que el 99% de los caparazones de los cadáveres encontrados, tuvieron talla inferior al promedio de las hembras anidadoras de cada especie; Comparando las tallas de los caparazones encontrados con las tallas promedio se determinó que el 95% de los animales que se registraron eran subadultos.

En el caso de las tortugas amarillas la longitud curva del caparazón (LCC) promedio fue de 70.8 ± 8.20 (n=92; rango: 40-93) por lo tanto se consideraron inmaduros.

Los caparazones encontrados de tortugas prietas midieron en promedio 63.3 ± 9.3 cm de LCC (n=93; rango: 36-112) y se consideraron sub adultos.

-El LCC promedio de las tortugas golfinas fue de 66 ± 2 (n=2), siendo el 100% de los individuos de talla adulta.

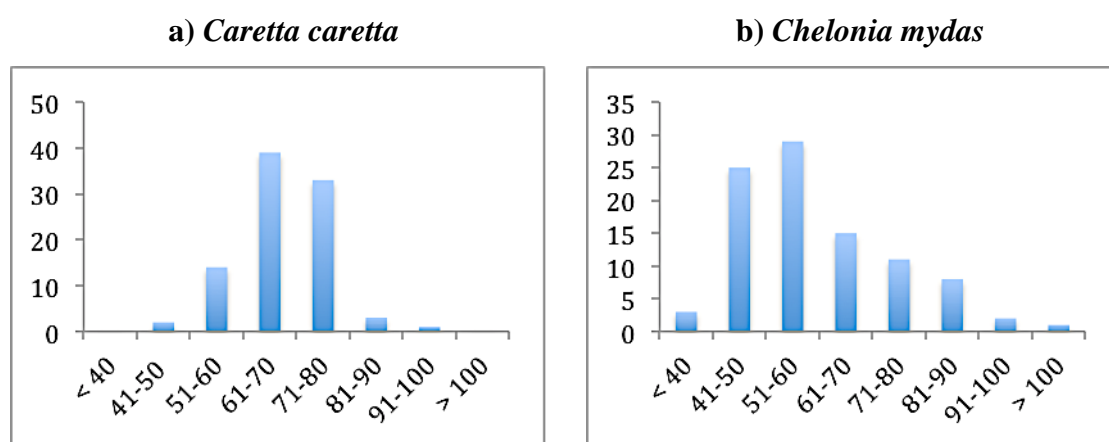


Figura 4.3. Clase de tallas en centímetros de *Caretta caretta* y *Chelonia mydas*.

Causa de muerte:

En la tabla 4.3 se muestran las clasificaciones de la posible causa de muerte de las tortugas marinas encontradas varadas. En 93 tortugas la causa de muerte fue desconocida, se clasifico como (5) y represento el 49.73%, mientras que en 53 casos se pudo determinar que la causa de muerte fue por captura incidental (2) lo cual represento el 28.34%; y en 41 casos fue por consumo (1) representando el 21.92%.

Tabla 4.3. Clasificación de la posible causa de muerte de las tortugas marinas encontradas varadas.

Causa de muerte	no. de tortugas	Especie	Zona	Zona encontrada	(%)
1. Consumo	41	<i>Cm</i>	SJU	Cerca de zona urbana	21.92
2. Captura incidental	53	<i>Cc</i>	PLM	Intermareal	28.34
3. Mortalidad natural	0	-	-	-	0
4. Otra	0	-	-	-	0
5. Desconocida	93	<i>Cc, Cm y Lo</i>	PLM	Supramareal	49.73
		<i>Cc y Cm</i>	SJU		
		<i>Cm</i>	LSI		
		<i>Cc y Cm</i>	PAB		
		<i>Cm</i>	GNO		

Cm: *Chelonia mydas*, *Cc*: *Caretta caretta*, *Lo*: *Lepidochelys olivacea*, SJU: San Juanico, PLM: Santo domingo, LSI: Laguna San Ignacio, PAB: Punta abreojos, GNO: Isla arena Guerrero Negro.

Cambios postmortem:

La tortuga *Caretta caretta* clasificada con cambios post mortem inmediatos (3) presento:

- Piel: La piel superior (dorsal) de color café muy oscuro, sin elasticidad, ni flexibilidad, de consistencia dura o “acartonada” al tacto, la piel (inferior) ventral era menos dura en comparación con la dorsal, de consistencia firme tampoco tenia elasticidad ni flexibilidad. En la parte inferior del cadáver se observaron manchas delimitadas mas oscuras que la piel normal de color hacia rojo-azulado.
- Mucosas oculares y la boca estaban desecadas y opacas, los globos oculares estaban retraídos y la cornea se observaba opaca.
- Los músculos de la cabeza y cuello (Músculos axiales): Firmes, duros y no presentaron flexión, extensión, retracción y rotación sobre su eje.

