



El Colegio de la Frontera Sur

Manejo, salud y dieta en tortuga blanca,
Dermatemys mawii, bajo condiciones de cautiverio

TESIS

presentada como requisito parcial para optar al grado de
Doctorado en Ciencias en Ecología y Desarrollo Sustentable

por

Judith Andrea Rangel Mendoza

2014

A mi hijo, Marco Julián, que llegó a mi vida
durante el proceso de estudios de este doctorado

Mi grado de madre, te amo!

AGRADECIMIENTOS

A El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), que volvió a apoyarme en mis metas de crecimiento personal y profesional al brindarme la posibilidad de realizar mis estudios de doctorado. Con especial agradecimiento hacia al área de posgrado de las Unidades Campeche y Villahermosa del ECOSUR.

A mi tutor, Manuel Weber Rodríguez, por su compromiso, su enseñanza y amistad.

A los miembros de consejo tutelar: David González Solís, Gerardo Suzán y Carlos Alfonso Álvarez González, por su asesoría y acompañamiento durante este proceso de formación. Especial gratitud a Alfonso por la acogida en su laboratorio de Bioquímica, la financiación de los estudios de bioquímica digestiva y el estímulo constante a continuar y pensar más allá.

A los evaluadores de mi protocolo de tesis, todos los miembros de mi consejo tutelar y como externos al Eduardo Jorge Naranjo Piñera, Amaury Cordero Tapia y Ramón Isaac Rojas González.

A los evaluadores de mi examen predoctoral: Mircea Hidalgo Mihart, León David Olivera, David González Solís y Manuel Mendoza Carranza.

A los sinodales en mi examen de titulación, mi consejo tutelar en compañía de Eduardo Naranjo, Rogelio Cedeño Vázquez y Claudia Elena Zenteno Ruiz.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), quien brindó una beca de manutención y salud, a través de ISSSTE, durante cuatro años de estudios.

A la División Académica de Ciencias Biológicas (DACBiol) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT), que mantuvo sus puertas e instalaciones abiertas para desarrollar gran parte de estos estudios, en los laboratorios de Bioquímica, Acuicultura y UMA CICEA. Gracias por los análisis de calidad de agua efectuados en los laboratorios de Fisico-químicos de la COVINSE, y ejecutados a través del apoyo del Posgrado DACBiol y Eriane Hernández Tario, durante todo un año. Gracias por acogerme en su planta de profesores-investigadores, y favorecerme con la beca del Programa Institucional de Superación Académica para concluir la fase final del doctorado. Gracias la financiación de la impresión del documento de tesis a través del Programa de Beca Tesis 2014.

A la Granja de tortugas del Gobierno del Estado de Tabasco, la Granja de tortugas Arroyo Tabasquillo y la Granja de Tortuga Arca de Noé, a sus responsables técnicos: José

del Carmen Jiménez López, Arnulfo Gómez Contreras y Gregorio de la Cruz López, respectivamente y a cada equipo de trabajo. Gracias por su disposición a colaborar en la investigación, su apoyo en las labores de campo y su confianza.

A Laboratorios Chontalpa, por la financiación total en la determinación de los análisis de bioquímica sanguínea.

A quienes me apoyaron en el trabajo de campo: al técnico de planta, de principio a fin, mi padre Jaime Rangel Gutiérrez. A Claudia Elena Zenteno Ruiz por incentivar el apoyo de sus estudiantes hacia mi durante todo 2011. A David Peregrino, Bianca Velázquez, Miguel Ángel Mejía, Yolanda Rodríguez, Gabriela Araujo, Manuel López Dionicio, Eriane Hernández y Ariana Aragón.

A quienes me apoyaron en el trabajo de laboratorio: Jorge Hernández, Rocío Guerrero, Mario Aguilar, Fidel Ramírez y Carlos Alfonso Frías, en DACBIOL. A Iris A. Sánchez González, de la División Académica de Ciencias Agropecuarias (DACA) de la UJAT, por los análisis bacteriológicos y su amistad.

A Peter Lindeman y los árbitros anónimos, por la dedicación para con el artículo que finalmente fue aceptado para su publicación en *Chelonian Conservation and Biology Journal*

A Marco Antonio López Luna, quien en diferentes frentes me apoyó. Como colega, me brindó recursos económicos a través de un proyecto suyo para iniciar y sacar adelante los muestreos de las fases de manejo y salud de esta tesis, por sus ideas y comentarios. Como esposo y amigo, porque es innegable que tu compañía fue fundamental para mantener la cordura en los momentos aciagos.

A mis padres, Jaime y Blanca, por su apoyo hacia mí, que significó dejar su vida en Colombia, venir a mi lado a México, cuidar de mi, mi hijo y mi esposo cuando tuve que ausentarme, y facilitar mi dedicación a los estudios.

A mis amigos de profesión en México y en Colombia, que son muchos y si indico los nombres individualmente, esta sección parecería otro capítulo. Gracias por su apoyo.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Especie objetivo: tortuga blanca <i>Dermatemys mawii</i>	1
1.2. Planteamiento del problema.....	4
1.3. Antecedentes	6
1.3.1. Manejo en cautiverio	6
1.3.2. Salud.....	10
1.3.3. Dieta.....	14
1.4. Objetivo general	18
1.5. Hipótesis.....	18
CAPÍTULO 1. EVALUACIÓN DEL ESTADO FÍSICO DE LA TORTUGA BLANCA, <i>Dermatemys mawii</i>, BAJO CONDICIONES DE CAUTIVERIO EN TABASCO, MÉXICO.....	19
RESUMEN	19
INTRODUCCIÓN	20
MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
Sitios de estudio	22
Evaluación de las tortugas.....	22
Calidad del agua.....	22
Análisis de los datos	23
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
Evaluación de las tortugas.....	24
Calidad del agua.....	28
CONCLUSIONES	33
LITERATURA CITADA.....	34
CAPÍTULO 2. EVALUACIÓN DE LA SALUD Y EL AMBIENTE ACUÁTICO DE LA TORTUGA BLANCA, <i>Dermatemys mawii</i>, MANEJADA EN CAUTIVERIO EN DOS GRANJAS EN TABASCO, MÉXICO.....	40
ABSTRACT	41

METHODS	44
Study sites and sampling periods	44
Anamnesis	44
Turtle capture.....	44
Physical examination.	45
Serum biochemistry.	45
Bacteriology.	45
Water quality assessment.....	46
Data analysis.	46
RESULTS	47
Physical examination.	48
Serum biochemistry.	50
Bacteriology	51
Water Quality Assessment.....	51
DISCUSSION.....	52
LITERATURE CITED.....	64

CAPÍTULO 3. CARACTERIZACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LAS ENZIMAS

DIGESTIVAS EN LA TORTUGA BLANCA <i>Dermatemys mawii</i>.....	81
Resumen.....	81
Introducción	82
Materiales y métodos	84
Obtención de muestras.....	84
Determinación de la actividad enzimática.....	84
Efecto de la temperatura sobre la actividad y estabilidad de las enzimas digestivas.....	85
Efecto del pH sobre la actividad y estabilidad de las enzimas digestivas	86
Resultados	88
Efecto de la temperatura sobre la actividad enzimática.....	88
Efecto del pH sobre la actividad enzimática	89
Discusión	90
Referencias.....	95

DISCUSIÓN GENERAL. MANEJO EN CAUTIVERIO DE LA TORTUGA BLANCA: ESTADO ACTUAL E IMPLICACIONES COMO HERRAMIENTA DE CONSERVACIÓN.....	105
Surgimiento de la crianza en cautiverio de tortugas como medida de conservación en Tabasco.	105
Técnicas de manejo en cautiverio de tortuga blanca: una síntesis.	107
Implicaciones del manejo en cautiverio de la tortuga blanca para su conservación.....	110
CONCLUSIONES.....	113
LITERATURA CITADA (INTRODUCCIÓN Y DISCUSIÓN GENERAL)	117

INTRODUCCIÓN

1.1. Especie objetivo: tortuga blanca *Dermatemys mawii*

La tortuga blanca, *Dermatemys mawii* Gray, 1847, es una especie de quelonio dulceacuícola de gran importancia ecológica y económica, debido a su uso como recurso alimenticio (Vogt, González-Porter y Van Dijk, 2006). Esta especie es reconocida internacionalmente como “The Central American River Turtle”, y es la única especie de la familia Dermatemydidae y se encuentra distribuida geográficamente desde el sureste de México, Belice y Guatemala, área incluida dentro del hotspot de biodiversidad de Mesoamérica (Moll, 1986; Polisar y Horwich, 1994).

Los adultos de *D. mawii* pueden llegar a un peso de hasta 22 kg y una longitud recta de caparazón (LRC) de 65 cm, aunque actualmente las tallas máximas son de 10 a 15 kg de peso y 40 a 45 cm de LRC (Vogt *et al.*, 2011). Este quelonio vive en grandes ríos y lagos epicontinentales, donde puede ocupar, desde aguas profundas, limpias y permanentes, hasta aguas fangosas y estancadas (Ernst, Altenburg y Barbour, 1997). Su dieta natural está conformada principalmente por materia vegetal, con una ingesta reducida de moluscos, crustáceos y pequeños peces (Gil-Alarcón, 2008). Es una especie netamente acuática, principalmente nocturna, que puede permanecer periodos de tiempo prolongados bajo el agua; en donde al parecer, toma oxígeno disuelto a través del epitelio nasofaríngeo durante la sumersión (Ernst, Altenburg y Barbour, 1997).

En México, el periodo de anidación de *D. mawii* es de septiembre a marzo (Vogt y Flores-Villela, 1992). Ponen sus huevos en los márgenes de los cuerpos de agua durante temporada de inundación, los cuales sobreviven durante un tiempo prolongado, a través de un fenómeno denominado diapausa embrionaria (Ernst, Altenburg y Barbour, 1997). El sexo de las crías está determinado por la temperatura de incubación (Ernst, Altenburg y Barbour, 1997). Ponen hasta tres nidos por temporada reproductiva,

con 6 a 16 huevos y su periodo de incubación varía de 115 a 223 días, dependiendo de la diapausa embrionaria (Zenteno-Ruiz *et al.*, 2002).

Trabajos recientes acerca de *D. mawii* tratan sobre su hábitat en Veracruz (Ureña-Aranda, 2007) y Tabasco (Zenteno-Ruiz *et al.*, 2010; Hernández-Velázquez, 2014), aspectos sanitarios en cautiverio (Jiménez-Salvador, 2007; Hernández-Tario, 2013), estudios hematológicos (Rangel-Mendoza *et al.*, 2009), dieta en vida libre (Moll, 1989; Gil-Alarcón, 2008), filogenia y genética poblacional (Zapata-Hernández, 2012; González-Porter *et al.*, 2013) y el estado actual de sus poblaciones en el sur de Quintana Roo (Calderón-Mandujano, 2008). Sobre esta especie también se han estudiado aspectos sobre su historia natural (Álvarez del Toro, 1982), cariotipo (Carr, Bickham y Dean, 1981), estado de conservación e importancia económica (Moll, 1986; Polisar y Horwich, 1994). Del interés por esta especie, surgió la Estrategia Nacional para la Conservación y el Manejo Sustentable de la Tortuga Blanca (*Dermatemys mawii*) en México, que contiene los lineamientos generales para tratar este recurso, y que aún requiere la fase de instrumentación (CONABIO-DGVS-CONANP, 2009).

Las poblaciones silvestres de tortuga blanca se han reducido de manera considerable, debido principalmente a su caza para consumo y la modificación de su hábitat (Polisar y Horwich, 1994; CITES, 2005). Actualmente, *D. mawii* está catalogada en peligro de extinción según la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT, 2010), por lo cual existe una veda permanente para su captura. Además, se encuentra incluida en la lista mundial de las 25 especies de tortugas terrestres y de agua dulce con mayor amenaza de desaparición (Turtle Conservation Coalition, 2011). Desde 1981, se contempla en el Apéndice II por la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES, 2005). La tortuga blanca también está considerada en la Lista Roja de Especies Amenazadas de la IUCN en la categoría “En Peligro Crítico de Extinción” (Critically Endangered: CR) (IUCN, 2013).

En México, las poblaciones silvestres de tortuga blanca se han reducido notablemente en los últimos 20 años. En 1992, se capturaron únicamente 14 organismos en el río Tzendales, Chiapas (Vogt y Flores-Villela, 1992) mientras que para 2003, se capturaron

20 organismos en un estudio poblacional realizado en varios estados del sureste de México (CITES, 2005). La diferencia entre los estudios de 1992 y 2003 es evidencia de la drástica reducción en las poblaciones naturales de *D. mawii*. Actualmente, se cuenta con registros de la existencia de la especie en la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla (RBPC), Tabasco (Zenteno-Ruiz, 2010), las cuencas bajas del río Papaloapan, Veracruz (Ureña-Aranda, 2007) y del sur de Quintana Roo (Calderón-Mandujano, 2008), donde se desarrollaron estudios ecológicos, sobre calidad de hábitat y estado de conservación de las poblaciones silvestres.

La importancia económica de la especie, la reducción de las poblaciones silvestres y la necesidad de generar alternativas para su conservación, han sido factores para promover iniciativas para su crianza en granjas a través de la figura de la Unidad de Manejo para la Conservación de Vida Silvestre (UMA). Oficialmente, hay registradas 14 UMA que trabajan con tortuga blanca en México: 6 en Tabasco, 5 en Veracruz, y las 3 restantes, repartidas en Campeche, Morelos y Estado de México (CONABIO-DGVS-CONANP, 2009).

La UMA que cuenta con el mayor número de individuos de *D. mawii* es la “Granja de tortugas del Estado de Tabasco” en Nacajuca, Tabasco, con aproximadamente 750 individuos en 2007, cuyo fin principal es la reproducción para la conservación de la especie (CONABIO-DGVS-CONANP, 2009). Las demás granjas tienen propósitos de uso sustentable a través de la comercialización. Hasta el momento, sólo la UMA “Ecosistemas Acuícolas de Sagaro S.A. de C.V.”, ubicada en el municipio de Florida, Veracruz, ha comercializado tortugas blancas como mascotas, obtenidas en reproducción de su pie de cría tras 10 años de operación (CONABIO-DGVS-CONANP, 2009).

El interés en la crianza de la tortuga blanca en Tabasco claramente tiene relación con la tradición en el aprovechamiento de esta especie, principalmente para su consumo de su carne que constituye un manjar singular en la gastronomía local. Existe una gran demanda por esta especie, por lo que su adquisición a través del comercio ilegal convierte a esta tortuga en un producto de alto valor económico (CONABIO-DGVS-

CONANP, 2009; Vogt *et al.*, 2011). En razón a lo anterior, la crianza de *D. mawii* en Tabasco responde al interés local de aprovechar legalmente la especie, a través de su reproducción en cautiverio y el uso de organismos criados para satisfacer la demanda comercial, y de manera simultánea, fomentar su conservación a partir de la reducción en la presión de captura en las poblaciones silvestres.

Los métodos aplicados para la crianza de la tortuga blanca provienen de la experiencia de los pobladores rurales que la aprovechan, así como de los criadores en granjas, y muy poco de la investigación científica formal. Aspectos tan importantes como la alimentación han sido implementados a partir del conocimiento de los productores sobre los hábitos de consumo de la especie y dependen también de los recursos económicos para brindar dicho alimento.

En las granjas donde se cultiva a *D. mawii*, generalmente se les suministra como alimento la hierba “mazote” (*Melampodium divaricatum*), el lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) y alimento concentrado para pescado o aves de corral (con aproximadamente 32% de proteína), complementado ocasionalmente por vegetales o frutas frescas (Rangel-Mendoza, 2007). Sin embargo, evaluaciones hematológicas en organismos cautivos de la especie indican muy elevados contenidos de nitrógeno en sangre (ácido úrico y urea), lo cual es indicativo de una dieta inadecuada, excesivamente alta en proteína (Rangel-Mendoza *et al.*, 2009).

1.2. Planteamiento del problema

La reducción drástica de las poblaciones silvestres de tortuga blanca en México, y su importancia social, han motivado la creación y funcionamiento de granjas de crianza para su conservación y uso sostenible. En un estudio previo sobre hematología en la especie, se encontró evidencia de signos de enfermedad en poblaciones cautivas, probablemente relacionados con manejo alimenticio inadecuado y pobre calidad de agua en los estanques donde se manejan las tortugas (Rangel-Mendoza *et al.*, 2009). Dicho estudio también generó información básica para evaluar la salud de la especie a partir de parámetros hematológicos.

El presente estudio ahonda en los hallazgos de dicha investigación y efectúa un análisis más complejo, abordando algunos de los factores determinantes del éxito en la crianza, como son el manejo, la salud y la nutrición de los organismos. A partir de la disposición de los criadores de tortugas en Tabasco, se evaluaron diferentes colonias de *D. mawii* mantenidas en cautiverio en dicha entidad. En primera instancia, en cada granja se registraron las rutinas de manejo, se realizó la valoración del estado de salud a través de examen físico, análisis de sangre y microbiología, y se evaluó la calidad del agua de los estanques donde los organismos eran mantenidos. A partir de estos resultados se obtuvo información que permite sugerir acciones de mejoramiento en las técnicas que actualmente se emplean para mantener a la especie en cautiverio.

Adicionalmente, y reconociendo la importancia de la dieta sobre la condición fisiológica de los animales, se realizó un estudio que caracteriza la capacidad digestiva de la tortuga blanca. Esta investigación constituye la primera aproximación a la determinación de la actividad enzimática digestiva de esta especie, y sus resultados brindan información básica para comprender los mecanismos de su nutrición, y diseñar, a futuro, una dieta artificial adecuada a las características de esta tortuga.

Los factores evaluados en este trabajo de tesis -manejo, salud y nutrición- constituyen algunos componentes claves en la crianza animal, cuyo estudio es prioritario en tortuga blanca dada la necesidad de salvar a la especie de la extinción. Los resultados de este estudio, analizados de manera integral, también ofrecen un aporte en relación a la eficacia de las medidas tomadas hasta la fecha para la conservación de esta especie a partir de los esfuerzos dirigidos hacia su manejo en cautiverio. De este análisis surgen recomendaciones que van más allá de un plano operativo de mejoras hacia las técnicas, abordando los conceptos que fundamentan una estrategia de conservación para la recuperación de una especie gravemente amenazada como *D. mawii*.

1.3. Antecedentes

1.3.1. Manejo en cautiverio

Una estrategia de conservación de especies amenazadas es la creación y el mantenimiento de colonias de organismos bajo condiciones de cautiverio (Witzenberger y Hochkirch, 2011). Históricamente, los zoológicos e instituciones gubernamentales dirigían estas iniciativas, pero actualmente también participan organizaciones sociales, comunitarias o individuos. Para que esta estrategia sea exitosa, se requiere integrar protocolos de alta calidad, cuidado sanitario, manejo genético y consideraciones especiales para pequeñas poblaciones (Syed *et al.*, 2007).

La crianza en cautiverio, como herramienta de conservación, implica una extensión lógica a la reintroducción de organismos al medio silvestre para la recuperación de especies, subespecies, o poblaciones amenazadas de extinguirse (Philippart, 1995), y deben apoyar, pero no sustituir, las poblaciones silvestres (Huntley y Langton, 1994). Es importante tener claro que esta modalidad *ex situ* de conservación debe usarse como una medida temporal, mientras se consigue la restauración de hábitats para futuras reintroducciones y la recuperación de poblaciones silvestres capaces de permanecer en el medio de forma autónoma (Philippart, 1995). La estrategia ideal de conservación de la biodiversidad es la protección *in situ* de las comunidades biológicas y sus procesos en el medio silvestre (Syed *et al.*, 2007).

Sin embargo, el manejo en cautiverio de una especie silvestre no es un reto fácil, ya que requiere del conocimiento de muchos aspectos de su biología para asegurar que las condiciones del nuevo ambiente cumplan con sus requerimientos biológicos (McKeown, 1996). En muchos casos, es probable que las condiciones ambientales tengan efecto sobre los aspectos fisiológicos de los animales, que pueden traducirse en alteraciones por estrés, medicación o dieta, entre otros aspectos, cuando se manejan en cautiverio (St. Aubin *et al.*, 2001).

Las técnicas empleadas para el mantenimiento en cautiverio de los organismos de especies amenazadas deben asegurar individuos aptos para ser liberados al medio

silvestre, que posean fortalezas para sobrevivir en el medio natural y contribuir a la recuperación de las poblaciones naturales de su especie. Por lo tanto, existen ciertos criterios de calidad biológica que deben tenerse en cuenta (en esencia sobre el comportamiento, aspectos genéticos y sanitarios) en las actividades de reproducción en cautiverio de especies amenazadas, como una vía para su conservación (Philippart, 1995).

Como estrategia de conservación en especies acuáticas, la crianza en cautiverio ha sido aplicada para la recuperación de varias especies de peces amenazados. Al respecto existen casos exitosos como aquellos de los peces *Cyprinodon elegans* (Cyprinodontidae) y *Gambusia nobilis* (Poeciliidae) cuyas colonias en cautiverio fueron removidas de sistemas de crianza debido a que en cada caso, la especie manejada se recuperó totalmente en vida libre tras el éxito de los programas de conservación (Philippart, 1995). El esturión blanco *Acipenser transmontanus* es otro caso documentado con un margen de éxito en la recuperación de sus poblaciones silvestres en Estados Unidos, a través de un programa de conservación que incluyó su reproducción y mantenimiento en cautiverio (Ireland, Anders y Siple, 2002).

Los aspectos genéticos relacionados con la crianza en cautiverio merecen consideración especial, pero no se ahondará en este documento, debido a que el propósito principal no abarca esa temática. Sin embargo, es importante mencionar que la conservación de una especie amenazada, a través del manejo de colonias en cautiverio, requiere de la determinación de la identidad genética de la especie blanco, el establecimiento de grupos fundadores y la conservación de la variabilidad genética durante la crianza (Philippart, 1995). Un riesgo de la conservación *ex situ* es la pérdida de diversidad genética, problemas de endogamia, la selección para ambientes cautivos y la pérdida de rasgos naturales como la evasión de depredadores (Sutherland, 2000).

En el aspecto sanitario, el manejo en cautiverio significa un riesgo significativo en la transmisión de parásitos y enfermedades, por lo cual, es fundamental implementar medidas para la producción de organismos sanos (Philippart, 1995). La buena condición de salud de una especie amenazada manejada en cautiverio promueve la calidad de

vida de los organismos fundadores de la colonia en cautiverio. Por otro lado, un estado de salud adecuado fortalece la producción de organismos sanos, con la capacidad para sobrevivir al ambiente natural en caso de liberación, y de no transmitir agentes infecciosos que perjudiquen a sus conespecíficos, o incluso otras especies, que conforman la comunidad biológica natural en su medio silvestre. Un programa exitoso de crianza en cautiverio deber estar acompañado por altos estándares de cuidado, ya que hay una conexión directa entre la salud de un organismo y su ambiente (Huntley y Langton, 1994).

Como los peces, las tortugas amenazadas de extinción también han sido objeto de conservación a través de iniciativas de manejo en cautiverio (Kuchling y Dejose, 1989; He *et al.*, 2010). La organización internacional Turtle Survival Alliance ha auspiciado diversas iniciativas de conservación de tortugas de agua dulce y terrestres en peligro de extinción, que incluyen la creación de programas de crianza en cautiverio (TSA, 2013). Este apoyo ha significado el aseguramiento de colonias cautivas de especies en peligro crítico, su reproducción y, en algunos casos, su liberación al medio silvestre (Lowe, 2013). El éxito en la recuperación de las poblaciones silvestres de especies amenazadas de tortugas aún no ha sido documentado.

En Asia, en respuesta a la crisis de las tortugas dulceacuícolas, debido a su alta demanda como alimento y medicina, a partir de 1980 se inició el establecimiento de gran cantidad de granjas para su producción en China (Shi *et al.*, 2008), Japón, Taiwán, Singapur, Malasia, Tailandia, Vietnam e Indonesia (Syed *et al.*, 2007). En Estados Unidos de Norteamérica (E.U.A), hay más de 20 especies de tortugas producidas de manera comercial, especialmente para el mercado de mascotas (Syed *et al.*, 2007). Sin embargo, los resultados de las granjas de tortugas para la conservación de las especies nativas en China son desalentadores, y llevan a considerarlas como una de las principales amenazas para la supervivencia de poblaciones silvestres debido principalmente a su papel como compradoras de tortugas silvestres, para incrementar la cantidad de parentales y contrarrestar la disminución en la capacidad de reproducción que usualmente exhiben las tortugas cautivas (Shi *et al.*, 2007; Syed *et al.*, 2007). Aunque también existen algunas granjas de tortugas, como en el caso de Taiwán donde

la crianza de *Mauremys sinensis* no parece generar efectos negativos sobre las poblaciones silvestres (Syed *et al.*, 2007).

Adicionalmente, la crianza en cautiverio de una especie silvestre supone la posibilidad de emplear los organismos reproducidos en el medio artificial para su uso, reduciendo esta presión de consumo sobre las poblaciones silvestres. Es así como la crianza en cautiverio de tortugas puede contextualizarse dentro de la acuicultura, que se define como el “cultivo de organismos acuáticos, usando métodos intensivos o extensivos, con el propósito de incrementar la producción o el rendimiento por unidad de área o volumen, a un nivel superior al naturalmente obtenido en un ambiente acuático particular” (Fuller, 2004, p. 31).

La crianza de tortugas desde una perspectiva acuícola es una aproximación relativamente reciente como actividad económica. Varias especies de tortugas se han producido comercialmente: la tortuga de caparazón blando (*Trionyx sinensis japonicus*) en Japón, la tortuga de orejas rojas (*Trachemys scripta elegans*) y la tortuga de dorso diamantino (*Malaclemys terrapin*) en E.U.A, así como la tortuga verde marina, *Chelonia mydas*, en las Islas Caimán, Surinam y Australia (Wood, 1991). Los propósitos de la crianza de estas especies de tortugas son variados, en algunos casos se utilizan como fuente de alimento para el humano (*T. sinensis* y *M. terrapin*), mientras que en otros sirven como mascotas (*T. scripta elegans*) y/o productos decorativos (*C. mydas*) (Wood, 1991). Todas las especies de tortugas dulceacuícolas mencionadas anteriormente no poseen amenazas significativas de extinción, sino que son catalogadas como comunes o en bajo riesgo (Ernst, Altenburg y Barbour, 1997).

Las técnicas empleadas para el manejo, cuidado y reproducción de las especies de tortugas que se han cultivado exitosamente no son frecuentemente difundidas. Existen algunos documentos que relatan los avances en el manejo en cautiverio de tortugas marinas (Higgins, 2003) y tortugas acuáticas como la hicotea colombiana *Trachemys scripta callirostris* (De la Ossa Velázquez y Riaño Silva, 1999) y el chopontil mexicano *Claudius angustatus* (Aguirre-León *et al.*, 2002). Sin embargo, es claro que algunos de los factores que definen el éxito del manejo en cautiverio de las tortugas acuáticas son

la infraestructura, calidad y temperatura del agua, áreas de nidación y alimentación (Boyer y Boyer, 2006). Por lo tanto, la clave del progreso en la crianza en cautiverio de una tortuga residirá en desarrollar las tecnologías para cubrir los requerimientos de la especie en cada uno de estos aspectos.

Dada la importancia del manejo en cautiverio como una herramienta de conservación para la recuperación en vida silvestre de una especie gravemente amenazada, así como para su cultivo con un potencial aprovechamiento y el hecho de que la tortuga blanca *D. mawii* esté siendo manejada bajo este esquema, merece una particular atención. Surgen inquietudes sobre la correspondencia entre las técnicas actuales y los lineamientos para la conservación de una especie en su condición de riesgo de desaparición, y por otro lado, sobre la eficiencia de las técnicas actuales para incrementar o asegurar un nivel deseado de reproducción de la especie. El presente documento reúne algunas evidencias sobre el efecto del actual esquema de manejo sobre la condición de los organismos cautivos, y la eficiencia de esta estrategia de conservación en el caso de la tortuga blanca.

1.3.2. Salud

El diagnóstico de la salud de un animal incluye una revisión exhaustiva de la anamnesis, o historia clínica, un examen físico clínico completo, hematología y bioquímica sanguínea y análisis de frotis de heces frescas. Otros procedimientos diagnósticos pueden ser el uso de imágenes internas del animal, cultivos de exudados o aspirados de lesiones y la cirugía exploratoria (Barrows, McArthur y Wilkinson, 2004). Protocolos para la evaluación del estado de salud en quelonios han sido propuestos por Berry y Christopher (2001).

La anamnesis es el paso más importante en la evaluación de la salud, a menos que se presente un trauma o caso crítico y se requiera estabilizar urgentemente al organismo. Esta fase sirve para determinar qué aspectos funcionan incorrectamente en el manejo del animal. Los cuestionamientos incluidos en la anamnesis son datos de referencia del individuo, formas de manejo, características ambientales, nutrición, datos reproductivos, control de enfermedades, hibernación y demás observaciones (Barrows, McArthur y

Wilkinson, 2004). Existen protocolos para la anamnesis en quelonios, como el que sugieren Barrows, McArthur y Wilkinson (2004), que pueden constituir un diagnóstico presuntivo de la condición del organismo evaluado.

En segunda instancia está el examen físico, que es más certero cuando el evaluador, tiene un amplio conocimiento sobre la apariencia, postura y comportamiento normal o anormal de los organismos, según la temporada y región (Berry y Christopher, 2001). El propósito del examen físico es localizar cualquier lesión o señal clínica en órganos o sistemas, y elaborar una lista de posibles diagnósticos (Hernández-Divers, 2006). Esta fase de evaluación consiste en observar, escuchar, oler y sentir al paciente; en algunos casos, se requiere de la contención física o química de los organismos para prevenir agresiones. Al evaluar físicamente a un animal, se obtiene información sobre la especie, edad, sexo, movilidad, peso, talla, temperatura, auscultación y percusión, palpación, apariencia de cabeza, boca y extremidades, entre otros (Barrows, McArthur y Wilkinson, 2004).

La determinación del peso y la talla corporal del organismo es una pequeña parte del examen físico. A partir de la relación entre estas dos variables, en el contexto de la salud animal, se han desarrollado diferentes índices de condición corporal (ICC). Estos índices se han utilizado para describir la condición física de los animales, bajo la presunción que animales con buena condición tienen más reservas energéticas que aquellos que tienen una condición baja (Schulte-Hostedde, *et al.*, 2005). En tortugas, la relación entre la masa corporal y la longitud del caparazón, cuando forma parte de un examen clínico, puede servir de indicador de la condición corporal (Blakey y Kirkwood, 1995; Hernández-Divers, 2006). Sin embargo, Barrows, McArthur y Wilkinson (2004) sugieren que la relación entre el peso y la talla corporal sólo es significativa, en cuanto a la salud, cuando se comparan poblaciones similares, y las alteraciones en la salud se reflejan en alteraciones predecibles en el peso.

Tras la anamnesis y el examen clínico, una evaluación de salud debe acompañarse de diversos análisis de patología clínica, que pueden incluir hematología, bioquímica sanguínea, análisis de orina, citología, histología, serología, examen de heces,

microbiología y aislamiento de virus, para lo cual se pueden adaptar algunas de las técnicas diagnósticas utilizadas en medicina de mamíferos y otros vertebrados (Barrows, McArthur y Wilkinson, 2004). El diagnóstico de la salud mediante técnicas de imagen, que visualizan la estructura interna del paciente, incluye técnicas como la ultrasonografía, radiografía, endoscopia y tomografía computarizada e imágenes de resonancia magnética (Barrows, McArthur y Wilkinson, 2004).

