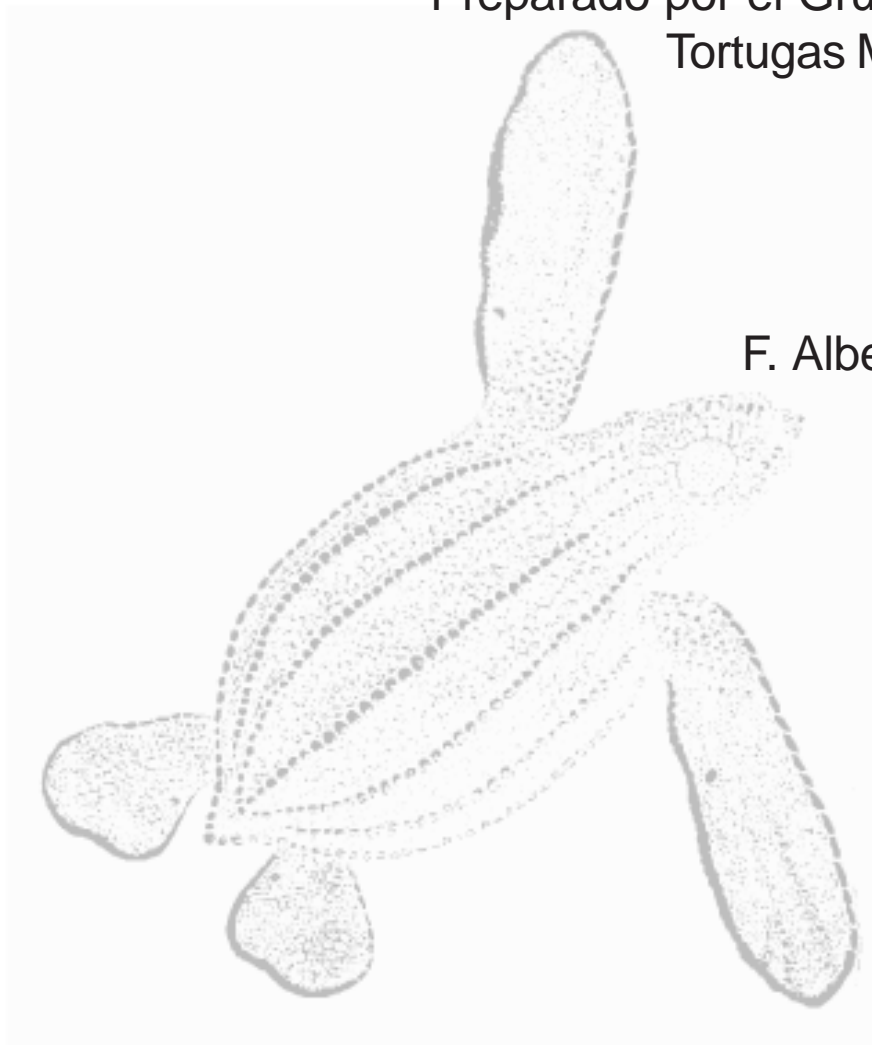


Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas

Preparado por el Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/CSE

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

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



WWF



CMS



SSC



NOAA



MTSG



CMC

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

©2000 SSC/IUCN Marine Turtle Specialist Group

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

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

ISBN 2-8317-0580-0

Impreso por Consolidated Graphic Communications, Blanchard, Pennsylvania USA

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

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

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

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

Presentación

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

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

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

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

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

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

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

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

Agradecimientos

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

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

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

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

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

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

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

¡A todos, nuestro más sincero agradecimiento!

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

Tabla de Contenido

1. Generalidades

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

2. Taxonomía e Identificación de Especies

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

3. Evaluación de Poblaciones y de Hábitats

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

4. Metodologías y Procedimientos para la Colecta de Datos

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

5. Reducción de Amenazas

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

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

Ciclos Reproductivos y Endocrinología

David Wm. Owens

Department of Biology, Mail Stop 3258, Texas A&M University, College Station, Texas 77843-3258 USA; Tel: +1 (409) 845-0910; Fax: +1 (409) 845-2891; email: daveo@bio.tamu.edu Y Grice Marine Laboratory, University of Charleston, 205 Fort Johnson Road, Charleston, South Carolina 29412 USA

Introducción: ¿Por qué y Cuándo estudiar los sistemas reproductivos?

