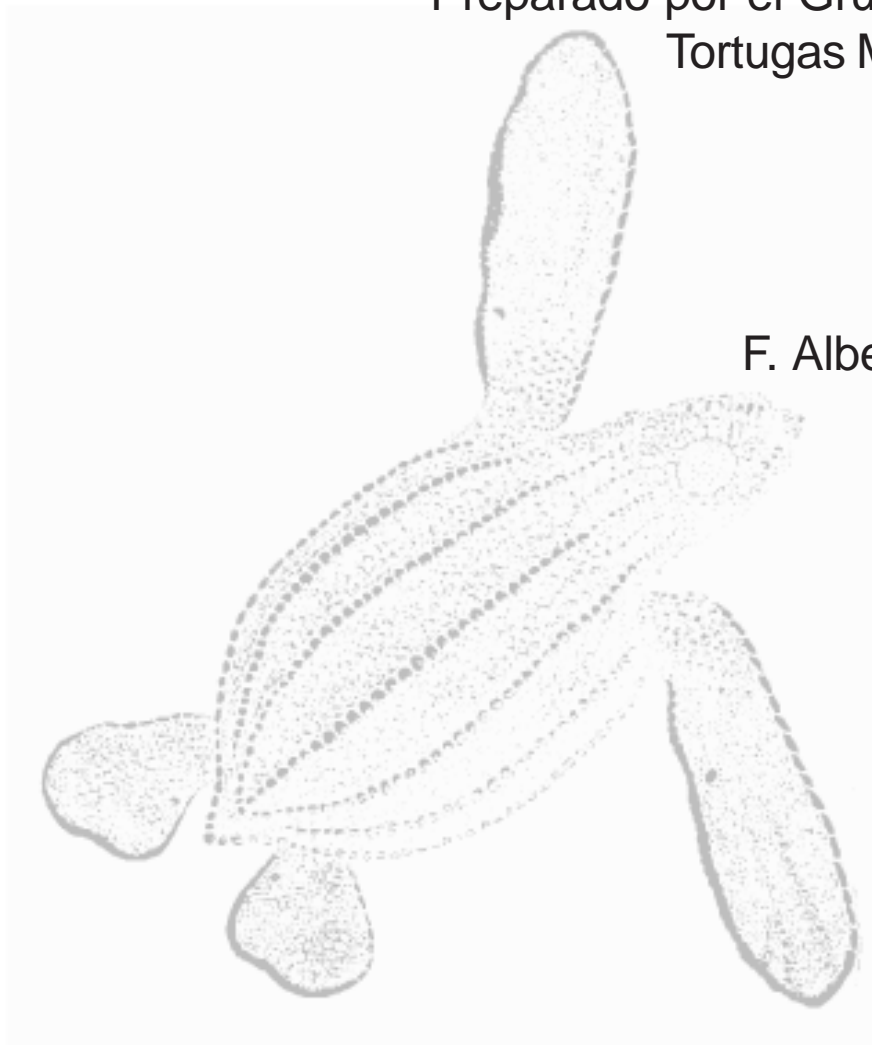


Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas

Preparado por el Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/CSE

Editado por
Karen L. Eckert
Karen A. Bjorndal
F. Alberto Abreu-Grobois
M. Donnelly

Traducido al español por
Raquel Briseño-Dueñas
F. Alberto Abreu-Grobois
con la colaboración de
Laura Sarti Martínez
Ana Barragán Rocha
Juan Carlos Cantú
Ma. del Carmen Jiménez
Jaime Peña



WWF



CMS



SSC



NOAA



MTSG



CMC

El desarrollo y publicación de *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas* fué posible gracias al apoyo generoso de Center for Marine Conservation, Convention on Migratory Species, U.S. National Marine Fisheries Service y el Worldwide Fund for Nature.

©2000 SSC/IUCN Marine Turtle Specialist Group

La reproducción de esta publicación para fines educativos u otros propósitos no comerciales está autorizado sin permiso por el titular del derecho de autor, mientras que la fuente sea citada y que el titular reciba una copia del material reproducido.

La reproducción para fines comerciales está prohibida sin previa autorización del titular del derecho de autor.

ISBN 2-8317-0580-0

Impreso por Consolidated Graphic Communications, Blanchard, Pennsylvania USA

Material artístico para la cubierta, por Tom McFarland- Cría de tortuga laúd, *Dermochelys coriacea*

La cita correcta para esta publicación es la siguiente: Eckert, K. L., K. A. Bjorndal, F. A. Abreu-Grobois y M. Donnelly (Editores). 2000 (Traducción al español). *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas*. Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/CSE Publicación No. 4.

