

EL COLEGIO DE LA FRONTERA SUR - ECOSUR
UNIDAD VILLAHERMOSA

ESTUDIO HEMATOLÓGICO EN POBLACIONES SILVESTRES Y
CAUTIVAS DE TORTUGA BLANCA *Dermatemys mawii*

TESIS

presentada como requisito parcial para optar al grado de
Maestro en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural

Por:

Judith Andrea Rangel Mendoza

Villahermosa, Tabasco, México, 2007

TABLA DE CONTENIDO

I. Introducción	1
II. Materiales y Métodos	10
2.1. Sitio de estudio	10
2.2. Periodos de muestreo y caracterización ambiental	11
2.3. Obtención y examen físico de los animales	12
2.4. Colecta sanguínea y análisis hematológicos	13
2.5. Análisis estadístico	15
III. Resultados	17
3.1. Evaluación ambiental.....	17
3.2. Examen físico	18
3.3. Hematología	20
3.4. Bioquímica.....	21
IV. Discusión.....	24
V. Conclusiones	37
VI. Recomendaciones	39
VII. Bibliografía	41

INDICE DE FIGURAS

Fig. 1. <i>Dermatemys mawii</i> adulta	2
Fig. 2. Sitios de estudio: Arroyo Tabasquillo, RBPC, Tab, Mex. y Granja de Tortugas del Estado, Tab, Méx.....	10
Fig. 3. Comparación de la morfometría de tortugas silvestres y cautivas mediante regresión entre logaritmos de su peso y LRC en temporada de secas (A) y lluvias (B) de 2006	20

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Análisis fisicoquímico del agua del estanque de <i>Dermatemys mawii</i> en la Granja de Tortugas del Estado, Nacajuca, Tabasco. Julio de 2006.	18
Tabla 2. Principales hallazgos en el examen físico en las poblaciones silvestres y cautivas de <i>Dermatemys mawii</i>	19
Tabla 3. Valores corporales, de biometría y química sanguínea en poblaciones silvestres y cautivas de tortuga blanca <i>Dermatemys mawii</i> durante temporada de secas (Abril-Mayo) de 2006	22
Tabla 4. Valores corporales, de biometría y química sanguínea en poblaciones silvestres y cautivas de tortuga blanca <i>Dermatemys mawii</i> durante temporada de lluvias (Septiembre-Octubre) de 2006.....	23
Tabla 5. Valores de hematología y bioquímica plasmática en algunas especies de quelonios de hábitos marino, terrestre, semiacuático y dulceacuícola	29

INDICE DE ANEXOS

Anexo I. Formato de examen físico de tortugas blanca *Dermatemys mawii*

Anexo II: Formato para la evaluación de hábitat ripario empleado en el Arroyo
Tabasquillo, tomado de Muneé *et al.*, 2003

Anexo III. Artículo

Resumen*

Se caracterizó el perfil hematológico en 51 adultos de tortuga blanca (*Dermatemys mawii*), en dos temporadas: secas (abril-mayo de 2006) y lluvias (octubre-noviembre de 2006). Veintidós organismos silvestres se capturaron en el Arroyo Tabasquillo, Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla, Tabasco, Méx. y los restantes 27, hacen parte de una población en cautiverio presente en la Granja de Tortugas del Estado, Tabasco, Méx. En cada sitio de estudio se caracterizó el ambiente y se examinó la condición física general de los organismos. Se colectaron muestras sanguíneas de aproximadamente 3 mL por punción de la vena yugular a través de las cuales se determinaron diversos parámetros de biometría hemática, química plasmática y hemoparásitos.

La condición física de las poblaciones evaluadas fue contrastante: los organismos cautivos manifestaron lesiones frecuentes e indicios de enfermedad, mientras los silvestres estuvieron aparentemente sanos. Se determinaron los intervalos hematológicos de referencia para la especie, y se observaron diferencias en los valores según el origen de la población y la temporada de muestreo. Se detectó *Haemogregarina sp.* en el 100% de los individuos silvestres, mas no en los cautivos, aparentemente debido a la ausencia del vector transmisor del parásito en la Granja. Los hallazgos hematológicos se asociaron con la condición física de las tortugas y el ambiente de cada población, de lo que surgen evidencias para sugerir modificaciones en el manejo en cautiverio de la especie, así como herramientas para monitorear la salud de la especie.

Palabras clave: tortugas dulceacuícolas, *Dermatemys mawii*, hematología, hemoparásitos, salud.

* Contacto: jarangelme@unal.edu.co ó juranmen@gmail.com (Rangel-Mendoza J.A.)

ESTUDIO HEMATOLOGICO EN POBLACIONES SILVESTRES Y CAUTIVAS DE TORTUGA BLANCA *Dermatemys mawii*

I. Introducción

La tortuga blanca, *Dermatemys mawii* (GRAY 1847), es una especie de quelonio dulceacuícola de gran importancia ecológica y económica, cuyas poblaciones silvestres se han reducido de manera considerable debido principalmente a su caza para consumo y a la modificación de su hábitat. Tal es el grado de su amenaza, que la mayoría de individuos vivos de esta especie se encuentran fuera de su hábitat natural en centros de resguardo, zoológicos o granjas con fines de producción, conocidas como Unidades de Manejo de Vida Silvestre (UMA's).

Dermatemys mawii, reconocida internacionalmente como “The Central American river turtle”, es la única especie de la Familia Dermatemydidae y se encuentra distribuida geográficamente desde el sureste de México, Belice y Guatemala hasta el norte de Honduras, área incluida dentro del hotspot de biodiversidad de Mesoamérica (Polisar y Horwich, 1994; Moll 1986). Este quelonio vive en grandes ríos y lagos epicontinentales, donde puede ocupar desde aguas profundas, limpias y permanentes hasta aguas fangosas y estancadas. Los adultos silvestres son completamente herbívoros aunque los cautivos pueden llegar a consumir carne. La tortuga blanca es una especie netamente acuática, principalmente nocturna, que puede permanecer periodos prolongados bajo el agua; en donde al parecer toma oxígeno disuelto a través del epitelio nasofaríngeo durante la sumersión (Ernst *et al.*, 1997).

En México, el periodo de anidación de *D. mawii* va de septiembre a marzo (Vogt y Flores-Villela, 1992). Ponen sus huevos en temporada de inundación en los márgenes de los cuerpos de agua, donde sobreviven a la inmersión durante un

tiempo prolongado, a través de un fenómeno denominado diapausa embrionaria; el sexo de las crías está determinado por la temperatura de incubación (Ernst *et al.*, 1997).



Fig. 1. *Dermatemys mawii* adulta; su longitud de caparazón puede alcanzar 65 cm.

Actualmente la tortuga blanca es una especie En Peligro de Extinción según la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2001 (SEMARNAT, 2001). Así mismo se encuentra incluida en la lista mundial de las 25 especies de tortugas terrestres y de agua dulce con mayor amenaza de desaparición por el Fondo para la Conservación de las Tortugas (TCF, 2003) y desde 1981 se contempla en Apéndice II por la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES, 2005).

Dado el riesgo de *D. mawii*, han surgido iniciativas en torno a su conservación. Entre los años 2003 y 2004 se llevó a cabo el estudio denominado “Situación actual de las poblaciones de tortuga blanca en el Sureste de México” desarrollado por el Instituto de Historia Natural y Ecología (IHNE) y la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). En dicho estudio se concluyó que la situación de la especie es delicada y que sus poblaciones naturales conocidas presentan una declinación pronunciada, como producto de las presiones sobre ella (CITES, 2005).

Actualmente se desarrollan estudios sobre el estado de conservación del hábitat natural de la tortuga blanca en la cuenca baja del río Papaloapán, Veracruz, México y en la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla, México, cuyos resultados aún no se publican. De otra parte, existe una institución gubernamental para su conservación: la Granja de Tortugas del Estado, en Nacajuca, Tabasco, que resguarda la población más grande de esta especie, con una colonia de aproximadamente 1,000 individuos. Recientemente, se han implementado proyectos para su producción en cautiverio en granjas privadas o comunitarias en los estados de Veracruz y Tabasco, iniciativas que, en general, se encuentran en fase de establecimiento.

El manejo en cautiverio de una especie requiere del conocimiento de muchos aspectos de su biología para asegurar que las condiciones del nuevo hábitat impuesto cumplan con los requerimientos biológicos de la especie. En muchos casos es probable que las condiciones ambientales tengan efectos sobre aspectos fisiológicos y ecológicos de los animales, que en manejo *ex situ* pueden traducirse en alteraciones por estrés, medicación o dieta, entre otros aspectos (St. Aubin *et al.*, 2001). El análisis de los parámetros sanguíneos es una herramienta muy útil que ayuda en el diagnóstico y monitoreo de la salud y la enfermedad en animales, así como a la diferenciación de procesos patógenos de aquellos fisiológicos (Christopher *et al.*, 1999), ya que la sangre cumple funciones importantes en el animal como el transporte de gases y nutrientes, la regulación térmica y la eliminación de desechos metabólicos involucrados en diferentes procesos fisiológicos (Troyano y Silva, 1998).

El diagnóstico de las enfermedades en reptiles requiere de variadas estrategias para llegar a la determinación de su estado de salud, entre las que se incluyen el examen físico clínico, las muestras sanguíneas, los conteos celulares completos, los perfiles bioquímicos así como los análisis de vitaminas, minerales y componentes organoquímicos (Berry y Cristopher, 2001). El examen físico en tortugas, así como en otros reptiles, puede significar la primera forma de valoración de su estado de salud, y es más certero cuando el evaluador,

veterinario o biólogo, tiene un amplio conocimiento sobre la apariencia, postura y comportamiento normales o anormales según la temporada y la región, y mucha experiencia de campo ó, en el caso de especies raras, amenazadas, muy poco abundantes, es igualmente útil la práctica adquirida con poblaciones cautivas (Berry y Christopher, 2001).

El examen físico de un animal abarca la anamnesis o recolección de información sobre sus antecedentes, a través de cuestionamientos a sus manejadores y condiciones ambientales, aunado a la exploración general por observación, que incluye la valoración de la actitud (p. ej. viveza), sensibilidad, estado corporal, postura, marcha y estado general de la piel y faneras, así como una revisión física que busque conocer las características fisiológicas y anatómicas del animal, con la determinación de medidas corporales (peso y longitud), apariencia de ojos, boca, orificios nasales, escudos de caparazón y plastrón, así como el grado de deshidratación y el examen de la cavidad celómica mediante palpación, entre otros aspectos (Ávila-Ramírez, 2003).

La condición física de los quelonios no puede ser evaluada cabalmente solamente por inspección visual o palpación y por eso se sugiere la inclusión de las proporciones entre el peso y la longitud para valorarlos. En tortugas saludables, el logaritmo del largo o ancho del caparazón sobre el logaritmo del peso muestra una relación lineal con altas correlaciones (Blakey y Kirkwood, 1995). No obstante es importante tener en cuenta que el uso de la relación entre el peso y la longitud como única herramienta de exploración no es adecuada para discriminar animales sanos de aquellos no sanos o anormales. Es importante tener en cuenta la historia clínica del animal para entender los hallazgos, por lo cual el uso de esta relación debe estar acompañado de una evaluación de salud mas integral, que puede incluir inspección visual, radiografías y muestras biológicas de sangre, orina, exudados o biopsias (Jacobson *et al.*, 1993).

Muchos estudios hematológicos en animales cautivos han tenido como propósito la determinación de los intervalos de referencia, es decir, aquellos

valores propios de individuos y poblaciones saludables, que permiten comparar los resultados de análisis hematológicos posteriores con un estándar “normal” para realizar un diagnóstico confiable; debido a su importancia, existen protocolos metodológicos para su determinación (Walton, 2001).

Los valores de referencia pueden ser obtenidos a partir de individuos o poblaciones; estos últimos provienen de organismos de referencia definidos como sanos. Determinar que es “saludable” es crucial para seleccionar los individuos de referencia. En reptiles se presentan complicaciones asegurar condiciones saludables debido a que los signos externos de enfermedad no son visibles sino hasta que la patología está avanzada. Un examen visual superficial usualmente es insuficiente para descartar individuos no saludables. Se requiere que cada individuo posea como mínimo historial clínico, análisis de parásitos y examen físico para determinar su estado de salud. El conjunto de valores de referencia del grupo de individuos de referencia son entonces usados para generar los intervalos de referencia (Walton, 2001).

Los tipos de intervalos de referencia más usuales son los de tolerancia y los interpercentiles. La diferencia entre estos tipos es imperceptible cuando el tamaño de muestra es por lo menos de 100 valores. El intervalo de tolerancia es aquel con un rango específico que cubre una proporción de los valores de referencia de la población y se genera simplemente mediante el uso de los valores extremos de un grupo de observaciones como los rangos máximo y mínimo. El tamaño de la muestra determina la proporción de la población general que se espera esté contenida entre los valores extremos de una muestra así como la probabilidad de cubrir la población analizada. Con un tamaño de muestra 7, hay un 90% de probabilidad que el 50% de la población se encuentre entre los límites extremos de los valores observados. Para incluir el 95% de los valores de la población con 95% de probabilidad, se requiere una muestra mínima de 97 individuos, lo que constituiría el intervalo de tolerancia ideal. La IFCC (International Federation of Clinical Chemistry) recomienda el uso del intervalo interpercentil, que se define como el intervalo central 95% cuyos límites son los percentiles 2.5% (inferior) y

97.5% (superior), teniendo un 5% de probabilidad de error y cuyo valor ideal estaría definido por un mínimo de 120 observaciones (Walton, 2001).

Existe una controversia en torno al origen del grupo de organismos para establecer los intervalos de referencia. Algunos autores sugieren el empleo inicial de individuos manejados *ex situ* para definir dichos intervalos que posteriormente se pueden utilizar para evaluar poblaciones silvestres (Mayer, 1998). Otros consideran que la determinación de los parámetros sanguíneos debe hacerse en poblaciones saludables y silvestres ya que poseen los valores “normales” más confiables para evaluar el estado fisiológico de poblaciones mantenidas fuera de su hábitat natural (Grumbles *et al.*, 1990). Si bien es posible que exista variación individual de los valores hematológicos entre organismos de la misma especie bajo un mismo manejo ambiental, es probable hallar diferencias cuando éstos se comparan con individuos de vida silvestre (St. Aubin *et al.*, 2001). Finalmente, la decisión de elegir el origen del grupo de organismos de referencia depende del investigador y es deseable que se apegue a los lineamientos que definen a organismos saludables.

Se han publicado diferentes estudios relacionados con el análisis de sangre en tortugas; Bouchot (1994) cita las investigaciones sobre los valores de referencia y perfiles de química sanguínea en tortugas de agua dulce como *Terrapene c. carolina* y *Pseudemys scripta elegans* (Gaumer y Goodnight, 1957), la evaluación de las concentraciones de proteína y urea en la sangre de cuatro especies diferentes del género *Sternotherus* (Seidel, 1980) y la influencia de la química sanguínea sobre la fisiología en *Caretta caretta* (Lutz y Dunbar-Cooper, 1987). Bouchot (1994) también encontró reportes de la caracterización de los componentes sanguíneos y algunos índices hematológicos de *Macrochelys temmincki* (Powel y Knesel, 1991) así como diversas publicaciones dirigidas por Frair sobre estudios serológicos, entre otros aspectos, en tortugas marinas (1969, 1977 y 1982); en Chelydridos y Kinosternidos (1972), en Pelomedusidos (1978) y en Emydidos (1982).

En tortugas terrestres existen variadas publicaciones sobre estudios hematológicos. En la Tortuga del Desierto (*Gopherus agassizii*) se han realizado diversas aproximaciones: en una se establecieron los rangos de referencia de 21 parámetros sanguíneos en cautiverio teniendo en cuenta aspectos como condición sanitaria y sexo (Rosskopf, 1982; Lieberman y Rosskopf, 1984); en otra ocasión se evaluaron las características morfológicas y citoquímicas de sus eritrocitos, leucocitos y trombocitos utilizando una gran variedad de tinciones con el fin de mejorar la diferenciación entre tipos celulares (Alleman *et al.*, 1992) así como también se hizo el seguimiento durante cinco años de los valores hematológicos y de química plasmática en una población silvestre, relacionando los hallazgos con los patrones de lluvia, disponibilidad de alimento y condición fisiológica (Dickinson *et al.*, 2002).

En otras especies de tortugas terrestres, *Testudo graeca* y *T. hermanni*, mantenidas en cautividad se determinaron las variaciones estacionales en los datos hematológicos (Lawrence y Hawckey, 1986). En la tortuga terrestre de Louisiana (*Gopherus polyphemus*) se caracterizó el estado de salud y dentro de su metodología, se empleó el análisis de muestras sanguíneas durante dos épocas del año para determinar el conteo sanguíneo completo, la química plasmática, la serología de algunas enfermedades infecciosas (micoplasma) y un cuadro toxicológico (cobre, mercurio, zinc y plomo) (Díaz-Figueroa, 2005). En la tortuga terrestre argentina (*Chelonoidis chilensis chilensis*), determinaron los valores hematológicos de referencia y sus variaciones según el sexo, la temporada climática y clases de edad (Troyano y Silva, 1998).

Son abundantes los reportes de estudios con sangre y suero en tortugas marinas, entre ellos se encuentran la determinación de los perfiles sanguíneos para una población silvestre de tortugas verdes (*Chelonia mydas*) en el sur de Bahamas, analizando las relaciones entre su talla y sexo (Bolten y Bjorndal, 1992), así como el estudio de la variación de los parámetros hematológicos durante la estación de anidación en tortugas marinas como *C. mydas* (Alkindi *et al.*, 2001b), *Lepidochelys olivacea* (Alkindi *et al.*, 2001a) y *Eretmochelys imbricata* (Alkindi y

Mahmound, 2002). Así mismo, existen reportes sobre los perfiles de química sanguínea para la tortuga marina *C. caretta* (Schroeder, 1998) y una base de datos de los perfiles sanguíneos de las tortugas que entran al canal de una planta nuclear en Port St. Lucie, Florida, EUA (Jacobson *et al.*, 2006).

Recientemente, se realizó un estudio de salud en tortugas cajita, *Clemmys muhlenbergii*, silvestres y cautivas en el norte de Carolina y Virginia, EUA, que incluyó la determinación de valores de biometría y química sanguínea, anticuerpos para *Mycoplasma* sp., parásitos intestinales y flora normal de la cloaca (Brenner *et al.*, 2002).

En México, en referencia a los análisis de sangre en tortugas, se reporta un estudio sobre la hematología en individuos silvestre de tortuga negra marina, *Chelonia agassizii*, en Playa Colola, Michoacán durante los periodos de anidación y en las capturas realizadas en el mar, comparando el uso de diferentes anticoagulantes en sus resultados (Grumbles *et al.*, 1990) y otras investigaciones en torno a la obtención de algunos parámetros hematológicos en *Trachemys scripta venusta* (Bouchot, 1994) y *Kinosternon herrerai* (Hernández-Hernández, 2002).