- Aletas anteriores: Dorsal y ventral, no presentaron movimiento, flexibilidad, elasticidad, extensión y rotación en las articulaciones hacia fuera, hacia adentro, hacia delante y hacia atrás.
- Caparazón: Era de color marrón a café muy oscuro con solo 2 escudos firmes y continuos, Se observaron cuatro balanos en el centro.
- Aletas Posteriores: Dorsal y ventral, sin movimiento, flexibilidad, elasticidad, extensión y rotación en las articulaciones hacia fuera, hacia adentro, hacia delante y hacia atrás,
- Cola y cloaca: Dorsal y ventral, firme y sin movimiento. Plastrón: Era de color amarillo muy oscuro, con zonas delimitadas de color café oscuro, de consistencia firme al tacto, (Tabla 4.4).

En la Tabla 4.4 – 4.9 se resumen los cambios postmortem que se observaron en los cadáveres de tortugas marinas encontradas varadas muertas.

Tabla 4.4. Alteraciones cadavéricas observadas tortuga *Caretta caretta* clasificada con cambios post mortem inmediatos (3)

ID	Clasificación	Cambios post,mortem
Alm	Cambios postmortem	Piel dura al tacto, sin elasticidad, ni flexibilidad
T13 C.c.	inmediatos (3)	Mucosas oculares boca seca Hundimiento ocular y cornea opaca Temperatura corporal similar a la del ambiente Rigidez cadavérica Manchas de color rojo azulado en la parte inferior de la tortuga.

ID: Identificación, Alm: Playa Santo Domingo, T13: Identificación Tortuga No. 13, C.c.: *Caretta caretta*

Tabla 4.5. Alteraciones cadavéricas observadas en 18 tortugas clasificadas con cambios post mortem mediatos (4).

ID	Clasificación	Cambios post mortem
18	Cambios postmortem	Mal olor
Tm	mediatos (4)	Cambio de coloración a roja difusa muy oscura en los tejidos (piel principalmente) Coloración grisácea-negro en los tejidos 7 tortugas Distención abdominal incluyendo órganos internos así como cuello y extremidades 11 tortugas Ruptura y desplazamiento postmortem

ID: Identificación, Alm: Playa Santo Domingo, 18Tm: 18 Tortugas marinas encontradas varadas muertas.

Tabla 4.6. Alteraciones cadavéricas observadas en 29 tortugas marinas clasificadas como caparazón y esqueleto (5).

ID	Clasificación	Cambios post mortem
29	Caparazón y esqueleto (5)	Reducción esquelética
Tm		Se encontraron dispersos y muy lejos del mar

- Estos cadáveres fueron encontrados muy lejos de la línea de marea.
- Se observó el caparazón y plastrón y el cráneo con hueso ceriatohial y mandíbula desprendiéndose, presencia de vertebras cervicales, se observaron fémur, húmero, falanges distales, hioplastrón e hipoplastrón y costillas.

Tabla 4.7. Alteraciones cadavéricas observadas en 52 tortugas marinas clasificados como caparazón solo (6).

ID	Clasificación	Cambios post mortem
52	Caparazón solo (6)	21. Retracción de los bordes, cambios de color, inflamación y congestión en los escudos inframarginales.
Tm		

ID: Identificación, 52Tm: 52 Tortugas marinas encontradas varadas muertas.

Tabla 4.8. Alteraciones cadavéricas observadas en 87 tortugas marinas clasificados como caparazón solo (7).

ID	Clasificación	Cambios post mortem
87	Solo huesos (7)	Se encontraron huesos dispersos y distribuidos a lo largo de la playa.
Tm		

ID: Identificación, 87Tm: 87 Tortugas marinas encontradas varadas muertas.

4.5. Discusión y Conclusiones

En este estudio no se encontraron animales vivos, heridos, ni recién muertos y no se realizaron necropsias. Todos los animales que se evaluaron se encontraban en avanzado estado de descomposición. Las causas de muerte estudiadas, las zonas de mortalidad, especies muertas encontradas y tallas de LCC de las tortugas coinciden de manera contundente con lo descrito previamente por Peckham et al. (2007) Mancini (2009) y Mancini y Koch (2009).