Para adquirir copias de esta publicación, por favor solicitarlas a:

Marydele Donnelly, MTSG Program Officer
IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group
1725 De Sales Street NW #600
Washington, DC 20036 USA
Tel: +1 (202) 857-1684
Fax: +1 (202) 872-0619
email: mdonnelly@dccmc.org

Presentación

En 1995 el Grupo Especialista en Tortugas Marinas (MTSG por sus siglas en inglés) publicó una *Estrategia Mundial para la Conservación de Tortugas Marinas*. En ella, se definen lineamientos sobre los cuales se deben encauzar los esfuerzos para recuperar y conservar a poblaciones de tortugas marinas reducidas drásticamente o en proceso de declinación, en todo el ámbito de su distribución global. Como elementos singulares en la estructura funcional de ecosistemas complejos, las tortugas marinas sostienen una relación importante con hábitats costeros y oceánicos. Por ejemplo, contribuyen a la salud y el mantenimiento de los arrecifes coralinos, praderas de pastos marinos, estuarios y playas arenosas. La *Estrategia* respalda programas integrales orientados a prevenir la extinción de las especies y promueve la recuperación y el sostenimiento de poblaciones saludables de tortugas marinas que realizan eficientemente sus funciones ecológicas.

Las tortugas marinas y los humanos han estado vinculados desde los tiempos en que el hombre se estableció en las costas e inició sus recorridos por los océanos. Por innumerables generaciones, las comunidades costeras han dependido de las tortugas marinas y sus huevos para la obtención de proteínas y otros productos. En muchas regiones, esta práctica aún continúa. Sin embargo, durante el transcurso del siglo XX, el incremento en la comercialización intensiva de los productos de tortuga marina ha diezmando muchas poblaciones. Debido al complejo ciclo de vida de las tortugas marinas -en este proceso los individuos migran entre varios hábitats que pueden incluir la travesía de toda una cuenca oceánica- para su conservación, se requiere de una planeación del manejo con un enfoque de cooperación internacional, que reconozca la interconexión entre hábitats, de poblaciones de tortugas marinas y de poblaciones humanas, en tanto que se aplique el mejor conocimiento científico disponible.

A la fecha, nuestro éxito para llevar a cabo cualquiera de ambas tareas ha sido mínimo. Las especies de tortugas marinas están catalogadas como “En peligro crítico”, “En peligro” o “Vulnerable” por la Unión Mundial para la Naturaleza (UICN). La mayoría de las poblaciones han disminuido inexorablemente como secuela de las prácticas de extracción no sustentables para el aprovechamiento de su carne, concha, aceite, pieles y huevos. Decenas de miles

de tortugas mueren cada año al ser capturadas accidentalmente en artes de pesca activas o abandonadas. Asimismo, muchas áreas de anidación y alimentación han quedado inhabilitadas o presentan un franco deterioro, por los derrames de petróleo, acumulación de desechos químicos, plásticos no-degradables y otros desechos antropogénicos; aunado a los desarrollos costeros de alto impacto y, al incremento del turismo y la diversificación de estas actividades tanto en la zona costera como en la oceánica.

Para reforzar la supervivencia de las tortugas marinas, es indispensable que en todos los países localizados en las áreas de distribución de estas especies, el personal que realice los trabajos de conservación en el campo, recurra a lineamientos estandarizados y a criterios apropiados. Las técnicas de conservación y manejo estandarizadas promueven la recopilación de datos comparables y hacen posible el compartir los resultados entre los países y regiones.

En tanto que este manual tiene el propósito de cubrir la necesidad de lineamientos y criterios normalizados, reconoce a la vez, que un sector creciente de interesados en el trabajo de campo y tomadores de decisiones requieren orientación sobre las siguientes interrogantes: ¿cuándo y por qué seleccionar una opción de manejo entre las disponibles? y ¿cómo instrumentar efectivamente la opción seleccionada y evaluar los logros obtenidos?

El Grupo Especialista en Tortugas Marinas de la UICN considera que un manejo apropiado no puede realizarse sin el soporte de una investigación de alta calidad enfocada, en la medida de lo posible, hacia temáticas críticas para la conservación. Nuestra intención es que este manual sea de provecho a los interesados en la protección y manejo de las tortugas marinas de todo el mundo. Reconociendo que los programas con mayores logros, combinan las técnicas de censo tradicionales con el manejo de bases de datos electrónicas y el análisis genético con telemetría satelital; tecnologías que apenas podrían ser vislumbradas por los conservacionistas de la generación anterior, dedicamos este manual a los conductores del manejo y conservación de los recursos naturales del siglo XXI, quienes enfrentarán los cada vez más complejos retos de una administración apropiada. Esperamos que encuentren en este manual un entrenamiento y asesoría útiles.

Karen L. Eckert
Karen A. Bjorndal
F. Alberto Abreu Grobois
Marydele Donnelly
Editores

Agradecimientos

Congruente con el espíritu y estructura del Grupo Especialista en Tortugas Marinas de la Unión Mundial para la Naturaleza (MTSG/IUCN, por sus siglas en inglés), este manual es el resultado de los esfuerzos de colaboración de científicos y tomadores de decisiones situados alrededor del mundo. Los Editores estamos profundamente agradecidos por el apoyo y estímulo brindado por nuestros colegas así como por su buena disposición en compartir datos, experiencias y sabiduría. Tenemos una especial deuda con los autores y coautores - más de 60- que hicieron posible este manual, y con todos aquellos especialistas que participaron en el proceso de revisión crítica.