Al analizar la sangre de los animales con el fin de evaluar su estado de salud, además de la determinación de la biometría y química sanguínea, es importante establecer la presencia de hemoparásitos. En reptiles se pueden encontrar una amplia variedad de parásitos de la sangre, desde formas celulares sencillas (coccidios, flagelados, ciliados, etc.) hasta organismos multicelulares (microfilarias, entre otros). Su presencia, sin embargo, no está necesariamente asociada a enfermedad clínica y su susceptibilidad puede estar relacionada con el estrés, la temperatura ambiental, la higiene, la densidad de parásitos, vectores y hospederos, el estado nutricional y la edad (Díaz-Figueroa, 2005).

En relación a los parásitos sanguíneos, se encuentra un estudio sobre el hemoparásito *Haemoproteus metchnikovi* en dos especies de tortugas terrestres, *Geochelone denticulata* y *Peltocephalus dumerilianus* (Lainson y Naiff, 1998), así

como una investigación sobre los protozoos en la sangre de tres especies de tortugas (*Emydura signata*, *Elseya latisternum* y *Chelodina longicollis*) donde determinaron varias especies de estos patógenos como *Haemogregarina clelandi*, *Haemoproteus chelodinae*, *Trypanosoma chelodinae*, y *Trypanosoma sp.*, aunque sin evidencia de enfermedad clínica (Jakes *et al.*, 2001). En *Phrynops geoffroanus*, en un estudio sobre la influencia de la contaminación agrícola y urbana en la tortuga dulceacuícola, se evaluó la infestación de sanguijuelas y *Haemogregarina sp.*, encontrando mayor abundancia de parásitos en la sangre de tortugas de áreas urbanas que de las agrícolas (De Campos-Brites y Rantin, 2004). Además, en individuos de la tortuga Malaya gigante (*Orlitia borneensis*) que sufrían de una enfermedad infecciosa conocida como “necrosis de caparazón”, se evaluaron algunos parámetros hematológicos y de química plasmática encontrando también algunos parásitos hemogregarinos (Knotkova *et al.*, 2005).

Bajo este contexto, este trabajo pretende caracterizar el perfil hematológico en ejemplares adultos de Tortuga Blanca, *D. mawii*. Los objetivos específicos son: (1) Caracterizar el ambiente en que se encuentran las poblaciones evaluadas, (2) examinar la condición física general de los organismos estudiados, (3) determinar los intervalos hematológicos de referencia, (4) establecer la presencia, carga y prevalencia de hemoparásitos, y (5) evaluar la variación de los parámetros hematológicos según la temporada (secas/lluvias) y el origen de los organismos (vida silvestre/cautiverio). Se espera que los resultados de esta investigación provean directrices para evaluar poblaciones silvestres y cautivas de esta especie, en aspectos como su manejo, salud y procedimientos clínicos.

II. Materiales y Métodos

2.1. Sitio de estudio: Las tortugas incluidas en este estudio provinieron de dos sitios del Estado de Tabasco, México: el arroyo Tabasquillo, en la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla (RBPC), entre 18°24'18" y 18°14'18" N y entre 92°39'07" y 92°41'32" W, y la Granja de Tortugas del Estado en el municipio de Nacajuca, entre 18°00'48" y 18°22'12" N y entre 92°48'30" y 93°02'24" W (Fig. 2).

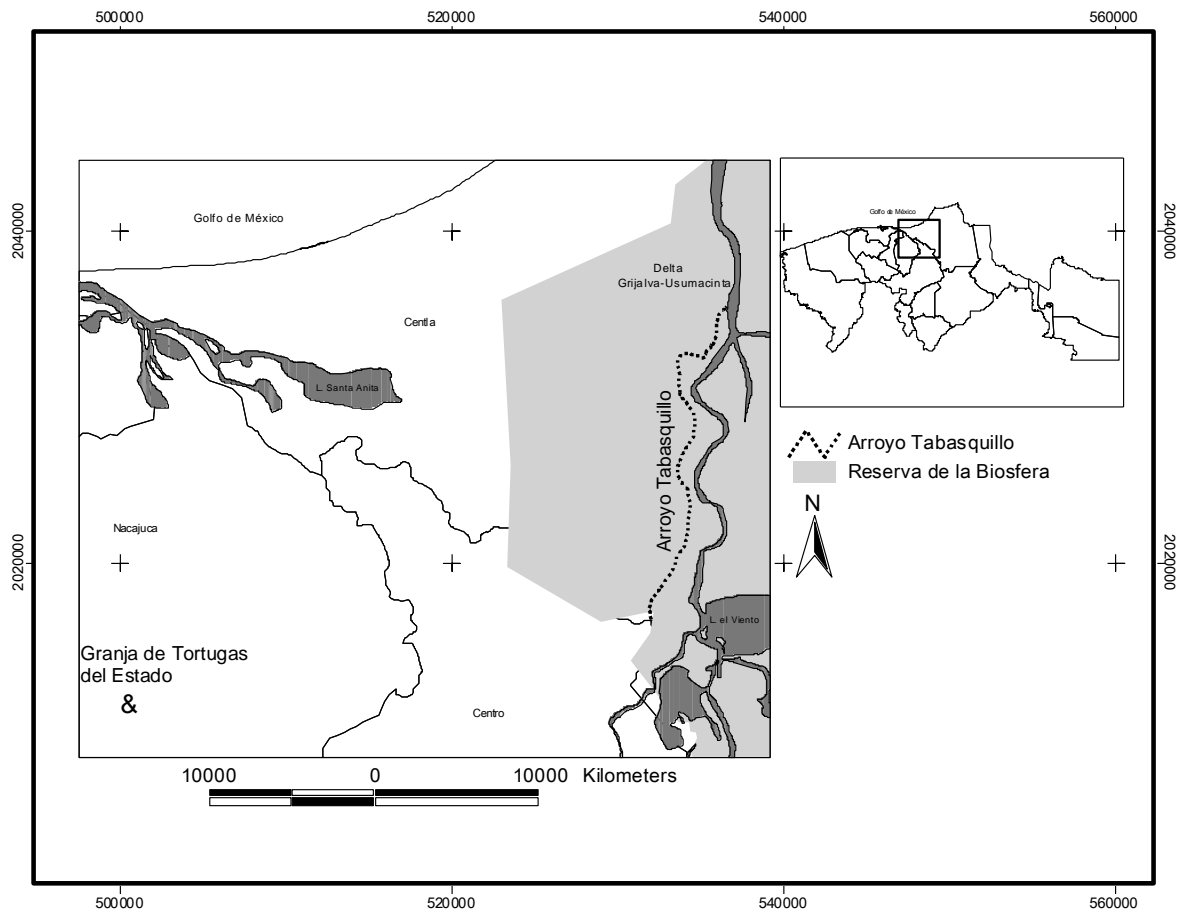


Fig. 2. Sitios de estudio: Arroyo Tabasquillo, RBPC, Tab, Mex. (línea punteada) y Granja de Tortugas del Estado, Tab, Méx. (&). La porción sombreada indica territorio de la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla.

El arroyo Tabasquillo es un cuerpo de agua lótico de aguas tranquilas con influencia mareal; afluente importante del sistema deltaico Grijalva-Usumacinta, el cual finalmente vierte sus aguas al Océano Atlántico en el Golfo de México. Tiene una amplitud de 25 a 30 m, una profundidad promedio de 5.7 m, su lecho está conformado por sedimento fino firme y en su margen posee pendientes

moderadas a muy pronunciadas (Guzmán-Juárez, 2006). Presenta un promedio anual de temperatura de 25.4°C y de precipitación de 1,580 mm³ (Instituto Nacional de Ecología, 2000); su altitud es muy cercana al nivel de mar. La población de *D. mawii* en este arroyo es reducida, pero persiste a pesar de la pérdida de la especie en muchos otros ambientes acuáticos de su área natural de distribución en México. En la zona de estudio se viene haciendo un esfuerzo mantenido a partir del 2002 con programas de protección y conservación de las tortugas, especialmente de *D. mawii* que incluyen estudios biológicos, educación ambiental e iniciativas de manejo *ex situ* con fines de uso sostenible (Zenteno-Ruiz, 2002).

La Granja de tortugas del Estado es un centro de conservación y resguardo de quelonios de agua dulce que alberga tortuga blanca y otras seis especies más. La precipitación en este sitio fluctúa entre 1,327 y 3,225 mm por año, y su temperatura varía de acuerdo al periodo: mínima de 12°C en Diciembre-Enero, máxima de 44°C en Abril-Mayo para un promedio anual de 22°C.

2.2. Periodos de muestreo y caracterización ambiental: Se realizaron muestreos en los sitios de estudio en dos ocasiones durante el 2006, coincidentes con las temporadas climáticas en la región: 1) Secas, Abril y Mayo (baja precipitación y temperatura ambiental alta) y 2) Lluvias, Septiembre Octubre (alta precipitación y temperatura ambiental media).

Cada sitio de muestreo se caracterizó y, en el caso del arroyo Tabasquillo, se realizó una evaluación ecológica del hábitat ripario de arroyos mediante el índice QBR (por sus siglas en catalán Qualitat del Bosc de Ribera, Calidad de Bosque Ripario) que sugiere Munné *et al.* (2003). El índice QBR determina el estatus ecológico del arroyo o río y está basado en cuatro componentes del hábitat ripario: la cobertura total de vegetación, estructura, calidad y las alteraciones del canal, considerando su geomorfología (Anexo II). El valor de QBR varía entre 0 y 100 puntos, y califica al hábitat evaluado como: en condiciones naturales (≥ 95), bueno con pocos disturbios (75-90), aceptable con disturbios

considerables (55-70), pobre con fuertes alteraciones (30-50) y malo con degradación extrema (≤ 25). Esta evaluación se complementó con registros sobre la presencia de ectoparásitos, profundidad y refugio en el lugar; este último parámetro se midió como el porcentaje del ambiente ripario del sitio de captura, que presentó cobertura vegetal (hidrófita o arbórea).

Para el caso de la Granja de Tortugas, se realizó una anamnesis a través de la que se recopiló información sobre los protocolos de manejo de la población de tortugas a estudiar, incluyendo aspectos como instalaciones, dieta, frecuencia de alimentación, medidas sanitarias, enfermedades y decesos. Lo anterior se integró con análisis fisicoquímicos del agua del estanque en que son mantenidos los animales.

2.3. Obtención y examen físico de los animales: Las tortugas silvestres se capturaron mediante el uso de trampas de desvío tipo nasa (Vogt, 1980) que se dispusieron durante seis días consecutivos en cada una de las temporadas climáticas. En cada caso, pocos días después de la recolección de muestras sanguíneas de la población *in situ*, se realizó la colecta en los organismos cautivos. En la Granja, se obtuvieron los ejemplares mediante arrastre del estanque donde se mantienen, el mismo día o el anterior a la fecha de colecta sanguínea. Las capturas de organismos silvestres se realizaron bajo permiso de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), según el oficio SGPA/DGVS/10215 a nombre de Claudia Elena Zenteno Ruiz.

Se tuvieron en cuenta para este estudio únicamente tortugas con un largo recto de caparazón mínimo de 200 mm, medida a partir de la cual se consideran individuos subadultos o adultos. Se realizó un examen físico externo general a todos los organismos que incluyó aspectos como sexo, apariencia de caparazón y plastrón (presencia de algas, dureza, simetría, curvatura, arreglo de escamas, lesiones), mutilaciones (en extremidades, falanges, cabeza, cola), malformaciones, deshidratación (medida como el tiempo en segundos que tarda en regresar la piel del cuello a su apariencia normal tras un leve pellizco), postura

y comportamiento del animal al momento de la exploración, entre otros aspectos. Se registraron datos morfométricos como peso, largo (LRC), ancho (AnRC) y alto (AIRC) recto del caparazón así como largo recto de plastrón (LRP), Anexo 1. Los animales silvestres capturados se identificaron por medio del corte de escamas marginales según el método de Cagle (Vogt, 1980), situación no necesaria en la población *ex situ*, ya que los individuos estaban previamente marcados.

2.4. Colecta sanguínea y análisis hematológicos: A medida que las tortugas se capturaron en las trampas, se dispusieron en recipientes plásticos donde se les mantuvo con recambio frecuente de agua, máximo tres días, hasta el momento de extraer las muestras de sangre. Estas se obtuvieron sin sacrificar al animal y sin comprometer su integridad. Se colectaron aproximadamente 3 mL de sangre mediante punción de la vena yugular (Jacobson, 1992) con jeringas plásticas de 5 cm aguja calibre 25; desinfectando el sitio de punción antes y después de la extracción. Una vez tomadas las muestras de sangre, los animales se devolvieron al lugar de donde se capturaron.

Se realizaron dos frotis sanguíneos por cada tortuga, con sangre sin anticoagulante, inmediatamente después de la extracción, que se fijaron con metanol puro. Para cada muestra sanguínea, se dispuso 0.6 mL en un tubo Microtainer™ con heparina de litio (Becton Dickinson) para los análisis de biometría sanguínea y la cantidad restante de sangre se depositó en un tubo Vacutainer™ de 5 mL sin aditivos (Becton Dickinson) para la extracción de plasma. Ambos tubos se agitaron por 2 minutos, posteriormente el microtainer se refrigeró, y el vacutainer se dejó reposar 30-60 minutos, tras los cuales se centrifugó manualmente durante 15 minutos; el plasma extraído se envasó en tubos Ependorff sellados con parafilm para evitar derrames.

Las muestras de sangre se trasladaron en una nevera convencional (aprox. 4°C) al laboratorio y el plasma se conservó bajo congelación hasta su procesamiento. Los análisis de biometría sanguínea se realizaron antes de que las muestras cumplieran 24 horas de colectadas en el Laboratorio de ecotoxicología

de la División Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT) en Villahermosa, Tabasco, México, mientras que aquellos de química sanguínea se determinaron en el Laboratorio Clínico del Zoológico Miguel Álvarez del Toro (ZOOMAT), en Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.

Las técnicas empleadas para las determinaciones de parámetros hematológicos propuestos en este estudio se exponen a continuación:

Hematocrito (PCV, por sus siglas en inglés, Packed Cell Volume): Se determinó por el método del microhematocrito; se llenaron dos tubos capilares heparinizados por cada tortuga, sellando uno de los extremos con plastilina. Se centrifugaron durante cinco minutos de 10,000 a 12,000 rpm y se leyó la muestra en la tabla de lectura de PCV (Raskin, 2000).

Hemoglobina (Hb): Se determinó por medición en el contador de células automático modelo ABX Micros 60 de Biomerieux.

Recuento de glóbulos rojos y blancos: Se realizaron por el método manual, tomando 0.5 μ L de muestra sanguínea en una pipeta de Thoma para el conteo de eritrocitos (RBC, por sus siglas en inglés) ó 1 μ L en el caso del conteo de leucocitos (WBC, por sus siglas en inglés), utilizando como diluyente el líquido de Natt y Herrick (Frye, 1991), para una dilución de 1:200 y 1:100 respectivamente. Tras la agitación de la pipeta durante dos a tres minutos y después de haber descartado las primeras tres gotas, se procedió a hacer el recuento en la cámara de Neubauer en microscopio óptico a 40x (Muñoz-Zambrano y Morón-Cortijo, 2005).

Se contaron los glóbulos rojos en cinco campos del retículo central y los leucocitos en los diez cuadrados grandes (cinco en cada lado de la cámara) según el caso; al multiplicar estos números por 10,000 para RCB y por 100 para WBC, se estimó el conteo celular por microlitro (Raskin, 2000).

Índices eritrocitarios: A partir de los valores de RBC, PCV y Hb se determinaron los índices de Volumen Corpuscular Medio (MCV, por sus siglas en inglés, Mean Cell Volume), Hemoglobina Corpuscular Media (MCH, por sus siglas en inglés, Mean Cell Hemoglobin) y Concentración de la Hemoglobina Corpuscular Media (MCHC, por sus siglas en inglés, Mean Cell Hemoglobin Concentration) según las fórmulas publicadas por Raskin (2000).

Recuento diferencial de leucocitos: Se evaluaron los componentes celulares mediante tinción con el Kit hemocolorante rápido No. 548 de Hycel®, un método basado en la tinción diferencial tipo Romanowsky. Se revisaron los frotis teñidos en microscopio óptico a 100x y se contaron 100 leucocitos clasificándolos como heterófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos de acuerdo a su morfología (Raskin, 2000).

Hemoparásitos: Los frotis teñidos para el conteo diferencial leucocitario se emplearon para el estudio de parásitos en sangre. Se determinó su presencia, su carga o incidencia en cada organismo mediante el conteo de parásitos en 1,000 eritrocitos (Knotkova *et al.*, 2005) así como su prevalencia en la población; la identificación de los hemoparásitos se limitó a su tipo morfológico, no se pretendió diferenciar a nivel taxonómico detallado.

La incidencia de hemoparásitos se evaluó según las categorías empleadas por Oppliger *et al.* (1998): muy baja (una célula parasitada en cada 10,000-120,000 células); baja (1/400-10,000 células); moderada (1/200-400 células), alta (1/80-200 células) y muy alta (1/10-80 células).

Química sanguínea: Las determinaciones bioquímicas incluyeron analitos como glucosa, colesterol, proteína, albúmina, triglicéridos, urea, ácido úrico, bilirrubina total y calcio mediante un espectrofotómetro Microlab 300 de Vital Scientific.

2.5. Análisis estadístico: Se realizó una inspección estadística en todas las variables evaluadas, resultando que sólo dos cumplieron los supuestos de

comportamiento Gausiano, por lo cual se decidió aplicar pruebas no paramétricas en todo el análisis cuantitativo de la información. No se exploró la variación de los datos con relación al sexo de los individuos debido al número reducido de muestra. Los análisis estadísticos se desarrollaron en el programa Statgraphics Plus for Windows versión 4.0®.

Para el análisis de la condición física de los individuos se empleó la prueba de correlación de Spearman entre los logaritmos en base 10 del peso corporal y LRC en cada grupo de tortugas según la temporada; posteriormente se compararon las regresiones entre estos dos logaritmos mediante un análisis de regresión múltiple. Con el fin de establecer las diferencias en las variables examinadas debidas a los factores de origen (silvestre-cautiverio) y temporada (secas-lluvias) se aplicaron pruebas de Mann-Whitney (estadístico U) para muestras que difieren en tamaño con un $p < 0.05$ como el umbral para valores significativos. Debido a que se malogró una muestra de plasma de las tortugas silvestres del primer muestro, el tamaño de muestra para el análisis de estas pruebas se redujo a 11 en el caso de la bioquímica sanguínea. Los valores de referencia se determinaron a partir de los valores máximo y mínimo para cada grupo según origen y temporada.

III. Resultados

3.1. Evaluación ambiental: En el arroyo Tabasquillo, en los puntos donde se dispusieron las trampas y se capturaron individuos silvestres, durante el muestreo en temporada de secas se determinaron valores promedio de índice QBR de 83/100, profundidad de 4.8 m, transparencia de 61 cm, temperatura superficial de 34.8°C y refugio del 90%. En lluvias los promedios obtenidos no variaron sustancialmente: índice QBR de 87/100, profundidad mayor a 6 m, temperatura de 34.5°C y refugio del 100%. Los valores hallados índice QBR, en ambas temporadas de estudio, indicaron hábitat bueno con pocos disturbios.

