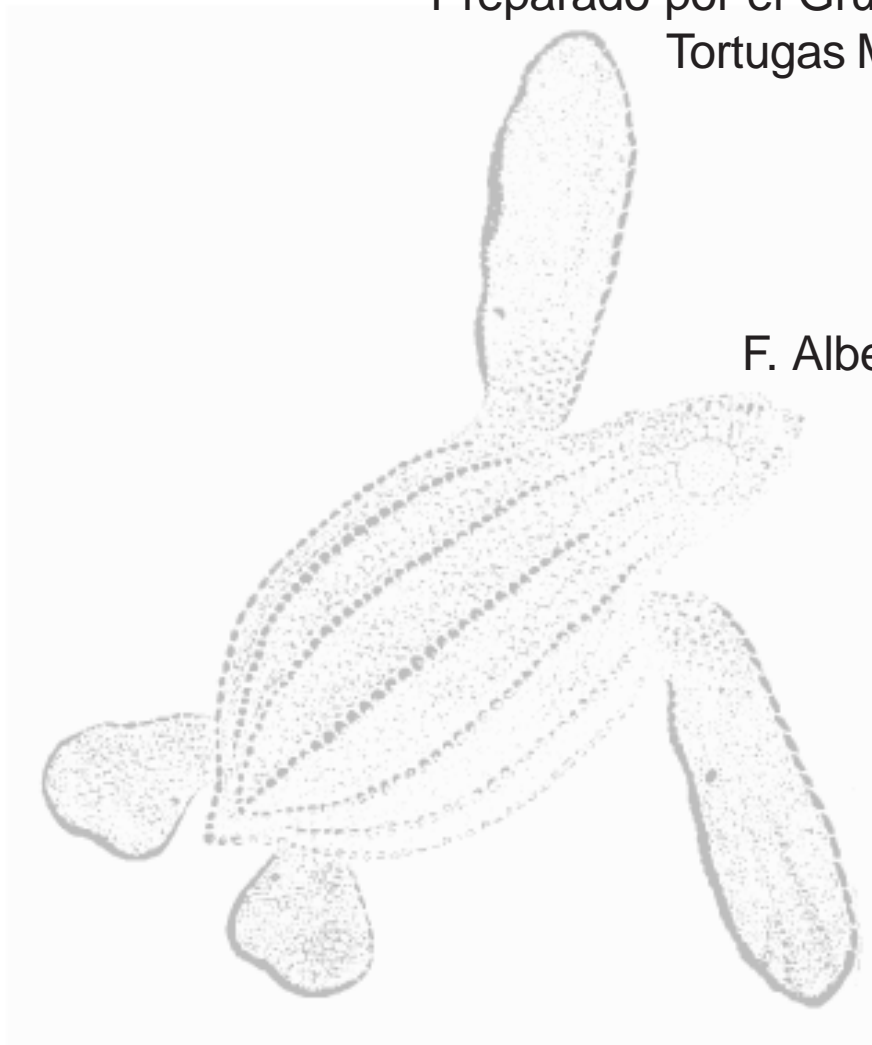


Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas

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>	

Toma de Muestras de Tejidos y Técnicas para la Necropsia

Elliott R. Jacobson

Department of Small Animal Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine, University of Florida, P. O. Box 100126, Gainesville, Florida 32610 USA; Tel: +1 (352) 392-4700 (x4773); Fax: +1 (352) 392-6125; email: JacobsonE@mail.vetmed.ufl.edu

Para una comprensión completa de los factores que ocasionan lesiones, enfermedades y mortandades en tortugas marinas es necesario analizar muestras de tejidos antes y después de la muerte del animal. En el examen *antemorten*, el muestreo individual o múltiple de los tejidos es llamado "biopsia", y se utiliza para estudios patológicos o biológicos. Mientras que el examen *postmortem* en humanos se conoce como "autopsia", en un animal se le conoce como "necropsia". En este capítulo se revisarán las técnicas utilizadas para biopsias (muestreo de tejidos) y necropsias. También, se discutirá por qué son importantes y cuándo deben efectuarse.

Técnicas para Biopsias

Una biopsia se realiza para tener mayor información sobre la naturaleza de una lesión y para determinar la terapia más adecuada. También, las biopsias pueden provenir de diferentes tejidos y proveer datos relativos al ciclo de vida de la población bajo estudio. Las biopsias de los tejidos de la piel se colectan para estudios genéticos, y las biopsias de hueso para la determinación de la edad. Información específica sobre la obtención de biopsias para estudios sobre el origen genético podrá encontrarse en FitzSimmons *et al.* (este volumen).