El estudio de los ciclos reproductivos en tortugas marinas y su control endócrino, cae principalmente en áreas a menudo consideradas como investigación básica. ¿Debería este tipo de investigación llevarse a cabo para todas las especies amenazadas o en peligro? Este es un asunto importante que debe ser considerado muy cuidadosamente antes de empezar un proyecto de esta índole. La respuesta debe ser “algunas veces sí y algunas veces no.” Antes de iniciar cualquier estudio de fisiología reproductiva en tortugas marinas se debe contar con una respuesta afirmativa a cuatro preguntas:

- (1) ¿Ha recibido el investigador aprobación científica de sus pares para el proyecto por medio de las agencias internacionales, nacionales, estatales e institucionales que otorgan dichos permisos para hacer su investigación? En otras palabras, científicamente hablando, ¿se considera que el proyecto es de alta prioridad?
- (2) ¿Cuenta el investigador con la destreza técnica para emprender de forma segura el proyecto desde un punto de vista de bienestar tanto para el animal como para el investigador?
- (3) ¿Está disponible y a la mano el equipo apropiado para asegurar el manejo de las tortugas y completar los protocolos y análisis?
- (4) Dado que es caro, ¿se cuenta con los recursos financieros para hacer este tipo de investigación?

Si el proyecto propuesto puede satisfacer estos estándares, entonces la investigación debería continuar. ¿Son estos estándares muy altos? No parecen serlo, ya que al menos cinco laboratorios en Australia y

Estados Unidos han satisfecho claramente estos estándares y han hecho contribuciones significativas al conocimiento sobre la endocrinología y reproducción de las tortugas marinas sin perjuicio a los animales estudiados.

El poder identificar proyectos que puedan ser apropiados para tortugas marinas es crítico ya que uno no quiere intentar un protocolo que podría someter a mayores peligro a una población ya mermada. Por esta razón es útil para el fisiólogo colaborar con un biólogo de la conservación (que pueden ser la misma persona) siempre que sea posible. Hace varios años se sugirieron diversas pautas, las cuales aún tienen algunas aplicaciones con respecto a la justificación de nuevos proyectos de investigación en esta área (Owens, 1995). Éstas son: (1) identificación de procesos reproductivos críticos y posiblemente singulares de especial interés para la supervivencia de las especies; (2) desarrollo de técnicas mejoradas para efectuar investigación básica y de alta prioridad; y (3) avanzar vigorosamente en la investigación básica de la biología reproductiva, especialmente donde han sido identificadas áreas críticas.

Potencial de la Investigación: ¿Qué usos hay para este tipo de estudios?

Las tortugas marinas han sido modelos sorprendentemente útiles para la biología reproductiva en reptiles, ya que, no obstante su inconveniente gran tamaño, la sangre se obtiene fácilmente para estudios hormonales y son buenas pacientes para intervenciones quirúrgicas. El primer ciclo hormonal reptiliano relativamente completo, fue documentado en las tortugas verdes de la Granja de Tortugas en Gran Cayman (revisado en Owens, 1977). En sitios donde

también se acumulan datos ecológicos sólidos sobre poblaciones de vida libre, se pueden obtener respuestas a preguntas importantes acerca de la historia de vida como, por ejemplo, la proporción sexual de las poblaciones inmaduras, cronología de la ovulación de las hembras, fecundidad dentro de una temporada, qué porcentaje de la población es reproductivamente activa en un momento dado, y tiempo y edad para alcanzar la madurez sexual. Debido a varios rasgos poco usuales del ciclo de vida encontrados en tortugas marinas (p. ej., madurez tardía, larga vida, ciclos reproductivos variables, determinación sexual dependiente de la temperatura), los modeladores de poblaciones necesitan la clase de información reproductiva precisa que puede obtenerse al combinar estudios ecológicos (de campo) detallados, con investigaciones fisiológicas cuidadosamente diseñadas. Importantes estudios en Isla Heron, Australia, muestran el gran potencial de tales estudios híbridos (p. ej., Limpus, 1985; Wibbels *et al.*, 1990).