Las siguientes personas, con su revisión experta, contribuyeron sustancialmente a la obtención de la calidad final del manual: Ana Barragán (Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México); Anna Bass (University of Florida, USA); Miriam Benabib (Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México); Alan Bolten (University of Florida, USA); Annette Broderick (University of Wales Swansea, UK); Deborah Crouse (Fish and Wildlife Service, USA); Andreas Demetropoulos (Ministry of Agriculture and Natural Resources, Cyprus); Peter Dutton (National Marine Fisheries Service, USA); Scott Eckert (Hubbs-Sea World Research Institute, USA); Nat Frazer (University of Florida, USA); Jack Frazier (CINVESTAV, México); Marc Girondot (Université Paris 7-Denis Diderot, France); Brendan Godley (University of Wales Swansea, U.K.); Hedelvy Guada (WIDECAS, Venezuela); Julia Horrocks (University of the West Indies, Barbados); George Hughes (KwaZulu-Natal Nature Conservation Service, South Africa); Naoki Kamezaki (Sea Turtle Association of Japan); Rhema Kerr (Hope Zoological Gardens, Jamaica); Jeffrey Miller (Queensland Department of Environment and Heritage, Australia); Jeanne Mortimer (Conservation and National Parks, Republic of the Seychelles); Wallace J. Nichols (University of Arizona, USA); Joel Palma (World Wildlife

Fund-Philippines); Claude Pieau (Institut Jacques Monod, Paris, France); Henk Reichart (STINASU, Suriname); Rodney Salm (IUCN, Eastern Africa Regional Office); Laura Sarti M. (Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México); Barbara Schroeder (National Marine Fisheries Service, USA); Jeffrey Sybesma (Faculty of Law, University of the Netherlands Antilles); Robert van Dam (Institute for Systematics and Population Biology, The Netherlands); Alessandra Vanzella-Khoury (United Nations Environment Programme, Jamaica); and Jeanette Wyneken (Florida Atlantic University, USA).

También, hacemos extensivo nuestro profundo agradecimiento a Tom McFarland («Tom's Turtles») por su contribución artística. Su esmero por la precisión garantiza a los lectores de este manual un acceso a ilustraciones claras y exactas. Sus preciosos dibujos mejoran también la perspectiva de supervivencia de las tortugas marinas de una manera real, ya que una acción efectiva de conservación depende de datos verídicos, incluyendo una correcta identificación de las especies.

El manual no podría haberse realizado sin el apoyo financiero del Centro para la Conservación Marina (CMC), la Convención para Especies Migratorias (CMS), el Fondo Mundial para la Naturaleza (WWF), el Servicio Nacional de Pesquerías Marinas de EUA (NMFS) y la Unidad de Investigación Cooperativa de Pesquería y Vida Silvestre de Florida (USGS, Department of the Interior, Research Work Order 172).

Deborah White Smith diseñó el estilo del manual y transformó docenas de capítulos individuales a un formato coherente. La traducción al español estuvo a cargo de Raquel Briseño Dueñas y F. Alberto Abreu-Grobois, con la participación de Ana Barragán, Juan Carlos Cantú, María del Carmen Jiménez Quiroz, Jaime Peña y Laura Sarti.

En suma, el proyecto resultó beneficiado con los talentos de más de 100 personas de todo el mundo.

¡A todos, nuestro más sincero agradecimiento!

Karen L. Eckert
Karen A. Bjorndal
F. Alberto Abreu Grobois
Marydele Donnelly
Editores

Tabla de Contenido

1. Generalidades

Introducción a la Evolución, Historias de Vida y Biología de las Tortugas Marinas	3
<i>A. B. Meylan y P. A. Meylan</i>	
Diseño de un Programa de Conservación	6
<i>K. L. Eckert</i>	
Prioridades para los Estudios sobre la Biología de la Reproducción y de la Anidación	9
<i>J. I. Richardson</i>	
Prioridades para la Investigación en Hábitats de Alimentación	13
<i>K. A. Bjorndal</i>	
Conservación Basada en la Comunidad	16
<i>J. G. Frazier</i>	

2. Taxonomía e Identificación de Especies

Taxonomía, Morfología Externa e Identificación de las Especies	23
<i>P. C. H. Pritchard y J.A. Mortimer</i>	

3. Evaluación de Poblaciones y de Hábitats

Estudios de Hábitat	45
<i>C. E. Diez y J. A. Ottenwalder</i>	
Prospecciones Poblacionales (Terrestres y Aéreas) en Playas de Anidación	51
<i>B. Schroeder y S. Murphy</i>	
Estudios de Poblaciones en Playas de Arribadas	64
<i>R. A. Valverde y C. E. Gates</i>	
Estudios en Hábitats de Alimentación: Captura y Manejo de Tortugas	70
<i>L. M. Ehrhart y L. H. Ogren</i>	
Estudios Aéreos en Hábitats de Alimentación	75
<i>T. A. Henwood y S. P. Epperly</i>	
Estimación del Tamaño de la Población	78
<i>T. Gerrodette y B. L. Taylor</i>	
Identificación de Poblaciones	83
<i>N. FitzSimmons, C. Moritz y B. W. Bowen</i>	