La determinación del estado de salud de animales con frecuencia se basa en el muestreo de sangre, conteos celulares completos, perfiles bioquímicos, así como análisis de vitaminas, minerales, entre otros (Berry y Christopher, 2001; Christopher *et al.*, 2003; Chaffin *et al.*, 2008; Rangel-Mendoza *et al.*, 2009). Estos análisis no siempre van acompañados de otras técnicas clínicas, como las sugeridas por Barrows, McArthur y Wilkinson (2004), que darían mayor contundencia a la estimación del estado de salud.

Un estudio hematológico es utilizado para detectar alteraciones en las células sanguíneas (eritrocitos, trombocitos y leucocitos), y para tal fin es necesario comparar los resultados con los valores hematológicos normales para la especie. Estos valores de referencia pueden variar en relación a la condición del hábitat de los organismos, el estado fisiológico, edad, sexo, estado nutricional, entre otros factores. Una evaluación hematológica de rutina incluye la determinación del paquete de volumen celular (o hematocrito), los conteos completos de eritrocitos y leucocitos, una evaluación diferencial de leucocitos y el examen de la morfología celular (Campbell, 2006).

Los estudios de bioquímica sanguínea son utilizados para establecer el estado fisiológico de un individuo, y también se requieren valores de referencia para cada especie para hacer interpretaciones válidas. Las pruebas bioquímicas que pueden ser útiles en reptiles incluyen los niveles de proteínas totales, albúmina, glucosa, ácido úrico, calcio, fósforo y enzimas como la aspartato aminotransferasa (AST) y creatina kinasa (CK). Otros parámetros que pueden ser útiles son la enzima lactato deshidrogenasa (LDH), sodio, potasio, cloruro, CO₂ total, entre otros (Campbell, 2006).

Bacterias y hongos pueden causar mortalidad y morbilidad en los reptiles. Sin embargo, la mayoría de las infecciones usualmente son el resultado de la inmunosupresión

asociada usualmente al estrés en cautiverio. Las bacterias Gram-negativas son frecuentes en reptiles sanos, mientras que las bacterias Gram-positivas raramente se asocian a enfermedades. Por lo tanto, los estudios bacteriológicos son particularmente importantes para establecer los microorganismos asociados a una especie, en condiciones aparentes de salud o enfermedad. Dependiendo el objetivo del estudio, se pueden tomar muestras para estudios microbiológicos en sangre, piel, superficie corporal, tracto gastrointestinal (cavidad oral y cloaca) o tracto respiratorio (Paré *et al.*, 2006).

Varios estudios se han desarrollado para evaluar la salud en diversos quelonios, tales como la tortuga diamantina, *Malaclemys terrapin terrapin* (Werner, Ehret y Jensen, 2002), tortuga cajita, *Clemmys muhlenbergii* (Brenner, *et al.*, 2002), tortuga del desierto, *Gopherus agassizii* (Christopher, *et al.*, 2003), tortuga terrestre de Louisiana, *Gopherus polyphemus* (Díaz-Figueroa, 2005), tortuga mordedora, *Macrolemys temminkii* (Chaffin, *et al.*, 2008), tortuga verde marina, *Chelonia mydas* (Hamann, *et al.*, 2006; Flint, *et al.*, 2009, 2010a, 2010b, 2011) y tortuga blanca *D. mawii* (Rangel-Mendoza *et al.*, 2009). Las caracterizaciones del estado de salud incluyeron, en algunos casos, la evaluación de poblaciones silvestres y cautivas, o el efecto de la época del año. Estos trabajos en su mayoría constituyen estudios de línea de base que brindan una referencia para posteriores análisis. Algunos factores que demostraron afectar el estado de salud de diferentes especies de quelonios son la temporada, sexo, edad, dieta (Brenner *et al.*, 2002; Chaffin *et al.*, 2008; Flint *et al.*, 2010b), calidad del ambiente (Rangel-Mendoza *et al.*, 2009; Flint *et al.*, 2011) y agentes infecciosos (Christopher *et al.*, 2003).

En resumen, los estudios de salud animal brindan las herramientas para detectar alteraciones fisiológicas en un organismo, inferir posibles causas de los hallazgos y sugerir alternativas de atención para tratar los factores causales. Dado que el buen desarrollo de un organismo en cautiverio depende principalmente del que el ambiente de manejo provea sus requerimientos biológicos (McKeown, 1996), los estudios de salud pueden ser empleados como evidencia del efecto que tienen las medidas de cuidado sobre el funcionamiento de los sistemas y metabolismo de un animal. La

importancia de los estudios de salud es aún mayor cuando se maneja en cautiverio una colonia de organismos de una especie en peligro de extinción, como es el caso de la tortuga blanca *D. mawii*. Los organismos obtenidos a partir de esta crianza deberían ser susceptibles de liberarse en vida silvestre, donde es necesario que cuenten con las condiciones físicas y fisiológicas, entre otras, para sobrevivir en ese contexto sin arriesgar la salud de la comunidad biológica a la que ingresen.

1.3.3. Dieta

Uno de los aspectos más críticos de la crianza en cautiverio de cualquier especie es la alimentación. Se dice que “un individuo es lo que come”, por tanto, la mala condición de los animales en cautiverio generalmente está relacionada con dietas inadecuadas (Donoghue, 2006). En algunos zoológicos, con personal calificado, se han implementado alimentos balanceados para diversas especies; sin embargo, la mayoría de las dietas para reptiles aún reflejan la tradición y el ensayo-error, más que los fundamentos científicos. Este proceder es insuficiente para los programas de conservación y ponen en riesgo la salud del animal y su reproducción (Ofstedal y Allen, 1996).

La alimentación y la salud son aspectos ligados. En la tortuga *G. agassizii*, se determinó que la alta mortalidad en adultos se asociaba con la alta incidencia de Enfermedad del Tracto Respiratorio Superior y la susceptibilidad a contraer dicha enfermedad se relacionaba con un estado nutricional pobre (Ofstedal y Allen, 1996). Al evaluar la respuesta de organismos jóvenes a varias dietas con niveles variables de proteína y potasio, se observó la reducción en el consumo de alimento cuando la dieta tenía elevados contenidos de potasio. Probablemente, esta situación podría ocasionar debilidad en los animales y abrir la entrada a agentes infecciosos (Ofstedal y Allen, 1996).

Las primeras granjas de producción de tortugas de agua dulce en Japón y E.U.A suministraban como alimento, pescado fresco, salado o mariscos, así como huevos de gallina (Wood, 1991). Esta forma de alimentación fue reemplazada con las preparaciones comerciales en pellets, por su conveniencia, bajo costo y calidad nutritiva

(Wood, 1991). De esta forma, se hace evidente la necesidad que ha existido de formular dietas para hacer más eficiente el manejo nutricional en protocolos de crianza de animales.

La formulación de dietas se basa convencionalmente en los denominados análisis proximales, que cuantifican los nutrientes que contienen los alimentos, pero no dan información sobre las cantidades de nutrientes requeridas por el organismo en un tiempo dado (Álvarez-González, 2003). Otra perspectiva de formulación de alimentos, se basa en el estudio de la capacidad digestiva de una especie, y de su variación a través de su ontogenia (Moyano-López, 2006).

La capacidad digestiva de un organismo depende de la acción de las enzimas digestivas, las cuales participan en la transformación del alimento ingerido en moléculas simples, pequeñas y absorbibles (De Silva y Anderson, 1995). Las enzimas digestivas son hidrolasas, compuestos capaces de catalizar reacciones hidrolíticas, que en base a su función fisiológica, son divididas en proteasas, lipasas y carbohidrasas (De Silva y Anderson, 1995).

Las proteasas actúan sobre los enlaces peptídicos de las proteínas, pudiendo esta ruptura localizarse al final de la proteína (exopeptidasas) o en un punto intermedio de ésta (endopeptidasas). Los principales tipos de endopeptidasas en la digestión de las proteínas son la pepsina, quimotripsina y tripsina. Por otro lado, existen tres grupos de exopeptidasas: carboxipeptidasas, aminopepsidasas y dipeptidasas. Cada una de estas enzimas posee especificidad de sustratos. La mayoría de la digestión de las proteínas ocurre en el estómago, por acción de la pepsina que es más activa en medios ácidos. Sin embargo, en peces sin estómago, el papel de la pepsina es realizado por proteasas alcalinas (De Silva y Anderson, 1995).

Las lipasas digestivas actúan en la digestión de las grasas, catalizando la hidrólisis de los enlaces ésteres en sustratos como los triglicéridos, fosfolípidos, ésteres de colesterol y ésteres de vitaminas (Wong y Schotz, 2002). Las lipasas “verdaderas” se distinguen de otro tipo de enzimas lipolíticas como las fosfolipasas, esterol estearasas y retinol palmitato estearasas (Kurtovic *et al.*, 2009). Las lipasas pueden estar presentes

en secreciones salivales y gástricas, pudiendo digerir parcialmente la grasa dietaria, pero son principalmente las lipasas pancreáticas las que realizan el proceso de digestión en el duodeno (Dryden, 2008).

Por su parte, las carbohidrasas están presentes en el jugo pancreático, estómago, intestino y bilis, aunque no de todos los animales y en la mayoría de las especies, el páncreas es el principal productor de estas enzimas. Existen dos grandes grupos de estas enzimas: polisacaridasas y glucosidasas. Las primeras hidrolizan enlaces glucosídicos de los carbohidratos de cadena larga como la celulosa, glucógeno y almidón, produciendo disacáridos y oligosacáridos: el tipo más común de polisacaridasa son las amilasas. Por el otro lado, las glucosidasas actúan sobre disacáridos, liberando monosacáridos listos para ser absorbidos (Randall, Burggren y French, 1998).

La estimación de la capacidad digestiva de una especie a partir de la caracterización de las enzimas implicadas en este proceso, implica un conocimiento detallado del funcionamiento de las enzimas, que se ve afectado por factores asociados a la fisiología del animal, como a las características de la dieta (Moyano-López, 2006). La caracterización funcional de las enzimas abarca el estudio de sus parámetros operacionales como sus óptimos de pH y temperatura, su estabilidad frente a las variaciones de pH y temperatura, su velocidad de reacción y afinidad por el sustrato, sensibilidad a inhibidores específicos, entre otros. (Moyano-López, 2006).

Particular atención en los estudios de caracterización enzimática reciben las proteasas, debido a su papel fundamental en la hidrólisis de las proteínas (Moyano-López, 2006), nutrientes claves para el crecimiento de los organismos, ya que a partir de la digestión de estas biomoléculas se liberan aminoácidos que proveen una variedad de productos que son requeridos para que el funcionamiento de un organismo. Los aminoácidos, y los productos de las reacciones bioquímicas en las que participan, determinan aspectos fisiológicos funcionales como la formación de tejidos, conformación de hormonas, elementos inmunitarios, transporte de gases, síntesis de proteínas de reserva, de regulación de vías metabólicas, y toxinas, entre otros (Fuller, 2004).

La información obtenida a través de los estudios de caracterización enzimática es útil para el manejo de la alimentación de especies cultivadas, ya que en estos casos, los humanos han modificado sustancialmente la composición de la dieta de la especie y las pautas naturales de alimentación. A partir de estos resultados se pueden diseñar protocolos de alimentación apropiados a la fisiología de la especie, mejorar la selección de los ingredientes más adecuados para formular dietas artificiales, llevar a cabo suplementaciones de enzimas que mejoren la digestión de ciertos compuestos, desarrollar modelos *in vitro* para la digestión de dietas, emplear las enzimas como indicadores del estado nutricional de un animal, entre otros aspectos (Moyano-López, 2006).

Debido a la ventaja de las aplicaciones de los estudios de las enzimas digestivas sobre la nutrición de organismos cultivados, son relativamente abundantes las investigaciones en torno a esta temática en especies acuacultivadas como peces e invertebrados, pero son muy escasas en otros grupos de vertebrados. Sun *et al.* (2007) determinaron la distribución en el tubo digestivo y las principales características de las enzimas digestivas (amilasas y proteasas) de *T. scripta* estableciendo las condiciones óptimas de temperatura y pH para su actividad. En el caso de *Pelodiscus sinensis*, Zou, Ai y Mai (2011) investigaron el desarrollo ontogénico de las principales enzimas digestivas (pepsina, tripsina, amilasa y lipasa) durante los 30 primeros días de vida, y hallaron que todas estas enzimas están presentes desde el primer día de su nacimiento, y su actividad se incrementa conforme crecen.

Bajo el contexto anterior, y dado que *D. mawii* es una especie que se maneja en cautiverio como estrategia de conservación a través de su reproducción para fines de uso sostenible, es importante iniciar los estudios tendientes a diseñar una dieta artificial que mejore los resultados de su crianza. Por lo anterior, en este documento se muestran los resultados de la caracterización de las enzimas digestivas de la tortuga blanca (proteasas y lipasas), y el efecto que tiene el pH y temperatura sobre su actividad y estabilidad; otras enzimas (como carbohidrasas) no fueron abordadas en el presente trabajo, y su estudio podrá retomarse posteriormente, cuando se cuente con los protocolos estandarizados para su análisis. Los resultados obtenidos abren una

línea de investigación que podrá ser continuada con estudios de digestibilidad *in vitro*, de ingredientes para la formulación de dietas artificiales, así como la evaluación de la digestibilidad *in vivo* de dietas formuladas a partir de los resultados de determinación de la capacidad digestiva de esta especie.

1.4. Objetivo general

Caracterizar las condiciones de manejo y el estado de salud de la tortuga blanca, *Dermatemys mawii*, mantenida bajo condiciones de cautiverio, con el propósito de proponer alternativas que incrementen la eficiencia de las prácticas actuales, con atención especial a la dieta para la especie.

1.5. Hipótesis

Las características del manejo en cautiverio de la tortuga blanca, *Dermatemys mawii*, están relacionadas con su estado de salud y, por lo tanto, los signos de enfermedad detectados en los animales estarán relacionados con aspectos inadecuados en su cuidado y mantenimiento.

En la medida en que se comprenda la fisiología digestiva de la tortuga blanca, a partir de las características funcionales de sus enzimas digestivas, se contará con información fundamental para el diseño de dietas artificiales adecuadas para su manejo en cautiverio.

**CAPÍTULO 1. EVALUACIÓN DEL ESTADO FÍSICO DE LA TORTUGA BLANCA,
Dermatemys mawii, BAJO CONDICIONES DE CAUTIVERIO EN TABASCO, MÉXICO**
**PHYSICAL EXAMINATION OF CENTRAL AMERICAN RIVER TURTLE, *Dermatemys*
mawii, UNDER CAPTIVE CONDITIONS IN TABASCO, MEXICO**

Judith Andrea Rangel-Mendoza^{1,2*}, Juan Manuel Weber Rodríguez²

*En arbitraje en la revista AGROCIENCIA

RESUMEN

La tortuga blanca, *Dermatemys mawii*, es una especie en peligro de extinción cuyas poblaciones silvestres han disminuido drásticamente, lo cual ha conducido a manejar grupos de tortugas en cautiverio con fines de reproducción para su aprovechamiento sostenible y futuros programas de liberación al medio natural. Sin embargo, las tortugas silvestres parecen mostrar mala condición. El objetivo de este estudio fue evaluar el estado físico de 90 tortugas blancas en cautiverio en tres granjas en el estado de Tabasco, México; determinar las variables de la calidad del agua de los estanques donde están las tortugas y conocer los métodos de manejo a través de entrevistas al personal encargado de su cuidado. En cada granja se tomó al azar un grupo de 30 tortugas al que se evaluó detalladamente la apariencia externa, determinando la frecuencia de condiciones físicas por grupo. Las medidas corporales de las tortugas se compararon entre sitios mediante análisis de Kruskal-Wallis, y la relación entre peso/talla de cada grupo se analizó a través de ANDEVA, las diferencias significativas se estimaron cuando $p < 0.05$. La prevalencia de condiciones físicas externas se contrastó entre granjas. Las variables de la calidad del agua se compararon con valores de referencia. Las tortugas de todas las granjas exhibieron frecuentes lesiones en caparazón y plastrón, así como signos de deshidratación. La calidad del agua en los estanques fue mala, con bajos niveles de transparencia (menor a 0.5 m), concentraciones excesivas de nitrógeno

amoniacal ($> 0.5 \text{ mg L}^{-1}$), valores altos ($> 20 \text{ mg L}^{-1}$) de DBO_5 y sólidos suspendidos totales ($> 30 \text{ mg L}^{-1}$), así como elevada cantidad de bacterias coliformes ($> 1000 \text{ NMP } 100 \text{ mL}^{-1}$). Los factores que determinarían dichas condiciones son la densidad alta de tortugas y el tratamiento inadecuado del agua.

Palabras clave: calidad del agua, salud, conservación *ex situ*, *Dermatemys mawii*, manejo.

INTRODUCCIÓN

El manejo en cautiverio es una de las estrategias para la conservación de muchas especies. Para que la crianza en cautiverio sea exitosa se requiere integrar principios de manejo de calidad alta, cuidado sanitario, manejo genético y consideraciones especiales para pequeñas poblaciones (Syed *et al.*, 2007). La crianza de tortugas con fines de producción comercial es como mascotas, carne para consumo o productos decorativos (Wood, 1991).

En la literatura revisada se encontraron pocos artículos acerca de técnicas y resultados de la crianza de tortugas bajo condiciones artificiales, pero sí guías para la cría de la hicotea colombiana, *Trachemys scripta callirostris* (De la Ossa y Riaño, 1999) y para el chopontil mexicano, *Claudius angustatus* (Aguirre *et al.*, 2002). Para tortugas marinas hay protocolos de crianza en cautiverio muy avanzados, que detallan la infraestructura, agua, manejo de crías, alimentación, densidades de manejo, limpieza, y otros aspectos (Higgins, 2003).

En México, la tortuga blanca (*Dermatemys mawii*) merece particular atención, porque la estrategia de conservación de esta especie involucra iniciativas para su crianza en cautiverio. Oficialmente, existen 14 criaderos registrados en México que manejan la especie (CONABIO-DGVS-CONANP, 2009), los cuales están formalmente registrados ante la autoridad ambiental mexicana, la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), bajo la figura

de Unidad de Manejo para la Conservación de Vida Silvestre (UMA, Diario Oficial de la Federación, 2000).

La tortuga blanca es una especie dulceacuícola distribuida naturalmente en el sur de México, Guatemala y Belice (Vogt *et al.*, 2011). Sus poblaciones silvestres se han reducido considerablemente debido principalmente a su caza para consumo y la modificación de su hábitat (Polisar y Horwich, 1994; CITES, 2005). Actualmente, *D. mawii* está catalogada en peligro de extinción según la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT, 2010), por lo cual existe una veda permanente para su captura en México. En el ámbito internacional, este quelonio está 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 (TCC, 2011). Desde 1982, está en el Apéndice II por la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES, 2005), y además está en la Lista Roja de Especies Amenazadas de la UICN en la categoría “En Peligro Crítico de Extinción” (Critically Endangered: CR) (IUCN, 2013).

Los métodos de manejo para la crianza de *D. mawii* provienen de la experiencia de los pobladores rurales locales y de los criadores en granjas, pero muy poco de la investigación científica. Los resultados de las iniciativas en torno a la crianza en cautiverio de la especie no están documentados, pero se reconoce que *D. mawii* se reproduce en cautiverio aunque sus condiciones de salud no son óptimas (Rangel *et al.*, 2009) y la viabilidad de estas poblaciones para usarlas en planes de recuperación de poblaciones silvestres es cuestionable (Syed *et al.*, 2007).

Por tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el estado físico de *D. mawii* y del ambiente donde se mantienen colonias de tortugas en tres granjas del estado de Tabasco, México, tomando en cuenta aspectos del manejo que pueden afectar la condición de las tortugas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios de estudio

Este estudio se realizó en mayo del 2011 en tres granjas, que al momento reunían las colonias más numerosas de tortuga blanca en cautiverio en el estado de Tabasco: Granja de tortugas del Gobierno del estado de Tabasco (GOB, 18°00' N, 93°02' O), Granja de tortugas Arca de Noé (NOE, 18°2' N, 92°56' O) y Granja de tortugas Arroyo Tabasquillo (TAB, 18°18' N, 92°47' O).

Evaluación de las tortugas

Treinta tortugas *D. mawii* fueron evaluadas en cada granja, 90 en total (9 machos y 81 hembras). En cada sitio, las tortugas estaban confinadas en un solo estanque rústico, excavado en la tierra, con diferentes dimensiones: 40 x 20 m en GOB, 25 x 18 m en TAB y 20 x 14 m en NOE. Las tortugas se identificaron individualmente a partir de un sistema de marcaje (homogéneo para todas las granjas evaluadas) basado en la combinación de muescas en las escamas marginales del caparazón, adaptado del método sugerido por Cagle (1939).

Las tortugas se obtuvieron mediante arrastre con paño de pesca en cada estanque, el mismo día o el anterior a la fecha de evaluación. La evaluación consistió en: 1) anamnesis (o historia clínica) para recopilar información sobre antecedentes de manejo y enfermedades en las tortugas; 2) un examen físico individual de la biometría corporal, esto es peso (kg) y largo recto del caparazón (LRC, cm) así como datos básicos de identificación de cada tortuga y antecedentes; además se evaluó condiciones externas de la cabeza, caparazón, extremidades y cloaca, comportamiento, postura y ectoparásitos.

Calidad del agua

Un día antes de recolectar las tortugas, se tomó una muestra de agua del estanque donde se encontraban, entre 11:00 y 13:00 hs, a 0.5 m de profundidad. Seguidamente se tomaron datos en

el sitio como la temperatura del agua y oxígeno disuelto con un medidor multiparamétrico (YSI Model 55®), y pH con un potenciómetro (pH Waterproof Tester HI 98127-Hanna Instruments®). Las muestras de agua se trasladaron bajo refrigeración al laboratorio de Análisis Físicoquímicos de la División Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, donde se midieron distintas variables de la calidad del agua: sólidos suspendidos totales (método NMX-AA-034-SCFI-2001), nitratos (método NMX-AA-034-SCFI-2001), nitritos (método colorimétrico Martínez-Cordova, 1998), nitrógeno amoniacal (método 4500-NH₃ APHA – sal de fenol), fosfatos (método 4500-NH₃ APHA – cloruro estañoso), demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅) (método NMX-AA-028-SCFI-2001) y coliformes totales y fecales (método PROY-NMX-AA-042/1-SCFI-2008). El estanque donde se evaluaron las variables físicoquímicas y microbiológicas del agua en NOE era de reciente construcción y pocos días antes las tortugas fueron trasladadas a ese nuevo confinamiento.

Adicionalmente, en cada granja se hizo un recorrido para la observación de infraestructura y condiciones del entorno en que las tortugas son manejadas, así como entrevistas estructuradas y semi-estructuradas al responsable técnico de la UMA y los operarios que interactúan directamente con las tortugas. Los cuestionamientos estuvieron dirigidos a indagar sobre aspectos como: condiciones de las tortugas, infraestructura y ambiente, medidas sanitarias, alimentación, y administración. No se incluyeron aspectos de reproducción.

Análisis de los datos

El peso y LRC de las tortugas evaluadas se compararon entre sitios de estudio, mediante pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis (Estadístico H). A partir de la relación entre peso y LRC, se exploraron las diferencias en la condición corporal (Blakey y Kirkwood, 1995) entre las colonias de tortugas manejadas en cada granja. Para tal fin, las líneas de regresión entre los logaritmos decimales del peso (kg) y LRC (mm) de cada sitio de estudio se compararon mediante

pruebas de ANDEVA simple que analizaron las diferencias entre pendientes y sitios de corte entre líneas de regresión. La prevalencia (individuos afectados/total de la población) de condiciones físicas externas encontradas se determinó para cada sitio, y se comparó entre granjas.

Las variables de la calidad del agua de cada sitio de estudio se contrastaron con los valores de referencia para sistemas acuícolas de agua dulce y los lineamientos para la protección de la vida acuática en aguas dulces y humedales, contenidos en las “disposiciones aplicables en materia de aguas nacionales” de la Ley Federal en Materia de Derechos (LFD-DAMAN) (CONAGUA, 2009), así como con aspectos conocidos sobre la calidad del hábitat de *D. mawii* en el medio silvestre (Zenteno *et al.*, 2010). Los análisis estadísticos se realizaron usando el programa Statgraphics Plus Versión 5.1. (2000), y sus resultados se consideraron significativos con un $p \leq 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación de las tortugas

Las tortugas evaluadas fueron adultas (LRC > 35 cm) o subadultas. En GOB, las tortugas presentaron promedios de peso 4.9 ± 2.3 kg, y LRC 32.8 ± 53.7 cm; en NOE sus medidas fueron 5.4 ± 1.5 kg y 33.1 ± 28.7 cm de LRC, mientras en TAB, el peso fue de 5.3 ± 1.7 kg, y su LRC de 33.0 ± 49.1 cm. El peso de las tortugas no varió entre granjas ($H= 1.3$; $p= 0.52$), así como tampoco su LRC ($H= 0.04$; $p= 0.98$).

Al comparar las líneas de regresión entre el peso y LRC de las tortugas de cada granja, no se hallaron diferencias en la pendiente ($F=2.72$ $p=0.07$) aunque si en el sitio de corte del eje X ($F=4.78$ $p=0.0109$), lo cual indica que existen diferencias en la relación masa corporal/longitud e entre las tortugas de los sitios estudiados, donde GOB presenta un comportamiento diferente al hallado para TAB y NOE (Figura 1)

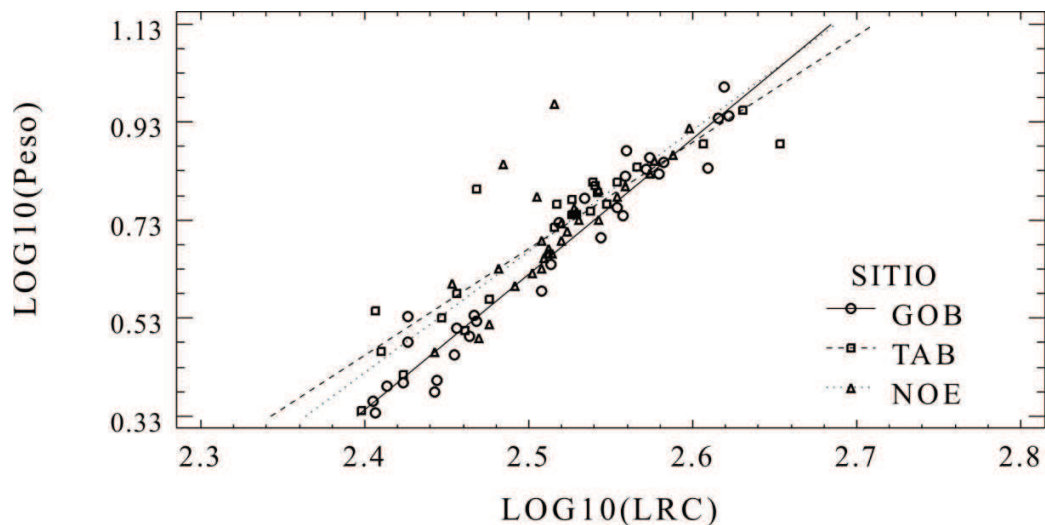


Figura 1. Comparación de la relación entre el peso (kg) y el largo recto del caparazón (LRC, cm) en *Dermatemys mawii* de tres sitios diferentes. GOB: Granja de tortugas del Gobierno del estado de Tabasco. NOE: Granja de tortugas Arca de Noé. TAB: Granja de tortugas Arroyo Tabasquillo.

Aunque el tamaño de las tortugas entre sitios de estudio no varió significativamente entre sitios, las diferencias halladas en la relación entre peso y talla muestran que la colonia de tortugas blancas de GOB es distinta. Los valores de desviación estándar del peso y LRC de GOB fueron mayores, y casi el doble, de los estimados para TAB y NOÉ. Esta situación puede justificarse desde el hecho de que en GOB se mantienen simultáneamente tortugas de diferentes tallas que provienen de más ciclos anuales reproductivos, ya que esta granja inició actividades con la especie desde 1999, mientras que la crianza de la especie es más reciente en TAB (2007) y NOE (2004).

La anamnesis no mostró antecedentes importantes sobre enfermedades recientes, cambios en la dieta o situaciones inesperadas en el comportamiento de las tortugas. Las tortugas son alimentados generalmente con dietas pelletizadas para peces (extruidas y flotantes), con contenidos de proteína del 25% al 32%. La dieta de las tortugas también puede incluir variados frutos y vegetales (plátano, lechuga, espinaca, mango, yuca, pepino, entre otros) o vegetación

nativa (arbusto mazote -*Melampodium divaricatum* y Jacinto de agua-*Eichhornia crassipes*). El tipo de alimento, la cantidad y la frecuencia de suministro pueden variar en el tiempo en cada granja, dependiendo de la posibilidad económica de adquirir el alimento.

Las condiciones externas no deseables más frecuentemente encontradas en las tortugas se resumen en la Figura 2. Las lesiones en el caparazón y plastrón fueron muy frecuentes en todas las granjas; sin embargo, la mayor prevalencia se encontró en NOE (95%), aunque en las demás granjas su frecuencia fue alta (mayor al 50%). Estas lesiones se presentaron en forma de heridas, frecuentemente superficiales, aparentemente ocasionadas por traumas y erosiones asociadas al contacto entre las tortugas y el ambiente. Generalmente, estas lesiones cubrieron menos del 50% del área del caparazón.

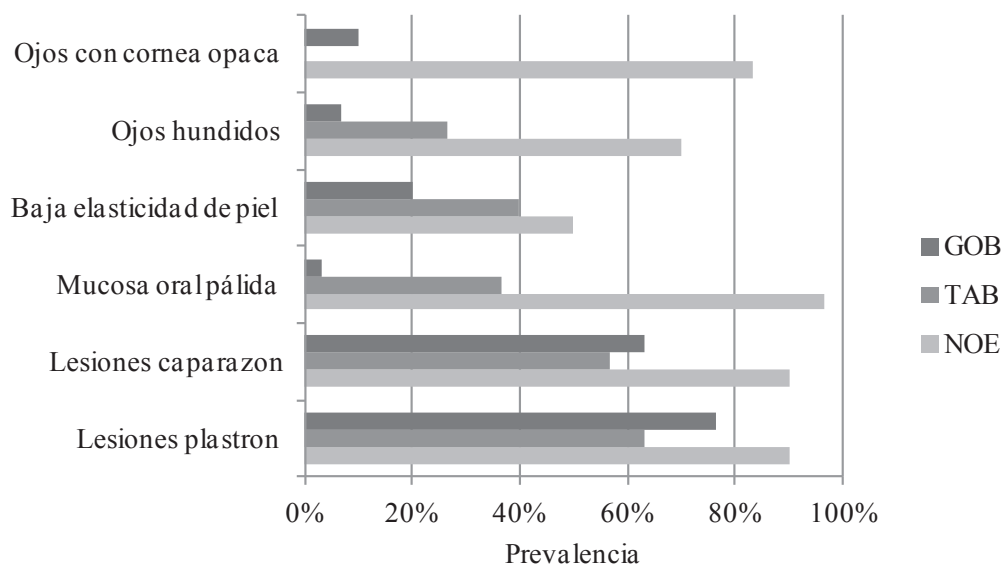


Figura 2. Prevalencia de principales hallazgos en el examen físico externo de *Dermatemys mawii* mantenidas en cautiverio. GOB: Granja de tortugas del Gobierno del estado de Tabasco. NOE: Granja de tortugas Arca de Noé. TAB: Granja de tortugas Arroyo Tabasquillo.