La vegetación riparia en el Arroyo Tabasquillo, en cuanto a las especies observadas, fue similar entre temporadas, se registraron hidrófitas flotantes como el lirio acuático (*Eichhornia crassipes*), lechuga de agua (*Pistia stratiotes*), oreja de ratón (*Salvinia auriculata*); hidrófitas enraizadas como el espadaño (*Typha latifolia*) y el carrizo (*Gynerium saggitatum*), vegetación arbustiva y arbórea riparia como Muco (*Dalbergia browni*), Corcho (*Anona glabra*), Zapote de agua (*Pachira aquatica*), Bolchiche (*Coccoloba barbadensis*), Gusano (*Lonchocarpus hondurensis*) Tucuy (*Pithecelobium lanceolatum*) y Guano redondo (*Sabal mexicana*) entre otras, así como pastizales introducidos. La principal diferencia entre periodos de muestreo fue la mayor abundancia de vegetación acuática flotante y frutos provenientes de árboles y arbustos en temporada de lluvias.

La población *ex situ* de *D. mawii* evaluada se encuentra mantenida en un estanque rústico de 22 m de ancho por 40 m de largo, que alberga cerca de 500 individuos subadultos/adultos. Dicho estanque posee una profundidad que puede alcanzar 3.5 m en temporada de lluvias o hasta 1.2 m en temporada de secas. El encierro cuenta con tubería para entrada de agua, aunque no para salida; muy cerca al borde del estanque hay pasto y pequeñas hierbas, no hay arbustos ni vegetación acuática. La alimentación de dichos organismos se basa en el suministro tres veces por semana de la herbácea Mazote (*Melampodium divaricatum*), lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) y alimento concentrado extrudido

flotante con 32% de proteína para pescado tilapia (*Oreochromis spp.*), marca Silver Cup®, dieta complementada ocasionalmente por vegetales o frutas frescas. Las hembras adultas reproductoras son suplementadas con calcio, aproximadamente 1 mL en ejemplares grandes, inyectado por vía intramuscular dos veces al año: la primera en Marzo, tras la finalización de la época de postura, y la segunda de Junio a Julio justo al inicio del cortejo. Los análisis realizados para determinar la calidad de agua del estanque se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Análisis fisicoquímico del agua del estanque de *Dermatemys mawii* en la Granja de Tortugas del Estado, Nacajuca, Tabasco. Julio de 2006.

Parámetro	Resultado	Parámetro	Resultado
Color	Café oscuro	Sólidos totales mg/L	376.6
Olor	No	Sólidos suspendidos totales mg/L	102
Burbujas	Si	Cloruros mg/L	30.08
Temperatura agua °C	30	Fósforo total mg/L	<0.135
Temperatura ambiente °C	35	Nitrógeno amoniacal mg/L	<0.2
pH	9.3	Nitrógeno orgánico mg/L	4.78
Película visible	Si	Sulfatos mg/L	10.661
Materia flotante	Si	DBO mg/L	13.25
Conductividad µmhos/cm	550	Coliformes totales NMP/100mL	1,100
Oxígeno disuelto mg/L	6.62	Coliformes fecales NMP/100mL	490

*NMP/100mL: número más probable en cada 100 mililitros

3.2. Examen físico: En total, se evaluaron 51 organismos, 24 en temporada de secas y 27 en temporada de lluvias. En la primera temporada se colectaron muestras de 12 tortugas silvestres e igual número de cautivas, mientras que el segundo muestreo se incluyeron 10 tortugas silvestres y 17 cautivas. En el arroyo Tabasquillo se capturaron tres machos y nueve hembras en secas, en lluvias se capturaron tres machos y siete hembras. En la Granja de Tortugas todos los ejemplares evaluados fueron hembras en la época de secas mientras que en lluvias se registraron dos machos y 15 hembras.

El examen físico de los organismos evidenció diferentes manifestaciones clínicas del estado de salud de las tortugas entre los sitios de estudio; las tortugas silvestres presentaron mejor apariencia y estado físico externo que las cautivas (Tabla 2). En cautiverio, se registraron lesiones en plastrón y caparazón en el 100% de los individuos evaluados; así mismo se observaron abscesos y heridas

en cabeza y extremidades; incluso se observó la pérdida de la nariz y de un ojo en individuos diferentes; además que más de la mitad mostraron algún grado de deshidratación. En temporada de secas, todos los organismos mostraron edemas de diferentes grados, situación que en lluvias se repitió sólo en dos individuos. En contraposición, las tortugas silvestres sólo mostraron ligeros raspones probablemente producidos ante su intento de huir de las trampas una vez capturadas, aunque fueron los que presentaron mayor cantidad de sanguijuelas como parásitos externos.

Tabla 2. Principales hallazgos en el examen físico de las poblaciones silvestres y cautivas de *Dermatemys mawii*. Los valores indican la cantidad de organismos que en cada caso presentaron dicha manifestación

HALLAZGO	Secas		Lluvias	
	Silvestre (n=12)	Cautiva (n=12)	Silvestre (n=10)	Cautiva (n=17)
Presencia de algas	0	4	0	0
Deformación escamas marginales	0	1	0	0
Anomalía en curvatura de caparazón	0	1	0	1
Anomalía en curvatura de plastrón	0	0	0	1
Presencia de ectoparásitos (sanguijuelas)	2	0	4	1
Mutilaciones	0	1	0	1
Heridas/abscesos/lesiones en caparazón	0	12	0	17
Deshidratación ($t > 5$ s)	0	SD	0	13
Edema	0	10	0	2

SD Sin Datos.

Se encontraron diferencias significativas en la morfometría de dos poblaciones evaluadas para ambas temporadas climáticas (Tablas 3 y 4). Peso, LRC, LRP, AnRC y AIRC fueron significativamente mayores en la población silvestre en ambos sitios, en los dos muestreos realizados. Las tortugas del arroyo Tabasquillo no presentaron diferencias entre temporadas en ninguna de sus medidas morfométricas, y en el caso de la población de la Granja, si hubo diferencias en LRC ($U=159$ $p=0.0123$), AnRC ($U=160$ $p=0.0109$), y AIRC ($U=167$ $p=0.0056$).

Se observaron correlaciones estadísticamente significativas entre los logaritmos del peso y LRC en la población silvestre durante la temporada de secas ($r_{12}=0.8730$, $p=0.0038$) y lluvias ($r_{12}=0.9056$, $p<0.0027$), así como en la cautiva en la temporada de secas ($r_{10}=0.9021$, $p=0.0068$) y lluvias ($r_{17}=0.8570$, $p=0.0006$). Se

compararon las regresiones entre los logaritmos del peso y LRC (Fig. 2), no hallándose diferencias entre poblaciones en temporada de secas (intercepto $F_1=0,08$ $p=0.7808$; pendiente $F_1<0,001$; $p=0.9997$), ni en lluvias (intercepto $F_1=0,53$ $p=0.4758$; pendiente $F_1=0.03$ $p=0,8721$).

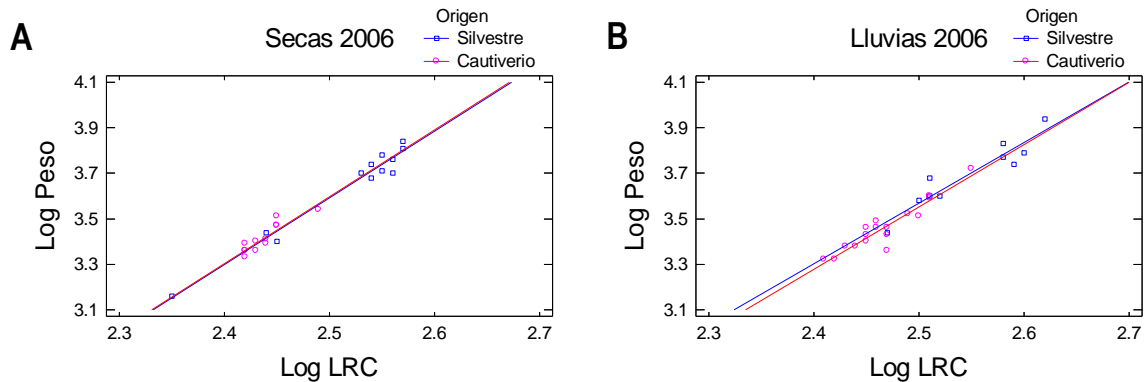


Fig. 3. Comparación de la morfometría de tortugas silvestres y cautivas mediante regresión entre logaritmos decimales de su peso y LRC en temporada de secas (A) y lluvias (B).

3.3. Hematología: Los diferentes parámetros de biometría sanguínea no variaron entre grupos en la temporada de secas excepto en la fórmula leucocitaria, donde los animales silvestres mostraron porcentajes más bajos de linfocitos y más altos de monocitos que aquellos cautivos (Tabla 3). En temporada de lluvias, Hb y MCHC fueron los parámetros que no presentaron diferencias; la población de la Granja mostró niveles significativamente menores en RBC y WBC así como mayores de PCV, MCV y MCH (Tabla 4). Se observaron parásitos sanguíneos del tipo *Haemogregarina sp.* solamente en organismos silvestres, donde su prevalencia en cada muestra evaluada en ambas temporadas fue del 100%. La incidencia de hemoparásitos en la población silvestre fue moderada en la temporada seca y alta en la lluviosa.

Al evaluar el efecto de la temporada climática sobre la biometría hemática en cada población, se halló que en temporada de lluvias, las tortugas silvestres mostraron niveles más bajos de Hb ($U=26$ $p=0.0268$), PCV ($U=10.5$ $p=0.0012$), MCV ($U=15$ $p=0.0033$) y MCH ($U=23$ $p=0.0161$) y más altos de WBC ($U=102$ $p=0.0062$) e incidencia de hemoparásitos ($U=90.5$ $p=0.0468$); mientras que las

cautivas presentaron valores mayores de PCV ($U=158$ $p=0.0127$) y MCV ($U=182$ $p=0.0004$) así como más bajos de MCHC ($U=53$ $p=0.0317$) en la misma temporada.

3.4. Bioquímica: En temporada de secas, las tortugas silvestres mostraron niveles significativamente más altos de glucosa, mientras que las cautivas mostraron valores más altos de colesterol, ácido úrico y urea (Tabla 3). En lluvias, la población silvestre exhibió valores más altos de glucosa, colesterol, albúmina y triglicéridos y más bajos de urea y bilirrubina total con respecto a la población en cautiverio (Tabla 4).

Al analizar el efecto de la temporada sobre los parámetros de bioquímica sanguínea dentro de cada población de tortugas, se encontró que en temporada de secas, las tortugas silvestres presentaron niveles significativamente más bajos de proteínas totales ($U=110$ $p=0.0009$) y albúmina ($U=114$ $p=0.0003$), así como concentraciones más altas de bilirrubina total ($U=23$ $p=0.0161$) y calcio ($U=93$ $p=0.0321$). Los individuos cautivos mostraron diferencias en más analitos que las silvestres; en secas presentaron niveles más altos de colesterol ($U=6$ $p<0.0001$), ácido úrico ($U=15.5$ $p=0.0003$) y urea en sangre ($U=5.5$ $p<0.0001$), mientras que en época de lluvias fueron mayores las concentraciones de proteínas totales ($U=150$ $p=0.0022$), albúmina ($U=176$ $p<0.001$), bilirrubina ($U=7$ $p<0.001$) y calcio ($U=179.5$ $p<0.001$).

Tabla 3. Valores corporales, de biometría y química sanguínea en poblaciones silvestres y cautivas de tortuga blanca *Dermatemys mawii* durante temporada de secas (Abril-Mayo) de 2006.

Parámetro (unidades)	Arroyo Tabasquillo RBPC			Granja de Nacajuca			Mann-Whitney	
	Mediana	Rango	n	Mediana	Rango	n	U	p
Peso (g)	5050	1450-6900	12	2495	2130-3470	12	22	0.0042*
LRC (mm)	352.5	225-375	12	271.5	261-306	12	17.5	0.0018*
LRP (mm)	292	186-320	12	227.5	209-260	12	17.5	0.0018*
AnRP (mm)	238	166-265	12	194	178-213	12	23.5	0.0056*
AIRC (mm)	119.5	89-140	12	97.5	94-114	12	31.5	0.0207*
Hb (g/L)	3.5	2.5-3.8	12	2.8	1.4-3.9	12	46	0.1391
PCV (L/L)	44.5	38-49	12	39	12-50	12	43	0.0988
RBC(x10 ¹² /L)	0.53	0.35-0.69	12	0.42	0.24-0.76	12	40.5	0.0730
MCV (fL)	824.05	681.2-1114.3	12	887.3	272.7-1500.0	12	76	0.8399
MCH (pg)	64.49	48.08-97.14	12	64.98	36.84-106.66	12	79.5	0.6860
MCHC (g/L)	7.79	6.25-8.72	12	7.73	3.89-22.5	12	76	0.8399
WBC (x10 ⁹ /L)	13.45	7-24.2	12	13.65	5.5-20.4	12	63	0.6236
Linfocitos (%)	39.5	28-68	12	50.5	38-68	12	110.5	0.0280*
Heterófilos (%)	44.0	5-60	12	30.5	10-45	12	51.0	0.2371
Eosinófilos (%)	11.5	4-38	12	19.5	5-26	12	103.0	0.0774
Monocitos (%)	4.5	0-18	12	0	0-3	12	14.5	0.0007*
Basófilos (%)	1	0-8	12	0	0-1	12	43.5	0.0667
Glucosa (mg/dL)	71	25-98	12	30	24-47	12	12.5	0.0011*
Colesterol (mg/dL)	160.5	62-215	12	260	98-333	12	113	0.0042*
Proteína Total (g/dL)	1.85	1.2-2.3	12	1.7	0.9-2.4	12	52	0.4032
Albúmina (g/dL)	0.6	0.3-0.9	12	0.6	0.3-0.8	12	47	0.2077
Triglicéridos (mg/dL)	30	6-190	12	26	9-40	12	55	0.5179
Acido úrico (mg/dL)	1.5	0.1-3.2	12	6.2	1.4-9.8	12	124	0.0004*
Urea (mg/dL)	3	1-5	12	65	6-88	12	132	0.0001*
Bilirrubina total (mg/dL)	0.37	0.24-0.39	12	0.41	0.27-0.57	12	85	0.1123
Calcio (mg/dL)	3.55	0.8-8.3	12	4.3	1-8	12	60	0.7582
Hemoparásitos (n/1000 eritrocitos)	4	1-14	12	0	0	12	-	-

* p < 0.05 indica diferencias significativas

** p < 0.01 indica diferencias altamente significativas..

Tabla 4. Valores corporales, de biometría y química sanguínea en poblaciones silvestres y cautivas de tortuga blanca *Dermatemys mawii* durante temporada de lluvias (Septiembre-Octubre) de 2006.

Parámetro (unidades)	Arroyo Tabasquillo RBPC			Granja de Nacajuca			Mann-Whitney	
	Mediana	Rango	n	Mediana	Rango	n	U	p
Peso (g)	5175	2750-8750	10	2900	2100-5200	17	16	0.0006**
LRC (mm)	354.5	292-421	10	291	260-358	17	14	0.0004**
LRP (mm)	294.5	241-344	10	244	214-298	17	20	0.0012**
AnRP (mm)	240	202-284	10	211	186-246	17	27	0.0039**
AIRC (mm)	126.5	99-166	10	110	97-126	17	34	0.0111*
Hb (g/L)	2.85	1.8-3.3	10	2.9	1.9-3.5	17	100	0.4644
PCV (L/L)	37.5	28-43	10	50	30-60	17	146	0.0023**
RBC($\times 10^{12}/L$)	0.52	0.44-0.57	10	0.39	0.23-0.55	17	9	0.0001**
MCV (fL)	694.4	538.3-811.3	10	1279.1	1060.6-1935.5	17	170	<0.0001**
MCH (pg)	55.3	33.3-62.3	10	74.4	45.8-126.1	17	135	0.0129*
MCHC (g/L)	7.68	5-10.36	10	5.8	3.8-10.7	17	46.5	0.0562
WBC ($\times 10^9/L$)	23.25	12-30.3	10	13.9	10.7-19.6	17	15	0.0005**
Linfocitos (%)	52	31-63	10	50	24-73	17	89.5	0.8407
Heterófilos (%)	23	17-57	10	31	10-47	17	89.0	0.8603
Eosinófilos (%)	16	5-31	10	15	6-37	17	82.5	0.9197
Monocitos (%)	3.5	0-7	10	1	0-3	17	32	0.0060*
Basófilos (%)	0	0-2	10	0	0-2	17	70	0.2819
Glucosa (mg/dL)	77.5	41-91	10	38	20-59	17	8	0.0001**
Colesterol (mg/dL)	113	86-169	10	79	49-114	17	16	0.0006**
Proteína Total (g/dL)	2,35	2.0-3.0	10	2.3	1.6-2.7	17	54	0.1236
Albúmina (g/dL)	1.05	0.8-1.4	10	0.9	0.6-1.3	17	40.5	0.0248*
Triglicéridos (mg/dL)	74	18-326	10	21	12-41	17	12	0.0003**
Acido úrico (mg/dL)	1.3	0.6-2,7	10	1.5	0.7-3.9	17	103.5	0.3647
Urea (mg/dL)	2.0	2.0-5.0	10	5.0	3.0-8.0	17	155	0.0004**
Bilirrubina total (mg/dL)	0.015	0.01-0.03	10	0.03	0.01-0.4	17	128	0.0261*
Calcio (mg/dL)	6.6	4.2-11.3	10	8.02	6.7-9.1	17	117	0.1135
Hemoparásitos (n/1000 eritrocitos)	10	1-20	10	0	0	17	-	-

* p < 0.05 indica diferencias significativas

** p < 0.01 indica diferencias altamente significativas.

IV. Discusión

Las poblaciones silvestres de *D. mawii* han disminuido considerablemente debido a la presión que se ejerce sobre ella para el consumo humano, así como la pérdida de su hábitat, y debido a esto, los esfuerzos por conservar la especie en su ambiente natural son complementados por iniciativas de crianza en cautiverio que, sin embargo, presentan problemáticas relacionadas con su condición fisiológica. Esta situación se evidenció en el presente estudio, en el que la población de tortugas adultas de la Granja mostró un estado físico deficiente. Los principales signos externos de una salud pobre, tales como las lesiones en caparazón, abscesos y heridas en piel, así como mutilaciones, observados tanto en temporada de secas como de lluvias, pueden estar relacionados con deficientes condiciones de manejo. Las lesiones en los escudos superficiales son comunes en reptiles acuáticos. Las principales causas de estas erosiones son heridas por mordeduras, baja calidad del agua (por falta de filtración y/o cambios regulares del agua), sustratos ásperos y estrés por nutrición deficiente o hacinamiento (Barten, 1996). Las lesiones en el caparazón usualmente son blanco fácil de infecciones por bacterias u hongos, lo que puede degenerar en abscesos, ulceración y necrosis de tejidos, últimos dos casos en que la enfermedad puede llegar a ser crónica, altamente contagiosa, causando descamación en tortugas acuáticas (Boyer, 1996).