La tortuga *Caretta caretta* clasificada como (3) (Cambios post mortem inmediatos) presento cambios autolíticos moderados; el “acartonamiento” de la piel al tacto es una de las principales alteraciones que se observan en un cadáver (S. de Aluja y Constantino 2002).

La desecación observada de las mucosas oculares y la boca se debe al efecto de la evaporación, la retracción de los globos oculares (Hundimiento ocular) y la opacidad de la cornea se considera enturbiamiento corneal y se debe a la deshidratación cadavérica (Ibargoyen 2010) estos cambios se atribuyen al periodo de tiempo que paso expuesta a las condiciones ambientales incluyendo la temperatura promedio del mes de julio (25°C) así como la humedad y ventilación (Linacre 2009).

La temperatura corporal de la tortuga similar a la del ambiente, se debe a la perdida de calor continua y que se incrementa después de la muerte por medio de radiación y convección como consecuencia directa de la desaparición de los mecanismos naturales de regulación de la temperatura corporal, aunado a la interrupción simultanea de la circulación sanguínea, la actividad muscular y los cambios en la actividad metabólica tisular (Schettino 2007) y se considero como un signo de algor mortis, un proceso físico donde la tasa de enfriamiento del cadáver esta determinada por la diferencia entre la temperatura del cuerpo y la del ambiente (Cooper 2009).

Se considero que la tortuga llevaba más de 72 horas muerta aproximadamente debido a que el enfriamiento cadavérico sirve como uno de los indicadores más útiles dentro de las primeras horas de ocurrida la muerte (Cooper y Cooper 2007). El “Intervalo post mortem” (IPM) sirve como un estimador del tiempo que lleva muerto el cuerpo y que aplica para las primeras 24 horas post mortem. Luego de la muerte, por algunas horas (1 a 5 hrs.), la temperatura inicialmente se mantiene “estable”; En seguida de este periodo inicial, se continua con un descenso linear de la perdida de calor. Esta perdida se acelera cuando más se aproxima a la temperatura del ambiente (Wobeser 1996).

Al continuar con la revisión del cadáver, la tortuga mostró signos de rigidez cadavérica (rigor mortis) completa en los músculos del cuello, aletas y cola. La rigidez cadavérica se presenta en forma progresiva desde unas pocas horas de ocurrida la muerte del animal (Cooper 2009). Una vez que el rigor mortis se ha desarrollado completamente las articulaciones y órganos internos quedan fijos y sin movimientos en extensión o flexión (Ibargoyen 2010), el rigor mortis involucra a la musculatura lisa y la musculatura estriada cardíaca y esquelética como resultado de cambios físico y químicos en las proteínas de las fibras musculares por un periodo de anoxia (Linacre 2009).

En este rubro es necesario remarcar que el cadáver estuvo expuesto a las condiciones climáticas y ambientales por un periodo prolongado, en los casos de cadáveres que son sometidos a calor intenso directo, tienen como resultado una rigidez por calor y no por contracción muscular (Cooper y Cooper 2007); El acortamiento muscular se da como consecuencia de la coagulación de las proteínas musculares y no del rigor mortis (Cooper 2009).

Tabla 4.9. Discusión tortuga *Caretta caretta* clasificada con Cambios postmortem inmediatos (3).

ID	Clasificación	Cambios post mortem	Discusión	Referencia
Alm	Cambios postmortem inmediatos (3)	Piel dura al tacto, sin elasticidad, ni flexibilidad	“Acartonada” Cambios autolíticos moderados	Linacre 2009
T13		Mucosas oculares y boca seca	Evaporación	de Aluja 2002
<i>C.c.</i>		Hundimiento ocular y córnea opaca	Enturbamiento corneal, deshidratación cadavérica	Ibargoyen 2010
		Temperatura corporal similar a la del ambiente	Periodo de tiempo expuesta a las condiciones ambientales (26°C, pérdida de la temperatura por medio de radiación y convección (Algor mortis)	Cooper 2009
		Rigidez cadavérica	Rigor mortis	Cooper 2007
		Manchas de color rojo azulado en la parte inferior de la tortuga	Livor mortis por sedimentación gravitacional y estancamiento de la sangre	Schettino 2007

ID: Identificación, Alm: Playa Santo Domingo, T13: Identificación Tortuga No. 13, *C.c.*: *Caretta caretta*

Discusión tortuga *Caretta caretta* clasificada con Cambios postmortem inmediatos (3): Las manchas de color rojo azulado que se observaron en la parte inferior de la tortuga se consideraron como “Livor mortis” y se atribuyen a la sedimentación gravitacional y estancamiento de la sangre que se produce como consecuencia de la pérdida del tono vascular (Cooper y Cooper 2010).