La sangre, un tejido líquido, es la biopsia comúnmente realizada por los biólogos en el campo. Generalmente, la sangre se obtiene del seno cervical de tortugas marinas juveniles y adultas (Owens y Ruiz, 1980); en neonatos, la sangre se colecta del corazón (cardiocentesis), pasando la aguja a través del plastrón en posición invertida (dorsalmente) (Samour *et al.*, 1984), o del seno cervical (Bennett, 1986). Antes de la colecta de la muestra, se debe limpiar el tejido epitelial alrededor del sitio elegido con etanol al 70%. Cuando se lleva a cabo la

cardiocentesis, al retirar la aguja, debe usarse un pegamento quirúrgico como el Vetbond® (3M Animal Care Products, St. Paul, Minnesota 55144 EE.UU.) o Nexaband® (Veterinary Products Laboratory, Phoenix, Arizona 85013 EE.UU.), para cubrir el orificio dejado en el plastrón. De lo contrario, podrían introducirse organismos patógenos a través del orificio y hacia el corazón y provocar una infección (pericarditis). Ver Owens (este volumen) para instrucciones detalladas en cuanto al muestreo de sangre.

La piel es el tejido sólido más común para las biopsias. En la mayoría de las situaciones, puede usarse un anestésico local, como el hidrocloreuro de lidocaína al 2% (HCl de lidocaína, Phoenix Pharmaceuticals, St. Joseph, Missouri 64506 EE.UU.) que se aplica alrededor del sitio de muestreo. Antes de realizar la biopsia, el sitio elegido y el tejido que lo rodea deben limpiarse quirúrgicamente; esto significa que debe limpiarse con tres aplicaciones alternas de etanol al 70% y un jabón quirúrgico de yodo (p. ej., Betadine Surgical Scrub: The Purdue Frederick Co., Norwalk, Connecticut 06856 EE.UU.). El uso de guantes quirúrgicos estériles es necesario. La muestra se obtiene usando una hoja de bisturí (#10 o #15), un punzón o sacabocados para biopsias (p. ej., Disposable Biopsy Punch: Premier Medical, Norristown, Pennsylvania 19404 EE.UU.). Después de la extracción de la muestra, la herida puede suturarse o dejar que cicatrice por granulación.

Dependiendo del tipo de lesión, se colectan muestras únicas o múltiples. La preservación subsecuente de la muestra dependerá de las diferentes pruebas de diagnóstico a las que serán sometidas. Para una evaluación histológica, debe fijarse una porción de cada muestra en formol neutralizado al 10% (FN), en una proporción muestra-volumen de formol de

1:10. El FN, solamente puede penetrar 6 mm en 24 horas, así que el tejido debe ser lo suficientemente delgado para permitir una fijación adecuada. Si los tejidos se mantienen por más de 48 horas en un fijador, deben transferirse del FN a etanol al 70%. Si las muestras van a someterse a ensayos de aislamiento microbiano, primero deben limpiarse con una solución salina estéril para eliminar el excedente de alcohol y después con Betadine, antes de colocarse en un contenedor estéril para su envío al laboratorio de diagnóstico. Los tejidos utilizados para el análisis histológico nunca deben congelarse porque este proceso induce la cristalización. De antemano, los responsables de la colecta deben contactar al laboratorio de diagnóstico para recibir información específica en cuanto al transporte de muestras. Las biopsias también pueden ser obtenidas de estructuras viscerales. Éstas potencialmente pueden obtenerse en el campo, pero en la mayoría de las situaciones son llevadas a cabo en un hospital veterinario bajo anestesia general. Un gas anestésico comúnmente usado es isoflurano (p. ej., Aerrane®, Fort Dodge Animal Health, P. O. Box 25945, Overland Park, Kansas 66225-5945 EE.UU.). Las biopsias pueden obtenerse de la región gastrointestinal usando un endoscopio de fibra óptica flexible y un dispositivo para biopsias. Las biopsias de otras estructuras viscerales, como el riñón o el hígado, pueden obtenerse por laparotomía o usando una técnica de ultrasonido como guía y varios aparatos automatizados de biopsias. De nuevo, hay que consultar con un hospital veterinario para analizar las opciones disponibles.