Los edemas observados en tortugas cautivas en temporada de secas son signos de enfermedad. Dadas las condiciones de manejo y los altos niveles de nitrógeno en sangre, dichos edemas pueden estar relacionados con trastornos en los riñones y/o el hígado, aunque también se reportan como ligados a enfermedades cardio-pulmonares, obstrucción intestinal e hipoproteinemia (Boyer, 1996). Esto puede estar asociados a su vez, con la deshidratación registrada en los organismos cautivos, que también es síntoma de acumulación de productos de desecho en el cuerpo, lo que pueden devenir en una falla renal aguda o crónica y que puede evidenciarse en elevados niveles de ácido úrico, PCV y proteínas totales (Klingenberg, 1996).

Factores como enfermedad renal, deshidratación y/o exceso de proteína en la dieta pueden desencadenar en gota, una enfermedad de depósito de sales de uratos en los tejidos del animal, con formación de pequeños granulomas que se depositan gradualmente, ya sea en saco pericárdico, riñones, hígado, bazo, pulmones, tejido subcutáneo y otras áreas de tejido blando, y que pueden causar la muerte en diversos reptiles (Mader, 1996). Es importante suministrar la cantidad y calidad adecuada de agua y proteína en la dieta, para asegurar el balance hídrico de los organismos. En tortugas herbívoras, un exceso de proteína en la dieta puede generar una superabundancia de purinas, que se metabolizan hasta producir ácido úrico, en una proporción que excede la capacidad reguladora del sistema excretor (Marqués y Juan-Sallés, 2006). Por lo anterior y dadas las condiciones en que vive la población cautiva de *D. mawii*, es consecuente pensar que son evidentes errores en el manejo de los organismos, y que éstos los hacen susceptibles a padecer enfermedades como gota y afecciones renales, entre otros, ante lo que es indispensable realizar necropsias de animales enfermos, moribundos o recién muertos, ya que pueden generar información valiosa sobre las causas de muerte (Berry y Christopher, 2001).

El agua del estanque donde viven las tortugas blancas en la Granja excede varios lineamientos de la Ley Federal de Derechos en Materia de Aguas (2007) para la protección de la vida acuática en aguas dulces (incluye humedales). Los límites permisibles para algunos de los parámetros evaluados, que superaron dicha normatividad, son: pH (6.5 a 8.5), sólidos suspendidos totales (30 mg/L), fósforo total (0.05 mg/L), nitrógeno amoniacal (0.06 mg/L) y coliformes totales (1,000 NMP/100 mL); así mismo, los niveles de oxígeno disuelto son duplicados por la demanda bioquímica de oxígeno, lo que indica que los requerimientos de oxígeno para la descomposición de la materia en el estanque sobrepasan el oxígeno disponible, determinando anoxia en el agua.

En acuicultura, son deseables valores de pH de 6 a 9, rango excedido en este estudio, y que se relaciona peligrosamente con altas temperaturas y elevados valores de amoniaco (Summerfelt, 1998). Este compuesto en los estanques,

proviene de la descomposición de desechos orgánicos procedentes de algas, plantas, animales y alimento no consumido, y como resultado de los procesos de excreción animal. El nitrógeno amoniacal en el agua está presente en dos formas: el amoniaco, NH_3 , la forma no ionizada, y el amonio, NH_4^+ . El NH_3 es tóxico, y en animales acuáticos puede ocasionar severos problemas respiratorios e irritación en la piel. Valores de pH y temperatura altos están relacionados con una elevada conversión de iones amonio hacia gas amoniaco, lo que causa incremento en los niveles tóxicos de amonio en la poza (De la Lanza-Espino, 1998). A una temperatura de 28°C y 9,2 U-pH se espera que aproximadamente 52.6% del nitrógeno amoniacal total sea su forma no ionizada (NH_3) tóxica. Extrapolando esta situación a la Granja de tortugas estudiada, es posible pensar que los animales se encuentran sumergidos en agua con un alto porcentaje de NH_3 perjudicial para la salud de las tortugas. Para disminuir los niveles de amoniaco deben tomarse medidas como hacer recambio del agua el estanque, disminuir la densidad de organismos, dar aireación a la poza, reducir y mejorar los métodos de alimentación o, en caso de emergencia, reducir el pH (Primary Industries and Resources S.A., 1999).

En la Granja también se observan altos niveles de sólidos totales y sólidos suspendidos totales (Tabla 1), que son característicos de aguas lodosas y muy turbias, que en este caso se pueden relacionar con material arcilloso proveniente del lavado de las paredes del estanque al que se suma la materia orgánica en descomposición, proveniente de las heces de los mismos animales y alimento no consumido, que para su degradación total consumen oxígeno (De la Lanza-Espino, 1998) lo que también los hace responsables de la anoxia del agua en el estanque de la Granja.

La mala condición del agua aunada al hacinamiento y la ausencia de recambio frecuente y total del agua, conforman una combinación perjudicial que puede ser causa de muchos de los síntomas de enfermedad en los organismos. La calidad del agua de la que disponen las tortugas acuáticas es fundamental en su estado de salud y la mejor forma de asegurarlo es a través de cambios

completos de agua (Boyer y Boyer 1996), lo cual es prácticamente imposible en estanques al aire libre, como en la Granja de tortugas. En este caso, sería recomendable mantener un flujo de ingreso así como de salida de agua, y de igual forma, filtrar el líquido ya que las tortugas producen gran cantidad de heces sólidas que contienen niveles considerables de desechos nitrogenados (Boyer y Boyer, 1996).

En contraposición a la situación observada para la Granja del Estado, en el Arroyo Tabasquillo se obtuvieron elevados índices de calidad de hábitat que reflejan alta riqueza de vegetación riparia, de estructura continua, así como modificaciones menores en el curso de agua. Esto aunado a las condiciones físicas aceptables de las tortugas evaluadas, es indicativo de una población silvestre saludable.

Teniendo en cuenta que generalmente la manifestación de signos de enfermedad en reptiles sucede cuando el trastorno fisiológico interno es avanzado, se incrementa el valor del análisis hematológico como herramienta de diagnóstico. Incluso, se hace necesaria la implementación de otras herramientas diagnósticas a través de análisis de muestras de orina, heces y tejidos que permitan establecer protocolos preventivos o correctivos en fases tempranas de los padecimientos, cuando la posibilidad de recuperación es más alta.

Las diferencias en los valores de Peso, LRC, LRP, AnRC y AIRC sugieren que las poblaciones de *D. mawii* evaluadas son de diferente edad. Las tortugas silvestres exhibieron mayor talla y peso que las cautivas en cada una de las temporadas de muestreo y su mediana de LRC superó los 35 cm, valor que Vogt y Flores-Villela (1992) establecen como longitud mínima de adultos de la especie, lo que indica que la mayoría de organismos evaluados en Tabasquillo fueron adultos mientras en la Granja fueron subadultos.

En relación a la asociación entre los logaritmos del peso y LRC, no se observaron diferencias entre las líneas de regresión de estas dos variables entre la población silvestre y la cautiva en cada temporadas, pero es necesario ser

cautelosos en su análisis. Que la información arrojada no evidencie diferencia no significa que las poblaciones son igualmente saludables. Jacobson *et al.* (1993) no encontraron diferencias en los interceptos ni las pendientes cuando compararon las líneas de regresión de dos poblaciones, una sana y otra enferma, de tortugas del desierto (*G. agassizii*), a pesar que el grupo de animales enfermos pesaba alrededor de 7% menos que el clínicamente saludable. Tampoco el peso fue un dato fiable de comparación, porque hubo tortugas enfermas que pesaron más que otras saludables de similar talla en longitud. Es por esto que no se sugiere establecer la condición de salud de las tortugas basándose solamente en su peso y longitud, y que para que sea útil esta información debe ser complementada con el examen físico, análisis de muestras biológicas, radiología, entre otras herramientas (Jacobson *et al.*, 1993).

La combinación de herramientas empleadas en este estudio para determinar el estado de salud de las poblaciones de tortuga blanca, que incluye examen físico externo, comparación de datos morfométricos y análisis de biometría y química sanguínea determinan que la población cautiva, presente en la Granja del Estado, no es saludable, y que la población silvestre, habitante del arroyo Tabasquillo sí es saludable. Por lo tanto, a pesar del reducido tamaño de la muestra que se pudo obtener en cada periodo de muestreo, es muy probable que los organismos silvestres analizados exhiban niveles que se aproximen a los intervalos de referencia para la especie; aunque sólo representativos para una porción de la población total, debido a los tamaños reducidos de las muestras, tanto en temporada de secas (n=12) como en lluvias (n=10), con los cuales aproximadamente hay un 99% de probabilidad de que el 50% de la población esté dentro de los límites de los valores observados, aplicando los criterios publicados por Walton (2001).

Los valores hematológicos de tortuga blanca determinados en este estudio muestran diferencias con los de otras especies de quelonios, como la tortuga blanca marina, *C. mydas*, la tortuga del desierto de California, *G. agassizii*, la tortuga casquito de Muhlenbergii, *C. muhlenbergii*, y la tortuga de orejas rojas, *T.*

scripta (Tabla 5). Dichas diferencias deben apreciarse con mesura, ya que pueden responder a características propias de la especie, así como al efecto que tienen diversos factores como las condiciones ambientales, dieta y metodología de análisis, entre otros, sobre los parámetros hematológicos.

Tabla 5. Valores de hematología y bioquímica plasmática en algunas especies de quelonios de hábitos marino, terrestre, semiacuático y dulceacuático

Parámetro	<i>Chelonia mydas</i> ¹	<i>Gopherus agassizii</i> ²	<i>Clemmys muhlenbergii</i> ³	<i>Trachemys scripta</i> ^{4,5}	<i>Dermatemys mawii</i> ⁶
PCV (L/L)	26.4-42	13.7-39.9	12-33	12-26	28-49
Hemoglobina (g/L)		3.6-10.3		5.9-8.9	1.8-3.8
RBC (10 ¹² /L)		0.28-1.35		0.37-0.78	0.35-0.69
WBC (10 ⁹ /L)		0.39-10.92	3-13	9.7	7.0-30.3
Glucosa (mg/dL)	87-167	40-186	5-131	70	25-98
Colesterol (mg/dL)	73-365	17-496			62-215
Proteína total (g/dL)	2.6-2.9	1.7-5.4	1.2-4.5	3.6	1.2-3.0
Albumina (g/dL)	0.6-2.1	0.5-2.2	0.3-1.4		0.3-1.4
Triglicéridos (mg/dL)	43-413	2-439			6-326
Urea (mg/dL)	2-37	1-57	2-52	22	1-5
Acido úrico (mg/dL)	0.5-3.5	1.2-14.7	0.3-7.5	1	0.1-3.2
Calcio (mg/dL)	1.6-12.2	8.1-30.7	5.9-30.1		0.8-11.3
Bilirrubina Total (mg/dL)	0-0.3	0-0.3			0.01-0.39

Tomado de ¹Bolten y Bjorndal, 1992; ²Christopher *et al*, 1999; ³Brenner *et al*, 2002; ⁴Stein, 1996; ⁵Frye, 1991; ⁶Presente estudio, población silvestre.

En comparación con las especies listadas en la Tabla 5, *D. mawii* exhibe niveles de PCV mayores, y en contraposición, la hemoglobina es menor; RBC es similar pero WBC supera ampliamente el límite superior de los rangos. Los parámetros bioquímicos en tortuga blanca se encontraron dentro de los rangos reportados en la Tabla 5 para otras especies de quelonios: no hay diferencias aparentes en los niveles de glucosa, colesterol, proteína total, albúmina, triglicéridos, urea, ácido úrico y bilirrubina total, aunque la concentración de calcio es más baja.

La detección de diferencias en parámetros de biometría hemática entre poblaciones silvestres y cautivas de *D. mawii* durante la temporada de lluvias, más no en la de secas, puede ser la evidencia en sangre del contraste en la condición física de las tortugas durante este periodo. En poblaciones silvestres y cautivas de *C. mydas*, Bolten y Bjorndal (1992) encontraron promedios más altos de PCV en

individuos silvestres, aunque ellos mismos citan otras publicaciones que mencionan valores más bajos para este parámetro.

La fórmula leucocitaria mostró diferencias entre poblaciones en grupos celulares como linfocitos, en secas, y en monocitos en ambas temporadas. En reptiles, los linfocitos pueden representar hasta el 80% del conteo leucocitario diferencial y es común que las hembras de algunas especies posean mayor cantidad de este tipo celular que los machos; la linfocitosis (aumento en la cantidad de linfocitos) puede estar asociada a procesos de inflamación o cicatrización de heridas, parasitosis y enfermedades virales (Rosskopf, 2000). En el presente estudio, los niveles de linfocitos en ambas poblaciones durante las dos temporadas se encuentran dentro de los rangos reportados para reptiles, las diferencias observadas en secas pueden deberse a que los animales de la Granja en su mayoría fueron hembras o que su condición física no fue buena. Por otra parte, los monocitos usualmente están en pequeños números en la sangre periférica, comprendiendo de 0% hasta 20% del conteo diferencial, y su presencia en elevada cantidad puede responder a enfermedades infecciosas (Rosskopf, 2000; Frye 1991). La proporción de monocitos en la fórmula leucocitaria de la población silvestre se encuentra dentro del rango reportado para reptiles.

En relación a los parámetros de bioquímica sanguínea, las diferencias observadas entre poblaciones en los niveles de glucosa, en ambas temporadas de muestreo, en el que las tortugas cautivas presentan concentraciones bajas en relación a las silvestres, pueden estar relacionadas con el ambiente de manejo que puede resultar menos favorecedor para las tortugas de la Granja. En general, los valores normales de glucosa en reptiles fluctúan entre 60 y 100 mg/dL y su concentración varía de acuerdo a la especie, el estado nutricional y las condiciones ambientales (Campbell, 1996). Aunque los quelonios exhiben niveles sanguíneos de glucosa generalmente más bajos que los mamíferos (Raphael, 2003), la hipoglicemia en reptiles puede ser consecuencia de inanición, malnutrición, dietas altas en proteína, hepatopatías severas, septicemias y endocrinopatías (Campbell, 1996).

En temporada de secas, las tortugas cautivas mostraron niveles elevados de colesterol, que en quelonios están asociados como respuesta al hambre (Reavill, 1994), lo cual indica la necesidad de mejorar el manejo alimenticio de la población *ex situ*. En tortugas terrestres, los niveles de colesterol reportados fluctúan entre 33 a 235 mg/dL (Stein, 1996). Las diferencias en este analito entre poblaciones en cada temporada de muestreo pueden estar relacionadas con las variaciones estacionales asociadas en la reproducción, sin embargo no es posible relacionar los valores encontrado con las fases reproductivas en *D. mawii* ya que no se cuenta con información de esta índole. *C. mydas* exhibe niveles de colesterol en suero más altos durante el verano y la primavera lo cual puede estar relacionado con los altos requerimientos de colesterol para el crecimiento y maduración de los folículos ováricos, niveles que decaen en la temporada de otoño, debido a que los folículos ya han alcanzado su tamaño de madurez (Alkindi *et al.*, 2001b; Christopher *et al.*, 1999).

La concentración de proteína total en reptiles normales varía entre 3 y 8 g/dL, un rango considerablemente mayor al determinado en este trabajo (Tablas 3, 4), aunque este hallazgo no sugiere enfermedad, ya que la población silvestre saludable evidenció estos niveles. La hipoproteinemia en reptiles se asocia frecuentemente con malnutrición, malabsorción, maldigestión, enteropatías, pérdida severa de sangre y enfermedad renal o hepática crónica. La hiperproteinemia se presenta cuando hay deshidratación o se elevan las globulinas como resultado de enfermedad inflamatoria crónica (Campbell, 1996).

Se reportan en tortugas terrestres niveles de albúmina entre 0.8 y 17 g/dL, y los hallados en este estudio fueron un poco más bajos que el límite inferior de este rango. En la Granja, se observaron niveles más bajos de albúmina en temporada de secas que en el arroyo Tabasquillo, probablemente asociados la deficiente condición física observada o alimentación inadecuada, ya que bajos niveles de este compuesto pueden estar asociados con infecciones, problemas metabólicos (Van-Saun, 1996) o la reducción de la ingesta de nutrientes producto de la hibernación (Christopher *et al.*, 1999).

Los niveles de ácido úrico elevados en la población cautiva durante la temporada de secas, son casi cuatro veces los determinados en las tortugas silvestres y pueden estar relacionados con las condiciones de manejo, sin embargo, los valores de ambas poblaciones se encuentran dentro del rango de normalidad, que va desde 0 a 10 mg/dL en la mayoría de reptiles. El ácido úrico es el principal producto final de la catálisis de proteínas, nitrógeno no proteico y purinas en reptiles; teniendo como regla general que 80 al 90% del nitrógeno total excretado se desecha en forma de ácido úrico en los reptiles terrestres, razón por la cual son considerados organismos uricotélicos. Valores elevados de este compuesto (>15 mg/dL) pueden estar asociados con altos niveles de calcio, proteína o urea en la dieta, hipervitaminosis D, enfermedades renales y gota. También pueden influir en su aumento las bacteriemias y septicemias (Campbell, 1996).

La urea sanguínea fue el parámetro que mayor diferencia mostró entre los dos grupos evaluados. Durante la temporada de secas, las tortugas cautivas exhibieron una mediana en este compuesto de 65 mg/dL. Debido a que los reptiles son animales uricotélicos, el valor normal de urea en sangre en la mayoría de estas especies es menor de 10 mg/dL aunque en algunas tortugas terrestres tiende a ser un poco más alto que en otros reptiles, exhibiendo un rango entre 20 a 100 mg/dL. Los niveles elevados de este analito pueden indicar problemas renales (Campbell, 1996), deshidratación o una dieta alta en proteínas (Brenner *et al.*, 2002) lo que es consistente con un periodo de aumento en la concentración del agua en temporada de secas, por evaporación debido a las altas temperaturas y poca precipitación, así como por la descomposición de desechos orgánicos (heces y alimento no consumido). En temporada de lluvias, las diferencias los niveles de urea entre poblaciones persistieron, aunque se redujeron los valores de este parámetro en la Granja debido posiblemente a la dilución de este compuesto en el agua de los estanques, con aquella proveniente de las precipitaciones pluviales.

Un compuesto analizado que no es indicativo seguro de enfermedad hepática en reptiles es la bilirrubina, que exhibe valores muy bajos, incluso a veces indetectables en reptiles (Campbell, 1996). Aunque se encontraron diferencias para la segunda temporada de muestreo, el valor diagnóstico de este compuesto es pobre.