La posición en la que se encontró esta tortuga fue en decúbito prono y no se observaron signos de hipostasia visceral lo que hace suponer que murió dentro del agua y fue arrastrada a la orilla tiempo después (Linacre 2009).

La temperatura del cadáver, la rigidez cadavérica, así como los cambios en la coloración de la piel, los cambios anatómicos estructurales y morfológicos observados en el cadáver fueron considerados cambios autolíticos avanzados (Trigo y Poumian 1986) y con base en estos, se estimó que el animal tenía aproximadamente más 15 días de haber muerto.

Los 18 cadáveres clasificados como (4) con cambios post mortem mediatos: presentaron cambios autolíticos avanzados; El primer signo registrado fue el mal olor, originado por el acúmulo de metano, dióxido de carbono, amoníaco y pequeñas cantidades de mercaptan entre otros gases que se producen por la fermentación bacteriana en el interior del cadáver (Wobeser 1996).

El cambio de coloración a roja difusa muy oscura en los tejidos (piel principalmente) se atribuyó a la hemólisis intravascular de los eritrocitos y degradación de la hemoglobina y se consideró como imbibición postmortem (Cooper y Cooper 2010) misma que se desarrolla en la primera etapa de la descomposición, el periodo “cromático” (Fraraccio 1989). Otro cambio observado que predominó en los cadáveres fue una coloración grisácea a negro en los tejidos y se consideró como pseudomelanosis (Ibargoyen 2010), cambio postmortem relacionado al avanzado estado de descomposición en que se encuentra un cadáver y que se origina por la combinación del hierro de la hemoglobina y el sulfuro de hidrógeno producido por los diferentes géneros de bacterias que se desarrollan en un animal muerto (Achaval 1994).

En 7 de los 18 cadáveres de tortuga marina encontrados se observó enfisema postmortem (Fraraccio 1989) o acumulación de gases. Este signo es el responsable del mal olor e indicador del avanzado proceso de descomposición y se origina por la fermentación bacteriana en el interior del cadáver combinado con el acúmulo de gases (Fraraccio 1989); los cuales producen distensión abdominal incluyendo órganos internos así como cuello y extremidades (Linacre 2009). Se determinó que estos 7 cadáveres se encontraban en el periodo enfisematoso (Fraraccio 1989), segunda etapa del proceso de descomposición donde todos los cambios observados derivan de la excesiva producción y acumulación de gas en el cadáver (Linacre 2009).

En 11 de los 18 cadáveres se observó ruptura postmortem (Fraraccio 1989) y se atribuyó a la presión ejercida por el acúmulo de gases en las paredes de los órganos como estómago e intestinos las cuales se debilitan por la autólisis (Cooper y Cooper 2007) y a la picadura y/o mordedura de fauna carroñera presente en el lugar. En los 11 cadáveres se observó desplazamiento postmortem (Fraraccio 1989) asociado a diversos factores, al oleaje, el viento, el acúmulo de gases y líquidos en la cavidad abdominal, así como la mordedura y/o picadura de animales carroñeros (Ibargoyen 2010). Se consideró que estos 11 cadáveres estaban en el cuarto periodo del proceso de descomposición “periodo colicuativo” (Fraraccio 1989) en donde las alteraciones cadavéricas más importantes observadas son el reblandecimiento y maceración progresiva de los órganos parenquimatosos y la licuefacción viscosa de los tejidos blandos (Cooper 2009).

Se determinó que en este periodo fue donde más se observa la acción directa de la fauna cadavérica en los animales muertos que permanecen al aire libre (Schettino 2007).

29 cadáveres de tortugas fueron clasificados 5 (caparazón y esqueleto). En estos casos se evidenció el avanzado estado de descomposición de los cadáveres hasta la reducción esquelética el quinto y último periodo del proceso de descomposición y fue muy difícil determinar la causa de muerte, en este rubro diversos autores sugieren la determinación de la causa de muerte por medio del estudio de los huesos mediante genética forense (Cooper y Cooper 2010), entre otros, sin embargo en este estudio no se llevaron a cabo más análisis.