Las lesiones en el caparazón y plastrón de las tortugas blancas no deben ser consideradas normales, ya que tortugas silvestres no exhiben esta condición (Rangel *et al.*, 2009). Las lesiones en caparazón pueden ser causadas por trauma, irritación química, problemas nutricionales, infecciones de diferente tipo, mala calidad del agua, sustratos abrasivos, hacinamiento, y medidas de cuidado insuficientes, entre otros aspectos (Barten, 1996; McArthur, 2004). Los traumas en las tortugas, producto de mordeduras y arañazos, pueden ser efecto del comportamiento agresivo entre individuos, el cual se refuerza con una excesiva densidad de animales.

La cantidad de tortugas mantenidas en cada estanque, según informaron los responsables de cada granja, fue de 450 en GOB, 41 en TAB y 103 en NOE. Las densidades en cada estanque fueron, por lo tanto, de 0.56 tortugas m⁻² (2.95 kg m⁻²) en GOB, 0.09 tortugas m⁻² (0.51 kg m⁻²) en TAB y 0.37 tortugas m⁻² (1.99 kg m⁻²) en NOE. En comparación, la densidad de manejo es notablemente más alta en GOB y NOE, lo cual lo convierte en un factor probable causante de las lesiones externas en estas dos granjas. Para mejorar la condición externa de las tortugas, se sugiere reducir la densidad de animales en estas dos granjas. Sin embargo, la densidad de tortugas manejada en TAB es notablemente más baja (0.51 kg m⁻²) que en GOB y TAB y aún así las tortugas presentan abundantes lesiones en caparazón, por lo cual, cabe considerar otros posibles factores que determinan esta condición, como es la calidad del agua.

Las lesiones externas deben ser manejadas con precaución, ya que estas heridas pueden ser colonizadas por virus y microorganismos, que dependiendo de la condición inmunológica del organismo, pueden conducir a infecciones secundarias (Chinnadurai y DeVoe, 2009). En el medio acuático son variados, y pueden ser abundantes, los patógenos que pueden ser reforzados por malas condiciones higiénicas del medio. Existe un riesgo sanitario adicional en los estanques evaluados que es la presencia de especies adicionales como tortugas hicotreas- *Trachemys venusta*) y peces introducidos; así como otras incidentales (moluscos, reptiles, aves), ya que estos

estanques se encuentran al aire libre. Estas otras especies que conviven con las tortugas, son potenciales transmisores de parásitos.

Por otra parte, la palidez en la coloración de la mucosa oral fue frecuente solo en NOE, lo cual puede ser indicativo de una aparente anemia (McArthur, 2004), pero este dato por sí mismo no es concluyente, y se requiere reunir más información clínica en sangre sería valiosa para realizar un diagnóstico certero (Rangel *et al.*, 2009). Los ojos aparentemente hundidos y la reducción en la elasticidad de la piel fueron comunes en GOB y NOE, estos hallazgos son signos de deshidratación en las tortugas (McArthur, 2004); esta condición en reptiles puede estar asociada a enfermedades metabólicas, problemas con el balance fisiológico del agua, calidad del agua y una alimentación inapropiada (Donogue, 2006; Mitchel, 2006). Además, se hallaron signos de irritación en los ojos en NOE, a partir de la alta frecuencia de opacidad parcial en la córnea.

Calidad del agua

Las variables de la calidad del agua variaron en los distintos sitios de estudio (Cuadro 1). Los estanques que al momento del estudio albergaban a las tortugas presentaban diferentes profundidades y aguas turbias, con baja transparencia (>0.5 m). El oxígeno disuelto presentó niveles de buena oxigenación (> 3 mg L⁻¹) en GOB y NOE. Condiciones de escasa aireación (menor a 3 mg L⁻¹) y mayor concentración de nitratos se encontraron en TAB. GOB y TAB presentaron los niveles más elevados de DBO₅ y nitrógeno amoniacal. NOE presentó los niveles más altos de sólidos suspendidos totales y ortofosfatos. GOB exhibió los mayores niveles de coliformes, así como un pH alcalino. Los niveles de referencia para pH fueron excedidos en GOB, para la DBO₅ en GOB y TAB y para el oxígeno disuelto sólo en TAB. El nitrógeno amoniacal, sólidos suspendidos totales y coliformes fecales sobrepasaron los lineamientos en las tres granjas. El caso de las coliformes es particularmente llamativo en GOB, donde los niveles sobrepasaron 24 veces el valor de referencia.

Cuadro 1. Variables fisicoquímicas y microbiológicas de la calidad del agua en estanques para la crianza de tortuga blanca en tres granjas diferentes. GOB: Granja de tortugas del Gobierno del Estado de Tabasco. NOE: Granja de tortugas Arca de Noé. TAB: Granja de tortugas Arroyo Tabasquillo.

Variable	GOB	TAB	NOE	Referencia
Temperatura, °C	32	27	27.5	--
Profundidad, m	0.4	1	5	--
Transparencia, m	0.05	0.05	0.3	--
pH	8.6	7.4	7.8	6.5-8.5 [†]
Oxígeno disuelto, mg L ⁻¹	7.2	0.8	6.8	5 [†]
DBO ₅ , mg L ⁻¹	28.8	28.1	11.7	20 [§]
Orto-fosfatos, mg L ⁻¹	0.123	0.124	0.3	-
Nitrógeno amoniacal, mg L ⁻¹	1.638	1.764	0.073	0.06 [†]
Nitritos, mg L ⁻¹	0.0035	0.0103	0.0116	
Nitratos, mg L ⁻¹	0.105	0.267	0.081	
Sólidos Suspendidos Totales, mg L ⁻¹	70	86.9	249	30 [†]
Coliformes fecales, NMP ^b 100 m L ⁻¹	24000	4300	4300	1000 [†]
Coliformes totales, NMP 100 m L ⁻¹	24000	9300	9300	

^bNPM: Número más probable. [†]: CONAGUA, 2009. [§]: Boyd, 1998.

A partir de las entrevistas a los manejadores, se estableció que el agua con que se surten los estanques proviene, en orden de importancia, del subsuelo, arroyos cercanos, precipitaciones, pozos profundos e incluso de agua entubada para consumo humano. El nivel de agua en los estanques varía a lo largo del año, pudiendo alcanzar 3.5 m en temporada de lluvias (septiembre-octubre) y reducirse hasta secarse en estiaje (abril-mayo) en GOB y TAB; sin embargo, en NOE

presenta menor variación, fluctuando entre 5 y 4 m a lo largo del año. Los estanques pueden ser rellenados cuando el descenso del agua sea apreciable o la temperatura del agua sea elevada.

No se aplican recambios de agua en ninguno de los sitios evaluados. Los estanques de GOB y TAB carecen de desagües, y en NOE existe una descarga de alivio que asegura que el agua no rebase el borde del estanque. No existen sistemas de filtración, aireación o recirculación de agua en los estanques, y no hay control de la calidad del agua en ninguna granja evaluada. Los estanques rústicos cuentan con poca o ninguna vegetación arbórea próxima a sus orillas, por lo cual están casi totalmente expuestos al sol durante el día.

A partir de los resultados de diversas variables del agua en los estanques se determinó una pobre calidad de agua en las tres granjas estudiadas. Los bajos niveles de transparencia del agua registrados pueden ser resultado de crecimientos excesivo de plancton (promovidos por excesivo enriquecimiento de nutrientes, como el nitrógeno y el fósforo) y la suspensión de partículas de sedimento (Boyd, 1982).

El nitrógeno en los sistemas acuáticos se encuentra en tres formas: nitrógeno amoniacal (amonio-amoniaco), nitritos y nitratos, y su alta concentración en sistemas acuícolas es consecuencia de fallas en el manejo del agua, sobrepoblación, alimentación excesiva y acumulación de materia orgánica (Roberts y Palmeiro, 2008). La forma más tóxica del nitrógeno amoniacal es el amoniaco (NH_3) que se favorece en condiciones de bajo oxígeno disuelto, pH alto y elevada temperatura (Navarrete *et al.*, 2004). Los niveles de NH_3 en los estanques de las granjas evaluadas, al momento de la medición, fueron de 27.7% en GOB, 0.7% en TAB y 6.6% en NOE del nivel de nitrógeno amoniacal total, es decir, que en GOB el amoniaco presentó una concentración de 0.45 mg/L, en TAB de 0.012 mg/L y en NOÉ menor de 0.005 mg/L (calculado a partir de Boyd, 1982).

Excesivas concentraciones de NH_3 comprometen la salud de animales acuáticos, como peces e invertebrados, por lo cual es una variable vigilada en sistemas de acuicultura (Hargreaves, 1998). Niveles de NH_3 inferiores a 0.06 mg/L se consideran seguros para el crecimiento y peces (Boyd, 1982). Sin embargo, se desconoce el efecto del exceso del NH_3 en el agua sobre la salud de las tortugas acuáticas, pero se sabe que en tortugas terrestres es tóxico para el sistema nervioso central y exige grandes cantidades de agua para su eliminación (Holz, 2006). Los altos niveles de nitrógeno amoniacal hallados en GOB y TAB, pueden ser particularmente importantes en temporadas de mínima precipitación y máxima temperatura ambiental, cuando la temperatura del agua se incrementa y sobre todo en casos donde el pH del medio acuático sea superior a 7, que favorecen la forma NH_3 . Las medidas sugeridas para la reducción de nitrógeno en los estanques consisten prioritariamente en cambios frecuentes del agua (30 al 50%), reducción temporal de la cantidad de alimento suministrado y disminución de la densidad de tortugas en el estanque. Se debe evitar que el pH se torne alcalino así como que los niveles de oxígeno disuelto sean bajos (Roberts y Palmeiro, 2008).

Los estanques en GOB y TAB presentaron los mayores niveles de DBO_5 , una variable indicadora de la cantidad de materia orgánica que posee un sistema y de la cantidad de oxígeno que requieren los microorganismos para procesar dicha materia (Sierra, 2011). En estos estanques, la alta carga de materia orgánica puede sobrevenir como efecto de la actividad primaria (organismos fotosintéticos), de la acumulación de desechos de los organismos (heces y orina) y/o de los excesos de alimento no consumido.

En un sistema acuático, la materia orgánica presenta usualmente una concentración inversa con el oxígeno disuelto, porque la oxidación de la materia orgánica requiere de oxígeno (Navarrete *et al.*, 2004). Las condiciones anóxicas en TAB sugieren una carga excesiva de desechos orgánicos.

Los altos valores de coliformes en las granjas implican un riesgo sanitario para quienes estén en contacto con los estanques. Este tipo de bacterias está presente en intestinos de diferentes vertebrados, y su presencia es indicador de contaminación por heces (Sierra, 2011). Tal cantidad de coliformes, como las detectadas en este estudio, es evidencia de un ambiente altamente contaminado por excrementos de las mismas tortugas, que facilita el crecimiento de microorganismos potencialmente nocivos para las personas y para los mismos animales. Para reducir este contenido de bacterias, inicialmente se requiere un cambio completo del agua del estanque, y el mantenimiento de recambios parciales frecuentes. Otras posibles técnicas son sugeridas en la literatura, tales como la esterilización del agua mediante ozono o rayos UV (Stamper y Semmen, 2012), pero estas medidas son económicamente difíciles de implementar dadas las condiciones socioeconómicas de las granjas.

Como tal, no existen protocolos para la crianza en cautiverio de tortuga blanca, pero se conocen algunos aspectos de su biología y calidad de su hábitat natural, que pueden ser replicados para su manejo en cautiverio. Esta tortuga prefiere ambientes naturales de elevada calidad ambiental, con abundante vegetación riparia que le ofrece refugio (Rangel *et al.*, 2009; Zenteno *et al.*, 2010). Los cuerpos de agua naturales, donde se reportaron poblaciones de tortuga blanca, presentaron en promedio hasta 1.56 m de profundidad, 1.50 m de transparencia, 8.06 mg L⁻¹ de oxígeno disuelto y refugio de hasta 90% (Zenteno *et al.*, 2010). Los estanques evaluados presentan condiciones que distan de estas cualidades ambientales.

Sin embargo, más allá de las deficiencias que se encuentran en las granjas y los resultados obtenidos a través de este estudio, los éxitos y fracasos en la historia de crianza en cada granja deben ser analizados desde una óptica propositiva. Muchos de los avances en el tema se lograron a partir del aprendizaje empírico, el cual es posible capitalizar a través de la perspectiva del *manejo adaptativo*, definido como la estrategia que permite “aprender al hacer” (Reever-

Morghan *et al.*, 2006). El manejo adaptativo implica usar la técnica actual para evaluar otras alternativas y adquirir conocimiento confiable sobre un sistema, aprendiendo, tanto de los ensayos que funcionan, como de aquellos que no. Este tipo de manejo es planeado y conducido como un experimento, y mantiene un circuito de comunicación entre investigadores y productores, de manera que las decisiones de trabajo pueden mejorarse con el resultado de investigaciones sobre el sistema (Enck *et al.*, 2006; Reeve-Morghan *et al.*, 2006).

Utilizar el paradigma del *manejo adaptativo* para implementar protocolos adecuados de crianza en cautiverio de la tortuga blanca permitiría aprovechar el conocimiento tradicional o anecdótico, y robustecerlo con metodologías científicas de experimentación, para obtener resultados con fundamentos firmes. También facilitaría la evaluación de alternativas que en la práctica sean viables y adoptables por parte de los manejadores. A partir de esta investigación, se evidencian líneas de trabajo que pueden trabajarse desde un enfoque de *manejo adaptativo* y que resuelvan necesidades como la definición de la densidad adecuada de tortugas por estanque o de los rangos óptimos de operación para diversas variables de la calidad del agua, entre otros aspectos.

CONCLUSIONES

Dos factores que afectarían significativamente el estado físico de *D. mawii*, bajo condiciones de cautiverio son la densidad de tortugas en los estanques de crianza y la calidad de agua de los mismos. Todas las granjas estudiadas presentan problemáticas relacionadas principalmente con la alta frecuencia de lesiones externas en caparazón, donde el hacinamiento y la baja calidad del agua juegan un papel muy importante. Es necesario reducir la cantidad de tortugas por estanque, para establecer las condiciones adecuadas de densidad de tortugas que minimicen la incidencia de lesiones físicas. Asimismo, es imprescindible incluir en las rutinas de manejo, frecuentes

recambios de agua parciales en los estanques (incluso recambios totales), que faciliten la reducción de la materia orgánica y el control de las coliformes fecales. Los cambios que se realicen deberán acompañarse de rutinas de supervisión de la calidad del agua y ajuste al manejo del agua en los estanques y así como de revisión de la condición de salud de las tortugas. La implementación de estas sugerencias permitirá ofrecer mejores condiciones a esta especie cuando se maneja bajo condiciones de cautiverio.

AGRADECIMIENTOS

A la Granja de Tortugas del Gobierno del Estado, a la Granja de Tortuga Arroyo Tabasquillo y a la Granja de Tortugas Arca de Noé, por brindar el permiso para trabajar en sus instalaciones y con sus animales. A la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco por apoyar con materiales, equipo y recursos económicos a través del proyecto UJAT-2008-C04-48. A SEMARNAT por otorgar el permiso para trabajar con la especie (SGPA/DGVS/07623/10). A CONACYT por otorgar la beca (número 239501), para realizar estudios de doctorado al primer autor.

LITERATURA CITADA

- Aguirre L., G., B. Sánchez L., y E. Cázares-H. 2002. Conservación y aprovechamiento del chopontil: *Claudius angustatus*. Instituto de Ecología. México. 10 p.
- APHA, 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water, 20th Edition. Washington D.C. 1220 p.
- Barten, S. L. 1996. Shell damage. *In*: Mader, D. R. (ed). Reptile Medicine and Surgery. W.B. Saunders Co., Philadelphia. pp: 413-417.
- Blakey, C. S. G. and J. K. Kirkwood. 1995. Body mass to length relationships in chelonians. *Veterinary Record* 136:566-568.

- Boyd, C. E. 1982. Water quality management for pond fish aquaculture. Developments in aquaculture and fisheries science, Vol. 9. Elsevier Publishers B.V. Netherlands. 318 p.
- Cagle, F. R. 1939. A system of marking turtles for future identification. *Copeia* 1939:170–173.
- Chinnadurai, S. K., and R. S. DeVoe. 2009. Selected Infectious Diseases of Reptiles. *Veterinary Clinics Exotic Animal Practice* 12:583–596
- CITES [Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres]. 2005. Informe de la vigésima primera reunión del comité de fauna AC21 Doc. 11.2. 20 a 25 de mayo. Ginebra, 23 p.
- CONAGUA [Comisión Nacional del Agua]. 2009. Ley Federal de Derechos. Disposiciones aplicables en materia de aguas nacionales. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. Mexico. 97 p.
- CONABIO-DGVS-CONANP [Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad–Dirección General de Vida Silvestre–Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas]. 2009. Estrategia nacional para la conservación y el manejo sustentable de la tortuga blanca (*Dermatemys mawii*) en México. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. México. 33 p.
- De la Lanza E., G. y S. Hernández-P. 1998. Nutrientes y productividad primaria en sistemas acuícolas. *In*: Martínez C., L. R. (Ed). *Ecología de los Sistemas Acuícolas: Bases Ecológicas para el Desarrollo de la Acuicultura*. A.G.T. Editor S.A., México. 221 p.
- De la Ossa V., J. L. y R. R. Riaño S. 1999. Guía para el manejo, cría y conservación de la Hicotea o Jicotea: *Trachemys scripta callirostris*. Convenio Andrés Bello. Bogotá. 40 p.
- Diario Oficial de la Federación, 2000. Ley General de Vida Silvestre: http://www.semarnat.gob.mx/temas/gestionambiental/vidasilvestre/Documents/NAWCA/Ley_GVS.pdf. (Consulta: julio 2013).

- Donogue, S. 2006. Nutrition. *In*: Mader, D. R. (ed). Reptile Medicine and Surgery. 2nd ed. Saunders-Elsevier. Saint Louis. pp: 251-258.
- Enck, J. W., D. J. Decker, D. J. Riley, J. F. Organ, L. H. Carpenter and W. F. Siemer. 2006. Integrating ecological and human dimensions in adaptive management of wildlife-related impacts. *Wildlife Society Bulletin* 34:698-705.
- Hargreaves, J. A. 1998. Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds. *Aquaculture* 166:181-212.
- Higgins, B. M. 2003. Sea turtle husbandry. *In*: Lutz, P. L., J. A. Musick and J. Wyneken (eds). *The Biology of Sea Turtles, Vol 2*. CRC Marine Biology Series 4, pp: 411-440.
- Holz, P. 2006. Renal anatomy and physiology. *In*: Mader D. R. (ed). Reptile Medicine and Surgery. Saunders Elsevier. St. Louis. pp. 135–144.
- IUCN. 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2012.2. <www.iucnredlist.org>. (Consulta: julio 2013).
- Mitchel, M. A. 2006. Therapeutics. *In*: Mader D. R. (ed). Reptile Medicine and Surgery. Saunders Elsevier. St. Louis. pp. 631-664.
- McArthur, S. 2004. Interpretation of presenting signs. *In*: McArthur, S., R. Wilkinson and J. Meyer (Eds). *Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles*. Blackwell Publishing, Ltd. Oxford. pp. 273-300.
- Navarrete S., N. M, G. E. Fernández, G. Contreras R., M. L. Rojas B. y R. Sánchez M. 2004. *Piscicultura y ecología en estanques dulceacuícolas*. AGT Editor S.A. México. 180 p.
- Polisar, J. and R. H. Horwich, 1994. Conservation of the large, economically important River Turtle *Dermatemys mawii* in Belize. *Conservation Biology* 8:338-340.

- Rangel M., J., M. Weber, C. E. Zenteno R., M. A. López L. y E. Barba M. 2009. Hematology and serum biochemistry comparison in wild and captive Central American river turtles (*Dermatemys mawii*) in Tabasco, Mexico. *Research in Veterinary Science* 87:313–318.
- Reever-Morghen, K. J., R. L. Sheley and T. J. Svejcar. 2006. Successful adaptive management—the integration of research and management. *Rangeland Ecology & Management* 59:216-219.
- Roberts, H. and B. S. Palmeiro, 2008. Toxicology of aquarium fish. *Veterinary Clinics Exotic Animal Practice* 11:359-374.
- SCFI [Secretaría de Comercio y Fomento Industrial]. 2001a. NMX-AA-034-SCFI-2001, Análisis de agua - determinación de sólidos y sales Disueltas en aguas naturales, residuales y Residuales tratadas - Método de prueba. *Diario Oficial de la Federación*. México 18 p.
- SCFI [Secretaría de Comercio y Fomento Industrial]. 2001b. NMX-AA-079-SCFI-2001, Análisis de aguas - determinación de nitratos en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas - Método de prueba. *Diario Oficial de la Federación*. México. 27 p.
- SCFI [Secretaría de Comercio y Fomento Industrial]. 2001c. NMX-AA-028-SCFI-2001, Análisis de agua - determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno en aguas naturales, residuales (DBO₅) y residuales tratadas - método de prueba. *Diario Oficial de la Federación*. Mexico. 24 p.
- SCFI [Secretaría de Comercio y Fomento Industrial]. 2008. PROY-NMX-AA-042/1-SCFI-2008, Detección y enumeración de organismos coliformes, organismos coliformes termotolerantes y *Escherichia coli* presuntiva. *Diario Oficial de la Federación*. Mexico. 30 p.
- SEMARNAT [Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales], 2010. 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. Mexico. 77 p.

Sierra R., C. A. 2011. Calidad del Agua: Evaluación y Diagnóstico. Universidad de Medellín. Bogotá. D.C. 457 p.

St. Aubin, D. J., S. DeGuise, P. Richard, T. G. Smith and 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.

Stamper, M. A., and K. J. Semmen. 2012. Basic water quality evaluation for zoo veterinarians. *In: Miller, E.R. and M. Fowler (Eds). Fowler's Zoo and Wildlife Medicine. Current Therapy. Vol. 7. Elsevier Saunders, St. Louis. pp. 177-186.*

Syed, G. P., H. Ota, K. A. Buhlmann and M. R. J. Forstner. 2007. Genetic considerations for captive breeding and translocation of freshwater turtles and tortoises for conservation. *Chelonian Research Monographs* 4:157-167.

TCC [Turtle Conservation Coalition]. 2011 [Rhodin, A.G.J., A.D. Walde, B.D. Horne, P.P. van Dijk, T. Blanck y R. Hudson (Eds.)]. *Turtles in trouble: the world's 25+ most endangered tortoises and freshwater turtles—2011*. Lunenburg, MA: IUCN/SSC Tortoise and Freshwater Turtle Specialist Group, Turtle Conservation Fund, Turtle Survival Alliance, Turtle Conservancy, Chelonian Research Foundation, Conservation International, Wildlife Conservation Society, and San Diego Zoo Global, 54 pp.

Vogt, R. C., J. R. Polisar, D. Moll, and G. Gonzalez-Porter. 2011. *Dermatemys mawii* Gray 1847 – Central American River Turtle, Tortuga Blanca, Hickatee. *In: Conservation Biology of Freshwater Turtles and Tortoises: A Compilation Project of the IUCN/SSC Tortoise and Freshwater Turtle Specialist Group*. Rhodin, A. G. J., P. C. H. Pritchard, P. P. van Dijk, R.

A. Saumure, K. A. Buhlmann, J. B. Iverson, and R. A. Mittermeier, (eds). Chelonian Research Monographs 5:058.1–058.12.

Wilkinson, R. 2004. Clinical pathology. *In*: McArthur, S., R. Wilkinson and J. Meyer (Eds). Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles. Blackwell Publishing, Ltd. Oxford. pp. 141-186.

Wood, F. 1991. Turtle culture. *In*: Nash, C.E. (Ed.) Production of Aquatic Animals, World Animal Science. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam.

Zenteno R., C. E., E. Barba M., J. Bello G., y S. Ochoa G. 2010. Caracterización espacio-temporal del hábitat y presencia de *Dermatemys mawii* (Testudines: Dermatemydidae) en la cuenca del Grijalva-Usumacinta, Tabasco, México. *Revista de Biología Tropical* 58:1247-1260.

**CAPÍTULO 2. EVALUACIÓN DE LA SALUD Y EL AMBIENTE ACUÁTICO DE LA
TORTUGA BLANCA, *Dermatemys mawii*, MANEJADA EN CAUTIVERIO EN DOS GRANJAS
EN TABASCO, MÉXICO**

HEALTH AND AQUATIC ENVIRONMENT ASSESSMENT OF CAPTIVE CENTRAL
AMERICAN RIVER TURTLES, *Dermatemys mawii*, AT TWO FARMS IN TABASCO, MEXICO

J.A. Rangel-Mendoza^{1,2a}, I.A. Sánchez-González^{3b}, M.A. López-Luna^{2c}, and M. Weber^{1d}

¹Departamento de Conservación de la Biodiversidad. El Colegio de la Frontera Sur. Unidad Campeche.

Avenida Rancho Polígono 2ª Parque Industrial. Lerma, Campeche, México. CP. 24500.

^a[jrangel@ecosur.edu.mx], ^d[mweber@ecosur.mx]

²División Académica de Ciencias Biológicas. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Carretera
Villahermosa-Cárdenas S/N, Km 0.5. Entronque a Bosques de Saloya. Centro, Tabasco, México. CP.

86039. ^a[judith.rangel@ujat.mx], ^c[marco.lopez@ujat.mx]

³División Académica de Ciencias Agropecuarias. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Carretera

Villahermosa-Teapa S/N, Km. 25. Ranchería La Huasteca. Tabasco, México. CP. 86800.

^b[irisantonina05@yahoo.com]

Artículo aceptado en la revista *Chelonian Conservation and Biology*, para su publicación en
número de Junio 2014

ABSTRACT

Health evaluations were conducted in two captive colonies of Central American river turtles, *Dermatemys mawii*, from sites in Tabasco, Mexico: Government of the State of Tabasco's turtle farm (GOV) and Arroyo Tabasquillo turtle farm (TAB). Health assessments were conducted in February, May, and August 2011. Each assessment included a group clinical history, physical examinations, serum biochemistry panels, and bacteriological analyses. Additionally, water quality of turtle ponds was analyzed monthly at each site. High frequency of shell lesions and other clinical signs related to a harmful aquatic environment were found at both farms. Serum biochemistry results include levels of urea in both farms that repeatedly exceeded reference values for this species and values greater than normal for total protein, uric acid, and triglycerides at TAB. Bacteriological results showed potentially pathogenic microorganisms in lesions, including *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Serratia* spp., *Klebsiella* spp., and *Candida* spp. Water quality in both farms was poor; water at TAB presented the worse quality due to its high levels of total ammonia nitrogen (median 1.092 mg/L), nitrite (median 0.011 mg/L), fecal coliform (median 4600 MPN/100 mL), and water transparency (median 0.05 m) and low level of dissolved oxygen (median 0.6 mg/L). In general, the health of captive turtles was compromised at both farms, with the most likely factors being inadequate water management, overcrowding, and dietary problems.

Key words: health, physical examination, serum biochemistry, microbiology, water quality, captivity, freshwater turtle, *Dermatemys mawii*, Central American river turtle

Turtles require specific habitat characteristics to achieve their basic needs for reproduction and survival, both in the wild and in captivity. If these requirements are not available, these reptiles generally do not do well in captivity (McKeown 1996). Captive management demands knowledge of several aspects of the biology of species to ensure that artificial conditions reach their biological requirements. Some basic aspects, such as housing, water quality, temperature, sunning area, diet, and care of hatchlings, should be considered for captive maintenance of aquatic turtles (Boyer and Boyer 2006). Furthermore, artificial conditions and captive husbandry may severely affect physiological processes (St. Aubin et al. 2001).

A health evaluation includes anamnesis, or clinical history, a physical examination, hematology, biochemistry assessments, and other clinical pathology investigations that may include fecal examination, urinalysis, cytology, histology, serology, microbiology, virus isolation, radiography, ultrasonography, endoscopy, and exploratory surgery (Barrows et al. 2004). Health assessment protocols in turtles have been proposed by Berry and Christopher (2001), Barrows et al. (2004), and Hernandez-Divers (2006).

Studies have been conducted to assess health in various chelonian species, such as the diamondback terrapin, *Malaclemys terrapin* (Werner et al. 2002), bog turtle, *Clemmys muhlenbergii* (Brenner et al. 2002), desert tortoise, *Gopherus agassizii* (Christopher et al. 2003), gopher tortoise, *G. polyphemus* (Díaz-Figueroa 2005), alligator snapping turtle, *Macrolemys temminkii* (Chaffin et al. 2008), green turtle, *Chelonia mydas* (Hamann et al. 2006; Flint et al. 2010), and Central American river turtle, *D. mawii* (Rangel-Mendoza et al. 2009). In most of these investigations, signs of illness in evaluated individuals were not found, although some differences in health status were associated with reproductive status or seasonal effects. However, in the hematological evaluation of *D. mawii* (Rangel-

Mendoza et al. 2009), manifestations of illness related to improper husbandry protocols were detected in captive populations.

The Central American river turtle, *Dermatemys mawii* Gray 1847, is a freshwater species naturally distributed in southeastern Mexico, Guatemala, and Belize (Vogt et al. 2011). Wild populations have been reduced considerably due to illegal hunting for consumption and habitat modification (Polisar and Horwich 1994; CITES 2005). *Dermatemys mawii* is considered Endangered under Mexican environmental laws (SEMARNAT 2010); therefore, there is an official ban on its capture and collection from the natural environment. This turtle is included in the world's top 25 most endangered turtles according to the Turtle Conservation Fund (Turtle Conservation Coalition 2011). Since 1982, the species has been listed on Appendix II of CITES (CITES 2005) and as Critically Endangered on the IUCN Red List (IUCN 2013).

Reduction of natural populations of *D. mawii*, its economic importance for rural communities, and the need to generate conservation alternatives have prompted initiatives for its captive breeding. As of 2009, there were 14 *D. mawii* captive breeding centers officially recognized in Mexico (CONABIO-DGVS-CONANP 2009). The husbandry techniques used to breed this turtle in captivity come from the traditional knowledge of rural consumers and the experience of local producers, but none from formal scientific research. There is some evidence that current captive husbandry protocols may negatively affect the health of this species (Rangel-Mendoza et al. 2009).

The present study was designed to investigate these problems by determining the critical factors of management and husbandry that negatively affect the health of captive *D. mawii*. Health status was evaluated for two of the largest captive colonies of the species, including an anamnesis with managers and caretakers, a comprehensive physical examination, serum biochemistry analysis, microbiological

analysis, and water-quality monitoring. The results of these evaluations were then used to modify husbandry methods for captive breeding of this endangered species.