El nivel de calcio varía entre especies de reptiles, pero generalmente oscila entre 8 a 20 mg/dL, bajos niveles de calcio pueden ser consecuencia de la variación normal fisiológica de este elemento (Campbell, 1996). Se observaron diferencias en la concentración de calcio entre temporadas, los valores elevados registrados en época de lluvias posiblemente están asociados a un evento previo al periodo de ovoposición. Es probable que en esta especie, de la misma manera que con otros reptiles, durante la foliculogénesis, los niveles de algunos componentes plasmáticos (como calcio, fósforo, globulina, colesterol y triglicéridos) puedan ser un poco elevados antes de la producción de huevos en reptiles hembras (Raphael, 2003; Christopher *et al.*, 1999). Incluso, el calcio puede incrementarse de dos a cuatro veces más de lo normal durante la foliculogénesis activa, donde existe una movilización de este elemento de los huesos como resultado de la actividad estrogénica (Campbell, 1996).

La dieta es un factor decisivo en la salud de un animal, por esto se considera que los animales cautivos sometidos a dietas no naturales no son idóneos para evaluar algunos parámetros fisiológicos y extrapolarlos a las poblaciones de vida libre (Bolten y Bjorndal, 1992). Esto evidencia la importancia del tipo de dieta sobre la salud del animal y de emplear organismos silvestres para determinar los intervalos de referencia de una especie. La dieta natural de *D. mawii*, abarca el consumo de variada vegetación hidrófita y riparia, incluyendo frutos y hojas, aunado a un inesperado consumo de proteína animal, ya sea de manera deliberada o accidental, como crustáceos, moluscos y peces (Gil-Alarcón *et al.*, 2006).

En relación a los hemoparásitos, en este estudio se identificó la presencia de *Haemogregarina sp.*, un parásito común en reptiles, especialmente aquellos de hábitos acuáticos que suele diagnosticarse mediante análisis de frotis sanguíneos, ya que no son usuales las manifestaciones clínicas externas (Johnson, 2004). Este microorganismo se encontró exclusivamente en los individuos silvestres de *D. mawii* evaluados; por lo cual es probable que esta condición se relacione con la presencia del organismo vector en el ambiente y que dicho intermediario no exista o su población sea muy baja en la Granja, y que por consiguiente no se presente el ciclo de transmisión. Se desconoce la especie vector de este parásito en el caso de la tortuga blanca, pero es presumible que sea una sanguijuela como se tiene reportado para diversas especies de tortugas infectadas con *Haemogregarina sp.* donde se maneja que su transmisión se realiza presuntamente a través de especies de sanguijuelas como *Placobdella ornata*, *P. parasitica* o *P. bistriata* (De Campos-Brites y Rantin, 2004; Siddall y Dessler, 2001; Strohlein y Christensen, 1984). Al relacionar esta información con los hallazgos de ectoparásitos en las tortugas evaluadas (Tabla 2) se encontró mayor incidencia de sanguijuelas en los individuos silvestres que en los cautivos, lo cual presuntamente está asociado con la alta prevalencia de este hemoparásito en los animales del Arroyo y su ausencia en aquellos de la Granja.

No son claras las razones de la diferencia en el parasitismo de sanguijuelas en las tortugas blancas de los ambientes incluidos en este estudio. Sin embargo, se encuentran referencias sobre la variación en las poblaciones de sanguijuelas en función de los hábitos de la especie de tortuga que parasitan, la estación y la calidad del agua. Es más frecuente la presencia de *Placobdella* en animales acuáticos que permanecen en aguas profundas, que en aquellos que salen más frecuentemente a la superficie a solearse (Ryan y Lambert, 2005). Así mismo, en verano es común la reducción en la incidencia de este género de sanguijuelas debido a su desecación como consecuencia de un aumento en la exposición al sol por las tortugas (McAuliffe, 1977; Dodd, 1988). Se reporta mayor incidencia de *Placobdella* en tortugas de ambientes con baja calidad de agua (De Campos-Brites y Rantin, 2004). Los análisis realizados al agua de los estanques de la

Granja, sugieren baja calidad con características extremas como anoxia, pH básico y nitrógeno amoniacal elevado, entre otros aspectos, condiciones que probablemente limiten el establecimiento de poblaciones de sanguijuelas, aunque no se encontró literatura que sustente esta hipótesis.

El nivel de parasitismo de *Haemogregarina sp.* en *D. mawii* de origen silvestre fue mayor en temporada de lluvias; situación que puede estar relacionada con la variación estacional en la incidencia de sanguijuelas (De Campos-Brites y Rantin, 2004), aunque en este estudio las causas de dicha variación en la abundancia de ectoparásitos no son claramente identificadas, se evidencia la necesidad de información al respecto.

En reptiles, es común encontrar hemoparásitos durante las revisiones sanguíneas, pero es difícil de determinar el significado clínico de esos hallazgos. La mayoría de hemoparásitos se consideran inocuos en especies no domésticas, pero altas parasitemias pueden causar anemia, y su patogenicidad puede reforzarse cuando se presentan en combinación con otros agentes causales de enfermedad (Peirce y Adlard, 2004). Los altos niveles de parasitismo por *Haemogregarina sp.* y la ausencia de signos de enfermedad en *D. mawii* silvestres, sugieren que este hemoparásito probablemente no es perjudicial en la población estudiada; sin embargo, son necesarios estudios más profundos al respecto.

Algunas parasitemias pueden estar relacionadas con eosinofilia (incremento en la porción de eosinófilos en la fórmula leucocitaria) o con niveles altos de PCV (Jakes *et al.*, 2001); dichas presunciones se evaluaron con los datos obtenidos en este trabajo y no se observó ninguna correlación estadística significativa que denotara algún grado de asociación. La ausencia de la eosinofilia en el caso de animales parasitados puede corroborar que el grado de incidencia de *Haemogregarina sp.* hallado en la población analizada no tiene efectos patógenos sobre los organismos (Frye, 1991).

Este estudio es la primera caracterización del perfil hematológico en tortuga blanca, así como la primera aproximación para evaluar su estado de salud. Los resultados de este trabajo sugieren que las tortugas silvestres son saludables mientras que las cautivas presentan manifestaciones marcadas de enfermedad, asociadas a deficiencias en el manejo y calidad de ambiente. Los datos obtenidos a partir de organismos silvestres proveen un marco de referencia para monitorear la salud de la especie.

V. Conclusiones

Los perfiles hematológicos son herramientas básicas y necesarias para la valoración del estado de salud de un animal. Este trabajo provee información de base sobre la biometría y química sanguínea así como de hemoparásitos en adultos de *D. mawii* y sus variaciones en relación a factores como el origen de los organismos (vida silvestre o cautiverio) y la temporada de muestreo. Los análisis realizados en este estudio incluyen la evaluación física de los organismos, y la caracterización del entorno de las poblaciones, estableciendo conexiones entre la apariencia externa de los animales y las condiciones ambientales con los hallazgos hematológicos.

La condición física de las tortugas fue diferente entre los sitios de trabajo. Los organismos evaluados en la Granja de tortuga manifestaron signos de enfermedad relacionados con protocolos de manejo inadecuados, y su condición de salud varió con el tiempo, lo cual pudo estar asociado a los cambios en la calidad del agua, de manera adicional a las variaciones fisiológicas normales. En contraparte, las tortugas silvestres estudiadas fueron organismos sanos, capturados en hábitats de elevada calidad.

Se encontraron hemoparásitos *Haemogregarina* sp. sólo en tortugas blancas silvestres, su incidencia varió con la temporada de estudio, siendo mayor en estación lluviosa y su prevalencia en las poblaciones estudiadas fue del 100% en ambas temporadas. Es posible que la presencia de este hemoparásito en las tortugas de Tabasquillo y su ausencia en aquellas de la Granja dependa de la presencia/ausencia de un vector, presumiblemente una sanguijuela. Así mismo, es probable que la presencia de estos ectoparásitos esté asociada a la calidad del agua. Al respecto se requiere más estudios para determinar los organismos transmisores del hemoparásito así como la interacción ectoparásito-tortuga-ambiente.

De otra parte, se encontraron posibles relaciones entre la condición del agua de los estanques en que las tortugas cautivas se mantuvieron con su condición física y valores sanguíneos, por lo que se sugiere que en futuros estudios se tenga en cuenta la calidad del agua y se valore su efecto sobre la fisiología de los organismos.

Los parámetros hematológicos variaron en relación a la temporada de estudio (secas y lluvias) y el origen de la población (silvestre o cautiverio); tales variaciones pueden asociarse a la calidad del hábitat/ambiente y de su manejo. A pesar del pequeño tamaño de muestra alcanzado de tortugas blancas silvestres, los resultados de los diversos parámetros sanguíneos evaluados en esta población pueden ser tomados como valores de referencia preliminares para la especie, a la espera de nuevos estudios que incluyan análisis de mayor cantidad de organismos, así como que contemplen la variación debida a factores como sexo, edad y estado fisiológico, entre otros.

VI. Recomendaciones

Los resultados de esta investigación proveen evidencia para sugerir modificaciones en el actual manejo *ex situ* de la especie, lo que redundará en la mejora de los protocolos de manejo en cautiverio de *D. mawii* en entidades que la albergan, como la Granja de Tortugas del Estado en Nacajuca entre otros. Las recomendaciones que permiten hacer los productos de este trabajo, son las siguientes:

1. Modificación del protocolo alimenticio en cautiverio: La tortuga blanca es un organismo herbívoro, por lo cual sus requerimientos proteicos son probablemente excedidos al suministrar alimento concentrado al 32% de proteína. El remplazo este tipo de alimento por uno con menor aporte proteico y/o el suministro de plantas, vegetales y frutas con mayor frecuencia o cantidad son posibilidades que pueden ser consideradas.
2. Mejora del manejo sanitario en cautiverio: Es primordial que se trate de mantener una calidad de agua aceptable en las pozas que alberguen animales. Es necesario implementar medidas que permitan el movimiento del agua y su filtrado. Esto con el fin de remover alimento excedente así como las heces fecales que contaminan el agua y son causantes del síndrome de intoxicación por acumulación de productos nitrogenados en las tortugas. Es recomendable que se hagan evaluaciones de la calidad del agua a través de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos, y su variación en diferentes periodos del año.
3. Control del tamaño de la población en cada encierro: El hacinamiento es un factor que facilita la transmisión de enfermedades y que así mismo acelera la contaminación en el agua. En la Granja de Tortugas del Estado urgen nuevas instalaciones que alberguen a los organismos actuales en mejores condiciones, y así mismo que aseguren la integridad de otros nuevos individuos.

Estas recomendaciones son directrices para tener en cuenta en los arreglos a los protocolos de manejo. Sin embargo, sólo el constante monitoreo, evaluación y ajuste de medidas permitirá encontrar la forma de asegurar que las condiciones de manejo no perjudiquen la salud de los organismos.

Debido a que la población silvestre evaluada es saludable, las posibles recomendaciones son mantener y reforzar las iniciativas de conservación de la especie en su medio natural. El esfuerzo mancomunado por la protección de la tortuga blanca entre las perspectivas científicas y sociales, permitirá acrecentar la conciencia en las personas sobre el elevado grado de amenaza de la tortuga blanca y la importancia de conservar su hábitat para generar los cambios de actitud, evitando su extinción e incluso para recuperar sus poblaciones silvestres.

La relación encontrada entre la calidad ambiental y los hallazgos hematológicos y físicos en las poblaciones silvestres y cautivas de tortuga blanca sugiere que la calidad del entorno define los beneficios o perjuicios sobre la salud de los organismos. Los resultados de esta investigación pretenden traspasar la frontera netamente académica para convertirse en una herramienta que facilite la toma de decisiones. La conservación *ex situ* de una especie es un reto que involucra más allá de medidas higiénicas y basadas en resultados de investigaciones científicas; requiere de políticas administrativas e inversión financiera que permitan corregir posturas erradas e implementar protocolos efectivos de manejo.

VII. Bibliografía

- Alkindi, A.Y.A. y I.Y. Mahmoud. 2002. Hematological survey in two species of sea turtles in the Arabian Sea during nesting season. *Pakistan J. Biol. Sci.* 5(3): 359-361.
- Alkindi, A.Y.A., I.Y. Mahmoud y H. Khan. 2001a. Hemoglobin, plasma Fe and total protein in olive ridley and hawksbill turtles under natural condition in Masirah Island, Oman. *Pakistan J. Biol. Sci.* 4(5): 608-610.
- Alkindi, A.Y.A., I.Y. Mahmoud y H. Khan. 2001b. plasma analysis in normal green sea turtles, *Chelonia mydas*, during two different periods of nesting at ras Al-Hadd, Sultanate of Oman. *Science and Technology*, 6: 21-31.
- Alleman, A.R., E.R. Jacobson y R.E. Raskin. 1992. Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells from the desert tortoise (*Gopherus agassizii*). *Am. J. Vet. Res.* 53: 1645–1651.
- Ávila-Ramírez, L. 2003. Manejo medico y quirúrgico de los padecimientos más comunes de tortugas terrestres, semiacuáticas y marinas mantenidas en cautiverio. Tesis para obtener el título de Médico Veterinario Zootecnista. Universidad Autónoma del Estado de México. 147 p.
- Barten, S.L., 1996. Shell damage. In: Mader, D.R. (Ed.), *Reptile Medicine and Surgery*, W.B. Saunders Co., Philadelphia, E.U.A., pp. 413-417.
- Berry, K.H. y M.M Christopher. 2001. Guidelines for the field evaluation of desert tortoise health and disease. *J. Wildl. Dis.* 37(3): 427–450.
- Blakey, C.S.G. y J.K. Kirkwood. 1995. Body mass to length relationships in chelonians. *Vet. Rec.* 136: 566–568.
- Bolten, A.B. y K.A. Bjorndal. 1992. Blood profiles for a wild population of green turtles (*Chelonia mydas*) in the southern Bahamas: size specific and sex-specific relationships. *J. Wildl. Dis.* 28(3): 407–413.
- Bouchot, C. 1994. Estudio de algunos aspectos de la hematología de la Hicotea *Trachemys scripta venusta* (GRAY, 1885) (Chelonia: Emydidae) en el estado de Tabasco, México. Tesis para obtener el título de Licenciado en Biología. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Villahermosa, México. 96 p.
- Boyer, T.H. y D.M. Boyer. 1996. Turtles, tortoises and terrapins. Section II. In: Mader, D.R. (ed.), *Reptile Medicine and Surgery*, W.B. Saunders Co., Filadelfia, E.U.A., pp. 61-78.
- Boyer, T.H. 1996. Turtles, tortoises and terrapins. In: Mader, D.R. (ed.), *Reptile Medicine and Surgery*, W.B. Saunders Co., Filadelfia, E.U.A., pp. 332-336.
- Brenner D., G. Lewbart, M. Stebbins, y D.W. Herman. 2002. Health survey of wild and captive bog turtles (*Clemmys muhlenbergii*) in North Carolina and Virginia. *J. Zoo Wildl. Med.* 33(4): 311-316.
- Campbell, T.W. 1996. Clinical pathology. In: Mader, D.R. (Ed.), *Reptile Medicine and Surgery*, W.B. Saunders Co., Filadelfia, E.U.A., pp. 248-257.

- Christopher, M.M., K.H. Berry, I.R Wallis, K.A. Nagy, B.T. Henen y C.C. Peterson. 1999. Reference intervals and physiologic alterations in hematologic and biochemical values of free-ranging desert tortoises in the Mojave Desert. *J. Wildl. Dis.* 35(2): 212–238.
- CITES. 2005. Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres. Informe de la Vigésima primera Reunión del Comité de Fauna AC21 Doc. 11.2. 20 a 25 de mayo. Ginebra, Suiza, 23 p.
- De Campos-Brites, V.L. y F.T. Rantin. 2004. The influence of agricultural and urban contamination on leech infestation of freshwater turtles, *Phrynops geoffroanus*, taken from two areas of the Uberabinha river. *Environ. Monit. Assess.* 96: 273-281.
- De la Lanza-Espino, G. 1998. Aspectos fisicoquímicos que determinan la calidad del agua. En: Martínez-Córdova, L.R. (Ed). *Ecología de los sistemas acuícolas. Bases ecológicas para el desarrollo de la acuicultura.* A.G.T Editor S.A. 1ª edición. México, pp. 1-26.
- Diaz-Figueroa, O. 2005. Characterizing the health status of the Louisiana gopher tortoise (*Gopherus polyphemus*). Tesis para obtener el título de Maestro en Ciencias en el Programa Interdepartamental de Ciencias Médicas Veterinarias. Universidad Estatal de Louisiana y el Agricultural and Mechanical College. Filadelfia. E.U.A., 109 p.
- Dickinson, V., J. Jarchow y M. Trueblood. 2002. Hematology and plasma biochemistry reference range values for free-ranging desert tortoises in Arizona. *J. Wildl. Dis.* 38(1): 143–153.
- Dodd, C.K., Jr. 1988. Patterns of distribution and seasonal use of the turtle *Sternotherus depressus* by the leech *Placobdella parasitica*. *J. Herp.* 22(1): 74-81.
- Ernst, C.H., R.G.M. Altenburg y R.W. Barbour. 1997. Turtles of the world. ETI's World Biodiversity Database. En: <http://nlbif.eti.uva.nl/bis/turtles.php> Fecha de consulta: 11 de Junio de 2007.
- Frye, F. 1991. Hematology as applied to clinical reptile care. In: Frye, F., (Ed). *Reptile Care: an atlas of diseases and treatments.* Vol. I. THF Publications Inc. Neptune City, Nueva Jersey, E.U.A., pp. 209-279.
- Gil-Alarcon, G, C.E. Zenteno-Ruiz y V.H. Reynoso-Rosales. 2006. Hábitos alimentarios de *Dermatemys mawii* (TESTUDINES: DERMATEMYDIDAE) en la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla, Tabasco, México. Resúmenes IX Reunión Nacional de Herpetología. Monterrey, Nuevo León, México, pp. 9.
- Grumbles, J., D. Rostal y J. Alvarado. 1990. Hematology study on the black turtle, *Chelonia agassizii*, at Playa Colola, Michoacán, Mexico. In: Richardson T.H., Richardson J.I. y Donnelly M. (Eds), *Proceedings of the 10th Annual Workshop on Sea Turtle Biology and Conservation.* NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-278. Hilton Head. E.U.A., pp. 235-239.
- Guzmán-Juárez, E. 2006. Caracterización del hábitat y distribución de las tortugas dulceacuícolas de la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla, Tabasco. Tesis para obtener el título de Licenciado en Biología. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Villahermosa, Méx., 120 p.
- Hernández-Hernández, J. 2002. Obtención de algunos parámetros sanguíneos de la tortuga de agua dulce *Kinosternon herrerae* en el poblado de Santiago Yancuictlalpan, municipio de

- Cuetzalan de Progreso, Puebla. Tesis para obtener el título de Biólogo. Universidad Nacional Autónoma de México. 60 p.
- Instituto Nacional de Ecología. 2000. Programa de Manejo de la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla. Enkidu Editores. México. 220 pp.
- Jacobson, E.R., K. Bjorndal, A. Bolten, R. Herren, G. Harman y L. Wood. 2006. Establishing plasma biochemical and hematocrit reference intervals for sea turtles in Florida. [http://accstr.ufl.edu/blood_chem.htm].
- Jacobson, E.R., J. Schumacher y M. Green. 1992. Field and clinical techniques for sampling and handling blood for hematologic and selected biochemical determinations in the desert tortoise, *Xerobates agassizii*. *Copeia* 1: 237-241.
- Jacobson, E.R., M. Weinstein, K. Berry, B. Hardenbrook, C. Tomlinson y D. Freitas. 1993. Problems with using weight versus carapace length relationships to assess tortoise health. *Vet. Rec.* 132: 222–223.
- Jakes, K.A., P. O'Donoghue, M. Munro y R. Adlard. 2001. Hemoprotozoa of freshwater turtles in Queensland. *J. Wildl. Dis.* 37(1): 12-19.
- Johnson, J.H. 2004. Husbandry and medicine of aquatic reptiles. *Semin. Avian Exot. Pet Med.* 13(4): 223-228
- Klingerberg, R.J. 1996. Therapeutics. In: Mader, D.R. (Ed.), *Reptile Medicine and Surgery*, W.B. Saunders Co., Filadelfia, E.U.A., pp. 299-315.
- Knotkova, Z., S. Mazanek, M. Hovorka, M. Sloboda y Z. Knotek. 2005. Haematology and plasma chemistry of Bornean river turtles suffering from shell necrosis and haemogregarine parasites. *Vet. Med. – Czech*, 50(9): 421-426.
- Lainson, R. y R. D. Naiff. 1998. Haemoproteus (Apicomplexa: Haemoproteidae) of tortoises and turtles. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 265 (1400): 941-949.
- Lawrence, K. y C.M. Hawkey. 1986. Seasonal variations in haematological data from Mediterranean tortoises (*Testudo graeca* and *Testudo hermanni*) in captivity. *Res. Vet. Sci.* 40: 225–230.
- Ley Federal de Derechos en Materia de Agua. 2007. Diario Oficial de la Federación 27-XII-2006. CNA. México, D. F.
- Lieberman, S.S. y W.J. Roskopf. 1984. Blood panel analyses of captive desert tortoises (*Gopherus agassizii*). *Avian/Exotic Practice* 1(3): 15-29.
- Mader, D.R. 1996. Gout. In: Mader, D.R. (Ed.), *Reptile Medicine and Surgery*, W.B. Saunders Co., Filadelfia, E.U.A., pp. 374-379.
- Marqués, H. y C. Juan-Sallés. 2006. Enfermedades nutricionales en reptiles. *Informativo Veterinario ARGOS*, pp. 28-30.
- Mayer, S. 1998. A review of the scientific justifications for maintaining cetaceans in captivity. A report for the Whale and Dolphin Conservation Society. Bath. Reino Unido. 44 p.