4. Metodologías y Procedimientos para la Colecta de Datos

Definición del Inicio: La Importancia del Diseño Experimental	95
<i>J. D. Congdon y A. E. Dunham</i>	
Sistemas de Adquisición de Datos para el Seguimiento del Comportamiento y la Fisiología de las Tortugas Marinas	101
<i>S. A. Eckert</i>	
Bases de Datos	108
<i>R. Briseño-Dueñas y F. A. Abreu-Grobois</i>	
Factores a Considerar en el Mercado de Tortugas Marinas	116
<i>G. H. Balazs</i>	
Técnicas para la Medición de Tortugas Marinas	126
<i>A. B. Bolten</i>	
Periodicidad en la Anidación y el Comportamiento entre Anidaciones	132
<i>J. Alvarado y T. M. Murphy</i>	
Ciclos Reproductivos y Endocrinología	137
<i>D. Wm. Owens</i>	
Determinación del Tamaño de la Nidada y el Éxito de la Eclosión	143
<i>J. D. Miller</i>	
Determinación del Sexo en Crías	150
<i>H. Merchant Larios</i>	
Estimación de la Proporción Sexual en Playas de Anidación	156
<i>M. Godfrey y N. Mrosovsky</i>	
Determinación del Sexo de Tortugas Marinas en Hábitats de Alimentación	160
<i>T. Wibbels</i>	
Muestreo y Análisis de los Componentes de la Dieta	165
<i>G. A. Forbes</i>	
Medición del Crecimiento en Tortugas Marinas	171
<i>R. P. van Dam</i>	
Redes de Recuperación y Monitoreo de Tortugas Varadas	174
<i>D. J. Shaver and W. G. Teas</i>	
Entrevistas y Encuestas en Mercados	178
<i>C. Tambiah</i>	

5. Reducción de Amenazas

Reducción de las Amenazas a las Tortugas	187
<i>M. A. G. Marcovaldi y C. A. Thomé</i>	
Reducción de las Amenazas a los Huevos y las Crías: Protección <i>In Situ</i>	192
<i>R. H. Boulon, Jr.</i>	

Reducción de las Amenazas a los Huevos y a las Crías: Los Viveros	199
<i>J. A. Mortimer</i>	
Reducción de las Amenazas al Hábitat de Anidación	204
<i>B. E. Witherington</i>	
Reducción de las Amenazas a los Hábitats de Alimentación	211
<i>J. Gibson y G. Smith</i>	
Reducción de la Captura Incidental en Pesquerías	217
<i>C. A. Oravetz</i>	
6. Crianza, Cuidado Veterinario y Necropsia	
La Crianza y Reproducción en Cautiverio de Tortugas Marinas: Una Evaluación de su Uso como Estrategia de Conservación	225
<i>J. P. Ross</i>	
Rehabilitación de Tortugas Marinas	232
<i>M. Walsh</i>	
Enfermedades Infecciosas en Tortugas Marinas	239
<i>L. H. Herbst</i>	
Toma de Muestras de Tejidos y Técnicas para la Necropsia	246
<i>E. R. Jacobson</i>	
7. Legislación e Instrumentación	
Grupos de Interés de las Bases y Legislación Nacional	252
<i>H. A. Reichart</i>	
Colaboración Regional	256
<i>R. B. Trono y R. V. Salm</i>	
Tratados Internacionales de Conservación	260
<i>D. Hykle</i>	
Aspectos Forenses	265
<i>A. A. Colbert, C. M. Woodley, G. T. Seaborn, M. K. Moore and S. B. Galloway</i>	

Muestreo y Análisis de los Componentes de la Dieta

Gregory A. Forbes

Biological Sciences Department, Grand Rapids Community College, 143 Bostwick Ave NE, Grand Rapids, Michigan 49503-3295 USA; Tel: +1 (616) 234-3985; Fax: +1 (616) 234-4005; email: gforbes@post.grcc.cc.mi.us

La habilidad para coleccionar muestras de la dieta de las tortugas marinas permite realizar estudios de ecología alimenticia y fisiología de estos animales. Los datos provenientes de estos estudios pueden ayudar a comprender cuestiones relacionadas con la utilización del hábitat, fisiología digestiva, energética, contaminantes presentes en la dieta, ecología trófica, endoparásitos y la salud relativa de una tortuga en particular. Adicionalmente, los conocimientos sobre la variedad de la dieta de una población de tortugas permitirán que ciertos esfuerzos de conservación sean dirigidos a proteger las áreas que proveen dichos alimentos.

Los hábitos alimenticios de las tortugas silvestres pueden ser determinados por una variedad de métodos, pero la técnica preferida es el lavado o enjuague estomacal. Esta técnica, comparativamente simple y confiable, ha sido usada exitosamente para muestrear los contenidos estomacales de varios grupos de vertebrados sin perjuicio al animal. Un sistema de lavado estomacal desarrollado para tortugas marinas (Forbes y Limpus, 1993) permite la recuperación rápida de grandes volúmenes de alimento no digerido del esófago y de la región anterior del estómago. La técnica que se describe a continuación ha sido ampliamente utilizada con éxito en tortugas verdes, careyes, kikilas, golfinas y caguamas, con tallas de largo curvo de caparazón (LCC) en un intervalo de aproximadamente 25 a 115 cm. La técnica debería ser igualmente exitosa en tortugas laúd si éstas pudieran ser levantadas y manipuladas como se requiere para llevar al cabo el procedimiento.