La principal característica en común de estos cadáveres fue la zona en las que se encontraron (muy lejos del mar) de manera general estos cambios después de la muerte se atribuyeron al tiempo que pasaron los cadáveres expuestos a las condiciones climáticas y ambientales como el oleaje, a la fauna carroñera (Linacre 2009) y a los factores exógenos que intervienen sobre la destrucción de los cadáveres (organismos necrófagos, necrófilos, omnívoros y oportunistas (Fraraccio 1989) que aunados al tiempo inciden considerablemente sobre el estado de descomposición del cadáver y se convierten en sus transformadores finales) (Wobeser 1996).

52 restos de tortugas marinas se clasificaron como estado: 6 (caparazón solo). En 21 cadáveres identificados como *C. mydas* de estos 52, se determinó que la causa de muerte fue captura dirigida para consumo.

Los caparazones mostraron signos macroscópicos de vitalidad de lesión (Ibargoyen 2010) se observaron marcas de entrada de cuchillo en la periferia de los escudos inframarginales (Wineken 2004) de los caparazones mismos que ocasionaron retracción de los bordes, cambios de color por la infiltración hemática, inflamación y congestión debido a ruptura capilar perilesional (Linacre 2009) y coincide consistentemente con la especie y zona reportada previamente por Mancini (2009).

De las 87 tortugas que fueron clasificadas como estado: 7 (solo huesos), se encontraron los huesos distribuidos a lo largo de la playa, en estos casos fue muy difícil determinar la causa de muerte por falta de más análisis específicos (Linacre 2009) estos cambios postmortem se atribuyen al avanzado proceso de descomposición por el tiempo que pasaron expuestos a las condiciones ambientales (se estima que más de 1 mes), a la fauna carroñera y a los factores exógenos que colaboran en la destrucción de los cadáveres. Consideramos que por la temporada del año y los días del mes en que se llevaron a cabo los recorridos no se encontraron animales vivos ni recién muertos y por tales motivos no se realizaron necropsias.

El avanzado grado de descomposición en que se encuentran la mayoría de los cadáveres de tortugas marinas varadas impide llevar a cabo estudios concluyentes de la causa de muerte, limitando el poder demostrar fehacientemente la presencia de agentes infectocontagiosos o daños antropogénicos.

En la medicina forense humana o veterinaria no existe metodología precisa para determinar exactamente el tiempo transcurrido desde la muerte. En este contexto no existe literatura científica que aborde este tema en tortugas marinas. Este punto es complejo, en animales acuáticos el principal problema es el contacto permanente con el agua salada, más su composición biológica y su temperatura (Cordero-Tapia y Reséndiz 2014). Estas últimas varían respecto a la estación climática anual. Por tales motivos se plantea la hipótesis de que las tortugas marinas al morir en altamar se van al fondo, donde los cambios degenerativos tisulares y la fermentación del contenido gastrointestinal provocan la producción y acumulación de gases que estimulan la flotación del cuerpo a la superficie. El cadáver viaja con las mareas, de no perforarse (presión interna o depredación) seguirá el curso de la marea hasta llegar a la playa.

Las características observadas en los cadáveres analizados durante los censos realizados en este trabajo, no indican si estos ejemplares llegaron vivos a la playa. Lo anterior obliga a llevar a cabo un programa de monitoreo terrestre diario (mañana y tarde) para evitar que la fauna carroñera afecte o elimine la posibilidad de muestrear los cadáveres.

Es necesario diseñar un plan de trabajo básico enfocado a la toma de muestras y mantener un monitoreo constante. Con apoyo económico y logístico constante en tiempo y forma para llevar a cabo los recorridos no solo en la playa si no también en el mar en busca de animales vivos y muertos.