- Moll, E. 1986. The distribution, status, and level of exploitation of the fresh water turtle in Belize, Central America. *Biol. Conserv.* 35: 87-96.
- Munné, A., N. Prat, C. Solá, N. Bonada y M. Rieradevall. 2003. A simple field method for assessing the ecological quality of riparian habitat in rivers and streams: QBR index. *Aquatic Conserv: Mar. Freshw. Ecosyst.* 13: 147–163.
- Muñoz-Zambrano, M.E. y C.G. Morón-Cortijo. 2005. Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología. Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud. Lima, Perú. 88 p.
- Oppliger, A., J. Clobert, J. Lecomte, P. Lorenzon, K. Boudjemadi, y H.B. John-Alder. 1998. Environmental stress increases the prevalence and intensity of blood parasite infection in the common lizard *Lacerta vivipara*: *Ecology Letters.* 1 129–138.
- Peirce, M.A. y R.D. Adlard. 2004. Haemoparasites from clinical screening of reptiles in south-east Queensland, Australia. *Vet. Rec.* 155: 708-709.
- Polisar, J. y R.H. Horwich. 1994. Conservation of the large, economically important river turtle *Dermatemys mawii* in Belize. *Conserv. Biol.* 8(2): 338-340.
- Primary Industries and Resources S.A. 1999. Water quality in freshwater aquaculture ponds. Fact Sheet. South Australia. s and Resources South Australia. www.pir.sa.gov.au
- Raphael, B.L. 2003. Chelonians (Turtles, Tortoises) . In: Fowler M.E. y Miller R.E. (Eds). *Zoo and Wild Animal Medicine.* 5a Edición. W.B. Saunders Co., St. Louis, Missouri, E.U.A., pp. 48-58.
- Raskin, R.E. 2000. Reptilian complete blood count. In: Fudge A.M. (Ed.). *Laboratory Medicine: Avian and Exotic pets.* W.B. Saunders Co. E.U.A., pp. 193-197.
- Reavill, D. 1994. Selected Topics in Reptile Clinical Pathology. U. C. Davis Avian/Exotic Animal Symposium 1994. E.U.A.
- Roskopf, W.J. 1982. Normal hemogram and blood chemistry values for California desert tortoises. *Veterinary Medicine/Small Animal Clinician* 77: 85–87.
- Roskopf, W.J. 2000. Disorders of reptilian leukocytes and erythrocytes. In: Fudge A.M. (Ed) . *Laboratory Medicine: Avian and Exotic Pets.* W.B. Saunders Co. E.U.A., pp. 198-204.
- Ryan T.J. y A. Lambert. 2005. Prevalence and colonization of *Placobdella* on two species of freshwater turtles (*Graptemys geographica* and *Sternotherus odoratus*). *J. Herpetol.* 39(2): 284-287.
- Schroeder, B. 1998. Studies of marine turtles in Florida Bay. NOAA. USA. In: [<http://www.aoml.noaa.gov/ocd/sferpm/schroeder.html>]. Visitado 21 de Abril de 2007.
- SEMARNAT. 2001. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2001, Protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación, Publicada el 06 de marzo de 2002
- Siddall, M.E. y S.S. Desser. 2001. Transmission of *Haemogregarina balli* from painted turtles to snapping turtles through the leech *Placobdella ornata*. *J. Parasitol.* 87(5): 1217–1218.

- St. Aubin, D.J., S. DeGuise, P. Richard, T.G. Smith y J.R. Geraci. 2001. Hematology and plasma chemistry as indicators of health and ecological status in beluga whales, *Delphinapterus leucas*. *Arctic* 54(3): 317–331.
- Stein, G. 1996. Hematologic and blood chemistry values in reptiles. In: Mader, D.R. (Ed). *Reptile Medicine and Surgery*. W.B. Saunders, Filadelfia, E.U.A., pp. 473-483
- Strohlein, D.A. y B.M. Christensen. 1984. *Haemogregarina* sp. (Apicomplexa: Sporoxoea) in aquatic turtles from Muyrphy's Pond, Kentucky. *Trans. Amer. Microsc. Soc.* 103(1): 98-101.
- Summerfelt, R.C. 1998. Water quality considerations for aquaculture. Department of Animal Ecology. Iowa State University. summerft.doc
- Troyano, J. y M. Silva. 1998. Valores hematológicos de referencia en tortuga terrestre argentina (*Chelonoidis chilensis chilensis*). *Analecta Veterinaria* 18: 47-51.
- TCF (Turtle Conservation Fund). 2003. The world's top 25 most endangered turtles
- Van Saun, R. 1996. Metabolic profiling to evaluate nutritional and disease status. 31st Annual Pacific Northwest Animal Nutrition Conference, Seattle, Washington. Octubre 10.
- Vogt, R.C. 1980. New methods for trapping aquatic turtles. *Copeia* 1980(2): 368-371.
- Vogt, R.C. y O. Flores–Villela, 1992. Aspectos ecológicos de la tortuga blanca (*Dermatemys mawii*) en la Reserva de la Biosfera Montes Azules. In: Vásquez–Sánchez, M. A. y M. A. Ramos (Eds.) *Reserva de la Biosfera Montes Azules, Selva Lacandona: Investigación para su conservación*. Publ. Esp. Ecosfera 1. México, pp. 221-231.
- Walton, R.M. 2001 Establishing reference intervals: Health as a relative concept. *Semin. Avian Exot. Pet Med.* 10(2): 66-71.
- Zenteno-Ruiz C.E. 2002. Evaluación del estado de conservación del hábitat de *Dermatemys mawii* en la Reserva de la Biósfera Pantanos de Centla. Proyecto de investigación SEMARNAT-CONACyT. 20 p.

ANEXOS

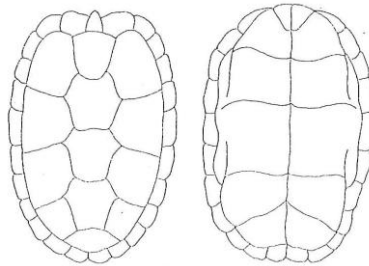
ANEXO I. Formato de examen físico de tortugas blanca *Dermatemys mawii*

EXAMEN FISICO DE TORTUGA BLANCA *Dermatemys mawii*
Tesis de Maestría Judith Rangel Mendoza

Registro No	<input type="text"/>	Fecha	<input type="text"/>	Individuo No	<input type="text"/>	Marcaje	<input type="text"/>
Lugar	<input type="text"/>	Origen	<input type="text"/>	Sexo	<input type="text"/>	Marcas naturales	<input type="text"/>
T°C amb	<input type="text"/>	Humedad	<input type="text"/>	Peso (g)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	
Dieta	<input type="text"/>	Frec dieta	<input type="text"/>	Evaluador	<input type="text"/>		
Enfermedades previas	<input type="text"/>						

DATOS MERÍSTICOS (mm)

Largo R. Capar.	<input type="text"/>
Ancho R. Capar.	<input type="text"/>
Alto R. Capar.	<input type="text"/>
Largo R. Plastr.	<input type="text"/>



PALPACION

1 Limitacion motora

2 Dolor

3 Gravidéz

Grado hidratación (s)

<p>DUREZA CONCHA</p> <p>1 Normal <input type="text"/></p> <p>2 Rebland. Agudo <input type="text"/></p> <p>3 Rebland. Leve <input type="text"/></p> <p>4 Rebland. Plastrón <input type="text"/></p>	<p>ALGAS</p> <p>1 NO <input type="text"/></p> <p>2 Escaso <input type="text"/></p> <p>3 Regular <input type="text"/></p> <p>4 Abundante <input type="text"/></p>	<p>ESCUDOS</p> <p>1 Normal <input type="text"/></p> <p>2 supernumerarias <input type="text"/></p> <p>3 cuántas? <input type="text"/></p>	<p>OBSERVACIONES</p> <p><i>Otras a las variables consideradas antes como absesos fracturas obesidad caquexia osteodermatitis quemaduras prolapso del pene crecimiento excesivo de uñas o boca flotación incorrecta hemorragia deformaciones etc</i></p>
<p>APARIENCIA OJOS</p> <p>1 Brillante <input type="text"/></p> <p>2 Opaco <input type="text"/></p> <p>3 Perdida ocular <input type="text"/></p>	<p>SECRECIÓN OCULAR</p> <p>1 Si <input type="text"/></p> <p>2 No <input type="text"/></p>	<p>MUCOSIDAD BUCAL</p> <p>1 Normal <input type="text"/></p> <p>2 Escasa <input type="text"/></p> <p>Abundante <input type="text"/></p>	
<p>SECRECIÓN NASAL</p> <p>1 Si <input type="text"/></p> <p>2 No <input type="text"/></p>	<p>SECRECIÓN OTICA</p> <p>1 Si <input type="text"/></p> <p>2 No <input type="text"/></p>	<p>ESCAMAS MARGINALES</p> <p>1 Normales <input type="text"/></p> <p>2 enrizadas <input type="text"/></p>	
<p>4 SIMETRIA BILATERAL</p> <p>1 Normal <input type="text"/></p> <p>2 Anormal <input type="text"/></p> <p>3 > lado derecho <input type="text"/></p> <p>4 > lado izquierdo <input type="text"/></p>	<p>4 CURVATURA CAPARAZON</p> <p>1 Normal <input type="text"/></p> <p>2 Anormal <input type="text"/></p> <p>3 concavo + <input type="text"/></p> <p>4 convexo + <input type="text"/></p>	<p>4 CURVATURA PLASTRON</p> <p>1 Normal <input type="text"/></p> <p>2 Anormal <input type="text"/></p> <p>concavo + <input type="text"/></p> <p>convexo + <input type="text"/></p>	
<p>ECTOPARASITOS</p> <p>1 Ninguno <input type="text"/></p> <p>2 Escaso <input type="text"/></p> <p>3 Regular <input type="text"/></p> <p>4 Abundante <input type="text"/></p>	<p>MUTILACIONES</p> <p>1 Ninguna <input type="text"/></p> <p>2 Extremidades <input type="text"/></p> <p>3 Falange <input type="text"/></p> <p>4 cabeza <input type="text"/></p> <p>5 cola <input type="text"/></p>	<p>HERIDAS/EXCORIACIONES</p> <p>1 Ninguna <input type="text"/></p> <p>2 Caparazon <input type="text"/></p> <p>3 Cabeza <input type="text"/></p> <p>4 Extremidades <input type="text"/></p> <p>5 Cloaca y cola <input type="text"/></p> <p>6 Plastron <input type="text"/></p>	

Procedimiento de evaluación de la condición física de los organismos:

1. Toma de anotaciones sobre la fecha de medición, sitio de captura, elección de número de identificación (en el caso de las tortugas silvestres), determinación de sexo, peso y registro condiciones ambientales.
2. Inspección visual del animal, detallando su postura y otros comportamientos. Así mismo, se revisan marcas naturales en plastrón y caparazón, y en el caso del trabajo en cautiverio, se determina el número de organismo.
3. Morfometría: a través del uso de un calibrador o vernier se registran las medidas rectas de la longitud del caparazón y del plastrón, así como el ancho y el alto del caparazón. Se registra el peso de cada individuo.
4. Revisión de cada parámetro contemplado en el formato, y se selecciona la opción según la valoración hecha. Si existe alguna situación no contemplada explícitamente en el formato de registro, se ingresa en la casilla de Observaciones.
5. En el caso de organismos silvestres, se procede a marcar el organismo por corte de escamas marginales; se aplica azul de metileno en la herida como desinfectante y se mantiene un tiempo prudencial (15-60 min) antes de ser devuelta a su medio.

ANEXO II Formato para la evaluación de hábitat ripario empleado en el Arroyo Tabasquillo, tomado de Muneé *et al*, 2003.

EVALUACIÓN DE HABITAT RIPARIO

Fecha _____ Lugar _____

Puntaje	COBERTURA RIPARIA TOTAL	Puntaje
25	>80% de cobertura riparia	
10	50-80% de cobertura riparia	
5	10-50% de cobertura riparia	
0	<10% de cobertura riparia	
+10	Hay conectividad total entre el bosque ripario y el de tierra alta	
+5	>50% de conectividad entre el bosque ripario y el de tierra alta	
-5	25-50% de conectividad entre bosque ripario y el de tierra alta	
-10	<25% de conectividad entre bosque ripario y el de tierras altas	

ESTRUCTURA DE LA VEGETACIÓN

25	> 75% de cobertura arbórea	
10	50-75% de cobertura arbórea	
5	10-50% de cobertura arbórea	
0	<10% de cobertura arbórea	
+10	Por lo menos el 50% del canal tiene helofitas o arbustos	
+5	25-50% del canal tiene helofitas o arbustos	
+5	Si los árboles y arbustos están en los mismos parches	
-5	Si los árboles están regularmente distribuidos y la cobertura de arbustos es >50%	
-5	Si los árboles y los arbustos están distribuidos en parches diferentes, sin continuidad	
-10	Si los árboles están regularmente distribuidos y la cobertura de arbustos es <50%	

CALIDAD DE LA COBERTURA Arroyo tipo 3: pendiente <20% con gran zona riparia (1 pto)

25	Mas de 3 especies nativas	
10	3 especies nativas	
5	1-2 especies nativas	
0	Ausencia de especies nativas	
+10	Si la comunidad de árboles es continua a lo largo del río y cubre por lo menos el 75 del borde del area riparia	
+5	Si la comunidad de árboles es casi continua y cubre por lo menos 50% del área riparia	
+5	Si la comunidad de árboles está estructurada en galería	
+5	si hay más de 4 especies de arbustos	
-5	Si hay edificaciones en el área riparia	
-5	Si hay especies nativas aisladas de las exóticas	
-10	Presencia de comunidades de árboles exóticos	
-10	Presencia de basura	

ALTERACIÓN DEL CANAL

25	Canal del río no modificado	
10	Presencia de terrazas fluviales que modifican el canal del río	
5	Canal modificado por estructuras rígidas a lo largo de las márgenes	
0	arroyo canalizado	
-10	lecho del río con estructuras rígidas (fuentes o pozos)	
-10	Estructuras transversales en el río (continas, paredes)	
TOTAL		

Procedimiento aplicado en la evaluación del hábitat ripario según la metodología sugerida por Muneé *et al.* (2003) en el Arroyo Tabasquillo, Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla:

1. Registro de la fecha de evaluación y sitio de captura (en coordenadas geográficas).
2. Evaluación de la cobertura riparia, otorgando una valoración según el porcentaje de cobertura, teniendo en cuenta puntos extras o menos según la conectividad entre la vegetación riparia y la de tierra alta; el puntaje seleccionado se anota en la celda derecha.
3. Evaluación de la estructura de la vegetación riparia, otorgando una valoración según el porcentaje de cobertura arbórea, teniendo en cuenta la presencia y distribución de los arbustos; el puntaje seleccionado se anota en la celda derecha.
4. Evaluación de la calidad de la vegetación riparia, debido a que el Arroyo Tabasquillo posee una pendiente menor a 20% y tiene amplia zona riparia, se parte de un punto en esta sección. Con ayuda de personal experimentado, se determinan las especies arbóreas de la zona evaluada, y posteriormente se verifica su origen (nativo o exótico); dependiendo de la cantidad de especies nativas se selecciona un valor, al que se puede agregar puntaje por la distribución de las especies de vegetación, o bien, reducir debido a la presencia de las alteraciones contempladas en el formato; el puntaje seleccionado se anota en la celda derecha.
5. Determinación de la alteración del canal según las opciones sugeridas, teniendo en cuentas las posibles reducciones; el puntaje seleccionado se anota en la celda derecha.
6. Sumatoria de los puntajes anotados en las celdas de la derecha del formato, con lo cual se obtiene el índice de calidad de hábitat para el sitio evaluado.

ANEXO III Artículo

Elsevier Editorial System(tm) for Research in Veterinary
Science Manuscript Draft

Manuscript Number:

Title: Hematology and plasma biochemistry of wild and captive Central American river turtles (*Dermatemys mawii*) in Tabasco, Mexico

Article Type: Research Paper

Section/Category: Species

Keywords: freshwater turtles; *Dermatemys mawii*; health; hematology; plasma biochemistry; hemoparasites.

Corresponding Author: Mrs Judith Rangel-Mendoza, M.Sc.

Corresponding Author's Institution: El Colegio de la Frontera Sur

First Author: Judith Rangel-Mendoza, M.Sc.

Order of Authors: Judith Rangel-Mendoza, M.Sc.; Manuel Weber, MVZ, M.Sc, Ph.D; Claudia Elena Zenteno-Ruiz, M.Sc.; Everardo Barba-Macías, M.Sc., PhD.