METHODS

Study sites and sampling periods. — Captive colonies of *D. mawii* from two different sites were evaluated: Government of the State of Tabasco's turtle farm (18°00' N, 93°02' W), hereafter GOV, and Arroyo Tabasquillo Turtle farm (18°18' N, 92°47' W), hereafter TAB, both located in the state of Tabasco, Mexico. GOV is a governmental conservation and breeding center for native freshwater turtles from Tabasco and has the largest colony of *D. mawii* in Mexico and possibly in the world (up to 800 individuals in 2006). It was created in 1978 and its main purpose is the conservation of turtles by raising and donating their breeding stock to other turtle farms. TAB is a community rural farm, established in 2003, whose breeding stock came from GOV and wild individuals. Their primary purpose is the conservation of turtles through sustainable use.

Health assessments of turtles on each farm were made during three different sampling periods in February, May, and August of 2011. No sampling was performed from mid-August (courtship) to January (end of oviposition), to avoid stress during the reproductive season.

Anamnesis. — At each study site a comprehensive group anamnesis was performed, through which detailed information was collected about infrastructure, diet, infectious and chronic diseases, disease control, reproduction, and other issues. For this activity, staff members responsible for breeding (managers and caretakers) were interviewed using both structured and open interviews and sites were surveyed for relevant information on turtle husbandry and management.

Turtle capture. — At each sampling period, 30 turtles were collected from their ponds for examination. Blood samples were collected the same day or a day after capture. Each animal was identified by a unique set of rectangular notches in marginal scutes of the carapace (Cagle 1939).

Physical examination. — Body mass (BM) was measured with a 20-kg spring scale (± 0.1 kg) and midline straight carapace length (SCL, cm) was determined with calipers (± 0.1 cm). Additionally, a thorough physical exam was performed, observing external conditions of the head and its associated structures (eyes, ears, mouth, and nostrils), skin, shell, limbs, and cloaca. Finally, information was obtained about behavior, posture, and ectoparasites of all individual turtles examined.

Serum biochemistry. — Fifteen individuals were randomly selected from the initial 30 turtles that were examined. Blood (3 mL) was taken from the jugular vein using a plastic syringe with a 25-gauge needle, with disinfection of the venipuncture site conducted before and after extraction (Rangel-Mendoza et al. 2009). Samples were collected in a non-additive Vacutainer tube (Becton Dickinson and Co., Rutherford, New Jersey, U.S.A.) for serum extraction. Blood samples were left static for 30–60 min at ambient temperatures and then centrifuged at 3000 rpm for 15 min. Extracted serum was placed in aliquots in Eppendorf tubes, refrigerated at 4°C, and taken for biochemical analysis the same day. Serum determinations included calcium, cholesterol, creatinine, glucose, phosphorus, triglycerides, total protein, urea, uric acid, and enzymes including aspartate aminotransferase (AST), creatine kinase (CK), alkaline phosphatase (AP), and lactate dehydrogenase (LDH), using a Roche® Hitachi 912 Chemistry analyzer.

Bacteriology. — Five turtles were randomly selected for bacteriological testing from those from which blood had been collected. Samples were taken from the mucous membranes of the oral cavity, eyes, and cloaca using a sterile swab and transported in a sterile tube, without culture media, in refrigeration. In cases where lesions were evident in other body surfaces (skin, plastron, carapace, etc.), additional samples were taken. All samples were cultured in the following culture media: blood agar (Becton Dickinson), brilliant green agar (Becton Dickinson), eosin-methylene blue (EMB) agar (Becton Dickinson), mannitol salt agar (Becton Dickinson), and MacConkey agar (Becton Dickinson).

They were incubated at 37°C and macroscopic review of the media was performed after 24 hrs of culture. Bacterial growths were then gram stained to observe morphology and affinity for dyes of the colonies. Isolates of cultured bacteria were then submitted for oxidase, catalase, sodium chloride tolerance, H₂S production, urease, and motility tests for the determination of specific bacterial groups.

Water quality assessment. — Water quality at turtle ponds was assessed monthly from February to August. Between 1100 and 1300 hrs, the following *in situ* water parameters were recorded; transparency (estimated by Secchi disk), pH (pH Waterproof Tester HI 98127, Hanna Instruments ®), dissolved oxygen (DO), and water temperature (YSI Model 55 handheld dissolved oxygen system, YSI Incorporated ®). Additionally, water samples were taken at 0.5 m depth in each turtle pond. Laboratory analysis of the water samples included total suspended solids (TSS; NMX-AA-034-SCFI-2001 method; SCFI 2001a), nitrates, (NMX-AA-079-SCFI-2001 method; SCFI 2001b), nitrites (colorimetric method; De la Lanza-Espino and Hernández-Pulido 1998), total ammonia nitrogen (TAN; 4500-NH₃ Phenate method; APHA 1998), phosphates (4500-PD stannous chloride method; APHA 1998), biochemical oxygen demand (BOD₅; NMX-AA-028-SCFI-2001 method; SCFI 2001c), and total and fecal coliforms (PROY-NMX-AA-042/1-SCFI-2008 method; SCFI 2008).

Data analysis. — Body condition was analyzed using a mass-length relationship (Blakey and Kirkwood 1995). Regression lines from BM and SCL decimal logarithms were compared between study sites and differences in the slopes and intercepts were explored using one-way ANOVA tests. From those regression lines, we obtained the relationship between weight and length that describes an allometric growth model for animals: $BM = cSCL^m$ (equation 1) or $\log BM = \log c + m \log SCL$ (equation 2) where c (intercept) and m (slope) are constants (Jobling 2002). Body condition index (BCI) for each individual *i* was calculated using the equation (3): $BCI = BM_i / (SCL_i^m)$, where m is the exponent in equation 1 (Jobling 2002).

Prevalence of illness conditions and lesions were obtained from the physical exam and compared by site and sampling period. Serum biochemical determinations were compared to reference values for *D. mawii* (Rangel-Mendoza et al. 2009) or to other turtle species and reptiles.

Values of BCI and blood biochemistry were all transformed to ranks since they presented a non-normal distribution. On these ranked data, normal distribution and homogeneity of variances were verified and parametric tests were performed (Conover and Iman 1981). To test the effects of site and sampling period and their interaction on the dependent variables, a two-way ANOVA was performed. The Bonferroni test was used for *post-hoc* group comparisons (van Belle et al. 2004) to identify specific differences among sampling periods.

Water-quality parameters were analyzed using Kruskal-Wallis tests to test for differences between study sites. Additionally, data were compared to reference values from freshwater aquaculture systems, references concerning the natural habitat quality of *D. mawii*, and guidelines provided by the Mexican environmental law for the protection of aquatic freshwater organisms (CONAGUA 2009). Statistical analyzes were performed using Statgraphics Plus Version 5.1. (2000) with $\alpha = 0.05$. Graphs were created using Sigma Plot version 10 (2006).

RESULTS

Turtle colonies were managed in single rustic ponds at each site (outdoor soil excavation). Animals of different sizes were kept together (juveniles, non-reproductive adults, and reproductive adults) and coexisted with other wild species that inhabit farms (toads, frogs, iguanas, and snakes, among others) as well as fish (catfish or tilapia) that are bred temporarily in the ponds. The GOV pond was 40 m long, 20 m wide, and 3.5 m deep and held approximately 450 animals (density 0.56 ind/m²), while the TAB pond was 25 m long, 18 m wide, and 3 m deep and held 41 animals (density 0.09 ind/m²).

General husbandry conditions of turtles differed between the study sites. Food availability was irregular at the farms and strongly dependent on government resources (GOV) as well as on donations or subventions (TAB) which depending on stock may be offered daily. Extruded floating food for tilapia fish were offered *ad libitum* to turtles, containing different levels of protein that varied from 25 up to 32% at GOV and was 30% at TAB. Food offered at TAB was from the Nutripec line for Tilapia by Purina®, while at GOV, animals were also fed with artificial food for tilapia by Silver Cup® and Api-tilapia and Api-bagre (catfish) lines by MaltaCleyton®. Turtle diets may be occasionally supplemented with vegetables (lettuce, spinach, tomatoes), fruit (plantain, mangoes), or native vegetation such as the “mazote” weed (butter daisy; *Melampodium divaricatum*) and introduced vegetation such as water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). These supplements were more frequent at GOV (once or twice weekly) and much more sporadic at TAB (once per month or less).

Climate conditions changed considerably between sample periods, according to the rainfall patterns of the areas, which dramatically affected water availability in the turtle ponds. At both sites, water levels decreased in May, which corresponds to the dry season in the region. Ponds were supplied with underground water (TAB) and/or water from the local municipal water supply (GOV) whenever determined necessary. Despite these actions, during the months of least rainfall (April and May), the ponds reached depths of <0.5 m at GOV and <1.0 m at TAB. During the rainy season (September–October), the ponds can reach depths up to 3.5 m at both farms and may even overflow. During the present study, there were no measures taken to control water quality (water change, filtration, aeration, recirculation, etc.) Ponds had little or no tree vegetation around their banks and were therefore exposed to direct sunlight.

Physical examination. — A total of 176 turtles was examined, including 24 males and 152 females. Individual size did not vary significantly among samples or between farms; animals from

GOV showed BM and SCL of 5.2 ± 2.0 kg and 33.4 ± 4.5 cm while at TAB, such measurements were 5.6 ± 1.6 kg and 34.4 ± 4.1 cm, respectively ($F_{1,175} = 1.67$, $p = 0.20$ for BM and $F_{1,175} = 0.61$, $p = 0.44$ for SCL).

The relationship of mass and size of the turtles varied among study sites (Fig. 1). Median and range of BM and SCL, the equations of regression lines of BM-SCL and their correlation coefficient, and median and range of BCI for each study site at each sampling period are shown in Table 1.

Regression lines varied between farms for May sampling ($F_{1,1} = 7.67$, $p < 0.01$) and August sampling ($F_{1,1} = 9.21$, $p < 0.01$). For comparison of intercepts of regression lines between BM and SCL, there were differences between the slopes only in May ($F_{1,1} = 8.83$, $p < 0.01$). At GOV, a difference was found in the body condition of animals among sampling periods ($F_{1,1} = 5.44$, $p < 0.01$), with body condition being higher in February than in May or August. At TAB, the BM-SCL relationship was similar among samplings.

Body condition index varied between study sites ($F_{1,168} = 322.28$, $p < 0.01$) with GOV exhibiting lower values (Table 1). Sampling period also affected BCI ($F_{2,168} = 977.75$, $p < 0.01$). Indices from all three assessments were significantly different; animals showed the highest BCI values in February and the lowest in August. However, BCI values were contrasting among sites in May: from all calculated indexes in the entire study, the lowest BCI values were registered in GOV, and the highest ones in TAB; these marked extreme values are related to the significant difference among the slopes of the BM-SLC regression lines from each farm in May (Table 1). Also, BCI was affected by the interaction of site and month ($F_{2,168} = 815.43$, $p < 0.01$).

Superficial shell lesions were the most frequent clinical finding, mainly on the plastron and more so during February than other sampling periods (Table 2). This type of lesion varied in extent, but most injuries covered less than 50% of the area of the shell. Lesions often appeared to be caused by

trauma due to conspecific interactions and ranged from scratches (minor recent wounds) to severe bites. In some cases trauma resulted in limb or facial mutilation (e.g., severe ocular or nasal injuries). Few cases of ulcers and chronic open wounds were also found in the skin of the neck, which usually showed caseous secretions or loss of adjacent tissue.

Physical findings of turtles varied over time (Table 2). In general, integumentary lesions were most common in February and least common in August. During February, cutaneous lesions of the shell, pale oral mucosae, and sunken and swollen eyes were more frequently observed at both farms. Turtles exhibited signs of dehydration (decreased skin elasticity, partial opacity of the cornea, and sunken eyes) mainly during February and May. Ocular discharges, consisting of tear-like, odorless, and colorless secretions, were found only at TAB, during February. At GOV, turtles with pale oral mucosae as well as a high prevalence of carapacial algae were most common in August.

Serum biochemistry. — Ninety samples of serum were collected and 89 were analyzed (one sample was considered unusable). Biochemical results are shown in Table 3.

Blood parameters varied between study sites. Turtles at GOV had significantly lower calcium ($F_{1,83} = 21.26, p < 0.01$), cholesterol ($F_{1,83} = 78.22, p < 0.01$), creatinine ($F_{1,83} = 8.21, p < 0.01$), glucose ($F_{1,83} = 7.25, p = 0.013$), phosphorus ($F_{1,83} = 74.43, p < 0.01$), total protein ($F_{1,83} = 228.97, p < 0.01$), triglycerides ($F_{1,83} = 24.34, p < 0.01$), urea ($F_{1,83} = 156.14, p < 0.01$), uric acid ($F_{1,83} = 70.28, p < 0.01$), AP ($F_{1,83} = 74.20, p < 0.01$), AST ($F_{1,83} = 7.01, p < 0.01$) and LDH ($F_{1,83} = 39.93, p < 0.01$) than animals of TAB. Only CK did not exhibit differences between farms ($F_{1,83} = 2.74, p = 0.10$).

Blood biochemistry varied in relation to the time of year when the evaluation was conducted (Table 3). In February, animals showed lower levels of cholesterol ($F_{2,83} = 14.34, p < 0.01$) and glucose ($F_{2,83} = 6.45, p < 0.01$), as well as higher values of triglycerides ($F_{2,83} = 8.20, p < 0.01$), urea ($F_{2,83} = 111.32, p < 0.01$) and AST ($F_{2,83} = 7.40, p < 0.01$) compared to other sampling periods. Total protein

reached higher levels in May ($F_{2,83} = 6.21, p < 0.01$), whereas calcium dropped to its lowest value in August ($F_{2,83} = 14.13, p < 0.01$) in relation to other assessment periods. Determinations of creatinine ($F_{2,83} = 74.19, p < 0.01$), phosphorus ($F_{2,83} = 18.50, p < 0.01$), and CK ($F_{2,83} = 57.92, p < 0.01$) were different between all pairs of sampling periods; creatinine and phosphorus were lower in May and higher in August, whereas CK was lower in August and highest in February. There were no differences among blood assessments for AP ($F_{2,83} = 1.76, p = 0.18$) or LDH ($F_{2,83} = 7.00, p = 0.56$).

The interaction between study site and sampling period showed significant effects on creatinine ($F_{2,168} = 8.08, p < 0.01$), phosphorus ($F_{2,168} = 6.65, p < 0.01$), urea ($F_{2,168} = 12.65, p < 0.01$), uric acid ($F_{2,168} = 12.63, p < 0.01$), and LDH ($F_{2,168} = 7.00, p < 0.01$). Those combined factors did not have a significant effect on calcium ($F_{2,168} = 0.14, p = 0.87$), cholesterol ($F_{2,168} = 2.79, p = 0.07$), glucose ($F_{2,168} = 1.65, p = 0.20$), total protein ($F_{2,168} = 2.13, p = 0.13$), triglycerides ($F_{2,168} = 2.87, p = 0.06$), AP ($F_{2,168} = 2.17, p = 0.12$), AST ($F_{2,168} = 2.97, p = 0.06$), or CK ($F_{2,168} = 0.71, p = 0.50$).

Bacteriology. — One hundred bacteriological samples were obtained and analyzed from 35 turtles. Seven different microorganisms were isolated: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Serratia* spp., *Klebsiella* spp., *Candida* spp., and one undetermined fungus species (Table 4). At GOV, nonpathogenic microorganisms were found during the May sampling; only saprophytic bacteria grew in the diverse culture media for that sampling period and they were not considered in the results. The sample collection site with the greatest diversity of microorganisms detected was the cloaca, from which six of the seven microorganisms were isolated (Table 5). At TAB, only *Klebsiella* spp. was found in turtles' shell lesions.

Water Quality Assessment. — Some values of water quality were significantly different between study sites (Table 6). TAB presented lower values of water transparency and DO than GOV (p

< 0.01), whereas TAB presented higher values of TAN, nitrates, and fecal coliforms than GOV ($p < 0.05$). All other values of water quality were not statistically different between farms.

Water quality differed over time at each study site (Fig. 2). Maximum TAN levels were registered in May at GOV (1.638 mg/L) but in March at TAB (2.239 mg/L); lowest TAN level was found in March at GOV (0.033 mg/L), but in August at TAB (0.374 mg/L; Fig. 2A). Lowest DO levels were registered in April at GOV (2.85 mg/L) but in August at TAB (0.4 mg/L; Fig. 2B). Minimum values of BOD₅ were found in February at both farms (3.5 mg/L at GOV and 13.6 at TAB), but the highest BOD₅ was registered in July at GOV (35.1 mg/L) and in August at TAB (66.9 mg/L; Fig. 2C). Values of pH were highest in May and June at GOV (8.6) but in August at TAB (9.5) while the lowest pH values were registered in February at GOV (7.7) and in May at TAB (7.4; Fig. 2D).

DISCUSSION

Differences in the physical condition of turtles between study sites, as inferred from the comparison of mass and length relationships, are probably related to the husbandry conditions of the turtles in each farm. However, the mass/length relationship may not be a reliable indicator of the health condition of the turtles, because mass may vary in relation to season, diet, exercise, care methods, and health condition (Barrows et al. 2004). However, the present analysis was used to compare the physical condition among the evaluated groups, not to find differences between healthy and non-healthy animals. The BCI analysis clearly shows that differences in the body condition of turtles existed between farms.

At both study sites, the most frequent abnormal physical findings were superficial carapacial and plastral lesions, which may be caused by bacterial, viral, or fungal infections, chemical irritation, nutritional diseases, and trauma (McArthur 2004). Erosion of the keratinized scutes of the carapace is not rare in aquatic turtles; superficial lesions of the shell are commonly related to poor water quality

(lack of filtration, irregular water changes, lack of water conditioners), abrasive substrates, inadequate temperature, malnutrition, stress related to overcrowding, and inappropriate husbandry, among other factors (Barten 1996). In our study sites, poor water quality and high population density were probably the factors responsible for scute erosion.

In a previous study of *D. mawii*, wild turtles showed no shell lesions that might compromise their health, while all evaluated captive turtles showed diverse types of trauma on their bodies, which were thought to be caused by poor husbandry protocols (Rangel-Mendoza et al. 2009). The high frequencies of shell lesions at GOV and TAB are clear evidence of the negative effects of the poor husbandry conditions in captivity on the health of the turtles. Lesions might be indicative of aggressive behavior (biting and scratching) as a result of overcrowding in the current captive conditions.

Aquatic turtles are very susceptible to bacterial infections when malnourished or when living with inefficient hygiene systems. In addition, common lesions in turtles tend to be easily infected due to high quantities of bacteria found in their aquatic environment (Rosskopf and Shindo 2003). Besides, bacteria are rarely primary pathogens in reptile disease, although they are present secondarily as a result of compromised immune function associated with deficient care and husbandry in captivity (Chinnadurai and DeVoe 2009).

Ulcerative lesions of the carapace could appear simultaneously with anorexia, lethargy, and septicemia and can be a cause of death. These conditions have been described as part of the syndrome in aquatic turtles called Septicemic Cutaneous Ulcerative Disease (SCUD; Barten 1996). Bacteria such as *Citrobacter*, *Serratia*, *Proteus*, and *Pseudomonas*, as well as other gram-negative bacteria, have been associated with this condition (Boyer 1996; Wilkinson 2004b). Two of the bacterial genera considered to be related to SCUD were found in the present study (*Serratia* spp. and *Proteus vulgaris*).

The bacteria found in the present study have frequently been isolated in sick reptiles (Jacobson 2007). Nevertheless, these microorganisms have also been reported in the normal intestinal flora in clinically healthy turtles and other reptiles (McArthur et al. 2004; Paré et al. 2006), thus their presence by itself cannot be considered as a disease indicator. *Serratia* spp. has been reported to be responsible for SCUD pathogenesis in freshwater turtles and may be able to introduce itself subcutaneously through integumentary trauma (Jacobson 2007). Nevertheless, in the present study, *Serratia* spp. was present only on oral mucosa but not in any carapacial lesions. *Klebsiella* spp. was isolated from carapacial lesions and has been associated with respiratory infections in turtles (McArthur 2004; Jacobson 2007; Chinnadurai and DeVoe 2009). *Staphylococcus* spp., *E. coli*, and *Klebsiella* spp. have been found in turtles in cases of stomatitis, gingivitis, or pharyngitis (Jacobson 2007). *Proteus vulgaris* and *E. coli* have been reported for subcutaneous masses and abscesses (Jacobson 2007). *Candida* spp. is an opportunistic fungus and may be present in intestinal, integumentary, and respiratory infections (Jacobson 2007). *Escherichia coli* is a normal component of the bacterial flora in reptile intestines (Paré et al. 2006); its isolation in the present study cannot be interpreted as pathogenic, and therefore, additional studies would be required to determinate pathological serotypes in the *E. coli* population present in the captive environment of *D. mawii*.

Surprisingly few bacterial species were found in the present study. The microbiological methods used may have limitations, such as the transportation of samples in tubes without culture media (such as Stuart media) and incubation at mammalian body temperature (37°C) that could reduce the viability of the bacteria present in the samples. However, bacterial findings from the present study are a preliminary first report for *D. mawii* and more research is needed, using more advanced methodologies.

Some physical findings may have been related to dehydration (such as sunken opaque eyes and low skin elasticity; McArthur 2004), which is common in sick reptiles and may be associated with disease (Donoghue 2006). Poor water quality and inappropriate diet may also lead to dehydration of aquatic reptiles (Mitchell 2006). Dehydration may result in clinical signs of anorexia, inactivity or lethargy, generalized weakness, weight loss, metabolic disease, failure to urinate, and gout (McArthur 2004). Other physical findings were related to irritation of the eyes: ocular discharge, swollen eyelids, and partial opacity of the corneas, situations that might be determined by a poor aquatic environment, as discussed below.

Serum biochemical values in the groups of turtles studied here are, in some cases, far from reference values for healthy individuals of this species. Uric acid levels at TAB, during the last assessment, moderately exceeded normal values (0.1–3.2 mg/dL, Rangel-Mendoza et al. 2009). To maintain water balance, reptiles conserve water by eliminating nitrogenous wastes as uric acid and urate salts (Campbell 2006). Serum uric acid is recommended as a good indicator for renal compromise in reptiles (Campbell 2006). Hyperuricemia may be associated with dehydration, severe renal disease, gout, severe bacteremia and septicemia, diets high in protein, and urea (Campbell 1996; Klingerberg 1996).

Another nitrogen compound analyzed in the present study, urea, was found reaching levels 10 times higher at TAB than at GOV in May. A normal urea level for this species varies from 1 to 5 mg/dL (Rangel-Mendoza et al. 2009). At TAB, turtles show remarkably higher urea values than the reference values at all sampling times, whereas at GOV, this was true only during the first assessment. High levels of urea in turtles may indicate kidney disease (Campbell 1996), dehydration, or an excessively high protein diet (Brenner et al. 2002). Urea is highly soluble in water and may easily cross biological membranes (McArthur et al. 2004). High serum levels of urea could be related to high

concentrations of nitrogen waste products in the aquatic environment, although this remains speculative at present. It is important to design further studies that address the relationship between concentrations of nitrogen waste products in the water and the turtles' blood. Excessive nitrogen excretion could also be a result of low-quality dietary protein (Donoghue 2006). Dietary studies should be performed in this species to evaluate the effect of dietary protein on serum nitrogen compounds. Based on the observed increased serum uric acid and urea concentrations, renal function may have been compromised, resulting in the observed dehydrated condition of many turtles. The turtle kidney functions in the processes of excretion, osmoregulation, fluid balance, production of hormones, and the metabolism of vitamin D (McArthur et al. 2004).

Cholesterol levels were within the reference range of the species (62–215 mg/dL, Rangel-Mendoza et al. 2009), except at GOV, where lower values were found during February, which could be a sign of insufficient caloric intake (Wilkinson 2004a). Blood cholesterol showed seasonal variation, being lower in February and higher in August, which could be related to reproductive events (Raphael 2003). On the other hand, medians of total protein levels found in TAB turtles exceeded reference values for the species (1.2–3.0 g/dL; Rangel-Mendoza et al. 2009) during all samplings. Hyperproteinemia occurs during dehydration or hyperglobulinemia associated with chronic inflammatory disease (Campbell 2006).

Normal levels of creatinine in reptiles are typically less than 1 mg/dL and high levels are related to dehydration and kidney disease in reptiles; however, creatinine is not a strong diagnostic parameter in reptiles (Campbell 1996). In the present study, all evaluated animals showed lower levels of creatinine than the reference values. A significant decrease in calcium was found during the last assessment (August), shortly before oviposition, which could be due to a temporary physiological variation related to reproductive activity (Raphael 2003). Normal values of phosphorus in reptiles vary

between 1 and 5 mg/dL, the range found during the present study. On average, the values for glucose found in the present study were within the normal range for this species (25–98 mg/dL, Rangel-Mendoza et al. 2009).

The AP enzyme is found in many tissues in turtles (Anderson et al. 2011). Levels over 450 UI/L are been reported in immature animals and in females in pre-ovulatory follicular stasis (Wilkinson 2004a). In our study, most AP levels were under 450 UI/L. Activity of AST seems to not be organ-specific and significant levels of this enzyme have been detected in the kidney, liver, and heart muscle of turtles (Anderson et al. 2011). In general, normal plasma AST activity is less than 250 IU/L and an increase suggests hepatic or muscle injury (Campbell 2006). In our study, all AST levels were <250 IU/L. CK is considered a muscle-specific enzyme and is used to assess muscle cell damage. Levels of CK in the present study did not surpass those reported for juvenile *C. mydas* (Anderson et al. 2011) but exceeded maximum values found in captive head-started red-bellied cooters (*Pseudemys rubriventris*; Innis et al. 2007). LDH activity over 1000 IU/L may be associated with damage to the liver, kidney, and skeletal and heart muscle in reptiles and levels are often elevated in sick animals with tissue damage (Wilkinson 2004a; Campbell 2006). This enzyme exhibited elevated values in both study sites that were higher at TAB, which may suggest compromise of any organs where this enzyme has activity.

Poor water conditions in ponds where *D. mawii* are reared could be one of the reasons explaining the variation in body condition. There was an excessive presence of organic matter at both study sites, estimated from high rates of BOD₅. This parameter in aquaculture ponds usually has values between 5 and 20 mg/L (Boyd and Tucker 1998), conditions that were exceeded in 5 out of the 7 evaluations performed at TAB and 3 out of 7 at GOV. The high values of BOD₅ likely explain the low values of dissolved oxygen. Organic matter pollution is higher at TAB, resulting in low measurements

of DO, because the higher the amounts of organic matter, the lower quantity of DO in the water, due to the oxygen required for the oxidation process (Navarrete-Salgado et al. 2004). In the wild, river turtles prefer well oxygenated water and have highly vascularized pharyngeal papillae (Winokur 1988) which presumably act as a complementary respiration mechanism to the pulmonary system. This species can stay underwater for prolonged periods without surfacing to breathe (Ernst et al. 1997). Poor aeration in ponds where this species is reared could interfere with this physiological process and might lead to stress.

The evaluated ponds showed excessive enrichment of nitrogen and phosphorus. In freshwater systems, nitrogen can be found in nitrates, nitrites, and ammonia (Navarrete-Salgado et al. 2004). Low concentrations of this element limit primary production of the pond (phytoplankton growth), while in excess, it will diminish water quality (Hargreaves 1998). Nitrogen enters aquaculture systems via food and pond fertilization as well as atmospheric nitrogen fixed by bacteria (Hargreaves 1998). The accumulation of nitrogenous wastes is a frequent consequence of inefficient periodicity in water change, overpopulation, overfeeding, and accumulation of organic matter or failures in water filtration (Roberts and Palmeiro 2008), situations presented at both study sites.

Ammonia and nitrite are particularly toxic in freshwater systems (Hargreaves 1998) and concentrations of both compounds tend to increase when DO concentrations in water are low (Navarrete-Salgado et al. 2004). These undesirable conditions (lack of oxygen and excess nitrogen) are present in both study sites. Ammonia is excreted as a final byproduct of the catabolism of protein in aquatic organisms and can be toxic when accumulated (Hargreaves 1998). Ammonia is present in ionized (NH_4^+) and non-ionized (NH_3) forms, with the non-ionized form being the most toxic (Roberts and Palmeiro 2008). The proportion of NH_3 in the environment depends on pH and temperature and ammonia is more toxic in warm waters with high pH (Roberts and Palmeiro 2008). The highest NH_3 in

the present study was 0.96 mg/L, which was registered at TAB in March, when TAN was 2.239 mg/L, pH was 9, and water temperature was 28.8 °C. That value exceeded the maximum acceptable levels for long-term exposure to non-ionized ammonia for fishes and crustaceans that are between about 0.05 and 0.2 mg/L of NH₃ form at pH values above 7 (Boyd and Tucker 1998).

In fish, ammonia toxicity manifests as hyperactivity, convulsions, loss of balance, lethargy, and coma, but in aquaculture tanks it is expressed as sublethal reduction of fish growth or suppression of immunocompetence, rather than death (Hargreaves 1998). Elevated ammonia levels in the environment may result in an elevation in body ammonia levels in fishes (Randall and Tsui 2002). To maintain a healthy aquarium for fish, it is recommended that ammonia levels measure 0 mg/L (Roberts and Palmeiro 2008). In turtles, environmental ammonia toxicity has not been thoroughly studied. In the Chinese softshell turtle *Pelodiscus sinensis*, 100% mortality was seen within 24 hours after an intraperitoneal injection of 12.5 µmol/g of NH₄Cl. This species shows several defense mechanisms to counter ammonia toxicity, including an increase in excretion of ammonia, reduction of amino acid catabolism, and suppression of endogenous ammonia production (Ip et al. 2008). However, the effects of high concentrations of environmental ammonia on the physiology of other aquatic chelonians are largely unknown.

Nitrite toxicity in fish results in methemoglobinemia and hypoxia due to hemoglobin oxidation, which reduces the transport of oxygen to tissues (Hargreaves 1998; Roberts and Palmeiro 2008). The optimal level of nitrite in aquarium water is 0 mg/L (Roberts and Palmeiro 2008). Nitrite levels registered in the present study were markedly lower than the values reported to affect embryonic development in Atlantic salmon, *Salmon salar* (14 mg/L; Williams and Eddy 1989).

Another factor limiting productivity in aquatic systems is phosphorus. Its presence as orthophosphates establishes the nutrition state of a system and high levels are indicators of eutrophic

water (Navarrete-Salgado et al. 2004). Phosphate levels greater than 0.12 mg/L cause decreased hatching and increased incidence of larval deformities in common carp (Toor et al. 1983). The maximum values registered at GOV, but particularly at TAB, exceeded the reference value cited above. Nevertheless, its presence reinforces conditions of system enrichment that promote primary productivity of the pond. Enhanced organic matter in a water body reduces its photic phase, increases oxygen consumption for decomposition, elevates the abundance of suspended solids and, in general, promotes the degradation of water quality.

In water bodies, an increase in pH can promote the formation of ammonia (Hargreaves 1998; Roberts and Palmeiro 2008) and might, as previously described, compromise the health of aquatic organisms such as fish and invertebrates. Normal pH levels in the majority of productive aquatic systems fluctuate between 6 and 9, with changes during daytime related to photosynthesis (Boyd and Tucker 1998). The effects of pH variations on fish and crustaceans varies from death in highly acidic water (pH < 4) or highly alkaline water (pH > 11) to reduced reproduction and decreased growth (Boyd and Tucker 1998). Effects on pH changes are not immediate; however, chronic exposition may lead to stress, which subsequently induces immunosuppression and disease susceptibility (Roberts and Palmeiro 2008).