Cabe mencionar que otros procedimientos (diferentes al lavado gástrico) también ofrecen potencial en la investigación, sin embargo presentan limitantes. Se deberá de tener cuidado en la interpretación de los resultados de las dietas a partir

de muestras provenientes de tortugas muertas o moribundas ya que podrían no reflejar la dieta de individuos saludables. La dieta puede ser también inferida a partir de observaciones de tortugas alimentándose en condiciones naturales, sin embargo, la dificultad que implica acercarse y observar tortugas marinas de vida libre bajo el agua impide tales estudios en la mayoría de las circunstancias. La colecta de fragmentos de comida de la boca de las tortugas capturadas en el mar puede proveer conocimientos de su régimen alimenticio, pero estas muestras pueden representar sólo aquellos alimentos que son difíciles de deglutir (p. ej., hidrozoarios del género *Physalia* spp.) o que son atrapados por varias estructuras bucales tales como las coanas nasales. El sesgo del muestreo inherente a esta técnica sería difícil de eliminar.

Es posible asimismo obtener datos de los hábitos alimenticios de las tortugas marinas en vida libre realizando prospecciones directas bajo el agua, o del examen de excremento. Las inspecciones bajo el agua que pretenden encontrar y evaluar la evidencia de la actividad alimenticia de las tortugas requieren que el investigador localice evidencia física de cortaduras hechas por las tortugas, tales como áreas de pastoreo en pastos marinos o marcas de mordidas en esponjas y gorgonáceos. La confiabilidad de esta técnica depende de la habilidad del observador para localizar e identificar con precisión las marcas de mordidas sobre organismos benthicos sésiles. La colecta de muestras fecales es problemática y demanda tiempo. Además, los datos cuantitativos disponibles a partir de análisis fecales son limitados por la digestibilidad diferencial de varios componentes dietéticos que afectan su representación en el excremento cuando es medido por su volumen o peso.

El examen de los contenidos del tracto digestivo

de tortugas saludables capturadas en el medio silvestre que luego son sacrificadas, es una de las mejores formas de determinar la dieta. Sin embargo, las implicaciones ecológicas y éticas de sacrificar tortugas generalmente descartan esta técnica a menos que las tortugas sean tomadas de capturas incidentales en la pesca.

Técnica de Lavado Gástrico

Las tortugas son puestas sobre su caparazón a una altura que permita que la cabeza quede más abajo que el domo de su caparazón, permitiendo el libre acceso a la cabeza del animal. El caparazón deberá de estar bien sujeto para prevenir que el animal se balancee. Una pequeña cámara de neumático de automóvil colocada plana sobre una carretilla, provee una excelente superficie para apoyar, sujetar y transportar al animal. Para un óptimo drenaje, la parte posterior de la tortuga deberá estar elevada ligeramente más alto que la cabeza. No es común que una tortuga forcejee una vez que ha sido asegurada de esta manera. Las tortugas pequeñas pueden ser manipuladas sobre las piernas del investigador. Gyuris y Limpus (1986) han descrito un método para sujetar las aletas delanteras de tortugas grandes.

La boca se abre sujetando la cabeza con firmeza e insertando suavemente una delgada barra separadora de acero inoxidable (regleta) entre el maxilar y la mandíbula. La barra separadora se puede hacer fácilmente de un pedazo plano de acero, pero las orillas deberán de ser redondeadas y la superficie pulida para reducir los posibles daños que pueda sufrir la cavidad bucal (Tabla 1). Aunque las regletas son los instrumentos más seguros y efectivos, algunos utensilios comunes tales como un destornillador ancho y plano o el mango de un escalpelo de acero pueden ser modificados para tener una regleta temporal, sin embargo, se deberá de tener cuidado al usarlos para prevenir daños a la tortuga.

La regleta se inserta verticalmente entre el maxilar

y la mandíbula, y suavemente se presiona hacia abajo hasta que la barra pueda sentirse pegando contra el paladar. En este momento, el extremo libre de la barra deberá ser girada hacia abajo (hacia el cráneo). Este movimiento deberá de ser hecho suavemente ya que no se trata de forzar la boca sino de irritar a la tortuga, lo que ocasionará que abra la boca. Forzar a la tortuga a abrir la boca provocará daños a las mandíbulas, y puede perjudicar la habilidad del animal para alimentarse. En la medida que la tortuga abre la boca, la barra debe de ser deslizada rápidamente a través de la cavidad bucal hasta que el extremo sale por el otro lado; en este momento se sujeta firmemente de ambos extremos hasta que una mordaza o abreboca pueda ser colocada en su lugar (Figura 1). Se deberá de tener extremo cuidado para evitar golpear las coanas de la nariz mientras la barra separadora pasa a través de la boca.

Se inserta una mordaza canina o abreboca estándar de uso veterinario dentro de la boca de la tortuga mientras que un asistente sostiene la barra (Figura 1). La mordaza deberá de insertarse en el extremo anterior de la boca y entonces expandirse. Se deberá revisar que la mordaza se encuentre estable antes de remover la barra. La mordaza debe de expandirse sólo hasta el punto en que se encuentre segura, y no hasta la máxima apertura de la boca, ya que de este modo se desgarraría el suave tejido dérmico en la coyuntura de la mandíbula y el maxilar. Si la tortuga abriera más la boca, el resorte de la mordaza se expande automáticamente.