Abstract: Hematological and plasma biochemistry analyses were conducted on 51 Central American river turtles (*Dermatemys mawii*) during the dry and rainy seasons of 2006. Turtles came from two sites: Pantanos de Centla Biosphere Reserve and a turtle breeding farm, both located in Tabasco State, Mexico. Physical examination and body measures of animals were performed. Incidence and prevalence of hemoparasites were explored. Captive organisms were in poor physical condition while wild turtles were healthy. There were differences in several hematological parameters related with the condition and the season. During the dry season captive turtles exhibited higher levels of uric acid and urea, as well as lower levels of glucose. *Haemogregarina* sp. was detected in 100% of the wild individuals, but not in captives. Its incidence was greater during the rainy season. To the best of our knowledge, this is the first baseline health monitoring study of this critically endangered species.

1 **Hematology and plasma biochemistry of wild and captive Central American river turtles**
2 **(*Dermatemys mawii*) in Tabasco, Mexico**

3 Judith Rangel-Mendoza^{a*}, Manuel Weber^b, Claudia E. Zenteno-Ruiz^c, Marco A. López-Luna^c
4 and Everardo Barba-Macías^a.

5 Author affiliations

6 ^a Departamento de Aprovechamiento y Manejo de Recursos Acuáticos. El Colegio de la Frontera
7 Sur, – ECOSUR. Carretera Villahermosa - Reforma Km. 15.5 Ranchería Guineo, 2a Sección
8 Villahermosa, Tabasco, México. Código Postal 86280 Apartado Postal 1042.

9 ^b Departamento de Ecología y Sistemática Terrestre. El Colegio de la Frontera Sur – ECOSUR,
10 Calle 10 No. 264 Centro, Campeche, México CP 24000.

11 ^c División Académica de Ciencias Biológicas. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
12 Carretera Villahermosa - Cárdenas Km. 0.5 S/N. Entronque a Bosques de Saloya. Villahermosa,
13 Tabasco, México C.P. 86060.

14 * Corresponding author: J. Rangel-Mendoza. e-mail address: jarangelme@unal.edu.co

15 **Abstract**

16 Hematological and plasma biochemistry analyses were conducted on 51 Central American river
17 turtles (*Dermatemys mawii*) during the dry and rainy seasons of 2006. Turtles came from two
18 sites: Pantanos de Centla Biosphere Reserve and a turtle breeding farm, both located in Tabasco
19 State, Mexico. Physical examination and body measures of animals were performed. Incidence
20 and prevalence of hemoparasites were explored.

21 Captive organisms were in poor physical condition while wild turtles were healthy. There were
22 differences in several hematological parameters related with the condition and the season. During
23 the dry season captive turtles exhibited higher levels of uric acid and urea, as well as lower levels
24 of glucose. *Haemogregarina* sp. was detected in 100% of the wild individuals, but not in
25 captives. Its incidence was greater during the rainy season. To the best of our knowledge, this is
26 the first baseline health monitoring study of this critically endangered species.

27 **Key words:** freshwater turtles, *Dermatemys mawii*, health, hematology, plasma biochemistry,
28 hemoparasites.

29 1. Introduction

30 The Central American River Turtle (*Dermatemys mawii*) is distributed from southeast
31 Mexico to northern Guatemala and Belice (Polisar and Horwich, 1994). It is a large, herbivore
32 turtle that lives in large rivers and lagoons. Wild populations have been decreasing dramatically
33 in the last decades and it is considered in Appendix II by the Convention on International Trade
34 in Endangered Species (CITES, 2005), as “Critically Endangered” by the Red List of the World
35 Conservation Union - UICN (1996), as “Endangered” by the mexican envirenmental law (NOM-
36 059-SEMARNAT-2001) and it is included in the world’s top 25 most endangered turtles
37 according to The Turtle Conservation Fund – TCF (2003). The main factors for its endangered
38 status are its capture for illegal trade and human consumption, as well as extensive habitat
39 modification in its whole distributional range (Polisar and Horwich, 1994). Some *ex situ*
40 populations of *D. mawii* exist in breeding farms and conservation centers in México and
41 elsewhere (Vogt *et al*, 2006).

42 Blood analysis are useful tools for the diagnosis and health monitoring of animals, as well
43 as to distinguish pathogenic processes from those that might be purely physiological (Christopher
44 *et al*, 1999). Several studies have been made to establish the hematological values in turtles,
45 mainly marine (Bolten and Bjorndal, 1999) and terrestrial (Dickinson *et al*, 2002; Christopher *et*
46 *al*, 1999; Diaz-Figueroa, 2005), but few in freshwater turtles (Brenner *et al*, 2002). No
47 information exist on the hematology and blood biochemistry of *D. mawii*. Baseline studies are
48 required as a reference for health evaluations of individuals and populations of this critically
49 endangered species.

50 This study characterized the hematological profile in adults of wild and captive
51 populations of the Central American river turtle in Mexico. Our goals were four-fold: (1) To

52 examine the general physical conditions of wild and captive individuals, (2) to obtain the first
53 hematological and biochemistry reference values for the species, (3) to establish the incidence
54 and prevalence of hemoparasites and, finally; (4) to assess the variation in blood parameters
55 among the populations. The results of this investigation provide the first baseline information on
56 health evaluation of this species.

57 **2. Materials and methods**

58 **2.1. Study sites and sample periods:** Turtle populations were sampled at two sites: Tabasquillo
59 stream, at Pantanos de Centla Biosphere Reserve (PCBR), (Centla, Tabasco, Mexico,
60 18°14'18"N, 92°41'32"W), and a state turtle farm (Nacajuca, Tabasco, Mexico; 18°22'12"N,
61 93°02'24"W). Turtles were monitored during the dry (April to May) and rainy (September to
62 October) seasons of 2006.

63 Tabasquillo stream is a lotic, calm water body with tidal influence. This affluent of the Grijalva-
64 Usumacinta delta rivers system spills its waters in the Gulf of Mexico. This stream is 25-30 m
65 wide, 5.7 m average depth and its bed is conformed by firm fine sediment. Mean annual
66 temperature is 25.4°C; pluvial precipitation was 1,580 mm in 2005 (average is highly variable
67 throughout the years) and the altitude is close to the sea level. The riparian vegetation of the
68 stream is characterized by the presence of free-floating hydrophytes such as aquatic iris
69 (*Eichhornia crassipes*), water lettuce (*Pistia stratiotes*) and ear's mouse lettuce (*Salvinia*
70 *auriculata*); emergent hydrophytes such as espadaño (*Typha latifolia*) and carrizo (*Gynerium*
71 *sagittatum*), riparian shrubs and trees such as muco (*Dalbergia browni*), Anona (*Anona glabra*),
72 water zapote (*Pachira aquatica*), bolchiche (*Coccoloba barbadensis*), worm tree (*Lonchocarpus*
73 *hondurensis*), tucuy (*Pithecelobium lanceolatum*) and round guano palms (*Sabal mexicana*) as

74 well as some invading exotic grasses. We evaluated the Riparian Forest Quality index, QBR
75 (from its Catalan name as ‘Qualitat del Bosc de Ribera’) (Munné *et al*, 2003) in each sample
76 period. This index is based on four components: cover, structure and vegetation quality as well as
77 physical alterations of the channel. QBR index was 83% in the dry season and 87% in the rainy
78 season, both indicating a good quality habitat for the turtles with few disturbances (Munné *et al*,
79 2003).

80 The state Turtle Farm is a freshwater chelonian conservation and breeding center supported by
81 both the state and federal environmental agencies in Mexico. It has the largest colony of *D. mawii*
82 in Mexico as well as other species of native fresh water turtles. Mean annual temperature was
83 22°C and pluvial annual precipitation was *ca.* 1,327 - 3,225 mm. *D. mawii ex-situ* population is
84 maintained in a single 22 x 40 m rustic pool, 3.5 m depth during the rainy season and 1.2 m
85 during the dry season. This pool had approximately 700 individuals by September 2006. The pool
86 has a water entrance pipe but no exit watering pipe. Grasses and small herbs were found around
87 to the pool. At the same time, there was no aquatic vegetation, shrubs or trees. Animals were feed
88 three times per week with mazote herb (*Melampodium divaricatum*), aquatic iris (*Eichhornia*
89 *crassipes*) and a 32% protein extruded floating pellet diet (Silver Cup®, Mexico) made and
90 balanced for Tilapia fish (*Oreochromis* spp). The diet was complemented occasionally with fresh
91 vegetables or fruits. The reproductive adult females were supplemented with calcium;
92 approximately 1 mL was injected intramuscularly two times per year (March, after the end of
93 oviposition period and in June-July at the beginning of the courtship period).

94 **2.2. Capture and physical examination:** Wild turtles were captured with fike nets (Vogt, 1980)
95 in six consecutive days every season. Captured turtles were temporarily restrained in plastic
96 containers from one to up to three days till blood was extracted. Water was changed periodically.

97 Blood collection in the captive population was made a few days after that of the wild turtles. In
98 the farm, the animals were dragged from the pool and the blood samples were collected the same
99 day or a day-after capture. Body weight and midline straight carapace length (MSCL) were
100 measured in each turtle; only animals with 200 mm of MSCL were considered. In addition,
101 turtles were given a complete physical examination.

102 **2.3. Blood collection and analysis (hematology, hemoparasites and plasma biochemistry):**

103 Blood (3 mL) was taken from the jugular vein (Jacobson, 1992) using a 5 mL plastic syringe with
104 a 25 gauge needle. The puncture site was cleaned with a topic antiseptic, before and after
105 collection. Once blood samples were collected, the animals were returned where they were
106 captured.

107 Blood smears were made just after blood collection, air-dried and fixed with methanol. A 0.6 mL
108 of blood was placed in a lithium heparin Microtainer (Becton Dickinson and Co., Rutherford,
109 New Jersey, U.S.A.) for blood analysis. The remaining blood was placed in a clear (no additive)
110 Vacutainer (Becton Dickinson and Co., Rutherford, New Jersey, U.S.A.) for separation of
111 plasma. Vacutainers were let static for 30-60 min and then centrifuged during 15 minutes. Plasma
112 obtained was collected in Ependorff tubes and sealed with parafilm. Samples were kept on ice at
113 4°C and transported to the laboratory. Complete blood analysis were evaluated within 24 h of
114 collection; while plasma were frozen until biochemistry determinations.

115 Several drops of whole blood were used to fill two heparinized microhematocrit capillary tubes
116 (Fisher Scientific, Pittsburg, Pennsylvania, U.S.A.) to determine packed cell volume (PCV).
117 Hemoglobin (Hb) was determined using an automated coulter counter (ABX Micros 60
118 Biomerieux, Montpellier, France). Red blood cell (RBC) count and white blood cell (WBC)

119 count were calculated manually using a hemocytometer chamber and Natt-Herrick's solution
120 (Frye, 1991). Mean cell volume (MCV), mean cell hemoglobin (MCH) and mean cell
121 hemoglobin concentration (MCHC) were calculated using RBC, PCV and Hb values by the
122 method described in Raskin (2000). Blood smears were stained with standard rapid kit No. 548
123 (Hycel, Jalisco, Mexico) that included a 100-cell differential WBC count (heterophils,
124 lymphocytes, basophils, eosinophils and monocytes), and qualitative evaluation of hemoparasites
125 (Raskin, 2000; Strik *et al*, 2007). One hundred red cells on each smear were examined for the
126 presence of intra and extra-celular parasites. Hemoparasite incidence in each individual was
127 determined using categories suggested by Oppliger *et al* (1998) as follows: (i) very rarely
128 parasitized, i.e. one cell parasitized for 10,000-120,000 cells; (ii) rarely parasitized, i.e. 1/400-
129 10,000 cells; (iii) moderately parasitized, i.e. 1/200-400 cells; (iv) strongly parasitized, i.e. 1/80-
130 200 cells and (v) very strongly parasitized, i.e. 1/10-80 cells.

131 Plasma biochemistry determinations included glucose, cholesterol, total protein, albumin,
132 triglycerides, blood urea nitrogen, uric acid, total bilirubin and calcium. These tests were made
133 using an autoanalyser (Microlab 300 Vital Scientific, Dieren, Netherlands).

134 **2.4. Statistical analysis:** Hematology and plasma biochemistry values were analyzed for
135 statistical significance ($p < 0.05$) between turtle populations (captive/wild) and seasons (rainy/dry).
136 Nonparametric U-Mann-Whitney tests were performed using Statgraphics Plus for Windows 4.0
137 software (Statistical Graphics Corp., 1999). Sex differences were not evaluated because sample
138 sizes were too small for this cohort comparison. Hematological values are provided as ranges
139 (maximum and minimum) for each population and season.

140 **3. Results**

141 **3.1. Physical examination:** Fifty-one turtles were evaluated; 24 during the dry season and 27
142 during the rainy season. In the first season, 12 wild turtles (three males, nine females) were
143 captured and the same number of captives (all females). During the second season, 10 wild turtles
144 (three males and seven females) and 17 captive (two males and 15 females) were sampled. Body
145 weight and MSLC were significantly greater in wild turtles than in captives in both seasons
146 (Table 1). Tabasquillo stream turtles were similar in size between seasons but MSCL were
147 significantly smaller in captive turtles during the dry season ($U=159$, $p<0.01$).

148 Captive turtles showed a poor physical condition. There were superficial lesions (lacerations,
149 penetrations) in the plastron and carapace in 100% of the examined organisms, accompanied
150 frequently by abscesses and wounds in the head and limbs. The loss of the nose and one eye was
151 observed in some individuals. More than 50% of the examined captive turtles exhibit some
152 degree of dehydration. In the dry season, all captive turtles showed edemas of different degrees;
153 this situation was observed only in two individuals during the rainy season. By contrast, wild
154 turtles were healthy and only presented slight scrapes, most likely as a result of the capture
155 procedures. However, the Tabasquillo wild turtles showed considerable incidence (27%) of leech
156 parasitosis with no apparent detrimental effect on the hosts.

157 **3.2. Hematology and hemoparasites:** During the dry season, hematological parameters did not
158 differ between populations, except for differential WBC. In this period, lymphocytes were
159 significantly lower in wild turtles, whereas monocytes were higher in wild turtles than in captives
160 for both seasons (Tables 2 and 3). At the turtle farm, RBC and WBC counts were higher, but
161 PCV, MCV and MCH were lower during the dry season (Table 3). For both seasons, intracellular
162 blood parasites were observed in 100% of the wild turtles, but none was observed in captives.

163 Hemoparasites were identified as *Haemogregarina* sp. and wild individuals were moderately
164 parasitized during the dry season and strongly parasitized during the rainy season (Tables 1, 2).

165 In the Tabasquillo stream, turtles exhibited lower levels of Hb (U=26, $p \leq 0.02$), PCV (U=10.5,
166 $p < 0.001$), MCV (U=15, $p < 0.003$) and MCH (U=23, $p \leq 0.01$) and higher levels of WBC (U=102,
167 $p < 0.006$) during the rainy season. Captive turtles presented higher values of PCV (U=158,
168 $p \leq 0.01$) and MCV (U=182, $p < 0.0004$) as well as lower values of MCHC (U=53, $p \leq 0.03$) during
169 the same period. Hemogregarine incidence in wild turtles was higher during the rainy season.

170 **3.3. Plasma biochemistry:** During the dry season, Tabasquillo turtles showed significantly
171 higher levels of glucose, whereas those captives showed higher levels of cholesterol, uric acid
172 and urea (Table 2). In the rainy season, wild animals exhibit significantly higher values of
173 glucose, cholesterol, albumin and triglycerides and lower values of urea and bilirubin than the
174 captive population (Table 3).

175 Turtles from Tabasquillo exhibited significantly lower levels of total plasma protein (U=110,
176 $p \leq 0.0009$) and albumin (U=114, $p \leq 0.0003$) as well as higher concentrations of total bilirubin
177 (U=23, $p \leq 0.01$) and calcium (U=93, $p \leq 0.03$) during the rainy season. Captive turtles showed
178 more differences between analytes. They presented higher values of cholesterol (U=6, $p < 0.0001$),
179 uric acid (U=15.5, $p \leq 0.0003$) and urea (U=5.5, $p < 0.0001$) during the dry season and exhibited
180 higher concentrations of total protein (U=150, $p \leq 0.0022$), albumin (U=176, $p < 0.001$), total
181 bilirubin (U=7, $p < 0.001$) and calcium (U=179.5, $p < 0.001$) during the rainy season.

182 **4. Discussion**

183 Differences between body measurements suggest that the studied populations were in different
184 physiological stages. At the Tabasquillo stream, most of the individuals were mature with MSCL
185 > 35 cm. This value is considered as a minimal measurement for a mature animal (Vogt and
186 Flores-Villela, 1992). On the other hand, captive animals had MSCL < 35 cm, suggesting either
187 that we sampled slightly immature, subadult turtles or a growing deficit in captive adults.

188 The poor physical condition in the sampled captive *D. mawii* population might be associated to
189 poor husbandry and management conditions in the Farm. Superficial erosions of the keratin
190 scutes covering the bone shell are common in aquatic reptiles. Regular causes include bite
191 wounds, poor quality water (lack of filtration system, infrequent water changes), rough substrates
192 and stress caused by poor nutrition or overcrowding (Barten, 1996). Lesions are usually infected
193 with bacteria or fungi which can also led to ulcers on the shell (Boyer, 1996). Edemas and
194 dehydration observed in captive turtles are symptoms of sickness. Edemas can result from liver,
195 kidney or cardiopulmonary disease as well vascular obstruction and hypoproteinemia (Boyer,
196 1996). Dehydration is a serious condition in reptiles and when accompanied by renal disease and
197 excessive intake of purine-rich diets can contribute to the development of gout. Gout occurs when
198 blood uric acid levels exceed the kidneys ability to remove it, and it accumulate as urate crystal
199 deposits in various organs such as the pericardial sac, kidneys, liver, spleen, subcutaneous tissue
200 and the joints (Mader, 1996). Physical dehydration syndrome is associated with high uric acid,
201 PCV and total protein levels (Klingerberg, 1996).

202 Differences in physical condition between wild and captive turtles may be associated with habitat
203 or environment quality. Good physical condition in the Tabasquillo turtles was observed
204 associated to good habitat quality of this stream. The current farm environment is obviously
205 harmful for turtles due to overcrowding and poor water quality in the pools that need urgent

206 improvement. Therefore, our wild *D. mawii* data presented here might be closer to the
207 hematological and biochemistry values that approach those of reference intervals for the species.
208 However, small samples sizes in the dry (n=12) and rainy (n=10) seasons would determine that
209 there is a 99% probability that 50% of the population would be contained between the lower and
210 upper observed intervals (Walton, 2001).