There are no specific water-quality standards for the rearing of *D. mawii* as there are for other species such as fish and crustaceans. However, Mexican environmental laws describe certain standards for the protection of aquatic life and wetlands (CONAGUA 2009), including a pH of 6.5 to 8.5, TSS of 30 mg/L, and fecal coliforms of 1000 MPN/100 mL. These normative parameters were not met in either of our study sites. The highest value of total coliforms at TAB was >110 times the Mexican norm (CONAGUA 2009), reaching a maximum of 110,000 MPN/100 mL (Table 6). When coliform

count reaches excessive level, the situation needs to be corrected immediately by changing or sterilizing the water (Stamper and Semmen 2012).

Our results suggest that water quality at TAB was lower than at GOV, although in general water quality was poor at both sites. Excess feeding and wastes (feces and urine) have been gradually accumulating in the ponds since the beginning of the farms. There is evidence that this condition is due to excessive accumulation of organic matter and high densities of coliform bacteria in rearing ponds. This unsanitary scenario is exacerbated by the lack of filtration (physical, chemical, or biological), water changes, and control and regulation of food supplementation, as well as the high density of turtles and their interaction with other species in the ponds.

In its natural habitat, *D. mawii* shows preference for deep permanent water bodies (large rivers and their basins, lagoons), although it may occupy temporary shallow water bodies, which it inhabits during the rainy season and may not be able to abandon before the drought season begins (Vogt et al. 2011). Zenteno-Ruiz et al. (2010) reported a higher number of turtles in the Tabasquillo River, a habitat with water depths ranging from 0.7–1.56 m, 0.91 m transparency, and DO of 8.02–0.65 mg/L. This water body is considered to be a high-quality habitat for *D. mawii* (Rangel-Mendoza 2007). However, in the turtle farms studied, water conditions of transparency and DO were very different from those reported in natural habitat of *D. mawii* and are associated with a poor quality environment which may have a negative effect on turtle condition and health.

Dermatemys mawii preferentially inhabits environments with abundant vegetative cover (branches, logs, or roots) over the surface of the water (Zenteno-Ruiz et al. 2010). These are found in areas of slow water currents associated with submerged vegetation fragments (Vogt et al. 2011). The confinement design for the turtles in the present study does not consider shelter areas, natural or artificial, submerged or exposed, a situation that can lead to stress in the turtles.

Little is known regarding the effect of water quality on the physiology or health of turtle species. As far as water-quality management concerns, recommendations exist to assure their well-being, focusing mainly on frequent water changes of the pond containing the animals (Mautino and Page 1993; Boyer and Boyer 2006).

Stocking density seems to be a crucial aspect that has repercussions for turtle health and water quality. Captive juveniles of the soft-shelled turtle *Pelodiscus sinensis* managed at lower density exhibited a higher survival rate, higher growth rate, and greater transfer of consumed energy to growth. Furthermore, the excretion of nitrogenous wastes to the environment was relatively lower with reduced stocking density (Jing and Niu 2008). In the studied farms, to avoid the high prevalence of external lesions, animal density per pond must be reduced. Low turtle density also decreases the accumulation of wastes in the water. If stocking density is reduced and water conditioning measures are implemented, the quality of the aquatic environment will improve and the turtles' captive breeding may show better results.

It is imperative to improve water quality in the ponds where river turtles are currently maintained. There are several ways to assure this condition, including frequent substantial water changes and installation of mechanical, chemical, and biological filtration. Although filtration may not eliminate the need for water changes, it may reduce the water change frequency (Mautino and Page 1993; Boyer and Boyer 2006). Water changes also can reduce excessive fecal coliform counts, since water sterilization via UV radiation and ozone is not viable given the rural and austere conditions of studied farms. Improving water quality of the ponds will translate into more favorable conditions for the turtles' homeostasis, as well as less favorable environmental conditions for opportunistic microorganisms to grow.

Another management factor which is important for the health of captive turtles is their diet. It is necessary to determine the dietary protein requirement of this species since the protein levels of the current diets may be higher than the species' requirements. In light of its herbivorous natural diet, it is likely that captive turtles may show better health if diets with lower protein levels are offered. Furthermore, the type of dietary protein, animal or vegetable, which the turtles are being fed needs to be evaluated. Offering animal protein to herbivorous turtles may predispose them to hyperuricemia and consequently to gout (McArthur and Barrows 2004). Routinely, the turtles from the present study have been fed a food for omnivorous fish containing different types of animal protein. Experiments based on enzymatic digestive activity of *D. mawii* are currently being conducted to determine the species' nutritional requirements and formulate an artificial diet to use in their captive breeding.

In conclusion, the present study demonstrates that captive Central American river turtles in the two study sites are not in adequate general health. The factors that appear to be most important in relation to health include water-quality management, overcrowding, and the diet of the turtles. Future studies are needed to address specific etiologic agents, causing some of the health problems detected here. This should be addressed throughout properly designed pathological, virological, and microbiological studies. To achieve this, both ante-mortem and post-mortem examinations of turtles are mandatory.

Despite all the efforts made in recent years by federal and state governments in Mexico for the conservation of *D. mawii* through captive breeding, the results have not been entirely successful due in part to the poor health found in the captive colonies (Rangel-Mendoza et al. 2009; Vogt et al. 2011). It is imperative to incorporate the results and recommendations derived from this and other recent studies to ensure the feasibility of captive rearing as an alternative to the recovery of this highly endangered species.

ACKNOWLEDGMENTS

Government of the State of Tabasco's turtle farm and the Arroyo Tabasquillo Turtle farm provided permits to work in their installations. David Peregrino Reyes, Bianca Juárez Velázquez, and Claudia Elena Zenteno-Ruiz and her student team participated during the field work phase. Field work was financed by UJAT-2008-C04-48 project. Blood analysis was financed by Chontalpa Laboratories. Water quality determinations were financed by Eriane Hernández-Tario's project. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco supported with materials, equipment, and facilities. SEMARNAT provided permits to work with these animals and obtain biological samples (permit SGPA/DGVS/07623/10). CONACYT provided a Ph.D. scholarship to the first author (grant number 239501).

LITERATURE CITED

- ANDERSON, E.T., HARMS, C.A., STRINGER, E.M., AND CLUSE, W.M. 2011. Evaluation of hematology and serum biochemistry of cold-stunned green sea turtles (*Chelonia mydas*) in North Carolina, USA. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 42:247–255.
- APHA [American Public Health Association]. 1998. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 20th Edition. Washington, DC: American Public Health Association, 1220 pp.
- BARROWS, M., MCARTHUR, S., AND WILKINSON, R. 2004. Diagnosis. In: McArthur S., Wilkinson, R., and Meyer, J. (Eds.). *Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles*. Oxford: Blackwell Publishing, Ltd., pp. 109–140.
- BARTEN, S.L. 1996. Shell damage. In: Mader, D.R. (Ed.). *Reptile Medicine and Surgery*. Philadelphia: W.B. Saunders Co., pp. 413–417.
- BERRY, K.H. AND CHRISTOPHER, M.M. 2001. Guidelines for the field evaluation of desert tortoise health and disease. *Journal of Wildlife Diseases* 37:427–450.

- BLAKEY, C.S.G. AND KIRKWOOD, J.K. 1995. Body mass to length relationships in chelonians. *Veterinary Record* 136:566–568.
- BOYD, C.E. AND TUCKER, C.S. 1998. *Pond Aquaculture Water Quality Management*. Boston: Kluwer Academic Publishers, 700 pp.
- BOYER, T.H. 1996. Turtles, tortoises and terrapins. In: Mader, D.R. (Ed.), *Reptile Medicine and Surgery*. Philadelphia: W.B. Saunders Co., pp. 332–336.
- BOYER, T.H. AND BOYER, D.M. 2006. Turtles, tortoises and terrapins. In: Mader, D.R. (Ed.). *Reptile Medicine and Surgery*, 2nd ed. St. Louis: Saunders Elsevier, pp. 78–99.
- BRENNER, D., LEWBART, G. STEBBINS, M., AND HERMAN, D.W. 2002. Health survey of wild and captive bog turtles (*Clemmys muhlenbergii*) in North Carolina and Virginia. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 33:311–316.
- CAGLE, F.R. 1939. A system of marking turtles for future identification. *Copeia* 1939:170–173.
- CAMPBELL, T.W. 1996. Clinical pathology. In: Mader, D.R. (Ed.). *Reptile Medicine and Surgery*. Philadelphia: W.B. Saunders Co., pp. 248–257.
- CAMPBELL, T.W. 2006. Clinical pathology of reptiles. In: Mader, D.R. (Ed.). *Reptile Medicine and Surgery*, 2nd ed. St. Louis: Saunders Elsevier, pp. 453–470.
- CHAFFIN, K., NORTON, T.M., GILARDI, K., POPPENG, R., JENSEN, J.B., MOLER, P., CRAY, C., DIERENFELD, E.S., CHEN, T., OLIVA, M., ORIGGI, F.C., GIBBS, S., MAZZARO, L., AND MAZET, J. 2008. Health assessment of free-ranging alligator snapping turtles (*Macrochelys temminckii*) in Georgia and Florida. *Journal of Wildlife Diseases* 44:670–686.
- CHINNADURAI, S.K. AND DEVOE, R.S. 2009. Selected Infectious Diseases of Reptiles. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice* 12:583–596.

- CHRISTOPHER, M.M., BERRY, K.H., HENEN, B.T., AND NAGY, K.A. 2003. Clinical disease and laboratory abnormalities in free-ranging desert tortoises in California (1990–1995). *Journal of Wildlife Diseases* 39:35–56.
- CITES [Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora]. 2005. AC21 Doc. 11.2 Periodic review of animal species included in the CITES Appendices. Twenty-first meeting of the Animals Committee. Geneva, 23 pp.
- CONAGUA [COMISIÓN NACIONAL DEL AGUA]. 2009. Ley Federal de Derechos. Disposiciones Aplicables en Materia de Aguas Nacionales. México: Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, 97 pp.
- CONABIO-DGVS-CONANP [Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad/Dirección General de Vida Silvestre/Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas]. 2009. Estrategia Nacional para la Conservación y el Manejo Sustentable de la Tortuga Blanca (*Dermatemys mawii*) en México. Mexico: CONABIO, 33 pp.
- CONOVER, W.J. AND IMAN, R.L. 1981. Rank transformations as a bridge between parametric and nonparametric statistics. *The American Statistician* 35:124–129.
- DE LA LANZA-ESPINO, G. AND HERNÁNDEZ-PULIDO, S. 1998. Nutrientes y productividad primaria en sistemas acuícolas. In: Martínez-Córdoba, L.R. (Ed). *Ecología de los sistemas acuícolas: bases ecológicas para el desarrollo de la acuicultura*. Mexico: A.G.T. Editor S.A., 221 pp.
- DIAZ-FIGUEROA, O. 2005. Characterizing the health status of the Louisiana gopher tortoise (*Gopherus polyphemus*). MS Thesis, Louisiana State University, Baton Rouge.
- DONOGHUE, S. 2006. Nutrition. In: Mader, D.R. (Ed.), *Reptile Medicine and Surgery*, 2nd ed. St. Louis: Saunders Elsevier, pp. 251–258.

- ERNST, C.H., ALTENBURG, R.G.M., AND BARBOUR, R.W. 1997. Turtles of the world. ETI's World Biodiversity Database. <http://nlbif.eti.uva.nl/bis/turtles.php>. Accessed 21 June 2013.
- FLINT, M., PATTERSON-KANE, J.C., LIMPUS, C.J., AND MILLS, P.C. 2010. Health surveillance of stranded green turtles in southern Queensland, Australia (2006–2009): an epidemiological analysis of causes of disease and mortality. *EcoHealth* 7:135–145.
- HAMANN, M., SCHÄUBLE, C.S., SIMON, T., AND EVANS, S. 2006. Demographic and health parameters of green sea turtles *Chelonia mydas* foraging in the Gulf of Carpentaria, Australia. *Endangered Species Research* 2:81–88.
- HARGREAVES, J.A. 1998. Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds. *Aquaculture* 166:181–212.
- HERNANDEZ-DIVERS, S.J. 2006. Diagnostic techniques. In: Mader, D.R. (Ed.). *Reptile Medicine and Surgery*, 2nd ed. St. Louis: Saunders Elsevier, pp. 490–532.
- INNIS, C.J., TLUSTY, M., AND WUNN, D. 2007. Hematologic and plasma biochemical analysis of juvenile head-started northern red-bellied cooters (*Pseudemys rubriventris*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 38:425–432
- IP, Y.K., LEE, S.M.L., WONG, W.P., AND CHEW, S.F. 2008. Mechanisms of and defense against acute ammonia toxicity in the aquatic Chinese soft-shelled turtle, *Pelodiscus sinensis*. *Aquatic Toxicology* 86:185–196.
- IUCN. 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.1. <www.iucnredlist.org>. Accessed 18 October 2013.
- JACOBSON, E.R. 2007. Bacterial diseases of reptiles. In: Jacobson E.R. (Ed.). *Infectious Diseases and Pathology of Reptiles*. Boca Raton, Florida: CRC Press, pp. 461–526.
- JING, R. AND NIU, C. 2008. Effect of stocking density on the energy budget of juvenile soft-shelled turtles (*Pelodiscus sinensis*). *Asiatic Herpetological Research* 11:45–49.

- JOBLING, M. 2002. Environmental factors and rates of development and growth. In: Hart, P.J.B., and Reynolds, J.D. (Eds). Handbook of Fish Biology and Fisheries, vol I. Oxford: Blackwell, pp. 97–122.
- KLINGERBERG, R. J. 1996. Therapeutics. In: Mader, D.R. (Ed.). Reptile Medicine and Surgery. Philadelphia: W.B. Saunders Co., pp. 299–315.
- MAUTINO, M. AND PAGE, C.D. 1993. Biology and medicine of turtles and tortoises. Veterinary Clinics of North America, Small Animal Practice 23:251–1270.
- MCARTHUR, S. 2004. Interpretation of presenting signs. In: McArthur, S., Wilkinson, R., and Meyer, J. (Eds.). Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles. Oxford: Blackwell Publishing, Ltd., pp. 273–300.
- MCARTHUR, S., AND BARROWS, M. 2004. Nutrition. In: McArthur, S., Wilkinson, R., and Meyer, J. (Eds.). Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles. Oxford: Blackwell Publishing, Ltd., pp. 73–85.
- MCARTHUR, S., MEYER, J., AND INNIS, C. 2004. Anatomy and physiology. In: McArthur, S., Wilkinson, R., and Meyer, J. (Eds.). Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles. Oxford: Blackwell Publishing, Ltd., pp. 35–72.
- MCKEOWN, S. 1996. General husbandry and management. In: Mader, D.R. (Ed.). Reptile Medicine and Surgery. Philadelphia: W.B. Saunders Co., pp. 9–19.
- MITCHELL, M.A. 2006. Therapeutics. In: Mader, D.R. (ed.). Reptile Medicine and Surgery. St. Louis: Saunders Elsevier, pp. 631–664.
- NAVARRETE-SALGADO, N.M, FERNÁNDEZ, G.E., CONTRERAS RIVERO, G., ROJAS-BUSTAMANTE, M.L., AND SÁNCHEZ-MERINO, R. 2004. Piscicultura y Ecología en Estanques Dulceacuícolas. México: AGT Editor S.A., 180 pp.

- PARÉ, J.A., SIGLER, L., ROSENTHAL, K.L., AND MADER, D.R. 2006. Microbiology: fungal and bacterial disease of reptiles. In: Mader, D.R. (Ed.). Reptile Medicine and Surgery, 2nd ed. St. Louis: Saunders Elsevier, pp. 217–238.
- POLISAR, J. AND HORWICH, R.H. 1994. Conservation of the large, economically important river turtle *Dermatemys mawii* in Belize. *Conservation Biology* 8:338–340.
- RANDALL, D.J. AND TSUI, T.K.N. 2002. Ammonia toxicity in fish. *Marine Pollution Bulletin* 45:17–23.
- RANGEL-MENDOZA, J. 2007. Estudio hematológico en poblaciones silvestres y cautivas de tortuga blanca *Dermatemys mawii*. MS Thesis, El Colegio de la Frontera Sur, Tabasco, Mexico, 50 pp.
- RANGEL-MENDOZA, J., WEBER, M., ZENTENO-RUIZ, C.E., LÓPEZ-LUNA, M.A., AND BARBA-MACÍAS, E. 2009. Hematology and serum biochemistry comparison in wild and captive Central American river turtles (*Dermatemys mawii*) in Tabasco, Mexico. *Research in Veterinary Science* 87:313–318.
- RAPHAEL, B.L. 2003. Chelonians (Turtles, Tortoises). In: Fowler, M.E., and Miller, R.E. (Eds). *Zoo and Wild Animal Medicine*, 5th ed. St. Louis: W.B. Saunders Co., pp. 48–58.
- ROBERTS, H. AND PALMEIRO, B.S. 2008. Toxicology of aquarium fish. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice* 11:359–374.
- ROSSKOPF, W.J AND SHINDO, M.K. 2003. Syndromes and conditions of commonly kept tortoise and turtle species. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* 12:149–161.
- SCFI [Secretaría de Comercio y Fomento Industrial]. 2001a. NMX-AA-034-SCFI-2001, Water Analysis - Determination of Salts and Solids Dissolved in Natural, Wastewaters and Wastewaters Treated - Test Method. Mexico: Diario Oficial de la Federación, 18 pp.

- SCFI [Secretaría de Comercio y Fomento Industrial]. 2001b. NMX-AA-079-SCFI-2001, Water Analysis - Determination of Nitrate in Natural, Drinking, Wastewaters and Wastewaters Treated - Test Method. Mexico: Diario Oficial de la Federación, 27 pp.
- SCFI [Secretaría de Comercio y Fomento Industrial]. 2001c. NMX-AA-028-SCFI-2001, Water Analysis - Determination of the Biochemical Oxygen Demand (BOD₅) in Natural, Wastewaters and Wastewaters Treated - Test Method. Mexico: Diario Oficial de la Federación, 24 pp.
- SCFI [Secretaría de Comercio y Fomento Industrial]. 2008. PROY-NMX-AA-042/1-SCFI-2008, Water Analysis - Detection and Enumeration of Coliform Organisms, Thermotolerant Coliform Organisms and Presumptive *Escherichia coli*. Mexico: Diario Oficial de la Federación, 30 pp.
- SEMARNAT [Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales]. 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección Ambiental-Especies Nativas de México de Flora y Fauna Silvestres-Categorías de Riesgo y Especificaciones para su Inclusión, Exclusión o Cambio-Lista de Especies en Riesgo. Mexico: Diario Oficial de la Federación, 77 pp.
- SIGMAPLOT 10. 2006. New York: Systat Software Inc.
- ST. AUBIN, D.J., DEGUISE, S., RICHARD, P., SMITH, T.G., AND GERACI, J.R. 2001. Hematology and plasma chemistry as indicators of health and ecological status in beluga whales, *Delphinapterus leucas*. *Arctic* 54:317–331.
- STAMPER, M.A. AND SEMMEN, K.J. 2012. Basic water quality evaluation for zoo veterinarians. In: Miller, E.R., and Fowler, M. (Eds.). *Fowler's Zoo and Wildlife Medicine: Current Therapy*, Vol. 7. St. Louis: Elsevier Saunders, pp. 177–186.
- STATGRAPHICS PLUS 5.1. 2000. Rockville: Statistical Graphics Corporation.

- TOOR, H.S., SEHGAL, H.S., AND BRAR, C.S. 1983. Water-soluble phosphates: observed effects on embryonic development, hatching time, and survival of common carp. *The Progressive Fish-Culturist* 45:134–135.
- TURTLE CONSERVATION COALITION [Rhodin, A.G.J., Walde, A.D., Horne, B.D., van Dijk, P.P., Blanck, T., and Hudson, R. (Eds.)]. 2011. *Turtles in Trouble: The World's 25+ Most Endangered Tortoises and Freshwater Turtles—2011*. Lunenburg, MA: IUCN/SSC Tortoise and Freshwater Turtle Specialist Group, Turtle Conservation Fund, Turtle Survival Alliance, Turtle Conservancy, Chelonian Research Foundation, Conservation International, Wildlife Conservation Society, and San Diego Zoo Global, 54 p.
- VAN BELLE, G., FISHER, L.D., HEAGERTY, P.J., AND LUMLEY, T. 2004. *Biostatistics: a Methodology for the Health Sciences*. 2nd ed. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 896 pp.
- VOGT, R.C., POLISAR, J.R., MOLL, D., AND GONZALEZ-PORTER, G. 2011. *Dermatemys mawii* Gray 1847 – Central American River Turtle, Tortuga Blanca, Hickatee. In: Rhodin, A.G.J., Pritchard, P.C.H., van Dijk, P.P., Saumure, R.A., Buhlmann, K.A., Iverson, J.B., and Mittermeier, R.A. (Eds.). *Conservation Biology of Freshwater Turtles and Tortoises: A Compilation Project of the IUCN/SSC Tortoise and Freshwater Turtle Specialist Group*. Chelonian Research Monographs 5:058.1–058.12.
- WERNER, R.E., EHRET, D.J., AND JENSEN, L.M. 2002. Health assessment of captive raised and wild diamondback terrapins (*Malaclemys terrapin*): a preliminary study. *Bulletin of the New Jersey Academy of Science* 47:1–4.
- WILKINSON, R. 2004a. Clinical pathology. In: McArthur, S., Wilkinson, R., and Meyer, J. (Eds.). *Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles*. Oxford: Blackwell Publishing, Ltd., pp. 141–186.

- WILKINSON, R. 2004b. Therapeutics. In: McArthur S., Wilkinson, R., and Meyer, J. (Eds.). *Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles*. Oxford: Blackwell Publishing, Ltd., pp. 465–485.
- WILLIAMS, E.M. AND EDDY, F.B. 1989. Effect of nitrite on embryonic development of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 46:1726–1729.
- WINOKUR, R.M. 1988. The buccopharyngeal mucosa of the turtles (Testudines). *Journal of Morphology* 196:33–52.
- ZENTENO-RUIZ, C.E., BARBA-MACÍAS, E., BELLO-GUTIÉRREZ, J., AND OCHOA-GAONA, S. 2010. Caracterización espacio-temporal del hábitat y presencia de *Dermatemys mawii* (Testudines: Dermatemydidae) en la cuenca del Grijalva-Usumacinta, Tabasco, México. *Revista Biología Tropical* 58:1247–1260.

Table 1. Relationship between body mass (BM, in g) and carapace length at the midline (SCL, in cm) of captive *Dermatemys mawii*

from two study sites and sampling periods, including Body Condition Index. GOV: Government of the State of Tabasco's turtle farm,

TAB: Arroyo Tabasquillo Turtle farm.

Sampling period	Site	n	BM (kg)		SCL (cm)		Lineal regression equation	Correlation coefficient	Body condition index	
			Median	Range	Median	Range			Median	Range
February	GOV	30	5.2	2.9–9.3	32.7	27.7–39.6	$\text{LogBM} = -0.038 + 2.47\text{logSCL}$	0.77	0.88	0.73–1.68
	TAB	30	5.7	2.5–9.5	34.5	26.3–42.8	$\text{LogBM} = -0.234 + 2.50\text{logSCL}$	0.92	0.58	0.47–0.82
May	GOV	30	4.6	2.2–10.1	32.8	25.4–41.9	$\text{LogBM} = -0.532 + 2.77\text{logSCL}$	0.97	0.29	0.24–0.39
	TAB	28	5.7	2.2–9.0	33.6	25.0–45.0	$\text{LogBM} = 0.408 + 2.18\text{logSCL}$	0.91	2.53	1.94–3.94
August	GOV	30	5.3	2.1–10.1	35.1	25.6–43.5	$\text{LogBM} = -0.444 + 2.70\text{logSCL}$	0.96	0.36	0.3–0.42
	TAB	26	5.8	3.3–9.9	34.4	29.3–42.3	$\text{LogBM} = -0.017 + 2.45\text{logSCL}$	0.91	0.97	0.76–1.11

Table 2. Prevalence of main physical findings of captive *Dermatemys mawii* from two study sites and three sample periods at Tabasco, Mexico. GOV: Government of the State of Tabasco's turtle farm, TAB: Arroyo Tabasquillo turtle farm.

Study site	GOV			TAB		
	February	May	August	February	May	August
Sample size (<i>n</i>)	30	30	30	30	30	26
Integument						
Plastral lesions	90%	63%	27%	97%	77%	92%
Carapacial lesions	90%	57%	13%	97%	63%	46%
Skin lesions	2%	0	3%	0	10%	0
Decreased skin elasticity	50%	40%	0%	23%	20%	12%
Sunken eyes	70%	27%	0%	63%	7%	27%
Excessive algae growth on shell	0%	0%	80%	0%	3%	8%
Ectoparasites (leeches)	13%	0%	0%	0%	7%	23%
Eyes						
Partial opacity of the cornea	83%	0%	0%	47%	10%	4%
Abnormal secretions in eyes	0%	0%	0%	73%	0%	4%
Swollen eyelids	13%	20%	0%	0%	47%	3%
Mucosa						
Pale oral mucosa	97%	37%	77%	10%	3%	23%

Table 3. Median and range of serum biochemistry values in captive *Dermatemys mawii* from two study sites and three sample periods

at Tabasco, Mexico. GOV: Government of the State of Tabasco's turtle farm, TAB: Arroyo Tabasquillo turtle farm.

Analyte	Study site	Sampling period											
		February		May		August							
		GOV (n = 15)	TAB (n = 15)	GOV (n = 16)	TAB (n = 15)	GOV (n = 14)	TAB (n = 14)						
unit	Median	Range	Median	Range	Median	Range	Median	Range					
Calcium ^{S,P}	mg/dL	8.3	7.2-9.1	9.3	7.6-12	7.6	5.4-15.8	10.5	7.3-12.7	5.05	1.6-10	7.55	4.9-11.9
Cholesterol ^{S,P}	mg/dL	53	40-71	118	63-181	77	36-118	157	72-265	106.5	43-280	157.5	94-333
Creatinine ^{S,P,SP}	mg/dL	0.1	0.1-0.2	0.2	0.1-0.2	0.1	0.1-0.2	0.1	0.1-0.2	0.2	0.2-0.2	0.2	0.2-0.2
Glucose ^{S,P}	mg/dL	33	22-55	43	35-80	51	21-78	54	30-79	49	24-78	59	36-76
Phosphorus ^{S,P,SP}	mg/dL	1.8	1.6-2.2	3.5	2-4.1	1.25	0.9-3	2.6	2-4.7	2.75	1.2-3.8	3.25	2.6-3.9
Total protein ^{S,P}	g/dL	2.1	1.8-2.4	4.3	2.4-5.6	1.45	0.8-2.8	3.6	2.2-4.6	2.05	1.3-3.1	3.4	2.4-4.4
Triglycerides ^{S,P}	mg/dL	104	66-151	212	44-293	13.5	6-212	255	16-727	43.5	16-114	74	16-454
Urea ^{S,P,SP}	mg/dL	19	12-33	74	25-162	2	1-5	23	1-49	5	2-10	12	6-20
Uric acid ^{S,P,SP}	mg/dL	0.9	0.6-1.7	1.1	0.9-1.7	2.45	0.9-4.3	3.2	2.4-5.3	0.75	0.4-3.1	3.65	1.7-6
AP ^S	UI/L	95	68-138	178	90-362	83	50-196	195	92-350	116	85-280	177.5	99-554
AST ^{S,P}	UI/L	41	27-67	64	33-139	24.5	12-61	35	24-91	46	24-70	41.5	26-73
CK ^P	UI/L	777	64-2762	410	105-2536	678.5	39-6392	140	39-473	40	40-40	40	40-40
LDH ^{S,SP}	UI/L	474	247-856	1469	445-2194	403.5	90-2574	2896	391-7119	850	122-1984	1070.5	244-1984

^{S,P,SP}Superscripts in each analyte indicate a significant effect ($p < 0.05$) of study site (S), health assessment period (P) or their interaction (SP)

Table 4. Bacterial isolates of captive *Dermatemys mawii* from two study sites and three sample periods at Tabasco, Mexico. GOV: Government of the State of Tabasco's turtle farm, TAB: Arroyo Tabasquillo turtle farm.

Site	Sampling period	<i>n</i>	Number of samples	Obtained pathogenic isolates	Prevalence
GOV	Feb	5	15	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i>	3/5
	May	5	15	No pathogens isolated	–/5
	Aug	5	15	Fungus1 sp., <i>Candida</i> spp.	4/5
TAB	Feb	6	18	Fungus1 sp., <i>Proteus vulgaris</i>	1/6
	May	6	16	<i>S. aureus</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>Serratia</i> spp., <i>E. coli</i>	3/6
	Aug	8	21	<i>E. coli</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>Klebsiella</i> spp.	4/8
TOTAL		35	100	--	15/35

Table 5. Bacterial isolates of captive *Dermatemys mawii* from two sites at Tabasco, Mexico, differentiated by body collection site. GOV: Government of the State of Tabasco's turtle farm, TAB: Arroyo Tabasquillo Turtle farm.

Body collection site	Obtained bacteriological isolates	Prevalence	
		GOV	TAB
	<i>Proteus vulgaris, Staphylococcus aureus, Candida</i>		
Mouth	spp.	3/15	1/16
Cloaca	<i>P. vulgaris, S. aureus, Escherichia coli, Serratia</i>		
	spp., <i>Candida</i> spp., fungus1 sp.	6/15	4/16
Eyes	<i>P. vulgaris, S. aureus, E. coli</i>	2/15	1/16
Shell lesions	<i>P. vulgaris, S. aureus, Klebsiella</i> spp.	-	4/7
TOTAL	--	11/45	10/55

Table 6. Physicochemical and biological water parameters in the ponds of captive *Dermatemys mawii* from two sites, registered monthly from February to August. GOV: Government of the State of Tabasco's turtle farm, TAB: Arroyo Tabasquillo turtle farm. Includes Kruskal-Wallis statistic for differences related to study site.