Si no se dispone de una mordaza veterinaria, puede usarse un tubo de cloruro de polivinilo (PVC) como mordaza tubular para tortugas pequeñas y medianas. El tubo de PVC de pared gruesa (4.0 mm) se corta en segmentos de 1.5 cm de longitud. El diámetro interno (DI) del tubo será determinado por el tamaño de la tortuga. Tortugas mayores de 65 cm de LCC requieren de un DI de al menos 4.5 cm, tortugas de 40-64 cm de LCC un DI de 3.5 cm y tortugas menores a 40 cm de LCC un DI de 2.0 cm. Los animales extremadamente grandes y las caguamas pueden requerir de una mordaza tubular hecha de tubo de acero en lugar de PVC. Las mordazas de acero deberán de tener una cubierta suave, como cámara de llanta, para evitar que el tubo resbale y ocasione algún daño a la boca. La mordaza tubular de PVC o

Tabla 1. Dimensiones recomendadas de regletas y tubos recolectores para tres clases de tallas de tortugas marinas. LCC es largo curvo del caparazón; DI es el diámetro interno.

LCC (cm)	Regleta	Tubo Recolector
25-50	2.0 mm x 12 mm x 15 cm	12 mm ID x 1.0 m
50-60	2.5 mm x 20 mm x 20 cm	16 mm ID x 1.5 m
>60	2.5 mm x 25 mm x 20 cm	20 mm ID x 1.5 m

acero deberá de ser colocada en línea con el esófago. Es más difícil hacer que la tortuga abra la boca suficientemente para colocar una mordaza tubular que una mordaza veterinaria ajustable.

Una vez que la mordaza está ajustada, se insertan dos tubos de plástico transparentes dentro del esófago, uno a cada lado de la mordaza o abreboca. El primer tubo insertado es el tubo colector que lleva el contenido estomacal desplazado al interior de una bolsa colectora de malla. El segundo tubo es el tubo de inyección de agua, que lleva el agua de lavado hacia del estómago de la tortuga. El tubo recolector deberá tener una pared con grosor de 2.0 mm. Una pared más delgada podría ocasionar que el tubo se colapse mientras que uno más grueso no será tan flexible. Deberá usarse el mayor diámetro de tubo posible, ya que piezas de comida voluminosas pueden obstruir el tubo colector (Tabla 1). El tubo de inyección de agua deberá ser de 5.0 mm de DI con una pared de 1.0 -1.5 mm y 3 m de longitud. Tortugas menores de 40 cm de LCC requieren tubos de 3.5-4.0 mm DI. Los extremos de todos los tubos deben ser lijados o fundidos con una flama de manera que tengan bordes lisos y redondeados.

Se ajusta al final del tubo una bolsa de malla para coleccionar la muestra. La bolsa puede ser hecha con malla de mosquitero de fibra de vidrio o un material similar con malla pequeña. La parte superior de la bolsa colectora es equipada con jaretas que permiten que la bolsa sea atada fuertemente sobre el tubo. Para prevenir que la bolsa resbale del tubo, deben colocarse varias abrazaderas de plástico o metal permanentemente afuera del tubo a 2-4 cm del final. Se deben grabar marcas sobre ambos tubos a intervalos de 10 cm desde el extremo que se inserta, para monitorear la longitud del tubo insertado hacia dentro del esófago.

Antes de insertar el tubo colector, una persona deberá agarrar firmemente la cabeza y extender el cuello completamente mientras se pone la cabeza en línea con la línea media del plastrón y lo nivela con la parte superficial del mismo. Esta posición deberá de mantenerse durante el lavado para evitar hacerle daño al animal.

La punta del tubo recolector deberá ser sumergida en un lubricante tal como aceite vegetal y entonces introducirse cuidadosamente en el extremo anterior del esófago. Si la glotis impide la entrada del tubo, puede oprimirse suavemente con la barra separadora. Es frecuente sentir la resistencia de un grupo de músculos cercanos a la parte anterior del esófago una



Figura 1. Posición de la cabeza, regleta y mordaza en una tortuga verde.



Figura 2. Posición lateral del tubo de inyección (izquierda) y tubo recolector en una tortuga verde *Chelonia mydas*. Nótese la alineación de la cabeza con el plastrón.

vez que el tubo ha pasado la glotis. Si el tubo dentro del esófago no es manejado cuidadosamente, algunos tejidos dérmicos delicados se pueden lesionar, provocando ligeras hemorragias evidenciadas por sangre drenada dentro del tubo. Dado que las tortugas adultas pueden tener tráqueas grandes y parcialmente enroscadas que impidan la inserción del tubo, es posible que se requiera la manipulación externa de la tráquea para facilitar el paso del tubo.

Una vez que el tubo recolector ha pasado el grupo de músculos del esófago, el tubo inyector, lubricado, se hará resbalar lateralmente a lo largo del tubo recolector (Figura 2). La posición lateral de este tubo reducirá el riesgo de entrada a la tráquea la cual ha sido sellada por el tubo recolector. Ambos tubos pasarán juntos hacia abajo del esófago hasta sentir la resistencia del bolo alimenticio o de la unión del esófago y el estómago. Esta unión ocurre en posición ventral al corazón. En tortugas que estén alimentándose, normalmente se encontrará un bolo alimenticio antes de dicha unión. La distancia de esta unión puede ser determinada antes de la inserción del tubo, tendiendo el tubo a lo largo de la línea media del plastrón y midiendo desde la unión de los escudos humeral y pectoral a la punta de la boca. El procedimiento de lavado estomacal no debería empezar a una profundidad mayor que esta distancia.