Técnicas de Necropsia

Para determinar la(s) causa(s) de muerte de una tortuga, debe realizarse una evaluación postmortem minuciosa. La calidad de la necropsia dependerá del conocimiento y entrenamiento de la persona que realice el examen. Idealmente, la persona debería contar con amplia experiencia y conocimiento de la anatomía de tortugas marinas. Información acerca de la estructura anatómica visceral de las tortugas marinas puede encontrarse en diversas fuentes (p. ej., Rainey, 1981). Que la necropsia sea llevada a cabo en el campo o en una instalación de diagnóstico veterinario determinará la profundidad del examen. Se debe estar preparado para coleccionar las siguientes muestras: (1) tejidos para análisis histopatológicos; (2) tejidos para microscopía electrónica; (3) muestras para microbiología; (4) tejidos para toxicología; (5)

muestras de contenido estomacal; y (6) parásitos.

De preferencia, las necropsias deben realizarse lo más pronto posible después de que ocurre el deceso. Si la necropsia se retrasa, el cuerpo de la tortuga muerta debe ponerse en un cuarto refrigerado o en hielo molido. Evite la congelación del cadáver, ya que esto causará cambios artificiales en los tejidos. Para que las necropsias sean más informativas, deben de realizarse dentro de un período de 24 horas después de la muerte.

Para obtener información más detallada, deben consultarse los procedimientos de necropsias para tortugas marinas descritos por Campbell (1996) y la guía de necropsias de tortugas marinas de Wolke y George (1981). El equipo necesario para una necropsia se enlista en la Tabla 1. Es importante ponerse ropa adecuada que pueda lavarse y usarse en la siguiente necropsia. Esto incluye botas de hule o protectores de zapatos y guantes de hule. Para reducir el riesgo de inhalar materiales extraños y patógenos potenciales, debe usarse en todo momento una mascarilla. Las hojas de reporte para necropsias varían entre las instituciones (se puede hallar un ejemplo en Wolke y George, 1981) y no se han estandarizado. Debe registrarse la información pertinente, incluyendo la especie, su peso, longitud y ancho de carapacho y plastrón, sexo (verificado por la examen interno), condiciones climatológicas, y las horas de inicio y terminación de la necropsia. Idealmente, una persona lleva a cabo el examen postmortem y otra registra la información. Alternativamente, puede usarse una grabadora y transcribir la información posteriormente. Para animales en cautiverio, debe registrarse un resumen del historial clínico de la tortuga. Para tortugas silvestres muertas, debe anexarse la hoja de campo con registros del varamiento al informe de la necropsia. Deben tomarse fotografías de todo el cuerpo de la tortuga, tanto dorsal como ventralmente, y de cualquier lesión.

Las necropsias se empiezan por el exterior y continúan hacia la parte interna de la tortuga de una manera metódica. El exterior de la tortuga debe examinarse minuciosamente, para describir todas las anomalías. Deben usarse dibujos dorsales y ventrales de tortugas para indicar la ubicación de las lesiones (es útil si la hoja de datos incluye una silueta patrón). Se anotan las heridas en el carapacho y en tejidos blandos. Se registra cualquier otro cambio, como inflamaciones que fusionan los espacios de huesos grandes y protuberancias cutáneas y

subcutánea. Deben colectarse muestras de todas las lesiones significativas para el análisis histopatológico. Las muestras se ponen en FN al 10% con una proporción de tejido-volumen de fijador de 1:10. Si se colectan tejidos duros como huesos grandes, deben fijarse en un contenedor separado de los tejidos blandos para permitir una penetración y fijación adecuada.

La apariencia general de la tortuga determinará si se continúa o no con la necropsia completa. Si la tortuga se encuentra en un avanzado estado de cambio postmortem: hinchada por los gases, la piel descolorida, o los escudos desprendiéndose del carapacho, el análisis de esos tejidos no producirán buenos resultados para una evaluación histopatológica.

La necropsia continúa con la tortuga yaciendo en posición dorsal (con el plastrón hacia arriba). El plastrón es removido completamente, separándolo del carapacho a lo largo del puente marginal, en ambos lados, y de la piel en las áreas de unión. El área gular de la mandíbula inferior es cortada por el centro y a lo largo de los bordes de la mandíbula. La incisión es extendida hacia la orofaringe y una vez terminada, pueden levantarse y quedar expuestas la lengua, glotis, y región proximal de la tráquea. Esto permite la visualización de la cavidad oral y la toma de muestras de los tejidos de interés. Las porciones de lengua y glotis son colectadas para análisis histológico. Así, puede ser muestreada el área de transición entre tejido saludable y anormal. Esta área es importante para buscar patógenos. La tráquea y el esófago son separados de la base craneal y de los miembros anteriores como una unidad. Enseguida las aletas anteriores y posteriores y sus uniones asociadas son removidas. Con la separación de esas porciones del cuerpo, puede visualizarse toda la cavidad celómica.