Parameter	Study site		TAB		Kruskal-Wallis	
	Median	Range	Median	Range	H	<i>p</i>
Water temperature (°C)	30.7	27.1–32.0	29.3	27.0–31.6	0.33	0.56
Water transparency (m)	0.15	0.05–0.3	0.05	0.05–0–1	7.17	<0.01**
pH	8.0	7.7–8.6	9.1	7.4–9.5	2.18	0.14
Dissolved oxygen (mg/L)	6.4	2.85–9.0	0.6	0.4–2.0	9.82	<0.01**
Total Suspended Solids(mg/L)	62.1	24–168.5	47.5	22–310	0.2	0.65
Ortho-phosphates (mg/L)	0.085	0.05–0.123	0.084	0.043–0.494	0.2	0.65
Total ammonia nitrogen (mg/L)	0.179	0.033–1.638	1.092	0.374–2.239	5.59	0.018*
Nitrites (mg/L)	0.0035	0.002–0.020	0.011	0.004–0.059	5.59	0.018*
Nitrates (mg/L)	0.118	0.076–0.276	0.326	0.095–0.953	1.25	0.26
Biochemical Oxygen Demand (mg/L)	22	3.5–35.1	29.6	13.6–66.9	1.64	0.20
Total coliforms (MPN ^a /100 mL)	2400	430–24000	9300	1500–110000	2.61	0.11
Fecal coliforms (MPN ^a /100 mL)	2400	230–24000	4600	1500–110000	3.97	0.046*

^aMPN: Most Probable Number

**Highly statistically significant difference ($p < 0.01$)

*Statistically significant difference ($0.01 < p < 0.05$)

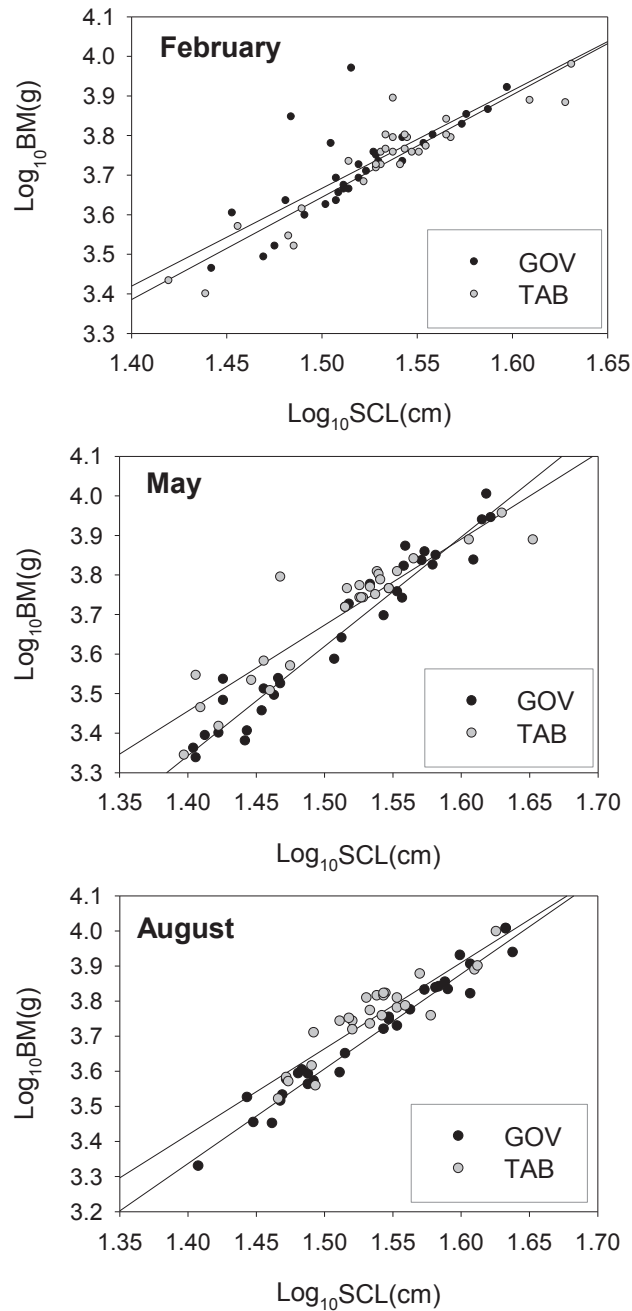


Figure 1. Logarithm of body mass (BM, in g) regressed against logarithm of straight carapace length at the midline (SCL, in cm) in captive *Dermatemys mawii* from two study sites at three sampling periods. GOV: Government of the State of Tabasco's turtle farm, TAB: Arroyo Tabasquillo turtle farm.

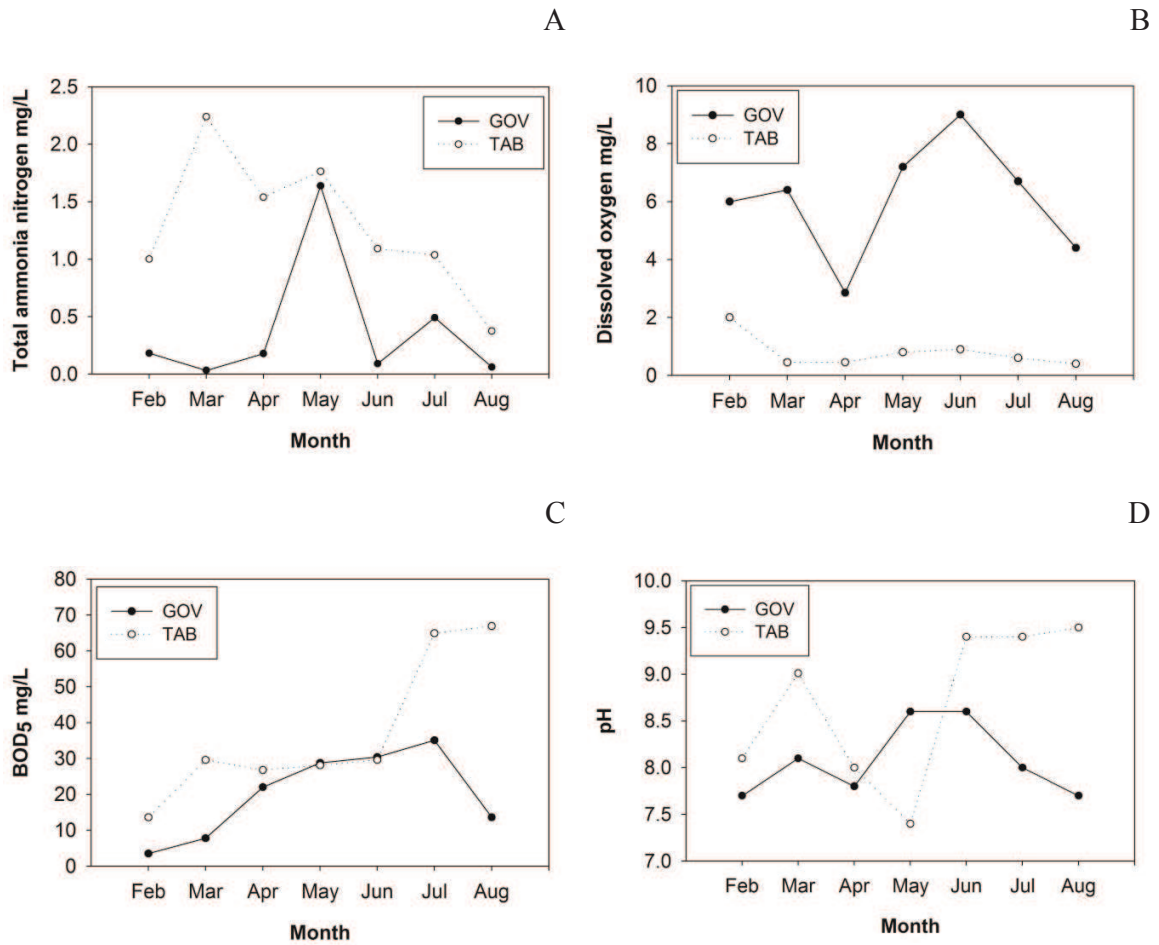


Figure 2. Monthly variation in total ammonia nitrogen (A), dissolved oxygen (B), biochemical oxygen demand (C), and pH (D) in ponds of captive *Dermatemys mawii* from two sites. GOV: Government of the State of Tabasco's turtle farm, TAB: Arroyo Tabasquillo turtle farm.

CAPÍTULO 3. CARACTERIZACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LAS ENZIMAS DIGESTIVAS EN LA TORTUGA BLANCA *Dermatemys mawii*

Rangel-Mendoza, J., Hernández-García, J., Álvarez-González, C.A.*, Guerrero-Zárate, R., Zenteno-Ruiz, C.E.

División Académica de Ciencias Biológicas. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Carretera Villahermosa-Cárdenas km 0.5, Entronque a Bosques de Saloya. CP.86139, Villahermosa, Tabasco, México. *E-mail: alvarez_alfonso@hotmail.com

Resumen

Se evaluó la actividad de las proteasas y lipasa digestivas en la tortuga blanca *Dermatemys mawii* en función del pH y la temperatura. La temperatura óptima de las proteasas ácidas del estómago y las proteasas alcalinas del intestino fue de 55°C, mientras que para las lipasas alcalinas intestinales fue de 45 a 55°C. La estabilidad a temperatura en las proteasas ácidas ocurrió de 25 a 55 °C, en las alcalinas a 35 y 45 °C, y en las lipasas alcalinas a 25 y 35°C. El pH óptimo de las proteasas ácidas del estómago fue 2; en las proteasas y lipasas alcalinas del intestino fue de 9 y 10, respectivamente. La estabilidad de las proteasas ácidas fue mayor a pH ácidos, en proteasas alcalinas a pH 8, y en lipasas alcalinas a pH 6 y 8. Los resultados de este estudio indican que la actividad de las enzimas digestivas en estómago e intestino de *D. mawii* es afectada por las condiciones de pH y temperatura; así mismo, constituyen información básica para el entendimiento de la capacidad digestiva de esta especie de tortuga dulceacuícola.

Palabras clave: *Dermatemys mawii*, Tortuga blanca, Actividad enzimática digestiva, Proteasas, lipasas

Introducción

La tortuga blanca (*Dermatemys mawii*), se distribuye en América Central desde el sureste de México, Belice, Guatemala y al norte de Honduras (Vogt *et al.*, 2011). Esta especie, habita en áreas cercanas a ríos grandes y sus afluentes, lagos y lagunas permanentes con abundantes plantas acuáticas, así como en selvas inundables en la época de lluvias con temperaturas del agua de 24 °C a 35 °C (Zenteno-Ruiz *et al.*, 2010).

Esta especie se encuentra gravemente amenazada, debido a que sus poblaciones silvestres se han reducido drásticamente en razón a su captura ilegal para consumo y comercio (CITES, 2005). Por tal razón, *D. mawii* es considerada como especie en peligro de extinción por las leyes mexicanas (SEMARNAT, 2010) así como críticamente amenazada (UICN, 2013) y dentro de la lista de las 25 especies en mayor riesgo de desaparición (TCC, 2011) por organizaciones internacionales de conservación de la biodiversidad. En respuesta a esta situación, en México se promueve su manejo y reproducción en cautiverio a través de las Unidades de Manejo para el Aprovechamiento y la Conservación de Vida Silvestre (UMA, CONABIO-DGVIS-CONANP, 2009)

En su ambiente natural, la tortuga blanca es principalmente herbívora (Moll, 1989), aunque existen reportes del consumo de moluscos, crustáceos y peces en mínima proporción (Gil-Alarcón, 2008). En cautiverio, a esta especie se le suministra generalmente alimento balanceado para peces, complementado con vegetación silvestre y de consumo humano (frutas, verduras). Existen evidencias de efectos negativos de dicha dieta sobre la

salud de organismos mantenidos en cautiverio, ya que éstos exhiben niveles sanguíneos de ácido úrico y urea que exceden significativamente los valores de referencia para la especie (Rangel Mendoza *et al.* 2009).

La alimentación es uno de los aspectos más críticos de la crianza en cautiverio de cualquier especie, por lo que la mala condición de los animales en cautiverio generalmente está relacionada con dietas inadecuadas (Donoghue, 2006). En este sentido, es evidente la necesidad de proporcionar una dieta específica que optimice eficientemente el manejo nutricional de las tortugas que se crían en cautiverio.

Considerando lo anterior, el estudio de las enzimas digestivas es un paso esencial hacia la comprensión del mecanismo de la digestión y el mejor conocimiento de las necesidades nutricionales, además de servir como un indicador eficaz de la capacidad digestiva y el desarrollo de los animales acuáticos (Zou *et al.*, 2011). Una vez que se logra comprender la capacidad enzimática del sistema digestivo de los organismos, es factible aplicar estos conocimientos en aspectos relacionados con la nutrición animal.

En México, los estudios relacionados con los requerimientos nutricionales y fisiología digestiva de las tortugas son inexistentes. Por esta situación, el presente estudio tiene como finalidad evaluar la capacidad digestiva de la tortuga blanca (*Dermatemys mawii*), a partir de la caracterización de la actividad de enzimas proteasas y lipasas, con el propósito de proporcionar información útil para el diseño de dietas artificiales en función de la maquinaria enzimática de la especie.

Materiales y métodos

Obtención de muestras

Las tortugas blancas (*Dermatemys mawii*) obtenidas para este estudio fueron obtenidas de la UMA “Granja de tortugas Arroyo Tabasquillo”, ubicada en la R/a Tabasquillo 4ª sección, municipio de Centla, Estado de Tabasco, México. Tres crías de esta especie, con un peso $167.1 \text{ g} \pm 35.9$ y una Longitud Recta de Caparazón de $11.0 \pm 0.9 \text{ cm}$, fueron sacrificadas tras 2 días de ayuno, mediante una inyección intracraneal de Xilocaina 2%. Posteriormente, la cavidad abdominal de cada organismo se abrió, y se extrajo el tracto digestivo, separando los segmentos estomacal e intestinal. Las muestras fueron pesadas y almacenadas a -20°C para su posterior procesamiento.

Los extractos enzimáticos se obtuvieron homogenizando las muestras en una solución buffer de glicina-HCl 0.1 M a pH 2 en una proporción 5:1 (v/p) para el tejido estomacal y una solución buffer de Tris-HCl 30 mM + CaCl_2 12.5 mM a pH 7.5 para el tejido intestinal, posteriormente se centrifugó a 14000 rpm durante 15 minutos a 4°C . El sobrenadante obtenido fue almacenado en tubos Eppendorf a -20°C para su posterior análisis enzimático. El homogenizado de las muestras se realizó a través de un disruptor de tejidos (ULTRA TURRAX® IKA T18 Basic).

Determinación de la actividad enzimática

Proteasas. -- A partir del extracto estomacal se determinó la actividad de proteasas ácidas según la metodología de Anson (1938) con hemoglobina al 1 % en tampón glicina – HCl 0.1 mM pH 2 como sustrato. Las proteasas alcalinas del extracto intestinal se determinaron siguiendo la técnica de Walter (1984) usando como sustrato caseína al 1 % en tampón Tris-HCl 100 mM + CaCl_2 10 mM a pH 9. Las reacciones en ambas técnicas fueron

incubadas con el extracto enzimático durante 30 minutos a 35 °C y la reacción se detuvo con 0.5 mL de ácido tricloroacético (TCA al 20 %) y a las mezclas control se le añadió el extracto enzimático. Después se dejó reposar la mezcla de reacción a 4°C por 15 minutos, luego se centrifugó a 12 000 rpm durante 15 minutos. Del sobrenadante obtenido, se midió la absorbancia a 280 nm. Se definió una unidad de actividad como la cantidad de enzima que cataliza la formación de 1 µg de tirosina por minuto.

Lipasas alcalinas. -- La actividad de las lipasas alcalinas se determinó con el método de Versaw et al. (1989). Se agregaron 200 µL de tauracolato de sodio 100 mM, 1.9 mL de buffer Tris-HCl 50 mM a pH 7.5 y 20 µL de extracto multienzimático intestinal, esta solución se incubó a 25°C por 5 min. Posteriormente se agregó 20 µl de β-naftil caprilato 100 mM, se agitó la solución resultante y se incubó 30 min a 25°C. Pasado este tiempo, se agregaron 20 µl de Fast Blue 100 mM y se volvió a incubar la solución por 5 min a 25°C. La reacción se detuvo con 200 µl de TCA 12% y fue clarificada con 2.71 ml de etanol-acetato de etilo (1:1 v/v). La absorbancia fue leída a 540 nm. La unidad lipasa se definió como la cantidad de enzima requerida para incrementar 0.01 unidades de absorbancia a 540 nm por min.

Efecto de la temperatura sobre la actividad y estabilidad de las enzimas digestivas

Proteasas. -- La temperatura óptima de las proteasas de estómago e intestino se estimó incubando el extracto enzimático con hemoglobina y caseína al 1 % a seis diferentes temperaturas de incubación (25, 35, 45, 55, 65, 75°C). La estabilidad a la temperatura de las proteasas digestivas se evaluó preincubando el extracto estomacal en una solución buffer de glicina-HCl 0.1 M a pH 2 y el extracto intestinal en una solución de Tris-HCl 100 mM + CaCl₂ 10 mM a pH 9 a los niveles de temperatura establecidos durante tres tiempos

diferentes de preincubación (30, 60, 90 min). Finalmente, se realizó el ensayo para actividad ácida y alcalina a 25 °C. La actividad residual se determinó comparando la actividad de los ensayos contra un blanco sin preincubar.

Lipasas alcalinas. -- La temperatura óptima de las lipasas alcalinas intestinales se determinó incubando el extracto enzimático en 80 µl de buffer Tris-HCl 50 mM a pH 7.5 a diferentes niveles de temperatura (25, 35, 45, 55 y 65°C). El efecto de la temperatura sobre la estabilidad de las lipasas se determinó preincubando los extractos intestinales a los diferentes niveles de temperatura durante 30, 60 y 90 min. Después de la preincubación se midió la actividad de las lipasas bajo los métodos descritos anteriormente. Para calcular la actividad residual se utilizó un control sin preincubar (tiempo 0, 100% de actividad).

Efecto del pH sobre la actividad y estabilidad de las enzimas digestivas

Proteasas. -- El efecto del pH sobre la actividad proteasa ácida y alcalinas se determinó incubando los extractos multienzimáticos de estómago e intestino en soluciones de hemoglobina al 1 % disuelta en solución Stauffer (1989) de valores de pH 2, 3, 4, 5 6 y 7, así como en una solución de caseína al 1 % disuelta en solución Stauffer (1989) en valores de pH 8, 9, 10, 11 y 12. La estabilidad de las proteasas ácidas y alcalinas al pH se determinó preincubando los extractos enzimáticos a los niveles de pH establecidos durante tiempos de 30, 60, 90 min. Posteriormente, se determinó la actividad de las proteasas bajo la técnica correspondiente, mencionada con anterioridad. La actividad de cada ensayo se comparó con un control sin preincubar. La actividad residual se expresó en porcentaje con respecto al control sin preincubar.

Lipasas alcalinas. -- El pH óptimo de las lipasas alcalinas se determinó incubando el extracto multienzimático intestinal en 80 µl de solución Stauffer (1989) en valores de pH

de 4, 6 8, 10 y 12, y posteriormente determinando la actividad enzimática bajo la técnica descrita anteriormente. La estabilidad al pH se determinó mediante la preincubación de los extractos multienzimáticos intestinales en solución Stauffer (1989) a los diferentes niveles de pH establecidos para la evaluación de lipasas durante 30, 60 y 90 min. Transcurrida la preincubación, se realizó la determinación de la actividad enzimática bajo la técnica mencionada anteriormente. Para calcular la actividad residual se utilizó un control sin preincubar (tiempo 0, 100% de actividad).

El contenido de proteína soluble de los extractos multienzimáticos de estómago e intestino fue determinado mediante la técnica de Bradford (1976), utilizando suero de albúmina sérica bovina como patrón.

La actividad de los extractos fue determinada usando las siguientes ecuaciones: 1) Unidad por ml = $(\Delta\text{abs} \times \text{volumen final de la reacción (mL)}) / (\text{CEM} \times \text{tiempo (min)}) \times \text{volumen del extracto (ml)}$; 2) Unidades por mg de proteína = Unidades por ml / mg de proteína soluble). Δabs fue determinado por la longitud de onda de cada técnica y el CEM es el coeficiente de extinción molar del producto de reacción ($\text{ml } \mu\text{g}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

La actividad enzimática de proteasas y lipasas se representó gráficamente a través del programa Sigma Plot Versión 10.0.

Resultados

El extracto estomacal de *D. mawii* tuvo una concentración promedio de proteína soluble de 830.73 ± 79.91 mg/ml, mientras tanto el extracto intestinal mostró una concentración de 552.45 ± 93.79 mg/ml de proteína soluble. A partir de estos datos se calcularon las unidades de actividad por mg de proteína, necesarias para medir la actividad de las enzimas.

Efecto de la temperatura sobre la actividad enzimática

Proteasas ácidas. -- La mayor actividad de las proteasas ácidas del estómago se presentó a 55°C, seguida de una pérdida progresiva a temperaturas superiores de 65°C (Fig. 1a). En cuanto a la estabilidad, las proteasas ácidas mostraron ser estables en la temperatura 25°C hasta la 55°C. En las demás temperaturas, estas enzimas descendieron su actividad proteolítica por debajo del 10 % de actividad residual manteniéndose constante hasta los 90 minutos (Fig. 1b).

Proteasas alcalinas. -- La actividad de las proteasas alcalinas fue similar al de las proteasas ácidas mostrando una elevada actividad a 55°C (Fig. 1c). Las proteasas alcalinas resultaron ser estables a temperaturas de 35°C y 45°C. En las demás temperaturas evaluadas, la actividad enzimática de las proteasas alcalinas fue inestable en los diferentes tiempos de preincubación, decayendo en las temperaturas 65°C y 75°C (Fig. 1d).

Lipasas alcalinas. -- La actividad de las lipasas alcalinas en función de la temperatura se muestra en figura 2. La mayor actividad de las lipasas alcalinas intestinales se presentó a 45 y 55°C, mostrando una reducción marcada a 65 °C (Fig. 2a). Las lipasas alcalinas presentaron al menos 50% de estabilidad a temperaturas de 25 y 35°C a los diferentes tiempos de incubación; a temperaturas mayores, se mantuvo ese nivel de

actividad hasta 30 min, excepto para 55°C que mostró un incremento del 10% sobre la actividad enzimática sin preincubación (tiempo 0).

Efecto del pH sobre la actividad enzimática

Proteasas ácidas. – Las proteasas ácidas del estómago presentaron una elevada actividad a pH 2, posterior a este valor la actividad de la enzima empezó a descender, manteniéndose constante hasta el pH 12 (Fig. 3a). Con respecto a la estabilidad, la proteasa ácida mostró ser estable a la mayoría de los pH, solo fue afectada en los pH 5, 9 y 10, en los cuales la actividad enzimática descendió en un 30 % (Fig. 3b).

Proteasas alcalinas. -- Las proteasas alcalinas alcanzaron su máxima actividad proteolítica a pH 9, seguidamente esta actividad descendió progresivamente hasta el pH 12 (Fig. 3c). En cuanto a la estabilidad, las proteasas intestinales mostraron ser estables a pH 8 incrementando su actividad residual por encima del 100 % tras 30 minutos de preincubación. A pH 4, la actividad de las proteasas alcalinas registró un elevado nivel durante los 90 minutos de exposición. En los demás pH las proteasas alcalinas resultaron ser inestables disminuyendo su actividad (Fig. 3d).

Lipasas alcalinas. -- La mayor actividad de las lipasas alcalinas intestinales se presentó a pH 2, alcanzando niveles mayores al 300% de la actividad enzimática del extracto sin incubar (Fig. 4a); sin embargo, en medio alcalino, la mayor actividad de las lipasas intestinales se encontró a pH 10. La actividad de estas enzimas sólo estuvo por encima del 100% a pH 6 y 8, a los 30 y 60 min respectivamente; en los demás niveles de pH evaluados, la actividad enzimática decreció paulatinamente, conforme avanzó el tiempo de incubación, sin llegar a ser menor al 50% de su capacidad, excepto para el pH 8 (Fig. 4b).

Discusión

Las enzimas digestivas han sido estudiadas desde hace varios años por su importancia como auxiliares en la transformación de alimentos (García-Carreño y Haard, 1993; García-Carreño *et al.*, 1997; Hernández-Cortes *et al.*, 1997; Lemos *et al.*, 1999; Albuquerque *et al.*, 2002) y la mayoría de los estudios sobre actividad enzimática y digestibilidad *in vitro* se han llevado a cabo en peces y crustáceos. Sin embargo, en reptiles como la tortuga blanca, los estudios han sido muy pocos a nivel mundial y en México no se han realizado investigaciones de esta naturaleza.

Nuestros resultados indicaron una temperatura óptima de 55°C para la actividad de proteasas ácidas y alcalinas de las crías de *D. mawii*, que además mostraron ser altamente estables desde la temperatura de 25 °C, lo cual difiere al único estudio realizado por Sun *et al* (2007) quienes reportaron el óptimo a 40°C para el extracto estomacal y 50 °C para el extracto intestinal en *T. scripta elegans*. En este aspecto, la alta actividad a estas temperaturas indica que la pepsina es resistente, desde el punto de vista funcional; sin embargo, fisiológicamente su actividad depende de la temperatura ambiental de los organismos ectotermos (peces, anfibios y reptiles), lo que refleja una actividad disminuida de forma permanente que es compensada por la acción del cierre de los esfínteres y la secreción de hormonas digestivas como la colecitoquinina que fomentan los movimientos peristálticos y permiten mantener por un tiempo prolongado la formación del complejo enzima-sustrato para hidrolizar la mayor cantidad de los nutrientes, por lo que debe recordarse que este solamente es un parámetro operacional, que no refleja la acción fisiológica de la pepsina a ciertas temperaturas (Concha-Frías, 2008).

De esta forma, nuestros resultados en relación a la actividad de la proteasa ácida en función del pH en esta especie no difiere de los observados en otras especies de peces marinos y dulceacuícolas (Essed *et al.*, 2002). La mayoría de los informes de pepsina en los peces con estómago indican un pH óptimo de 2.0 y en el intestino los valores de actividad se encuentran entre 9 y 10 en extractos de peces marinos (Sun *et al.*, 2007).

En tortugas, se cuenta con reportes sobre pH óptimo para proteasas alcalinas en tortugas de caparazón blando (*Trionyx sinensis*), cuya máxima actividad se reportó a pH ácido de 2.2 (Long y Bai, 1997). De manera similar, en la tortuga de orejas rojas (*Trachemys scripta elegans*) se observó la actividad máxima de las proteasas estomacales a pH 2.5, mientras que la actividad máxima de las proteasas alcalinas fue a pH 7.0 - 8.5 (Sun *et al.*, 2007).

A partir de los resultados de este estudio, las proteasas de *D. mawii* registraron una alta actividad óptima similar a lo reportado para las especies de tortugas antes mencionadas, con niveles óptimos de pH 2 para extractos estomacales y pH 9 para extractos intestinales. La existencia de un pH óptimo bien definido pone de manifiesto la presencia de una única enzima con actividad proteolítica para el estómago del grupo de las pepsinas, siendo la enzima digestiva del grupo de las endoproteasas aspárticas con la mayor actividad enzimática en comparación a las enzimas digestivas intestinales (Essed *et al.*, 2002), lo que indica que *D. mawii* es una especie que presenta un estómago real, siendo el responsable de la hidrólisis de las diversas proteínas obtenidas del alimento (Tengjaroenkul *et al.*, 2000).

Por otra parte, las proteasas ácidas de *D. mawii*, mostraron ser muy resistentes a la mayoría de los pH y distintos tiempos de preincubación; siendo notable el incremento en su actividad a pH neutro, por encima del 100 % de actividad residual. Por el contrario, las

proteasas alcalinas resultaron ser resistentes a pH 8, incrementando gradualmente su actividad durante los 90 minutos de preincubación.

Las proteasas alcalinas mostraron una actividad distintiva en un medio ácido como el pH 4, superando el 100 % de actividad residual; este fenómeno puede deberse a la presencia de proteasas ácidas que actúan sobre el bolo alimenticio proveniente del estómago, una vez vaciado es expulsado a la luz del tubo intestinal y actúan durante un tiempo prolongado en conjunto con las proteasas alcalinas hasta que el pH del tracto intestinal se torna alcalino (Álvarez-González, 2003). Otra posible explicación, es la presencia de enzimas digestivas como la tripsina y quimotripsina en el tracto intestinal que pueden actuar en un medio ácido por un tiempo considerable mientras el bolo alimenticio se alcaliniza por la acción de sales básicas excretadas al lumen en el intestino, como ha sido reportado en diversas especies de peces (Avalos-Sánchez, 2006).

La actividad de las lipasas digestivas ha sido estudiada en diferentes especies de peces e invertebrados, pero es aún más escasamente abordada en tortugas, y otros reptiles, que en el caso de las proteasas. Antes de la absorción, las lipasas actúan sobre la grasa transformándolos en ácidos grasos y glicerol (Borlongan, 1990). La grasa, en la dieta de los animales, cumple primordialmente la función de suministrar energía para el crecimiento (Huang *et al.*, 2005). En tortugas de concha blanda *Pelodiscus sinensis*, se reporta la presencia de lipasas intestinales a partir del primer día de vida, cuya actividad aumentó progresivamente hasta cumplir el primer mes de edad (Zou *et al.*, 2011).

El rango de temperatura óptima determinado para las lipasas intestinales de tortuga blanca, que fue de 45 a 55°C, un nivel relativamente similar al hallado en algunas especies de peces como el sabalote *Chanos chanos* (45°C, Borlongan, 1990) y el atún de aleta azul

Thunnus orientalis (45°C, Matus *et al.*, 2007); sin embargo, fueron notablemente diferentes de otras especies como el pejelagarto *Atractosteus tropicus* (65°C, Guerrero-Zárate, 2010), por citar algunos casos donde se ha analizado este factor. La mayor estabilidad de este tipo de enzimas, hallada en el rango de 25 y 35°C, indica que a mayores temperaturas, mantenidas por tiempos superiores a 60 min, perjudica la actividad de estas lipasas. La temperatura óptima y la estabilidad de las lipasas en peces varían con el hábitat, situación que puede replicarse en los reptiles debido a su condición ectoterma. En peces de aguas templadas, la actividad óptima usualmente fluctúa entre 20 y 40°C, y se desactiva rápidamente sobre 40-45°C (Kurtovic *et al.*, 2009), situación que coincide con el comportamiento de la actividad enzimática de las lipasas en relación a la temperatura en tortuga blanca. En mamíferos, su temperatura óptima está alrededor de los 37°C y su estabilidad se mantiene hasta los 50°C (Kurtovic *et al.*, 2009), siendo estos organismos endotermos.

En relación al pH, las lipasas de *D. mawii* mostraron tener máxima actividad a pH 10, con niveles notorios en pH de 8 a 12. En ausencia de un marco de comparación con otros quelonios, el pH óptimo de esta tortuga dista del hallado en el pez *A. tropicus* (Guerrero-Zarate, 2010) que mostró valores óptimo en pH 6 y 7, aunque fue similar a los hallados en atún aleta amarilla *Thunnus albacares* y pez barrilete *Katsuwonus pelamis* (Prasertsan y Prachumratana, 2008). En las lipasas de peces y mamíferos, el pH óptimo varía entre neutral y ligeramente alcalino (6.5-8.5), mientras que en peces como la sardina *Sardinella longiceps* las lipasas son estables en pH de 5 a 9.5, un rango en el que se pueden incluir los resultados para la tortuga blanca, donde la enzima reportó menor variación en su actividad a pH de 6 y 8.

El caso de la elevada actividad de las lipasas alcalinas a pH 2 es de interés particular, debido a que se esperarían bajos niveles de actividad, ya que son enzimas específicas para medios alcalinos. Como explicación probable, está la presencia de lipasas gástricas, propias del estómago, cuya acción puede ser favorecida en un medio ácido. Aunque se reconoce que el principal mecanismo de digestión de las lipasas ocurre en la porción inicial del intestino, en el estómago puede ocurrir de un 10-30% de digestión de las grasas, por enzimas secretadas por la lengua, faringe y el mismo estómago (Dryden, 2008).