Se hace pasar agua dulce o de mar a través del tubo inyector. La válvula del sistema de salida de agua deberá estar cerca para que pueda ser cerrada rápidamente. Si la salida de agua es a través de un sistema doméstico presurizado, la presión óptima de salida al tubo inyector es de 10-25 psi (9 litros/min.). La presión de salida de agua para tortugas <40 cm de LCC deberá encontrarse en los valores más bajos de este intervalo. La presión de salida puede ser fácilmente determinada colocando un manómetro barato instalado justo por encima de la válvula de salida. Si no se dispone de un sistema presurizado, se han usado exitosamente bombas de agua operadas manualmente. Los volúmenes de agua o la presión de salida no deberán de ser mayores a los que pueden ser expelidos fácilmente a través del tubo colector ya que el exceso de presión de agua dentro de la tortuga podría causarle serios daños o la muerte.

Conforme el agua entra a la tortuga, el fluido de regreso empezará a pasar a través del tubo recolector en pocos segundos. El volumen del líquido que sale deberá de ser igual al líquido que entra. Si el agua no empieza a salir, el tubo recolector podría estar obstruido

por lo que deberá retirarse ligeramente para permitir la libre entrada de agua. Si durante el lavado el agua no sale o la tasa de flujo es baja durante más de 15-20 seg., es necesario detener la entrada de agua y reinsertar ambos tubos. Una vez que el flujo de agua que regresa es adecuado, se verán partículas de alimento viajando a través del tubo. Si no se observan partículas o para incrementar la cantidad, mientras se sujeta el tubo de inyección en su lugar, debe moverse el tubo recolector firmemente contra el bolo y retirarse varios centímetros para permitir que las partículas removidas entren al tubo. Si el alimento no entra al tubo, no debe incrementarse la fuerza de empuje del tubo, ya que lo más probable es que éste se encuentre tocando tejido suave en lugar del bolo. En ese caso, el tubo deberá sacarse varios centímetros, girarlo suavemente y reinsertarlo hasta que partículas alimenticias empiecen a salir.

Aunque la entrada a la tráquea estará sellada por el tubo recolector, el lavado en sí no deberá exceder de 3 minutos para reducir la oportunidad de que la tortuga inhale. Una vez que ha sido colectada la cantidad de muestra deseada, se cierra el flujo de agua al tubo inyector y se deja que drene agua y alimento hasta que todo el flujo cese. La tortuga puede ser levantada ligeramente de la parte posterior para ayudar al drenado. Es importante drenar completamente antes de remover el tubo recolector ya que las tortugas podrían respirar una vez que el tubo es removido y las vías aéreas deberán de estar libres de agua estancada para prevenir su aspiración. El tubo inyector deberá de ser removido antes que el tubo colector, la mordaza deberá ser removida rápidamente y la cabeza elevada ligeramente para que cualquier remanente de agua pase la glotis y regrese dentro del esófago. La cabeza deberá mantenerse en esta posición hasta la primera respiración, la cual deberá de ser casi inmediatamente. Cuando esto ocurre, el procedimiento ha terminado.

Una adecuada técnica de lavado puede producir hasta 1 litro de muestra de alimento de tortugas verdes adultas, saludables y alimentándose activamente, y 500 ml de subadultos. Las carey subadultas podrían rendir hasta 200 ml. Las muestras del lavado deberán de ser preservadas en una solución amortiguada al 6.5% de formol/agua de mar. Soluciones más fuertes de formol decolorarán la mayoría de la materia vegetal y haría más difícil la determinación de la materia animal.

A muchos individuos se les ha hecho lavado gástrico más de tres veces sin efectos nocivos conocidos. Las tortugas han sido capturadas desde

un día posterior al procedimiento hasta 3 años después y aparecen estar saludables y alimentándose. Por medio de un examen laparoscópico practicado inmediatamente después de un lavado, no se ha detectado ninguna hinchazón o daño a los intestinos. La técnica completa puede ser realizada en menos de 10 minutos y es raro no tener éxito.

Este sistema ha probado ser un método rápido, seguro y barato, por el cual se pueden obtener en el campo muestras de contenidos estomacales de las tortugas marinas, sin dañar al animal. La técnica se aprende fácilmente y en poco tiempo se puede tener pericia para realizarla. Sin embargo se deberá de tener cuidado en la interpretación del significado de la muestra obtenida. El contenido de la muestra está en función del tamaño del tubo colector usado, el tamaño de los componentes de la dieta en la parte anterior del tracto digestivo, la duración del lavado, la distancia o profundidad a la cual el tubo digestivo fue muestreado, y la experiencia de la persona que realizó el lavado.