Antes de continuar con la recolección de más muestras, éste es un buen momento para examinar si en la cavidad celómica hay lesiones obvias. Deben describirse todas las lesiones detectadas, anotando su tamaño, color, forma y consistencia. Si se observan fluidos en exceso o con falta de color en la cavidad celómica, debe obtenerse una muestra para su cultivo. Una cantidad pequeña de fluido puede usarse para hacer un frotis y realizar un examen citológico. El examinar visualmente la cavidad celómica para ver si hay cambios y colectar muestras en esta etapa de la necropsia es importante para asegurarse de que las

muestras para análisis microbiológico estén lo menos contaminadas posible. A medida que la necropsia progresa, la contaminación de los tejidos es inevitable. Las muestras de las lesiones pueden tomarse con equipo de cultivo apropiado o se pueden colectar porciones de manera aséptica (usando instrumentos ya sea flameados o estériles), puestas en un contenedor estéril y transportadas a un laboratorio de diagnóstico para su cultivo. La forma del transporte de la muestra, dependerá del tipo de cultivo que vaya a experimentarse. En general, las muestras deben transportarse ya sea en hielo molido o hielo seco. Si la muerte del animal es reciente (1 hora), puede colectarse sangre del corazón para el cultivo de organismos aeróbicos. De nuevo, hay que consultar a un veterinario o al laboratorio de diagnóstico para la selección de un medio de transporte adecuado.

En la continuación de la necropsia, todos los órganos principales son identificados (Rainey, 1981) y se toman muestras que incluyen lo siguiente: lengua, músculo esquelético, glotis, tráquea, pulmones, timo, tiroides, glándula suprarrenal, páncreas, corazón, hígado, vesícula biliar, esófago, estómago, intestino delgado, intestino grueso, vejiga, órganos y conductos reproductores y cerebro.

Para microscopía electrónica, pequeñas porciones (1 mm³) de tejido de interés deben fijarse en solución de Trumps (McDowell y Trump, 1976). Si en el examen microscópico de tejido fijado en FN se observa un cambio, como la presencia de inclusiones que sugiera una infección viral, puede procesarse una pequeña porción de tejido para el análisis de microscopía electrónica. Incluso, es posible usar tejido montado en parafina para identificar la presencia de virus. La mayoría de los virus se preservan relativamente bien en parafina.

Para análisis de metales pesados pueden colectarse muestras de riñón, hígado, cerebro, músculo esquelético, páncreas, piel, estómago, contenido estomacal, heces fecales y orina; colocándolos en bolsas individuales de Teflón® FEP (propileno etileno fluorinado) o se pueden usar bolsas de plástico si es necesario, y se congelan con hielo seco o en un ultracongelador hasta que sean sometidas a análisis. Se recomienda el uso de navajas de titanio y hojas de Teflón. Si no están disponibles, una alternativa es separar los tejidos con los dedos, habiéndose enjuagado previamente las manos en alcohol y luego colocando las muestras en bolsas de Teflón (Becker *et al.*, 1994). Los instrumentos deben

Tabla 1. Lista de Equipo para Necropsias.

1. Traje de mecánico o ropa adecuada
2. Botas de hule o cubierta de hule para zapatos
3. Guantes de hule
4. Máscara
5. Cámara
6. Cuerda, etiquetas, botellas, pluma a prueba de agua
7. Fórceps (varios tamaños)
8. Tabla para cortar tejido
9. Navajas para necropsia y afilador
10. Navajas de bisturí (#20 y #10) y mango
11. Tijeras postmortem
12. Lámpara de alcohol o mechero de gas butano
13. Cerillos o encendedor
14. Alcohol al 70%
15. Contenedores con FN
16. Fijador para microscopía electrónica, como solución de Trumps (debe mantenerse en hielo)
17. Bolsas estériles de plástico que puedan ser selladas
18. Tubos criogénicos
19. Cotonetes para cultivo microbiano
20. Medio de transporte microbiano
21. Hielo seco y hielera
22. Balanza (hasta 250 g)
23. Sierra Stryker
24. Vernier
25. Porta y cubreobjetos
26. Hoja de necropsia y cuaderno

limpiarse entre colectas de diferentes tejidos/muestras para evitar la contaminación entre las muestras.