La información sobre los rangos óptimos de actividad así como de la estabilidad de las enzimas digestivas en diferentes condiciones de temperatura y pH son indicadores de la capacidad digestiva de un animal. Además, brindan información para estudios posteriores tendientes a formular dietas en base a las características digestivas de la especie, basados en la selección de ingredientes apropiados para la fisiología del organismo en cuestión (Sun *et al.*, 2007).

En conclusión, los resultados de este estudio representan la primera descripción de las características de las enzimas digestivas de la tortuga blanca. Este estudio demuestra que la actividad de proteasas de estómago e intestino, así como las lipasas intestinales, depende de factores como la temperatura y el pH, lo cual convierte estos resultados en un marco de referencia para la comprensión de la fisiología digestiva de esta especie.

Agradecimientos

Este estudio fue financiado por el Laboratorio de Bioquímica de la División Académica de Ciencias Biológicas (DACBiol) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT), quien facilitó materiales y equipos para los análisis bioquímicos. A la

UMA “Granja de tortugas Arroyo Tabasquillo” por proveer los ejemplares para este estudio.

Referencias

- Albuquerque, C., F. García-Carreño, M. Navarrete Del Toro. 2002. Trypsin and trypsin inhibitors from Penaeid Shrimp. *J. Food Biochem.* 226, 233-251.
- Álvarez-González, C.A. 2003. Actividad enzimática digestiva y evaluación de dietas para el destete de larvas de la cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* (Percoidei: Serranidae). Tesis doctoral. CICIMAR. La paz, baja California, México. 180pp.
- Anson, M.L. 1938. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *J Gen Physiol* 22: 79-89.
- Avalos-Sánchez, A.M. 2006. Digestibilidad *in vitro* de dietas con diferentes combinaciones de ligantes diseñadas para larvas y juveniles de pescado blanco del lago de patzcuaro *Chirostoma estor* (Jordán, 1879). Tesis de licenciatura. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, México. 52pp.
- Borlongan, I.G. 1990. Studies on the digestive lipases of milkfish *Chanos chanos*. *Aquaculture* 89, 315-325.
- Bradford, MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal Biochem.* 7;72:248-254.
- CITES [Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres]. 2005. *Informe de la Vigésima primera Reunión del Comité de Fauna AC21 Doc. 11.2. 20 a 25 de mayo. Ginebra, Suiza.*

- CONABIO-DGVS-CONANP. 2009. Estrategia Nacional para la Conservación y el Manejo Sustentable de la Tortuga Blanca (*Dermatemys mawii*) en México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad/Dirección General de Vida Silvestre/Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas, México, Distrito Federal, México.
- Concha-Frías, B. 2008. Evaluación de la capacidad digestiva de juveniles de *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1972) sobre diferentes ingredientes proteínicos. Tesis de maestría. Universidad Católica del Norte, Coquimbo, Chile, 113 pp.
- Donoghue, S. 2006. Nutrition, p. 251-298. In: Mader, D R. (Ed), Reptile Medicine and Surgery, Elsevier Saunders., Filadelfia, E. U. A. 1242 p.
- Dryden, G. McL. 2008. Animal Nutrition Science. CAB International. 302 pp.
- Essed, Z., Fernández, I., Alarcon, F. J., Moyano, F. J. 2002. Caracterización de la actividad proteasa digestiva de atún rojo *Thunnus thynnus* (Linnaeus, 1758). Bol. Inst. Esp. Oceanogr. 18 (1-4). 2002: 99-107.
- García-Carreño, F. L., A. N. del Toro and M. Ezquerro .1997. Digestive shrimp proteases for evaluation of protein digestibility *in Vitro*. I: Effect of protease inhibitors in protein ingredients. J. Marine Biotech 5: 36-40.
- García-Carreño, F. L., L. E. Dimes y N. F. Haard. 1993. Substrate-gel electrophoresis for composition and molecular weight of Proteinases or proteinaceous proteinase inhibitors. Anal. Biochem. 214, 65-69.
- Gil-Alarcón, G. 2008. Hábitos alimentarios de *Dermatemys mawii* (Gray, 1847) (Testudines: Dermatemidae) en la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla,

- Tabasco México. Tesis Profesional. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 69 pp.
- Guerrero-Zarate, R. 2010. Evaluación de la capacidad digestiva del pejelagarto (*Atractosteus tropicus*). Tesis de maestría en ciencias. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México. 88 pp.
- Hernández-Cortéz, P., J. Whitaker y F. Garcia-Carreño. 1997. Purification and characterization of chymotrypsin from *Penaeus vannamei* (Crustacea, Decapoda). J. Food Biochem. 21, 497-510.
- Huang, C. H., Lin, W. Y., & Chu, J. H. 2005. Dietary lipid level influences fatty acid profiles, tissue composition, and lipid peroxidation of soft-shelled turtle, *Pelodiscus sinensis*. Comp Biochem Physiol A: Mol Int Physiol, 142(3):383-388.
- IUCN. 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.1. <www.iucnredlist.org>. Accessed 18 October 2013.
- Kurtovic, I., Marshall, S.N., Zao, X., Simpson, B.K., 2009. Lipases from mammals and fishes. Rev Fish Sci 17(1):18-40.
- Lemos, D., P. Hernández-Cortez, M. Navarrete-Del Toro, F. L. Garcia-Carreño y V. Phan. 1999. Ontogenic variations in digestive proteinase activity of larval and postlarval pink shrimp *Penaeus paulensis*. Mar. Biol. 135, 653-662.
- Long, L. Q., Bai, D. Q. 1997. Distribution of three major digestive enzymes of digestive tissue of *Trionyx sinensis*. Chin. J. Zool. 32, 23-26.
- Matus P., A., Rosas, A., Lazo, J.P., Viana M., T., 2007. Partial characterization of the digestive enzymes of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* under culture conditions. Fish Physiol Biochem 33, 223–231.

- Moll, D. 1989. Food and feeding behavior of the turtle, *Dermatemys mawii*, in Belize. *J Herp* 23: 445-447.
- Prasertsan, P., y Prachumratana, T. 2008. Properties of protease and lipase from whole and individual organ of viscera from three tuna species. *Songklanakarin J Sci Technol*, 30(1):77-86.
- Rangel-Mendoza, J., M. Weber, C.E. Zenteno-Ruiz, M.A. López-Luna y E. Barba-Macías (2009) Hematology and serum biochemistry comparison in wild and captive Central American river turtles (*Dermatemys mawii*) in Tabasco, Mexico. *Res Vet Sci* 87: 313–318.
- SEMARNAT [Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales], 2010. 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 30 de diciembre de 2010. México.
- Stauffer, C. (1989) *Enzyme assays for food Scientists*. Van Nostand Reinhold/AVI, New York.
- Sun, J.-Y., J. Du, L.-C. Quian, M.-Y. Jing y X.-Y. Weng. 2007 Distribution and characteristics of endogenous digestive enzymes in the red-eared slider turtle, *Trachemys scripta elegans*. *Comp Bioch Physiol A: Mol Int Physiol* 147(4): 1125-1129.
- TCC (Turtle Conservation Coalition). 2011 [Rhodin, A.G.J., A.D. Walde, B.D. Horne, P.P. van Dijk, T. Blanck y R. Hudson (Eds.)]. *Turtles in Trouble: The World's 25+ Most Endangered Tortoises and Freshwater Turtles—2011*. Lunenburg, MA: IUCN/SSC

Tortoise and Freshwater Turtle Specialist Group, Turtle Conservation Fund, Turtle Survival Alliance, Turtle Conservancy, Chelonian Research Foundation, Conservation International, Wildlife Conservation Society, and San Diego Zoo Global, 54 pp.

Tengjaroenkul, B., B. J. Smith, and T. Caceci. S. A (2000) Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L., Aquaculture 182: 317-327.

Versaw, W., Cuppett, S.L., Winters, D.D., Williams, L.E., 1989. An improved colorimetric assay for bacterial lipase in non-fat dry milk. J Food Sci 54, 232-254.

Vogt, R.C., Polisar, J.R., Moll, D., and Gonzalez-Porter, G. 2011. *Dermatemys mawii* Gray 1847 – Central American River Turtle, Tortuga Blanca, Hickatee. In: Rhodin, A.G.J., Pritchard, P.C.H., van Dijk, P.P., Saumure, R.A., Buhlmann, K.A., Iverson, J.B., and Mittermeier, R.A. (Eds.). Conservation Biology of Freshwater Turtles and Tortoises: A Compilation Project of the IUCN/SSC Tortoise and Freshwater Turtle Specialist Group. Chelonian Res Monogr 5:058.1–058.12.

Walter, H.E. (1984) Proteinases: methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrate. In: Bergmeyer, HJ (ed). Methods of enzymatic analysis, vol V. Verlag Chemie, Weinham, Germany. pp 270-277.

Zenteno-Ruiz, C. E., E.Barba-Macías, J. Bello-Gutiérrez, y S. Ochoa-Gaona. 2010. Caracterización espacio-temporal del hábitat y presencia de *Dermatemys mawii* (Testudines: Dermatemydidae) en la cuenca del Grijalva-Usumacinta, Tabasco, México. Rev Biol Trop 58 (4): 1247-1260.

Zou, Y., Ai, Q., y Mai, K. 2011. Ontogenic development of digestive enzyme activities in juvenile soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*) under cultured conditions. *Front Agric China*, 5(4), 624-630.

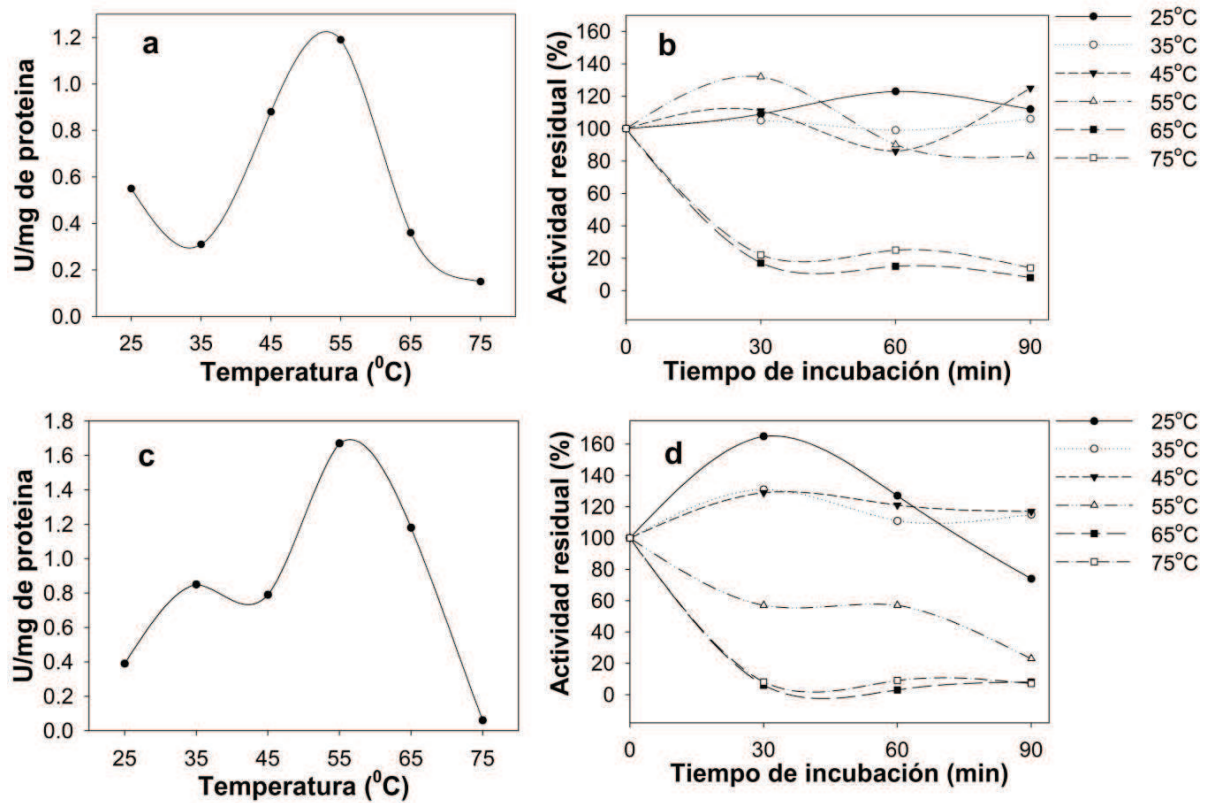


Figura 1. Efecto de la temperatura sobre la actividad y estabilidad de las proteasas digestivas de crías de tortuga blanca *Dermatemys mawii*: a) Temperatura óptima ácida, b) Termoestabilidad de la actividad de las proteasas ácidas, c) Temperatura óptima alcalina, d) Termoestabilidad de la actividad de las proteasas alcalinas.

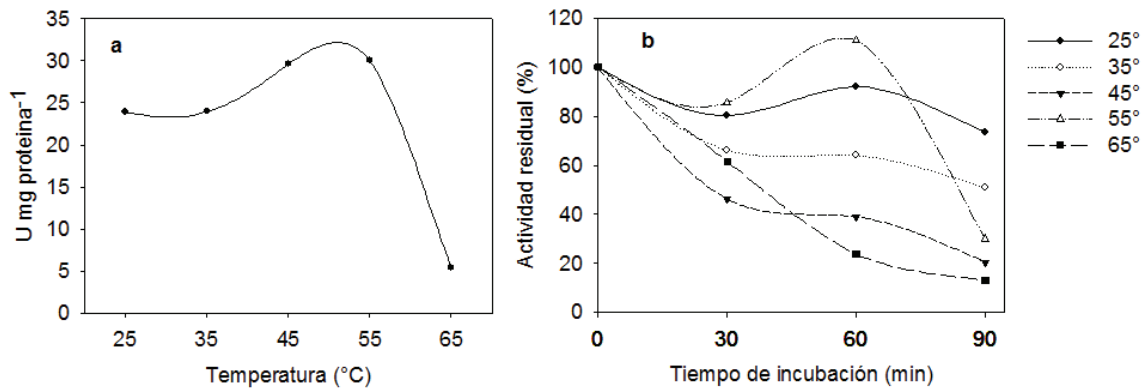


Figura 2. Efecto de la temperatura sobre la actividad y estabilidad de las lipasas alcalinas digestivas de crías de tortuga blanca *Dermatemys mawii*: a) Temperatura óptima, b) Termoestabilidad.

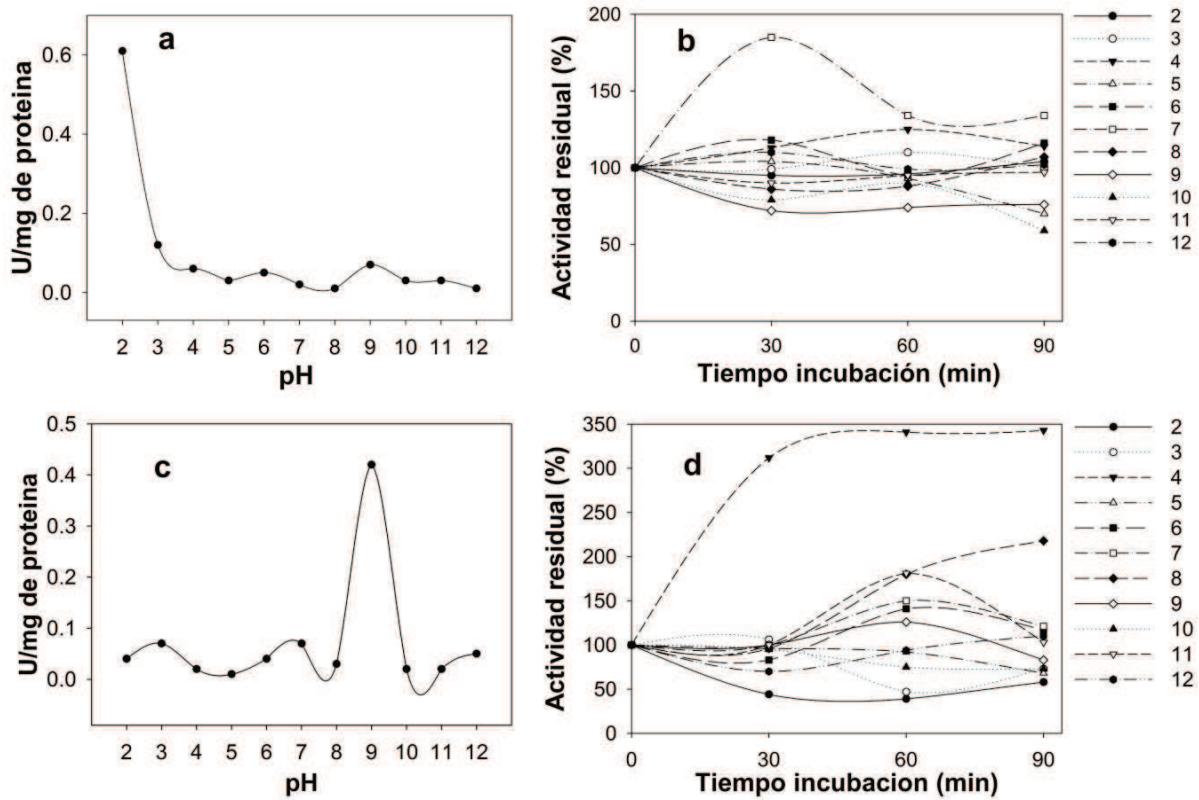


Figura 3. Efecto del pH sobre la actividad y estabilidad de las proteasas digestivas de crías de tortuga blanca *Dermatemys mawii*: **a)** pH óptimo ácido, **b)** Estabilidad de las proteasas ácidas, **c)** pH óptimo alcalino, **d)** Estabilidad de las proteasas alcalinas.

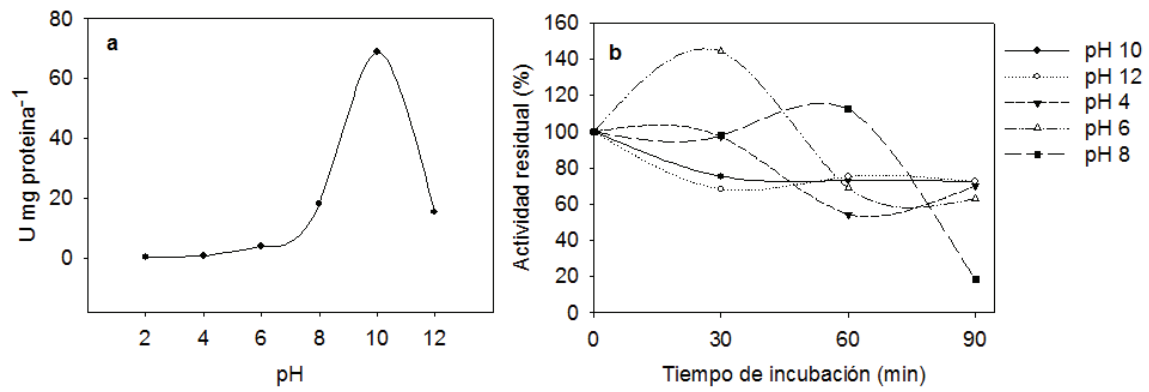


Figura 4. Efecto del pH sobre la actividad y estabilidad de las lipasas alcalinas digestivas de crías de tortuga blanca *Dermatemys mawii*: a) pH óptimo, b) Estabilidad a pH.

DISCUSIÓN GENERAL. MANEJO EN CAUTIVERIO DE LA TORTUGA BLANCA: ESTADO ACTUAL E IMPLICACIONES COMO HERRAMIENTA DE CONSERVACIÓN

La tortuga blanca, *Dermatemys mawii*, es una especie en grave peligro de extinción, que viene siendo manejada en cautiverio con propósitos de conservación y aprovechamiento sostenible. Este manejo se da formalmente en granjas o criaderos, donde la especie es reproducida y mantenida, para futuros planes de liberación y recuperación de poblaciones silvestres, así como para la producción de organismos que serán aprovechados comercialmente. Este capítulo abarca un análisis del contexto en el cual surge el manejo en cautiverio de la tortuga blanca en Tabasco, una síntesis de los métodos actuales de manejo, así como de las evidencias reunidas hasta el momento sobre la condición de las colonias cautivas y una discusión crítica en torno a las implicaciones del manejo actual para la conservación de esta especie.

Surgimiento de la crianza en cautiverio de tortugas como medida de conservación en Tabasco.

Las tortugas de agua dulce en Tabasco constituyen un grupo de organismos emblemáticos de la cultura gastronómica local, que incluye no solamente a la tortuga blanca, sino también a otras especies nativas como la hicotea (*Trachemys venusta*), guao o tres lomos (*Staurotypus triporcatus*), chiquiguo (*Chelydra rossignoni*), taimán (*Claudius angustatus*) y pochitoques (*Kinosternon leucostomum*, *K. scorpioides*, *K. acutum*) (Zenteno-Ruiz *et al.*, 2002). El consumo de tortugas forma parte de la tradición tabasqueña, y puede ser generalizado en ambientes rurales donde naturalmente se distribuyen estas especies, y mucho más esporádico en residentes de zonas urbanas. Históricamente, las tortugas consumidas se extraen del medio silvestre, lo cual convierte a su captura en un factor determinante de amenaza para la sobrevivencia de estas especies en su ambiente natural.

En respuesta a la demanda de tortugas para su uso y al interés por proteger a estas especies, surge la idea de su manejo en cautiverio. Actualmente, la figura legal para este manejo se da a través de las Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida

Silvestre (UMA), que consisten en predios o instalaciones dedicadas a la conservación y aprovechamiento sustentable de vida silvestre, registrados según normativas mexicanas (Ley General de Vida Silvestre, 2006). La crianza de tortugas en Tabasco en UMA se realiza bajo un esquema de manejo intensivo (en cautiverio) y mixto (tanto extractivo, a través de la comercialización, como no extractivo, a través de la exhibición y el ecoturismo).

De todas las especies de tortugas cultivadas, *D. mawii* recibe especial atención por parte de las autoridades gubernamentales, académicos y productores, ya que representa una especie demandada para su conservación, dado el reconocimiento internacional de su grave riesgo de extinción. Instituciones como la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), la Secretaría de Energía, Recursos Naturales y Protección Ambiental de Tabasco (SERNAPAM), entre otras, recientemente han organizado eventos relacionados con la especie y donde se formuló la estrategia nacional para la conservación y el manejo sostenible de la tortuga blanca en México (iniciando en 2006, CONABIO-DGVS-CONANP, 2009), y se realizaron talleres para la conservación, manejo y aprovechamiento sustentable de tortugas dulceacuícolas en México (en 2009, 2012 y 2013).

El interés por el conocimiento y conservación de *D. mawii* ha implicado la realización de investigaciones de diferentes magnitudes, la mayoría relacionadas con la formación de recursos humanos a nivel de pregrado (licenciatura) y posgrado (ver Introducción). La ejecución de dichos estudios probablemente supera en cantidad a los trabajos realizados en cualquier otra especie de tortuga continental de México. Sin embargo, la difusión y divulgación de esas investigaciones es significativamente menor a la cantidad de proyectos realizados, y su impacto para los planes de conservación de la tortuga blanca aún no es claro.

Los productores que cultivan tortuga blanca actualmente también manejan otras especies de quelonios, generalmente *T. venusta* (de fácil manejo y resultados más rápidos [respecto a las tasas de crecimiento] y cuantiosos [en cuanto a la obtención de

crías]) y *S. triporcatus*. Son estas dos especies de tortugas las que más frecuentemente se comercializan, mientras *D. mawii* usualmente se mantiene con fines de exhibición y raramente son vendidas. Actualmente, en Tabasco existen 21 UMA que crían tortugas dulceacuícolas nativas, de las cuales 11 incluyen a la tortuga blanca (Sánchez-Méndez, 2013, com. pers.). Entidades públicas, organizaciones privadas o comunidades rurales pueden operar este tipo de granjas, cuyos fondos económicos pueden provenir de apoyos gubernamentales (subsidios) y capital particular.

Técnicas de manejo en cautiverio de tortuga blanca: una síntesis.

A partir de las observaciones realizadas en el presente estudio es posible mostrar un panorama general sobre las técnicas actuales para la crianza de tortuga blanca. Las instalaciones de crianza abarcan espacios interiores y exteriores de áreas rurales. La infraestructura exterior incluye principalmente estanques rústicos de amplias dimensiones, excavados en el suelo, que resguardan organismos juveniles y adultos (mayores de 2 años de edad). Por otro lado, las instalaciones interiores, cubiertas bajo techo, pueden incluir piletas de concreto o contenedores plásticos, para el manejo de neonatos y crías (menores de 2 años de edad).

El agua que se suministra a los confinamientos puede provenir del subsuelo (manto freático y/o pozos profundos), precipitaciones pluviales, cuerpos de agua superficiales, e incluso del suministro público para uso humano. Sin embargo, el nivel de agua en los estanques rústicos es variable a lo largo del año, ya que influye marcadamente la estación climática, lo cual conduce a niveles muy bajos o incluso la desecación de los estanques en la temporada de secas, y al desbordamiento en la temporada de lluvias. El agua de los estanques no se filtra, recambia, o recircula, lo cual repercute en un agua de calidad muy pobre, caracterizada principalmente por acumulación extrema de materia orgánica, amplia variación en el pH, escasa oxigenación y altas densidades de coliformes totales (ver Capítulo II. Salud).

La alimentación de los organismos se basa en el suministro de alimento balanceado formulado para peces omnívoros o carnívoros (25-32% de proteína), que puede ser complementado por vegetación silvestre y/o frutas y verduras. La frecuencia de

alimentación es variable, siendo más frecuente cada 48-72 h, pero pueden existir periodos más prolongados sin alimentación en razón a la falta de recursos económicos para adquirir el alimento. Una vez o dos veces por año, se puede incluir el uso de suplementos vitamínicos (Vitafort A®, PARFARM) mezclados con la dieta habitual o inyectados vía intramuscular (Calciprotein vitaminado®, PANAVET).

Las rutinas sanitarias son mínimas, haciendo limpieza y recambios totales de agua sólo en las piletas de cemento. En las granjas se carece de supervisión veterinaria y las afecciones de los organismos se atienden intuitivamente. No se cuenta con datos verificados sobre mortalidad, morbilidad, y las causas de enfermedad y muerte de los organismos no son establecidas mediante técnicas clínicas válidas.

La reproducción de los organismos, desde su inicio, sucede de forma natural, sólo hay intervención en la incubación de los huevos. Este último proceso consiste en la introducción de los huevos de un mismo nido en bolsas de plástico con arena previamente humedecida, donde son mantenidos hasta su eclosión en un recipiente de poliestireno expandido (unicel), verificando frecuentemente su apariencia externa y agregando ocasionalmente agua mediante aspersion al interior de las bolsas. En GOB, se registró una reducción en la cantidad de nidos puestos, pasando de 23 en 1999 a sólo dos en 2008, con una máxima de 34 en 2004 (Sánchez-Méndez, 2009), aunque la cantidad de organismos en edad reproductiva se incrementó año tras año. Las causas de este aparente descenso en la ovoposición no se han determinado. No existe ningún control de la reproducción (apareamientos) entre organismos de *D. mawii* en ninguna granja. Conforme los organismos ingresan a cada granja (como depositaria de decomisos por autoridades o mediante nacimientos), todos se confinan en el mismo estanque a partir del segundo año de vida.

La técnica adecuada para el manejo de *D. mawii* en cautiverio, que asegure resultados prometedores en cuanto al bienestar de las tortugas y de los mismos manejadores, aún no se ha consolidado. Las técnicas actualmente empleadas para el manejo de *D. mawii* provienen principalmente de la actividad de productores, sustentada en el conocimiento tradicional y de su propia experiencia. Adicionalmente, algunos investigadores han

participado en la obtención de conocimientos para la crianza, aunque de manera intermitente y no precisamente a través de programas de investigación. Las experiencias en el manejo en cautiverio de tortuga blanca, cuyo inicio en GOB se da hacia 1999, podrían ser analizadas con métodos retrospectivos para obtener aprendizajes a partir de los resultados obtenidos (positivos o negativos) a lo largo de casi 15 años de trabajo.

En las colonias cautivas de tortuga blanca se han realizado estudios genéticos (Zapata-Hernández, 2012; González-Porter *et al.*, 2013), hematológicos (Rangel-Mendoza *et al.*, 2009), y acerca del manejo, salud y nutrición, motivo de la presente tesis doctoral. La condición genética de la tortuga blanca en cuatro UMA diferentes de Tabasco fue valorada recientemente mediante una caracterización molecular, donde se hallaron evidencias de pérdida de diversidad genética que podría afectar la viabilidad de las colonias cautivas de la especie (Zapata-Hernández, 2012). Las colonias mantenidas en cautiverio mostraron baja variabilidad genética entre granjas (26%), altos índices de endogamia y frecuencia alélica, así como niveles elevados de homogeneidad genética al interior de determinadas colonias (Zapata-Hernández, 2012).

A partir de la presente investigación sobre el manejo, salud y nutrición de *D. mawii* bajo condiciones de cautiverio, existen evidencias del efecto de las actuales técnicas de cuidado sobre los organismos en el lapso de un año (2011) de trabajo. Este estudio demostró que las tortugas blancas en cautiverio presentan problemas de salud relacionados con deficiencias en los métodos de manejo, que se asocian a densidades excesivas de organismos, el tratamiento inadecuado del agua (o la carencia absoluta de este recurso) en los estanques y posibles problemas con su alimentación y nutrición. Estos factores han sido atendidos en el cultivo de otros organismos acuáticos, como peces e invertebrados, con una orientación de acuicultura, y que en algunos casos, ha significado la recuperación de otras especies acuáticas gravemente amenazadas, a tal grado que en algunos casos se encuentran completamente aseguradas en su medio natural. Este éxito se ha documentado en peces *Cyprinodon elegans* (Cyprinodontidae) y *Gambusia nobilis* (Poeciliidae) (Philippart, 1995) y el esturión blanco *Acipenser transmontanus* (Ireland, Anders y Siple, 2002).

Los estudios generados sobre el manejo de *D. mawii* en cautiverio muestran evidencias de fallas en los protocolos de manejo que afectan negativamente la condición de los organismos. Sin embargo, estas problemáticas no ensombrecen completamente el panorama, sino que exponen la necesidad de complementar la dinámica actual de aprendizaje. Se requiere obtener información fidedigna, verificable, que combine el manejo productivo con el enfoque científico. Es aquí donde entra la aproximación del “manejo adaptativo”, como una herramienta que permite generar conocimiento científico a partir de la experiencia del trabajo (Enck *et al.*, 2006; Reeve-Morghen, Sheley, y Svejcar, 2006).

La aplicación del manejo adaptativo aplicado a la crianza de tortuga blanca en Tabasco, requiere el diseño y ejecución de un programa de investigación en la especie, en por lo menos una UMA. Dicho programa deberá abordar las problemáticas sobre la crianza desde una perspectiva funcional y aplicada, de los diversos componentes claves en la producción animal: cuidado, control genético, sanidad, nutrición, reproducción, e incluso aspectos administrativos que determinan el éxito de esta práctica. A través de esta estrategia será posible validar ajustes a las técnicas actuales, probar nuevas alternativas y generar incluso novedades tecnológicas que favorecerán las actividades de los criadores de esta especie.

Implicaciones del manejo en cautiverio de la tortuga blanca para su conservación.