4.6 Literatura citada

- Achaval A. (1994). Manual de Medicina Legal práctica Forense. Ed. Abeledo Perrot, 4ta edición.
- Aguirre A, Gómez A. (2009). Essential Veterinary education in Conservation Medicine and ecosystem health: A global perspective Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. 28. 2: 597-603.
- Aguirre A. (2009). Essential Veterinary education in zoological and wildlife medicine: a global perspective. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. 28. 2: 605-610.
- Arizpe-C. O. (1998). El ambiente marino. En: AA.VV. (1998). Diagnostico ambiental de Baja California Sur, La Paz, México, 243-299.
- Bolton A. (1999). Techniques for measuring sea turtles. In Eckert, K, Bjorndal K, Abreu-Grobois A, y Donnelly M, eds. Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles. IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication No. 4.
- Cliffon K, Cornejo R, Felger R. (1995). Sea Turtles of the Pacific coast of Mexico. In K.A. Bjorndal (ed.), Biology and Conservation of Sea Turtles, Smithsonian Institution Press, Washington, DC pp. 199-209.
- CONANP (2008).
- CONAPESCA (2003). Anuario estadístico de Acuicultura y Pesca 2003. México.
- Cooper J, Cooper M. (2007). Introduction to Veterinary and comparative Forensic Medicine. Blackwell Publishing Ltd. Oxford UK 415 pp.
- Cooper J, Cooper M. (2010). Introduction to Veterinary and comparative Forensic Medicine. Journal of wildlife disease. Vol 46, no. 1. Pp 330-332.
- Cooper J. (2009). Introducción a la Medicina Forense Veterinaria Comparada Ed. Acribia, México..
- Cordero-Tapia A. (2005). Evaluación histopatológica de las etiologías comunes y asociadas a fibropapiloma en la Tortuga prieta (*Chelonia mydas agassizii*) de Bahía Magdalena, Baja California Sur, México. Tesis de Doctorado CIBNOR.
- Correa F. (2007). Medicina Forense Veterinaria. Ed. Prensa latina. Santiago de Cuba.
- FAO. (2004). Papers presented at the Expert Consultation on Interactions between Sea Turtles y Fisheries within an Ecosystem Context. Rome, 9-12 March 2004. FAO Fisheries Report. No. 738, Suppl. Rome, FAO.
- FAO. (2007). Fishery Department, Fishery Information, Data y Statistics Unit FISH STAT Plus: universal software for fishery statistical time series. Version 3.2.
- Fraraccio J. (1989). Medicina Legal: Conceptos clásicos y modernos. Ed. Universidad.

- Friedrich N. (2006). Medicina Veterinaria Legal y Forense. Colegio Médico Veterinario de la Provincia de Cordoba. M.P. 332.
- Gardner S, Nichols J. (2001). Assessment of sea turtle mortality rates in the Bahía Magdalena region, Baja California Sur, Mexico. *Chel. Conserv. Biol.* 4: 197-199.
- Ibargoyen G. (2010). Patología general y Anatomía y Fsiología Patológica Fac. Cs. Veterinarias UN Rosario.
- INE. (2000). La Calidad del agua en los ecosistemas costeros de México. Instituto Nacional de Ecología. SEMARNAP. disponible en <http://www.sct.gob.mx/fileadmin/CGPMM/biblioteca/ecologia/308.pdf>.
- INEGI (1991) Anuario estadístico del estado de Baja California Sur. Available at: <http://www.inegi.gob.mx>
- Jones T, Hunt R. (1984). Patología Veterinaria. Ed. Hemisferio Sur.
- Kitt T, Schulz L. (1985). Tratado de Anatomía Patologica general. Ed. Labor
- Koch V, Nichols J, Brooks L. (2007). Population Ecology of the green/black turtle (*Chelonia mydas*) in Bahía Magdalena, Mexico. *Marine Biology* 153.1:35-46.
- Koch V, Nichols J, Peckham H, de la Toba V. (2006). Estimates of sea turtle mortality from poaching and bycatching in Bahía Magdalena Baja California Sur, Mexico. *Biol. Conserv.* 128: 327-334.
- Kreuder C, Miller M, Jessup D, Lowenstine L, Harris D, Ames J, Carpenter T, Conrad P, Mazet A. (2003). Patterns of Mortality in Southern Sea Otters (*Enhydra lutris nereis*) from 1998–2001. *Journal of Wildlife Diseases*, 39 (3), 2003, pp. 495–509.
- Latimer K, Mahaffey E, Prasse K. (2005). Duncan & Prasse's. Patología Clínica Veterinaria. 4a. ed. Oxford. Multimédica. 551p.
- Linacre A. (2009). Forensic Science in Wildlife Investigations. International Forensic Science and Investigation Series. CRC Press, Taylor & Francis Group ISBN: 0849304105 9780849304101 | 180 pp.
- Maffucci F, Caurant F, Bustamante P, Bentivegna F. (2005). Trace element (Cd, Cu, Hg, Se, Zn) accumulation and tissue distribution in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from western Mediterranean sea turtles (southern Italy). *Cremosphere* 58: 535-542.
- Mancini A, Koch V. (2009) Sea turtle consumption and black market trade in Baja California Sur, Mexico. *Endang. Sp. Res.* 7: 1-10.
- Mancini A. (2009). Pesca incidental o captura dirigida-Tasas y causas de mortalidad de las tortugas marinas en Baja California Sur, México. 2009. Tesis de Doctorado en Ciencias Marinas y Costeras. UABCS Depto. Académico de Biología Marina Posgrado en Ciencias Marinas.