Para el análisis de compuestos orgánicos, deben colectarse muestras de grasa, hígado, riñón y músculo del esqueleto. Los especímenes pueden colectarse individualmente en frascos de vidrio enjuagados con acetona, cubiertos con papel de aluminio enjuagado en acetona (hay que enjuagar el lado brillante y ponerlo hacia el interior del frasco) antes de ponerle la tapa (Beasley, com. pers.). Esto evitará el contacto entre el espécimen y el sello de goma. Los frascos deben de llenarse lo más que se pueda y mantenerse en refrigeración hasta antes de la extracción para prevenir los contaminantes orgánicos. Esto disminuirá la pérdida de compuestos volátiles en el aire contenido en la porción superior del frasco. Después de la colecta, las muestras deben enviarse a un laboratorio apropiado lo más pronto que sea posible. Si esto no

puede cumplirse, los frascos pueden llenarse hasta $\frac{3}{4}$ de su capacidad y mantenerse congelados (por lo menos a -20°F) hasta que sean analizados. Para evitar que los frascos se quiebren se inclinan ligeramente al introducirlos al congelador. También pueden usarse frascos y bolsas de plástico; sin embargo, puede haber transferencia de sustancias no deseadas del plástico a los tejidos. Plásticos clorinados (cloruro de polivinilo) y plásticos con ésteres de ftalatos pueden presentar problemas (Beasley, com. pers.). Si se usan, asegúrese de darle a su analista frascos o bolsas vacías del mismo tipo. De esta manera puede hacer pruebas para ver si hay o no sustancias que interfieren el análisis o lo contaminen.

Al coleccionar helmintos para su identificación, los nemátodos deben de ser puestos en un plato que contenga agua de la llave, el cual se pone en un refrigerador por una noche para permitir que los parásitos se relajen. Después deben ser puestos en una solución AFA (alcohol-formol-ácido acético) consistiendo de 8.5 partes de etanol, 1 parte de formol comercial y 0.5 partes de ácido acético glacial. Los nemátodos deben de ser puestos en ácido acético glacial concentrado o etanol al 70% caliente para ser fijados y transferidos a una mezcla de 9 partes de etanol al 70% y una parte de glicerina. Todos los materiales presentados al parasitólogo deben de tener datos completos incluyendo la especie parasitada, el órgano o tejido parasitado, la localidad de la colecta, fecha de colecta, y colector.

Al final de la necropsia, el cuerpo de la tortuga debe de ser desechado de acuerdo con los reglamentos locales.

Las exámenes postmortem son la mejor manera de tratar de establecer las causas de mortandad en tortugas marinas. Sin embargo, no es siempre posible determinar la(s) causa(s) específica(s) de muerte. Aún la mejor necropsia puede resultar en un diagnóstico no conclusivo. Muchos pesticidas y contaminantes pueden causar cambios no detectables por microscopía óptica en los tejidos y tratar de establecer una relación causal es difícil, y más aún que dosis letales para estos compuestos aún no han sido determinadas. Aún así, las necropsias proporcionan información indispensable sobre las causas de morbilidad y mortandad las cuales no podrían ser derivadas de otros métodos. Desafortunadamente, existen relativamente pocos reportes sobre causas de mortandad en tortugas marinas en el medio silvestre (Glazebrook y Campbell, 1990).

Literatura Citada

Becker, P. R., D. Wilkinson y T.I. Lillestolen. 1994. Marine Mammal Health and Stranding Response Program: Program Development Plan, NOAA Technical Memorandum NMFS-OPR-94-2. U.S. Department of Commerce.

Bennett, J. M. 1986. A method for sampling blood from hatchling loggerhead turtles. *Herpetological Review* 17:43.

Campbell, T. W. 1996. Sea Turtle Rehabilitation. Section VII. Appendix. p.427-436. *In*: D. R. Mader (Editor), *Reptile Medicine and Surgery*. W. B. Saunders Co., Philadelphia.

Glazebrook, J. S. y R. S. Campbell. 1990. A survey of the diseases of marine turtles in northern Australia. II. Oceanarium-reared and wild turtles. *Diseases of Aquatic Organisms* 9:97-104.

McDowell, E. M. y B. F. Trump. 1976. Historical fixatives suitable for diagnostic light and electron microscopy. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine* 100:405-414.

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

Rainey, W. E. 1981. Guide to Sea Turtle Visceral Anatomy. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFC-82. U.S. Department of Commerce. 82 pp.

Samour, H. J., D. Risley, T. March, B. Savage, O. Nieva y D. M. Jones. 1984. Blood sampling techniques in reptiles. *Veterinary Record* 114:472-476.

Wolke, R. E y A. George. 1981. Sea Turtle Necropsy Manual. NOAA Technical Memorandum . NMFS-SEFC-24. U.S. Department of Commerce. 20 pp.