La crianza en cautiverio puede ser considerada como una herramienta de conservación de especies, subespecies, o poblaciones gravemente amenazadas, cuando incluye un plan de reintroducción de organismos al medio silvestre (Philippart, 1995). Sin embargo, hasta el momento no han ocurrido eventos de liberación de tortugas blancas nacidas en cautiverio, o planes próximos para que esto suceda. De un modo objetivo, el manejo en cautiverio utilizado hasta el momento con *D. mawii* no ha resultado ser positivo para la recuperación de sus poblaciones silvestres.

El propósito de la crianza en cautiverio, como medio de conservación, es lograr el establecimiento de poblaciones silvestres en su medio natural, y que éstas se mantengan a través del tiempo de forma autónoma (Ebenhard, 1995; Phillipart, 1995).

La mayoría de programas de conservación a través de la crianza en cautiverio implementan manejos genéticos y demográficos que prevengan al máximo la endogamia (cruce entre organismos emparentados) y la deriva genética (cambio de la frecuencia de alelos de una generación a otra) (Ebenhard, 1995). Estos dos aspectos fundamentales no se han considerado en los sitios donde se maneja en cautiverio a la tortuga blanca, lo que implica una limitación para considerar la liberación de organismos nacidos en las granjas hacia el medio silvestre.

Syed *et al.* (2007) sugirieron ocho medidas consecutivas para el manejo *ex situ* de poblaciones con fines de reintroducción. La primera consiste en la realización de estudios sobre la variación morfológica y genética, lo cual, para el caso de la tortuga blanca han sido abordados inicialmente por Zapata-Hernández (2012) y González-Porter *et al.* (2013), pero el impacto de estos estudios sobre las medidas de manejo en cautiverio aún se desconoce. En segunda instancia, para la reintroducción de una especie se sugiere el establecimiento de una población cautiva con un stock genético apropiado; este aspecto aún no se ha incluido dentro de las técnicas de manejo en cautiverio de *D. mawii* y es urgente su atención. Las otras seis medidas sugeridas por Seyd *et al.* (2007) sugieren metas que sólo se alcanzan cumpliendo las medidas precedentes, que van desde el crecimiento de la colonia a una talla segura hasta definir los indicadores de éxito en la reintroducción.

Adicionalmente, el perfeccionamiento de las técnicas de cuidado en cautiverio es primordial para asegurar organismos saludables. Gracias al progreso de las técnicas de manejo, muchas especies que en algún momento fueron difíciles de mantener en zoológicos, actualmente se logra sin mayores inconvenientes (Mallinson, 1995). Al respecto, la crianza de la tortuga blanca permite tener un escenario de manejo que se puede aprovechar para obtener nuevos conocimientos sobre las técnicas de manejo adecuado para la especie, cuando se ejerce una planeación y una conducción metódica de las experiencias.

La nutrición de la tortuga blanca fue uno de los aspectos considerados en la presente investigación, a través de un estudio de caracterización de la actividad digestiva de la

especie, con miras a diseñar una dieta artificial adecuada para su manejo en cautiverio. Esta aproximación es un ejemplo de la información que puede ser abordada en el escenario de la crianza de la tortuga blanca, y que es fundamental para comprender aspectos básicos de la biología de este animal, así como para resolver necesidades de información para el adecuado manejo de la especie.

Finalmente, una reflexión crucial que deriva del análisis del estado actual del manejo en cautiverio de *D. mawii* es si esta herramienta (el manejo en cautiverio) ha sido exitosa en la conservación de la especie. La condición de salud desfavorable de los organismos cautivos, la aparente falta de medidas para la recuperación de los ambientes silvestres, la ausencia de planes serios de liberación y reintroducción a la vida libre, el descuido en el cuidado genético de las colonias cautivas y la falta de programas formales de investigación de esta especie parecen ser suficiente evidencia para hacer un alto en el camino y reevaluar este instrumento de conservación, proponer ajustes urgentes al mismo e iniciar con una nueva orientación y enfoque.

CONCLUSIONES

1. La condición de salud de la tortuga blanca manejada en cautiverio en dos granjas del estado de Tabasco, fue evaluada durante tres ocasiones (febrero, mayo y agosto de 2011) y mostró no ser buena en ninguno de los dos sitios de estudio. A partir de los resultados conjuntos del examen físico y los análisis de bioquímica en suero, se detectaron alteraciones en los valores de referencia para la especie, que son indicativas de condiciones que afectan negativamente la salud de los animales.
2. La condición corporal de las tortugas blancas fue diferente entre granjas en las evaluaciones de mayo y agosto, y en el caso de la Granja de tortugas del Estado de Tabasco (GOB), la condición corporal fue diferente entre evaluaciones, hallándose en febrero valoraciones más altas (mejor condición).
3. Las lesiones en el caparazón y el plastrón de las tortugas blancas fueron los hallazgos físicos más frecuentes en ambos sitios de estudio. Sin embargo, su prevalencia varió entre muestreos, siendo mayor en febrero y menor en agosto. En este estudio, los factores que probablemente definen esta condición son la baja calidad del agua y la sobrepoblación en los estanques donde se mantienen las tortugas. Otros signos físicos frecuentemente hallados en los organismos, como fueron la reducción en la elasticidad de la piel y ojos hundidos (condiciones altamente prevalentes en ambos sitios de estudio), estuvieron asociados a deshidratación.
4. Los niveles de urea detectados en suero de las tortugas blancas excedieron los valores normales para la especie en ambos sitios de estudio; sin embargo, la magnitud y frecuencia de esta alteración fue mayor en la Granja de tortugas Arroyo Tabasquillo (TAB), en la que se detectó esta alteración en los tres periodos de evaluación, mientras que en la Granja de tortugas del Gobierno del Estado de Tabasco (GOB) esta condición se observó sólo en febrero. Estos resultados son evidencias de problemas en la salud, que pueden estar relacionados con el funcionamiento del riñón así como la cantidad y/o calidad de proteína en la dieta.

5. Las determinaciones de ácido úrico excedieron los niveles de referencia para la especie en TAB durante la evaluación de agosto, condición que sugiere un compromiso temporal de los riñones de los organismos evaluados.
6. Los valores de proteínas totales en sangre de las tortugas blancas superaron los rangos de normalidad durante los tres muestreos en TAB, pero en ninguna ocasión en GOB. Este resultado es indicador de deshidratación en los animales mantenidos en TAB, lo cual puede estar relacionado con condiciones inadecuadas de su ambiente de manejo y la dieta suministrada.
7. El nivel sanguíneo de colesterol en la colonia de tortugas blancas de GOB en febrero fue inferior al valor de referencia para la especie, resultado que sugiere una insuficiente ingesta calórica en ese periodo. Esta situación no se replicó en TAB, ni en las demás evaluaciones realizadas en GOB.
8. Un estudio preliminar sobre la presencia de microorganismos en las mucosas de ojos, cavidad oral, cloaca y lesiones superficiales se realizó en las colonias de tortugas blancas de GOB y TAB, del cual se reporta por primera vez para este quelonio la presencia de las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Serratia* spp., *Klebsiella* spp. y *Candida* spp. La mayor diversidad de microorganismos fue encontrada en la cloaca, y sólo en las lesiones de caparazón de las tortugas de TAB fue hallada *Klebsiella* spp. La presencia de estas bacterias no se interpretó como patogénica. Estos resultados constituyen el primer referente sobre las especies de microorganismos presentes en *D. mawii*.
9. La calidad de agua de los estanques donde se mantienen las tortugas blancas en GOB y TAB fue mala, y se caracterizó en ambos casos por niveles de pH, oxígeno disuelto, nitrógeno amoniacal total y coliformes fecales que están por fuera de los valores de referencia para la protección de organismos de agua dulce en México. Adicionalmente, se encontraron diferencias en algunos parámetros de la calidad del agua entre sitios de estudio: TAB presentó valores menores de transparencia en el agua y oxígeno disuelto, así como valores más altos de nitrógeno amoniacal total, nitratos y coliformes fecales respecto a las condiciones en GOB. La mala calidad del agua en estos ambientes está

asociada a la acumulación de materia orgánica en los estanques, que resulta principalmente de la acumulación de material fecal y excedentes de alimento, como efecto de un tratamiento inadecuado del agua en cada recinto.

10. A partir de las evidencias reunidas sobre el estado de salud de las tortugas blancas mantenidas en cautiverio se infieren tres factores principales que determinan su estado fisiológico: la calidad del agua, la densidad de organismos, y la dieta suministrada. Es fundamental y urgente realizar ajustes en estos aspectos y evaluar el efecto de estos ajustes sobre la condición de los animales, para así establecer las condiciones adecuadas para su adecuado mantenimiento en cautiverio.
11. Respecto a la nutrición de las tortugas blancas, se realizó el primer estudio de caracterización de las enzimas digestivas proteasas y lipasas de la especie, información que brinda las bases operacionales de la digestión en este organismo y que se constituye como el primer paso en la construcción de una línea de trabajo, tendiente a diseñar dietas artificiales adecuadas para la especie.
12. Los avances en la recuperación y conservación de la tortuga blanca deben ser revisados con urgencia. Los resultados obtenidos a partir de este estudio son evidencia de algunas de las deficiencias en torno a los fundamentos que guían las acciones del manejo en cautiverio como herramienta para atender la crítica amenaza de extinción de la especie. Es necesario orientar el trabajo de conservación para la especie, tanto en cautiverio, en vida libre y en la sociedad, hacia la meta fundamental de recuperar sus poblaciones silvestres en su medio natural.

Villahermosa, Tabasco, 02 de junio de 2014

Comité de Ética en Investigación
PRESENTE

En mi calidad de tutor de la estudiante Judith Andrea Rangel Mendoza, que presenta el documento de tesis "Manejo, salud y dieta en tortuga blanca, *Dermatemys mawii*, bajo condiciones de cautiverio" hago constar que se ha leído la "Guía para la incorporación de aspectos éticos en los protocolos de investigación" que se comprenden todos sus términos, y (seleccionar uno de los siguientes dos enunciados)

a) no se identifican consideraciones éticas que requieran revisión por parte del Comité de Ética en la investigación.

b) se identifican aspectos de investigación que requieren ser revisados por el Comité de Ética en la Investigación (señale cuál [es])

Permisos ()

Consentimiento informado ()

Protección de las personas ()

Manejo de animales de laboratorio ()

Me comprometo a que la investigación sea realizada dando cumplimiento a las normas institucionales y leyes vigentes. Así como a informar oportunamente al Comité de Ética, cualquier problema no previsto o de la ocurrencia de eventos adversos serios que impliquen cualquier principio ético, señalado en la guía.



JUAN MANUEL WEBER RODRÍGUEZ

Nombre y Firma del Tutor



JUDITH ANDREA RANGEL MENDOZA

Nombre y Firma de la estudiante

LITERATURA CITADA (INTRODUCCIÓN Y DISCUSIÓN GENERAL)

- Aguirre-León, G., Sánchez B., López-Luna, M. A. y Cázares-Hernández, E., 2002. *Conservación y aprovechamiento del chopontil: Claudius angustatus*. Xalapa: Instituto de Ecología A.C.
- Álvarez del Toro, M., 1982. *Los reptiles de Chiapas*. 3ª Ed. Tuxtla Gutiérrez: Gobierno del Estado de Chiapas.
- Álvarez-González, C.A., 2003. *Actividad enzimática digestiva y evaluación de dietas para el destete de larvas de la cabrilla arenera Paralabrax maculatofasciatus (Percoidei: Serranidae)*. Tesis doctoral. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas.
- Barrows, M., McArthur, S. and Wilkinson R. 2004. Diagnosis. In: S. McArthur, R. Wilkinson, J. Meyer, eds. 2004. *Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles*. Oxford: Blackwell Publishing, Ltd. pp. 109-140.
- Berry K. H. and Christopher, M. M., 2001. Guidelines for the field evaluation of desert tortoise health and disease. *Journal of Wildlife Diseases*, 37(3), pp.427–450.
- Blakey, C. S. G. and Kirkwood, J. K., 1995. Body mass to length relationships in chelonians. *Veterinary Record*, 136, pp. 566–568.
- Boyer, T. H. and Boyer, D. M., 2006. Turtles, tortoises y terrapins. In: D.R. Mader, ed. 2006. *Reptile Medicine and Surgery*. 2nd ed. Saint Louis: Saunders Elsevier. p. 78-99.
- Brenner D., Lewbart, G., Stebbins, M. and Herman. D.W., 2002. Health survey of wild and captive bog turtles (*Clemmys muhlenbergii*) in North Carolina and Virginia. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 33(4), pp. 311-316.
- Calderón-Mandujano, R., 2008. Conocimiento y uso de la tortuga blanca (*Dermatemys mawii* Gray, 1847) en diez ejidos en el sur de Quintana Roo, México. *Etnobiología*, 6, pp. 42-55.
- Campbell, T. W., 2006. Clinical pathology of reptiles. In: D.R. Mader, ed. 2006. *Reptile Medicine and Surgery*. 2nd ed. Saint Louis: Saunders Elsevier. pp. 453–470.

- Carr, J. L., Bickham, J. W. and Dean, R. H., 1981. The karyotype and chromosomal banding patterns of the Central American River Turtle (*Dermatemys mawii*). *Herpetologica*, 37. pp. 92-95.
- Chaffin, K., Norton, T. M., Gilardi, K., Poppenga, R., Jensen, J.B., Moler, P., Cray, C., Dierenfeld, E.S., Chen, T., Oliva, M., Origgi, F.C., Gibbs, S., Mazzaro, L. and Mazet, J., 2008. Health assessment of free-ranging alligator snapping turtles (*Macrochelys temminckii*) in Georgia and Florida. *Journal of Wildlife Diseases*, 44, pp. 670–686.
- Christopher, M. M., Berry, K. H., Henen, B. T. and Nagy, K. A., 2003. Clinical disease and laboratory abnormalities in free-ranging desert tortoises in California (1990-1995). *Journal of Wildlife Diseases*, 39(1), pp. 35-56.
- CITES (Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres). 2005. *Informe Resumido. Vigésima primera Reunión del Comité de Fauna*. [pdf]. CITES. Disponible en: <<http://www.cites.org/esp/com/ac/21/S-AC21-SummaryRecord.pdf>> [Visitado 15 de noviembre de 2013].
- CONABIO-DGVS-CONANP (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad-Dirección General de Vida Silvestre-Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas). 2009. *Estrategia Nacional para la Conservación y el Manejo Sustentable de la Tortuga Blanca (Dermatemys mawii) en México*. CONABIO-DGVS-CONANP.
- De la Ossa-Velázquez., J. L. y Riaño-Silva, R. R., 1999. *Guía para el manejo, cría y conservación de la Hicotea o Jicotea: Trachemys scripta callirostris*. Bogotá: Convenio Andrés Bello.
- De Silva, S. S., and Anderson, T. A. 1995. *Fish nutrition in aquaculture (Vol. 1)*. [e-book] London: Chapman y Hall. Disponible en: Google Books <<http://booksgoogle.com>> [Visitado el 14 de noviembre de 2013].
- Díaz-Figueroa O. 2005. *Characterizing the health status of the Louisiana gopher tortoise (Gopherus polyphemus)*. Maestría en Ciencias. Universidad Estatal de Louisiana. Disponible en: < <http://etd.lsu.edu/docs/available/etd-04132005-181229/>> [Visitado 15 de noviembre de 2013]

- Donoghue, S., 2006. Nutrition. In: D.R. Mader, ed. 2006. *Reptile Medicine and Surgery*. 2nd ed. Saint Louis: Saunders Elsevier. pp. 251-298.
- Dryden, G. McL. 2008. *Animal Nutrition Science*. Cambridge: CAB International. Disponible en: Google Books <<http://booksgoogle.com>> [Visitado el 14 de noviembre de 2013].
- Ebenhard, T., 1995. Conservation breeding as a tool for saving animal species from extinction. *Trends in Ecology & Evolution*, 10(11), pp. 438-443.
- Enck, J. W., Decker, D. J., Riley, D. J., Organ, J. F., Carpenter, L. H. y Siemer, W. F., 2006. Integrating ecological and human dimensions in adaptive management of wildlife-related impacts. *Wildlife Society Bulletin* 34:698-705.
- Ernst, C. H., Altenburg, R. G. M. and Barbour, R.W.,. 1997. *Turtles of the world*. [en línea] ETI's World Biodiversity Database. Disponible en: <<http://nlbif.eti.uva.nl/bis/turtles.php>> [Visitado el 11 de Junio de 2013]
- Flint, M., Patterson-Kane, J. C., Limpus, C. J., Work, T.M. Blair, D. and Mills, P.C., 2009. Postmortem diagnostic investigation of disease in free-ranging marine turtle populations: a review of common pathologic findings and protocols. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 21, pp. 733-759.
- Flint, M., Patterson-Kane, J. C., Limpus, C. J. and Mills, P. C., 2010a. Health surveillance of stranded green turtles in southern Queensland, Australia (2006–2009): an epidemiological analysis of causes of disease and mortality. *Ecohealth*, 7(1), pp 135-145.
- Flint, M., Morton, J. M., Limpus, C. J., Patterson-Kane, J. C., Murray, P. J., and Mills, P. C., 2010b. Development and application of biochemical and haematological reference intervals to identify unhealthy green sea turtles (*Chelonia mydas*). *The Veterinary Journal*, 185(3), pp. 299-304.
- Flint, M., Limpus, D. J., Limpus, C. J., Patterson-Kane, J. C., Eales, J. A., and Mills, P. C., 2011. Biochemical and hematological reference intervals for Krefft's turtles *Emydura macquarii krefftii* from the Burnett River Catchment, Australia. *Diseases of aquatic organisms*, 95(1), pp 43-48.
- Fuller, M. F., 2004. *The Encyclopedia of Farm Animal Nutrition*. UK: CABI Publishing.

- Gil-Alarcón, G., 2008. *Hábitos alimentarios de Dermatemys mawii (Gray, 1847) (Testudines: Dermatemidae) en la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla, Tabasco México*. Licenciatura en Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Autónoma de México.
- González-Porter, G. P., Maldonado, J. E., Flores-Villela, O., Vogt, R. C., Janke, A., Fleischer, R. C., and Hailer, F., 2013. Cryptic population structuring and the role of the isthmus of Tehuantepec as a gene flow barrier in the critically endangered Central American River Turtle. *PloS one*, 8(9), e71668. [en línea] Disponible en <<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0071668>> [Visitado el 14 de noviembre de 2013]
- Hamann, M., Schäuble, C. S., Simon, T. and Evans, S., 2006. Demographic and health parameters of green sea turtles *Chelonia mydas* foraging in the Gulf of Carpentaria, Australia. *Endangered Species Research*, 2, pp. 81–88.
- He, B., Liu, Y. X., Shi, H. T., Zhang, J., Hu, M. G., Ma, Y. G., Fu, L., Hong, M., Wang, J. Fong J- J. and Parham, F. J., 2010. Captive breeding of the Four-eyed Turtle (*Sacalia quadriocellata*). *Asian Herpetological Research*, 1(2), pp.111-117.
- Hernandez-Divers, S.J. 2006. Diagnostic techniques. In: D.R. Mader, ed. 2006. *Reptile Medicine and Surgery*. 2nd ed. Saint Louis: Saunders Elsevier. pp. 490–532.
- Hernández-Tario, E. 2013. *Seroprevalencia de Leptospira interrogans en Dermatemys mawii y su estacionalidad en tres Centros para la Conservación e Investigación de la Vida Silvestre (UMA) en el estado de Tabasco*. Maestría en Ciencias. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
- Hernández-Velázquez, J.A., 2014. *Uso del hábitat en poblaciones de Dermatemys mawii (Gray, 1847) en dos sistemas lénticos del municipio de Jonuta, Tabasco, México*. Maestría en Ciencias. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
- Higgins, B. M. 2003. Sea turtle husbandry. [en línea] In: P. L. Lutz, J. A. Musick y J. Wyneken, eds. *The biology of sea turtles, Vol 2*. Boca Ratón: CRC Marine Biology Series, 4, pp. 411-440. Disponible en: <http://www.sefsc.noaa.gov/turtles/PR_Higgins_2003_BSTVol2.pdf> [Visitado el 14 de noviembre de 2013].

- Huntley, R. and Langton, R., 1994. Captive breeding guidelines. [en línea] Canada: Aquatic conservation Network. Disponible en <http://www.nanfa.org/captivecare/captive_breeding_guidelines.pdf> [Visitado el 14 de noviembre de 2013].
- Ireland, S. C., Anders, P. J. and Siple, J. T., 2002. Conservation aquaculture: an adaptive approach to prevent extinction of an endangered white sturgeon population. *Fisheries Society Symposium*, 28, pp. 211-222.
- IUCN. 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.1. [En línea]. Disponible en <www.iucnredlist.org>. [Visitado el 18 de octubre de 2013].
- Jiménez-Salvador, Y. 2007. *Diagnóstico de los aspectos sanitarios de las tortugas dulceacuícolas (Dermatemys mawii y Staurotypus triporcatus) en condiciones de cautiverio en la Granja de Tortugas Nacajuca, Tabasco, México*. Licenciatura en Biología. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
- Kuchling, G. and DeJose, J. P., 1989. A captive breeding operation to rescue the critical endangered Western swamp turtle *Pseudemys umbrina* from extinction. *International Zoo Yearbook*, 28, pp.103-109
- Kurtovic, I., Marshall, S. N., Zao, X., and Simpson, B. K., 2009. Lipases from mammals and fishes. *Reviews in Fisheries Science*, 17(1), pp.18-40.
- Ley General de Vida Silvestre. 2006. México: Diario Oficial de la Federación. http://www.semarnat.gob.mx/temas/gestionambiental/vidasilvestre/Documents/NAWCA/Ley_GVS.pdf. (Consulta: julio 2013).
- Lowe, H. 2013. Headstarted turtles released in India [en línea] (21 de junio de 2013). Disponible en: < <http://www.turtlesurvival.org/blog/1-blog/225-headstarted-turtles-released-in-india#.UorfnXD55No>> [Visitado en 14 de noviembre de 2013].
- McKeown, S., 1996. General husbandry and management. In: D.R. Mader, ed. 1996. *Reptile Medicine and Surgery*. Filadelfia: Elsevier Saunders. pp. 9-19.
- Mallinson, J.J.C., 1995. Conservation breeding programmes: an important ingredient for species survival. *Biodiversity and Conservation* 4, pp.617-635.
- Moll, D., 1986. The distribution status and level of exploitation of the freshwater turtle *Dermatemys mawii* in Belize, Central America. *Biological Conservation*, 35, pp. 87-9

- Moll, D., 1989. Food and feeding behavior of the turtle, *Dermatemys mawii*, in Belize. *Journal of Herpetology*, 23, 445-447.
- Moyano López, F. J., 2006. Bioquímica digestiva de especies acuacultivadas: Aplicaciones en nutrición. [en línea] In: L. E., Cruz Suárez, D., Ricque Marie, M. G., Nieto López, M., Tapia Salazar, D., Villarreal Cavazos, A. C., Puello Cruz, y A. García Ortega, eds. *Avances en nutrición acuícola VIII. Memorias del Octavo Simposio Internacional de Nutrición Acuícola*. Monterrey, Nuevo León, México, 15 – 17 de noviembre de 2006. Monterrey, Universidad Autónoma de Nuevo León. Disponible en <http://www.uanl.mx/utilerias/nutricion_acuicola/VIII/archivos/24Moyano.pdf> [Visitado el 14 de noviembre de 2013]
- Oftedal, O. T. y Allen, M. E., 1996. Nutrition as major facet of reptile conservation. *Zoo Biology*, 15, pp. 491-497.
- Paré, J. A., Sigler, L., Rosenthal, K. L. y Mader, D. R., 2006. Microbiology: fungal and bacterial diseases of reptiles. In: D.R. Mader, ed. 2006. *Reptile Medicine and Surgery*. 2nd ed. Saint Louis: Saunders Elsevier. pp. 217–238.
- Philippart, J. C., 1995. Is captive breeding an effective solution for the preservation of endemic species?. *Biological Conservation*, 72, 281-295.
- Polisar, J. and Horwich, R. H., 1994. Conservation of the large, economically important River Turtle *Dermatemys mawii* in Belize. *Conservation Biology*, 8(2), pp. 338-340.
- Randall, D., Burggren, W. and French, K., 1998. *Eckert Fisiología animal: Mecanismos y adaptaciones*. 4^a edición. Madrid: McGraw-Hill Interamericana.
- Rangel-Mendoza, J. 2007. *Estudio hematológico en poblaciones silvestres y cautivas de tortuga blanca Dermatemys mawii*. Maestría en Ciencias. El Colegio de la Frontera Sur.
- Rangel-Mendoza, J., Weber, M., Zenteno-Ruiz, C.E., López-Luna, M.A. and Barba-Macías, E., 2009. Hematology and serum biochemistry comparison in wild and captive Central American river turtles (*Dermatemys mawii*) in Tabasco, Mexico. *Research in Veterinary Science*, 87, pp. 313–318.

- Reever-Morghan, K. J., Sheley, R. L. y Svejcar, T. J., 2006. Successful adaptive management—the integration of research and management. *Rangeland Ecology & Management* 59:216-219.
- Sánchez-Mendez, C.A. 2009. Unidad de manejo Granja de tortugas. *In: Memorias del Taller de capacitación para la conservación y aprovechamiento sustentable de tortugas dulceacuícolas del Sur-Sureste de México.* 25-27 marzo 2009. Catemaco, Veracruz. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- Schulte-Hostedde, A.I., Zinner, B., Millar J. S. and Hickling, G. J., 2005. Restitution of mass-size residual: validating body condition indices. *Ecology*, 86(1), pp.155-163.
- SEMARNAT (Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales), 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección Ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. México: Diario Oficial de la Federación, Publicada el 30 de diciembre de 2010.
- Shi H., Parham, J. F., Lau, M. and Tien-Hsi, C., 2007. Farming endangered turtles to extinction in China. *Conservation Biology*, 21(1), p. 5.
- Shi H., Parham, J. F., Fan, Z., Hong, M. and Yin, F., 2008. Evidence for the massive scale of turtle farming in China. *Oryx*, 42(1), pp. 147-150.
- St. Aubin, D. J., DeGuise, S., Richard, P., Smith, T. G. and Geraci, J. R., 2001. Hematology and plasma chemistry as indicators of health and ecological status in beluga whales, *Delphinapterus leucas*. *Arctic*, 54(3), pp. 317–331.
- Sun, J.-Y., Du, J., Quian, L.-C., Jing, M.-Y. and Weng, X.-Y., 2007. Distribution and characteristics of endogenous digestive enzymes in the red-eared slider turtle, *Trachemys scripta elegans*. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 147(4), pp. 1125-1129.
- Sutherland, W. J., 2000. The Conservation Handbook [en línea]. Great Britain: Blackwell Publishing. Disponible en: Google Books <<http://booksgoogle.com>> [Visitado el 14 de noviembre de 2013].

- Syed, G. P., Ota, H., Buhlmann, K. A. and Forstner, M. R. J., 2007. Genetic considerations for captive breeding and translocation of freshwater turtles and tortoises for conservation. *Chelonian Research Monographs*, 4, pp. 157-167.
- TSA [Turtle Survival Alliance]. 2013. About us [en línea]. Disponible en <www.turtlesurvival.org> [Visitado el 14 de Noviembre de 2013].
- Ureña-Aranda, C. A. 2007. *Evaluación del hábitat de la tortuga blanca (Dermatemys mawii, Gray 1847) en humedales de la cuenca baja del Río Papaloapan, Veracruz*. Maestría en Ciencias. Instituto de Ecología A.C.
- Vogt R. C., González-Porter, G. P. and van Dijk, P. P., 2006. *Dermatemys mawii*. [en línea]. En: UICN 2007. Red List of Threatened Species. Disponible en <www.iucnredlist.org> [Visitado el 16 de Octubre de 2007].
- Vogt, R. C. y Flores-Villela, O., 1992. Aspectos ecológicos de la tortuga blanca (*Dermatemys mawii*) en la Reserva de la Biosfera Montes Azules. In: M. A. Vásquez-Sánchez y M. A. Ramos, eds. *Reserva de la Biosfera Montes Azules, Selva Lacandona: Investigación para su conservación*. México: Publicaciones Especiales Ecosfera 1, pp. 221-231.
- Vogt, R. C., Polisar, J. R., Moll, D., and Gonzalez-Porter, G., 2011. *Dermatemys mawii* Gray 1847 – Central American River Turtle, Tortuga Blanca, Hickatee. In: Rhodin, A. G. J., Pritchard, P. C. H., van Dijk, P. P., Saumure, R. A., Buhlmann, K. A., Iverson, J. B., y Mittermeier, R. A. Eds. *Conservation Biology of Freshwater Turtles and Tortoises: A Compilation Project of the IUCN/SSC Tortoise and Freshwater Turtle Specialist Group*. *Chelonian Research Monographs* 5:058.1–058.12.
- Werner, R. E., Ehret, D. J. and Jensen, L. M., 2002. Health assessment of captive raised and wild diamondback terrapins (*Malaclemys terrapin*): a preliminary study. *Bulletin of the New Jersey Academy of Science*, 47(2), pp. 1-4
- Witzenberger, K. and Hochkirch, A., 2011. Ex situ conservation genetics: a review of molecular studies on the genetic consequences of captive breeding programmes for endangered animal species. *Biodiversity and Conservation*, 10, pp. 1043-1861.

- Wong, H., and Schotz, M. C., 2002. The lipase gene family [en línea]. *Journal of Lipid Research*, 43, pp. 993–999. Disponible en: <<http://www.jlr.org/content/43/7/993.long>> [Visitado el 14 de noviembre de 2013].
- Wood, F., 1991. Turtle Culture. [en línea] In: Nash C.E. (Ed.), Production of Aquatic Animals, World Animal Science. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V. Disponible en: <http://www.boatswainsbeach.ky/_media/documents/scientific_culture.pdf> [Visitado el 14 de noviembre de 2013].
- Zapata-Hernández, C. 2012. *Caracterización molecular de cuatro poblaciones de Dermatemys mawii en cautiverio en el Estado de Tabasco*. Licenciatura en Biología. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
- Zenteno-Ruiz, C. E., Barba-Macías, E., Bello-Gutiérrez, J., y Ochoa-Gaona, S., 2010. Caracterización espacio-temporal del hábitat y presencia de *Dermatemys mawii* (Testudines: Dermatemydidae) en la cuenca del Grijalva-Usumacinta, Tabasco, México. *Revista Biología Tropical*, 58, pp. 1247–1260.
- Zenteno-Ruiz, C.E., Sánchez-Alejandro, M., Cruz-Rey, M. y Torres-Reyes, E., 2002. Historia Natural de las tortugas dulceacuícolas del ejido Río Playa, Comalcalco, Tabasco. *Kuxulkab' Revista de Divulgación*, VI (2), pp.12-22.
- Zenteno-Ruiz, C.E., Whízar-Lugo, S. Arriaga Weiss, S.L. y Beauregard-Solís, G. 2012. Educación Ambiental para la Conservación de la Tortuga Blanca. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Villahermosa, 122 pp.
- Zou, Y., Ai, Q. and Mai, K., 2011. Ontogenic development of digestive enzyme activities in juvenile soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*) under cultured conditions. *Frontiers of Agriculture in China*, 5(4), pp. 624-630.