- Marquez R. (1996). Las Tortugas marinas y nuestro tiempo. Serie La Ciencia para Todos / 144. Tercera Edición, pp. 151.
- Mcfee W, Lipscomb T, (2009) Major pathologic findings and probable causes of mortality in bottlenose dolphins stranded in South Carolina from 1993 to 2006. *J. Wildl dis.* Jul. 45 (3): 575-93.
- McGavin D, Zachary J. (2006). *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 4 Rev Ed. Elsevier Health Sciences (United Kingdom).
- Mendoza O., Ramírez W., Ramos M., Mendoza J., Sosa, W. (2010). Indicadores, tendencia de la mortalidad total en bovinos de una provincia de Cuba (2000 -2009) REDVET. Revista electrónica de Veterinaria 1695-7504, Volumen 11 Número 10.
- Merck M. (2010). *Veterinaria Forense: Investigación sobre la crueldad hacia los animales* Editorial Acribia México.
- Montiel J. (2008). *Criminalística 3*. Segunda edición México D.F. Editorial limusa, Grupo Noriega Editores 307pp.
- Nichols J, Brooks L, Lopez M, Seminoff J. (2001). Record of pelagic East pacific Green turtles associated with Macrocytis mats near Baja California Sur, Mexico. *Marine Turtle Newsletter* 93:10-11.
- Nichols J, Palmer L. (2006). The turtle Thief, the fisherman y the Saint: a report on the consumption of sea turtle meta during lent. WWF.
- Nichols J. (2003). *Biology and Conservation of the sea turtles of the Baja California Peninsula, Mexico*. Ph.D. *Dissertation*, University of Arizona, Tucson.
- NOOA (1997). *Bycatch: A national concern*. U.S. Department of Commerce, National Oceanic y Atmospheric Administration, National Marine Fisheries Service.
- NOOA. (2007). *Bycatch: A National concern*. U.S. Department of Commerce, National Oceanic y Atmospheric Administration, National Marine Fisheries Service. Secretaría CIT. (2006). *Pesquerías y Tortugas Marinas*. Mayo 2006, San José, Costa Rica.
- Peckham H, Maldonado D, Walli A, Ruiz G, Crowder L. (2007). Small-Scale Fisheries Bycatch Jeopardizes. Endangered Pacific Loggerhead Turtles. *PLoS ONE* 2. 10: e1041. doi:10.1371/journal.pone.0001041.
- Peckham H, Nichols J. (2005). An Integrated Approach to Reducing Mortality of North Pacific Loggerhead Turtles in Baja California SUR, Mexico Proceedings of the Second Western Pacific Sea Turtle Cooperative Research & Management Workshop.

- Peckham S, Maldonado D, Koch V, Mancini A, Gaos A, Tinker M, Nichols J. (2008). High mortality of loggerhead turtles due to bycatch, human consumption and strandings at Baja California Sur, Mexico, 2003 to 2007. *Endang. Sp. Res. Theme section : Fisheries bycatch, problems and solutions.*
- Potel K. (1974). *Tratado de anatomía patológica general veterinaria* “ Ed. Acribia.
- Pritchard P, Mortimer J. (1999). Taxonomy, external morphology y species identification. In Eckert, K, Bjorndal K, Abreu-Grobois A, Donnelly M, eds. *Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles*. IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication No. 4.
- Ramírez C. (1997). Efectos nocivos provocados por el uso de plaguicidas en la fauna silvestre de México y sus consecuencias ecológicas. Disponible en: <http://www.ambiente-ecologico.com/revist54/ramire54.htm>.
- Ruiz A, Torrent A, Oros J, Calabuig P, Déniz S. (2007). Patologías y causas de mortalidad en tortugas marinas. *Medio Ambiente Canarias, Revista 16 en línea de la Consejería de Política Territorial y Medio Ambiente.* disponible en: <http://www.gobcan.es/medioambiente/revista/16/225/can.pdf>.
- S. de Aluja A, Constantino F. (2002). *Técnicas de necropsia en animales domésticos*. Segunda edición. Editorial El manual moderno, México, D.F.
- Schettino D. (2007). Metodología de trabajo del Perito Forense Veterinario (Methodology of work of veterinary expert forense) *REDVET Rev.electrón. Vet.* Vol.
- Secretaría de Pesca (1987). *Características generales del sector pesquero en BCS*. Mimeo, La Paz.
- Seminoff J, Jones T, Resendiz A, Nichols J, Chaloupka M. (2003). Monitoring green turtles (*Chelonia mydas*) at a coastal foraging area in Baja California, Mexico: multiple indices describe population status. *Journal of Marine Biology Assoc. UK* 283:1355–136.
- Seminoff J, Jones T. (2006). Movements and activity ranges of green turtles (*Chelona mydas*) at a temperate coastal foraging area in the Gulf of California, Mexico. *Herpetology. Conservation and biology* 1.2:81-86.
- Seminoff J, Resendiz A, Nichols J. (2002) Diet of the east Pacific green turtle, *Chelonia mydas*, in the central Gulf of California, Mexico. *J Herpetol.* 36: 447-453.
- Seminoff J. (2004). MSTG global assessment of green turtles (*Chelonia mydas*) for the IUCN Red List. IUCN Species Survival Commission, April 2004. http://www.iucnmtsg.org/red_list/cm/MTSG_Chelonia_mydas_Assessment_April-2004.pdf.