211 Hematological values from wild *D. mawii* were different from those of other chelonians, such as
212 the green turtle, *Chelonia mydas* (Bolten and Bjorndal, 1992), the California desert tortoise,
213 *Gopherus agassizii* (Christopher *et al*, 1999), the bog turtle, *Clemmys muhlenbergii* (Brenner *et*
214 *al*, 2002) and the red-eared turtle, *Trachemys scripta* (Stein, 1996; Frye, 1991). In general, *D.*
215 *mawii* exhibited a larger PCV values, lower values in hemoglobin and similar RBC counts than
216 these species. Our results in WBC were the largest reported for the different chelonian species
217 mentioned above. Data differences between species must be taken carefully because they may be
218 related to specific characteristics of the species, environmental conditions, diet, sampling
219 analysis, among many others. Despite the differences in lymphocyte and monocyte counts
220 between populations and seasons, they were within the reported ranges for most reptiles
221 (Campbell, 1996; Frye, 1991).

222 The presence of *Haemogregarina* sp. in *D. mawii* was not surprising, because this sporozoan is
223 the most common parasite in reptiles, especially in aquatic species. Clinically, most animals are
224 asymptomatic and the diagnosis is made from routine blood smears (Johnson, 2004). Despite the
225 fact that hemogregarine incidence was high in wild turtles, there were no symptoms of sickness
226 and the animals looked healthy. It is possible that this hemoparasite is not harmful for *D. mawii*.
227 Hemogregarines are usually considered nonpathogenic in non-domestic species but pathogenicity

228 may be enhanced when concomitant infections with other disease agents are present (Peirce and
229 Adlard, 2004).

230 The presence of *Haemogregarina* sp. in wild individuals and its absence from captives is
231 interesting and deserves further discussion and analysis. This condition probably was related with
232 the presence of a vector organism in natural conditions. In other turtles, leeches such as
233 *Placobdella ornata*, *P. parasitica* or *P. bistrata* have been found as vectors for
234 *Haemogregarina* sp. (De Campos-Brites and Rantin, 2004; Siddall and Desser, 2001; Strohle
235 and Christensen, 1984). Because leeches were detected in natural conditions but no in the farm, it
236 is hypothesized that this annelid might be the vector of hemogregarines in *D. mawii*. Differences
237 in *Haemogregarine* sp. incidence in wild animals between seasons may have been related to
238 seasonal variation of vector populations (De Campos-Brites and Rantin, 2004). However, this is
239 hypothetical and further studies are needed to corroborate this.

240 Differences between populations in analyte counts such as glucose, cholesterol, uric acid and urea
241 during the dry season, as well as albumin, triglycerides and total bilirubin during the rainy season
242 suggest an effect of environment quality and husbandry protocols over physiological parameters.
243 Elevated levels of cholesterol, uric acid and urea, as well as low glucose and albumin found in
244 captive turtles might be indicators of insufficient food supply, high urea, protein and/or calcium
245 diets, hypervitaminosis D, renal disease or gout (Campbell, 1996) and even poor availability of
246 water (Mader, 1996). Fall in uric acid and urea values in the captive population during the rainy
247 season may indicate a change in water quality, because pluvial precipitations could diminish the
248 concentration of nitrogen compounds in the pool. Higher levels of total protein, albumin and
249 calcium exhibited by both populations during the rainy season may indicate that females were
250 near the oviposition period, because these blood values may increase before egg production in

251 female reptiles. (Raphael, 2003; Christopher *et al*, 1999; Campbell, 1996). Nevertheless, more
252 information about the relationships between hematological parameters and reproductive biology
253 is required.

254 Some plasma biochemical values found in *D. mawii* wild turtles were similar to those of glucose,
255 cholesterol, total protein, albumin, triglycerides, urea, uric acid and total bilirubin from *C. mydas*
256 (Bolten and Bjorndal, 1992), *G. agassizii* (Christopher *et al*, 1999), *C. muhlenbergii* (Brenner *et*
257 *al*, 2002) and *T. scripta* (Stein, 1996; Frye, 1991) but calcium concentration was lower.

258 In summary, this report is the first baseline study of hematological and plasma biochemical
259 values in *D. mawii* under natural and captive conditions. Physical conditions of turtles were
260 different between study sites and season. Captive turtles presented several signs of sickness
261 related to inadequate food supply and inefficient husbandry and captive management, that needs
262 urgent attention by the Mexican state and federal authorities. Wild turtles were healthy. Seasonal
263 variation in health status of captive turtles may be associated to changes in water quality and
264 supply, additionally to physiological changes. *Haemogregarina* sp. was found only in wild turtles
265 and its incidence varied with season. Hematological and plasma biochemistry values were
266 different in wild and captive turtles. Differences in habitat quality and husbandry protocols may
267 be the most likely cause for these changes. Because the natural populations of *D. mawii* have
268 been critically reduced, small sample sizes precluded more reliable reference intervals. However,
269 hematological values generated in our study provide an important dataset for future assessments
270 of the health of *in situ* and *ex situ* populations of this highly endangered species.

271 **Acknowledgments**

272 We thanks to MSc Eduardo Moguel-Ordoñez and MSc Roberto Gamboa-Aldeco for field and
273 laboratory financial support. To VMD Sergio Guerrero-Sánchez from Miguel Alvarez del Toro
274 Zoo (ZOOMAT) for training and assistance in lab tests. To Biol. Casiano Méndez-Sánchez, Biól.
275 Filiberto Ascencio-Rivera and State Turtle Farm personal for captive turtle work. To field
276 helpers, leaders and people of Tabasquillo village for wild turtle work. Partial financial support
277 for this project was provided for El Colegio de la Frontera Sur and Laboratorios Chontalpa.
278 Profesor Elliot Jacobson (University of Florida) allowed us to use a pre-print of his book on
279 reptile pathology that was extremely usefull for the lab work. Working permits for the capture
280 and sampling of both wild and captive *D. mawii* populations were provided by the Mexican
281 Environment Agency (permits No. SEMARNAT SGPA/DGVS/10215) at name of MSc Claudia
282 Elena Zenteno Ruiz.

283 **References**

- 284 Barten, S.L., 1996. Shell damage. In: Mader, D.R. (Ed.), Reptile Medicine and Surgery, W.B. Saunders Co.,
285 Philadelphia, USA, pp. 413-417.
- 286 Bolten, A.B., Bjorndal, K.A., 1992. Blood profiles for a wild population of green turtles (*Chelonia mydas*) in the
287 southern Bahamas: size specific and sex-specific relationships. *Journal of Wildlife Diseases* **28**(3), 407–413.
- 288 Boyer, T.H., 1996. Turtles, tortoises and terrapins. In: Mader, D.R. (Ed.), Reptile Medicine and Surgery, W.B.
289 Saunders Co., Philadelphia, U.S.A., pp. 332-336.
- 290 Brenner, D., Lewbart, G., Stebbins, M., Herman, D.W., 2002. Health survey of wild and captive bog turtles
291 (*Clemmys muhlenbergii*) in North Carolina and Virginia. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* **33**(4), 311-
292 316.
- 293 Campbell, T.W., 1996. Clinical pathology. In: Mader, D.R. (Ed.), Reptile Medicine and Surgery, W.B. Saunders Co.,
294 Philadelphia, U.S.A., pp. 248-257.

- 295 Christopher, M.M., Berry, K.H., Wallis, I.R, Nagy, K.A., Henen B.T., Peterson, C.C., 1999. Reference intervals and
296 physiologic alterations in hematologic and biochemical values of free-ranging desert tortoises in the Mojave
297 Desert. *Journal of Wildlife Diseases* **35**(2), 212–238.
- 298 CITES, 2005. Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres.
299 Informe de la Vigésima primera Reunión del Comité de Fauna AC21 Doc. 11.2. 20 a 25 de mayo. Ginebra,
300 Suiza.
- 301 De Campos-Brites, V.L., Rantin, F.T., 2004. The influence of agricultural and urban contamination on leech
302 infestation of freshwater Turtles, *Phrynops geoffroanus*, taken from two areas of the Uberabinha river.
303 *Environmental Monitoring and Assessment* **96**, 273-281.
- 304 Diaz-Figueroa, O., 2005. Characterizing the health status of the Louisiana gopher tortoise (*Gopherus polyphemus*).
305 Thesis of Master of Science. Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College.
306 Philadelphia. U.S.A.
- 307 Dickinson, V., Jarchow, J., Trueblood, M., 2002. Hematology and plasma biochemistry reference range values for
308 free-ranging desert tortoises in Arizona. *Journal of Wildlife Diseases* **38**(1), 143–153
- 309 Frye, F., 1991. Hematology as applied to clinical reptile care. In: Frye F (Ed). *Reptile Care: an atlas of diseases and*
310 *treatments*. Vol. I. THF Publications Inc. Neptune City, Nueva Jersey, U.S.A. pp. 209-279.
- 311 Jacobson, E.R., Schumacher, J., Green, M., 1992. Field and clinical techniques for sampling and handling blood for
312 hematologic and selected biochemical determinations in the desert tortoise, *Xerobates agassizii*. *Copeia* **1**,
313 237-241.
- 314 Johnson, J.H., 2004. Husbandry and medicine of aquatic reptiles. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* **13**(4),
315 223-228.
- 316 Klingerberg, R.J., 1996. Therapeutics. *Reptile Medicine and Surgery*, W.B. Saunders Co., Philadelphia, U.S.A.,
317 pp. 299-315.
- 318 Knotkova, Z., Mazanek, S., Hovorka, M., Sloboda, M., Knotek. Z., 2005. Haematology and plasma chemistry of
319 Bornean river turtles suffering from shell necrosis and haemogregarine parasites. *Vet. Med.-Czech* **50**(9),
320 421–426.
- 321 Mader, D.R., 1996. Gout. In: Mader, D.R. (Ed.), *Reptile Medicine and Surgery*, W.B. Saunders Co., Philadelphia,
322 U.S.A., pp. 374-379.

- 323 Munné, A., Prat, N., Solá, C., Bonada, N., Rieradevall, M., 2003. A simple field method for assessing the ecological
324 quality of riparian habitat in rivers and streams: QBR index. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater*
325 *Ecosystems* 13, 147–163.
- 326 Oppliger, A., Clobert, J., Lecomte, J., Lorenzon, P., Boudjemadi, K., John-Alder, H.B., 1998. Environmental stress
327 increases the prevalence and intensity of blood parasite infection in the common lizard *Lacerta vivipara*:
328 *Ecology Letters* 1, 129–138.
- 329 Peirce, M.A., Adlard, R.D., 2004. Haemoparasites from clinical screening of reptiles in south-east Queensland,
330 Australia. *Veterinary Record* 155, 708-709.
- 331 Polisar, J., Horwich, R.H., 1994. Conservation of the large, economically important River Turtle *Dermatemys mawii*
332 in Belize. *Conservation Biology* 8(2), 338-340.
- 333 Raphael, B., 2003. Chelonians (Turtles, Tortoises) . In: Fowler M.E., Miller R.E. (Eds.). *Zoo and Wild Animal*
334 *Medicine*. 5th ed. W. B. Saunders Co., St. Louis, Missouri, U.S.A. pp 48-58.
- 335 Raskin, R.E., 2000. Reptilian complete blood count. In: Fudge A.M. (Ed.) . *Laboratory Medicine: avian and exotic*
336 *pets*. W. B. Saunders Co. U.S.A., pp. 193-197.
- 337 SEMARNAT, 2001. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2001, Protección Ambiental-Especies
338 nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión,
339 exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación, Publicada el 06 de marzo
340 de 2002.
- 341 Siddall, M.E., Desser, S.S., 2001. Transmission of *Haemogregarina balli* from painted turtles to snapping turtles
342 through the leech *Placobdella ornata*. *Journal of Parasitology* 87(5), 1217–1218.
- 343 Stein, G., 1996. Hematologic and blood chemistry values in reptiles. In: Mader, D.R. (Ed.), *Reptile Medicine and*
344 *Surgery*. WB Saunders, Philadelphia, U.S.A., pp. 473-483.
- 345 Strik, N., Alleman, A.R., Harr, K.E., 2007. Circulating inflammatory cells. In: Jacobson E. (Ed.). *Infectious diseases*
346 *and pathology of reptiles*. CRC Press. Boca Raton, Florida, U.S.A., pp. 165-214.
- 347 Strohlein, D.A., Christensen, B.M., 1984. *Haemogregarina* sp. (Apicomplexa: Sporoxoea) in aquatic turtles from
348 Muyrphy's pond, Kentucky. *Transactions of the American Microscopical Society* 103(1), 98-101.
- 349 Turtle Conservation Fund (TCF), 2003. *The World's Top 25 Most Endangered Turtles*.
- 350 Vogt, R.C., 1980. New methods for trapping aquatic turtles. *Copeia* 1980(2), 368-371.

- 351 Vogt, R.C. y O. Flores–Vilella, 1992. Aspectos ecológicos de la tortuga blanca (*Dermatemys mawii*) en la Reserva
352 de la Biosfera Montes Azules. In: Vásquez–Sánchez, M.A., Ramos, M.A. (Eds.), Reserva de la Biosfera
353 Montes Azules, Selva Lacandona: Investigación para su conservación. México. Ecosfera 1 pp. 221-231.
- 354 Vogt, R.C., González-Porter, G.P., Van Dijk, P.P., 2006. *Dermatemys mawii*. In: IUCN 2007. 2007 IUCN Red List
355 of Threatened Species. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 16 October 2007
- 356 Walton, R.M., 2001. Establishing reference intervals: Health as a relative concept. . Seminars in Avian and Exotic
357 Pet Medicine **10**(2), 66-71.

1 Table 1. Body measurements in wild and captive populations of Central American river turtles
 2 *Dermatemys mawii* during the dry and rainy season of 2006.

3

Parameter (units)	Tabasquillo Stream (PCBR)			State Turtle Farm			Mann-Whitney	
	Median	Range	n	Median	Range	n	U-value	p-value
Dry season								
Weight (Kg)	5.05	1.45-6.90	12	2.49	2.13-3.47	12	22	0.0042
MSCL (mm)	352.5	225-375	12	271.5	261-306	12	17.5	0.0018
Rainy season								
Weight (Kg)	5.17	2.75-8.75	10	2.90	2.10-5.20	17	16	0.0006
MSCL (mm)	354.5	292-421	10	291	260-358	17	14	0.0004

4

5 Table 2. Hematology, plasma biochemistry and hemoparasites in wild and captive populations of
 6 Central American river turtles *Dermatemys mawii* during the dry season of 2006

7

Parameter (units)	Tabasquillo Stream (PCBR)			State Turtle Farm			Mann-Whitney	
	Median	Range	n	Median	Range	n	U-value	p-value
Hb (g/L)	3.5	2.5-3.8	12	2.8	1.4-3.9	12	46	0.1391
PCV (L/L)	44.5	38-49	12	39	12-50	12	43	0.0988
RBC($\times 10^{12}$ /L)	0.53	0.35-0.69	12	0.42	0.24-0.76	12	40.5	0.0730
MCV (fL)	824.05	681.2-1114.3	12	887.3	272.7-1500.0	12	76	0.8399
MCH (pg)	64.49	48.08-97.14	12	64.98	36.84-106.66	12	79.5	0.6860
MCHC (g/L)	7.79	6.25-8.72	12	7.73	3.89-22.5	12	76	0.8399
WBC ($\times 10^9$ /L)	13.45	7-24.2	12	13.65	5.5-20.4	12	63	0.6236
Lymphocytes (%)	39.5	28-68	12	50.5	38-68	12	110.5	0.0280
Heterophils (%)	44.0	5-60	12	30.5	10-45	12	51.0	0.2371
Eosinophils (%)	11.5	4-38	12	19.5	5-26	12	103.0	0.0774
Monocytes (%)	4.5	0-18	12	0	0-3	12	14.5	0.0007
Basophils (%)	1	0-8	12	0	0-1	12	43.5	0.0667
Glucose (mg/dL)	71	25-98	12	30	24-47	12	12.5	0.0011
Cholesterol (mg/dL)	160.5	62-215	12	260	98-333	12	113	0.0042
Total protein (g/dL)	1.85	1.2-2.3	12	1.7	0.9-2.4	12	52	0.4032
Albumin (g/dL)	0.6	0.3-0.9	12	0.6	0.3-0.8	12	47	0.2077
Triglycerides (mg/dL)	30	6-190	12	26	9-40	12	55	0.5179
Uric Acid (mg/dL)	1.5	0.1-3.2	12	6.2	1.4-9.8	12	124	0.0004
Urea (mg/dL)	3	1-5	12	65	6-88	12	132	0.0000
Total bilirubin (mg/dL)	0.37	0.24-0.39	12	0.41	0.27-0.57	12	85	0.1123
Calcium (mg/dL)	3.55	0.8-8.3	12	4.3	1-8	12	60	0.7582
Hemoparasites (n/1000 red cells)	4	1-14	12	0	0	12	-	-

8 Table 3. Hematology, plasma biochemistry and hemoparasites in wild and captive populations of
 9 Central American river turtles *Dermatemys mawii* during the rainy season of 2006.
 10

Parameter (units)	Tabasquillo Stream (PCBR)			State Turtle Farm			Mann-Whitney	
	Median	Range	n	Median	Range	n	U-value	p-value
Hb (g/L)	2.85	1.8-3.3	10	2.9	1.9-3.5	17	100	0.4644
PCV (L/L)	37.5	28-43	10	50	30-60	17	146	0.0023
RBC($\times 10^{12}$ /L)	0.52	0.44-0.57	10	0.39	0.23-0.55	17	9	0.0001
MCV (fL)	694.4	538.3-811.3	10	1279.1	1060.6-1935.5	17	170	0.0001
MCH (pg)	55.3	33.3-62.3	10	74.4	45.8-126.1	17	135	0.0129
MCHC (g/L)	7.68	5-10.36	10	5.8	3.8-10.7	17	46.5	0.0562
WBC ($\times 10^9$ /L)	23.25	12-30.3	10	13.9	10.7-19.6	17	15	0.0005
Lymphocytes (%)	52	31-63	10	50	24-73	17	89.5	0.8407
Heterophils (%)	23	17-57	10	31	10-47	17	89.0	0.8603
Eosinophils (%)	16	5-31	10	15	6-37	17	82.5	0.9197
Monocytes (%)	3.5	0-7	10	1	0-3	17	32	0.0060
Basophils (%)	0	0-2	10	0	0-2	17	70	0.2819
Glucose (mg/dL)	77.5	41-91	10	38	20-59	17	8	0.0001
Cholesterol (mg/dL)	113	86-169	10	79	49-114	17	16	0.0006
Total protein (g/dL)	2.35	2.0-3.0	10	2.3	1.6-2.7	17	54	0.1236
Albumin (g/dL)	1.05	0.8-1.4	10	0.9	0.6-1.3	17	40.5	0.0248
Triglycerides (mg/dL)	74	18-326	10	21	12-41	17	12	0.0003
Uric Acid (mg/dL)	1.3	0.6-2.7	10	1.5	0.7-3.9	17	103.5	0.3647
Urea (mg/dL)	2.0	2.0-5.0	10	5.0	3.0-8.0	17	155	0.0004
Total bilirubin (mg/dL)	0.015	0.01-0.03	10	0.03	0.01-0.4	17	128	0.0261
Calcium (mg/dL)	6.6	4.2-11.3	10	8.02	6.7-9.1	17	117	0.1135
Hemoparasites (n/1000 red cells)	10	1-20	10	0	0	17	-	-