Análisis de los Componentes de la Dieta

Una vez que la muestra ha sido colectada por lavado gástrico o cualquier otra técnica, el siguiente paso es analizar los contenidos. Se puede desear simplemente una lista cualitativa de los componentes presentes en la muestra de la dieta, o requerir un análisis cuantitativo detallado de la composición de la dieta y la contribución relativa de cada componente. Una colección de referencia de los componentes potenciales de la dieta deberá establecerse, preservando las muestras en una solución amortiguada al 6.5% de formol/agua de mar en viales de plástico transparente almacenados en la oscuridad para reducir la decoloración.

Los dos métodos más comunes de cuantificar la contribución de cada componente a la dieta son determinando su peso o su volumen relativo al total de la muestra. Pretender cuantificar la importancia de los componentes de la dieta por su contribución gravimétrica o peso tiene varias desventajas. La importancia de los componentes dietéticos con alto contenido de cenizas y por lo tanto con gran peso relativo (p. ej., algas calcáreas, espículas de esponjas, exoesqueletos) será sobrestimada en un análisis gravimétrico, mientras que aquellos con bajos contenidos de cenizas serán subestimados.

Si se emplea el método gravimétrico, los

componentes de la dieta pueden ser liofilizados o secados en un horno hasta obtener un peso constante. Si se hacen análisis bioquímicos de los contenidos, es mejor desecarlos por congelación que secarlos al horno, ya que este último puede dañar los componentes más inestables. Si no es posible congelarlas, las muestras deberán ser secadas a 60°C para evitar el daño por calentamiento. Después del secado, los componentes de la dieta deberán ser mantenidos en una cámara de desecación con gel de sílica para prevenir su rehidratación antes del pesado.

El volumen relativo de cada componente dietético puede ser determinado con dos técnicas. Una técnica es el desplazamiento de agua. Cada componente es puesto en un cilindro graduado o probeta conteniendo agua, y el incremento en el volumen registrado en el cilindro es el volumen del componente. Para una precisión razonable, el tamaño del cilindro graduado deberá de ser apropiado para el volumen de la muestra; esto es, si la muestra desplaza 1 ml, no deberá ser medida en un cilindro de 100 ml.

La segunda técnica usa el principio de microestereología (Weibel *et al.*, 1966; Schaefer, 1970) y una técnica de cuantificación (Forbes, 1996). Para este enfoque, cada muestra de lavado es vaciada dentro de una bandeja grande y mezclada hasta quedar visiblemente homogeneizada. Se toma una submuestra que cubra el fondo de una caja de Petri y se esparce en la caja con una profundidad a la cual la muestra pueda iluminarse de manera suficiente por transiluminación. La muestra es entonces observada bajo un microscopio de disección con un lente gran angular ajustado a un ocular cuadrulado Weibel (Bunton Instrument Company, 9607 Doctor Perry Road, Suite 99, Ijamsville, Maryland 21754 EUA) que consta de 21 líneas rectas colocadas en 3 filas de 7 líneas. Aunque el patrón de Weibel es la cuadrícula de muestreo más eficiente, se puede emplear una variedad de patrones de rejillas. Con iluminación de fondo trasmitida a través de un filtro azul que mejora la definición celular, se pueden observar especies de algas filamentosas.

La ubicación del campo de muestreo deberá ser marcado con un marcador permanente y numerado secuencialmente a cada 4 cm a lo largo de la circunferencia de la caja de Petri. La caja de Petri es girada dentro de un templete montado en la platina hasta que las líneas del campo de muestreo se encuentren alineadas con una línea indicadora sobre el templete de la platina. El modelo es hecho cortando

un orificio (de diámetro igual a la caja de Petri) en una pieza de cartón o plástico. La contribución de cada componente dietético al volumen de la muestra es determinado contando el número de extremos de la línea de la cuadrícula que intercepta cada componente, relativo al número total de intersecciones contadas para todos los componentes combinados.

La magnitud de amplificación será determinada por la resolución requerida para identificar el espécimen. Sin embargo, todas las intersecciones deberán ser contadas a la misma amplificación. Si se requiere de una ampliación mayor, los contenidos dietéticos pueden ser removidos cuidadosamente de la caja de Petri y ser vista bajo un microscopio compuesto. El número de campos requeridos para asegurar un análisis adecuado de la muestra del lavado es determinado por una serie de muestras de las muestras del lavado más diversas. Los resultados son graficados para determinar (1) el punto al cual no hay incremento significativo en el número de componentes adicionales con la inclusión de otros campos de muestreo y (2) el punto en el cual la contribución acumulativa porcentual de cada componente se nivela

sin cambios significativos cuando al añadir otro campo de muestreo.

Literatura Citada

Forbes, G. y C. J. Limpus. 1993. A non-lethal method for retrieving stomach contents from sea turtles. *Wildlife Research* 20:339-343.

Forbes, G. 1996. The diet and feeding ecology of green turtles (*Chelonia mydas*) in an algal-based coral reef community. Tesis Doctoral, James Cook University, Queensland, Australia.

Gyuris, E. y C. J. Limpus. 1986. Rapid method for immobilization and collection of sea turtle muscle biopsies for electrophoresis. *Australian Wildlife Research* 13:333-334.

Schaefer, A. 1970. The mathematical basis of stereology. *Microskopion* 7:3-16.

Weibel, E. R., G. S. Kistler y W. F. Scherle. 1966. Practical stereological methods for morphometric cytology. *Journal of Cell Biology* 30:23-38.