- Senko J, Koch V, Megill W, Carthy R, Templeton R, Nichols J. (2010). Fine scale daily movements and habitat use of East Pacific green turtles at a shallow coastal lagoon in BCS, Mexico. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 391:92-100.
- Slauson D, Cooper B. (1990). *Mechanisms of disease: a textbook of comparative general pathology*. 2nd ed Williams & Wilkins.
- Stone B, Bylde D, Saliki J, Morton J. (2012). Morbillivirus infection in live stranded, injured, trapped and captive cetaceans in southeastern Queensland and northern New South Wales Australia. *J Wildl Dis.* Jan. 48(1): 47-55.
- Stroud R. (2008). *Forensic Pathology For The Wildlife Veterinarian*. Veterinary Medical Examiner USFWS Wildlife Forensics Lab Ashland, Oregon USA.
- Thome J, Baptistotte, C, Moreira L, Scalfoni J, Almeida, A, Rieth D, Barata P. (2007). Nesting biology and conservation of the leatherback sea turtle (*Dermochelys coriacea*) in the State of Espírito Santo, Brazil, 1988–1989 to 2003–2004. *Chelonian Conserv. Biol.* 6: 15–27.
- Thomson R. (1989). *Anatomía Patologica General Veterinaria*. Ed. Acribia.
- Torrent A, Déniz S, Ruiz A, Calabuig P, Sicilia J, Oros J. (2002). Esophageal diverticulum associated with *Aerococcus viridans* infection in a loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*). *J Wild Dis.* 38: 221–223.
- Torres de la Riva G, Kreuder C, Frances C, Gulland M, Langlois G, Heyning J, Rowles T, Mazet J. (2009). Association of an Unusual Marine Mammal Mortality event with *Pseudo-nitzschia spp.* blooms along the Southern California Coastline. *Journal of Wildlife Diseases*, 45(1), 2009, pp. 109–121.
- Trigo F. (1998). *Patología Sistémica Veterinaria*. McGraw Hill- Interamericana, México, D.F. 225p.
- Trigo F. Valero G. (2002). *Patología General Veterinaria*. Tercera edición, 2002. D.R. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Ciudad Universitaria, México 04510, D.F. 468p.
- Trigo T, Poumian A. (1986). *Patología General Veterinaria*. UNAM.
- Vásquez Fanego H. (2003). *Investigación medico legal de la muerte: Tanatología Forense* Ed. Astrea, B.A.
- Wobeser (1996). Forensic (medico-legal) necropsy of wildlife. *Journal of wildlife disease* 32(2) pp240-249.
- Work T, Balazs G, Wolcott M, Morris M. (2004). Bacteraemia in Free-ranging Hawaiian green turtles *Chelonia mydas* with fibropapillomatosis. *Diseases of aquatic organisms* 53:41-46.

- Work T, Balazs G. (2010). Pathology and distribution of sea turtles landed as bycatch in the Hawaii-based north pacific pelagic long line fishery *J. of Wildl. Dis.* 46. 2: 422-432.
- Wyneken J. (2004) *La Anatomía de las Tortugas Marinas*. U.S. Department of Commerce NOAA. Technical Memorandum NMFS-SEFSC-470. Miami, NMFS. 172p.
- Zaytsev O, Cervantes-Duarte R, Montante O, Gallegos-Garcia A. (2003) Coastal upwelling activity on the Pacific shelf of the Baja California Peninsula, *J. of Ocean.* 59: 489-502.