Con el incremento en la capacidad para capturar y rastrear a los individuos (ver S. Eckert, este volumen), deberá ser posible en un futuro cercano mejorar inmensamente nuestro entendimiento de los factores que controlan la migración y sistemas de apareamiento, así como la dinámica nutricional y el estrés durante la reproducción. Mientras que una motivación inicial fue mejorar el conocimiento sobre el potencial reproductivo en condiciones de cautiverio, y se obtuvieron claros productos en este campo, el éxito de estos programas (Wood y Wood, 1980) ha reducido de hecho la necesidad de investigaciones intensivas en cautiverio, excepto en la medida en que pueden relacionarse con un mejor entendimiento de la fisiología básica

Técnicas Específicas

Existen cuatro técnicas que son frecuentemente usadas en estudios endócrinos: muestreo de sangre, radioinmunoensayos hormonales, cirugía laparoscópica y ultrasonografía. A continuación se discutirán las aplicaciones, validez, riesgos y análisis de cada una.

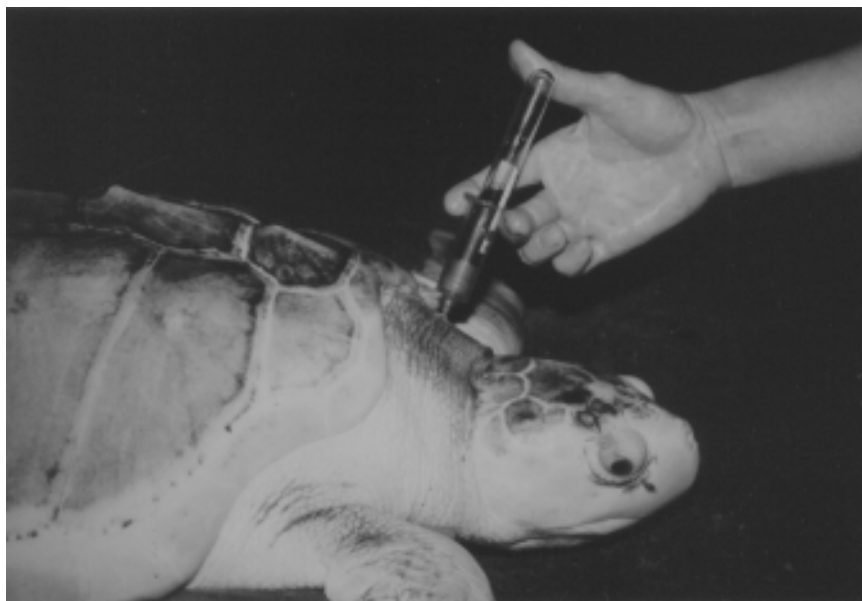


Figura 1. Muestreo de sangre del seno cervical dorsal en una tortuga kempí usando un sistema Vacutainer con tubo colector al vacío. Antes de tomar la muestra, se debe efectuar una limpieza cuidadosa de la región del cuello.

Muestreo de Sangre

La sangre es considerada un tejido del cuerpo, como lo son el músculo y hueso. La ventaja de la sangre es que una muestra es fácil de obtener y que puede proveer, a través de sus subcomponentes, excelentes indicadores de muchos aspectos de la salud de un individuo y su estado reproductivo. Tomar una muestra de sangre de los senos en el lado dorsal del cuello es ahora rutinario (Owens y Ruiz, 1980). Después de una modesta cantidad de práctica es posible obtener una muestra de sangre en el 95% de las veces (Figura 1).

Tanto jeringa y aguja como tubo de vacío (p. ej., vacutainers), aguja y sistema sujetador, funcionan bien para obtener la sangre. Con práctica, la muestra puede ser tomada en 30 segundos. Para tortugas menores a 0.5 kg, una aguja de calibre 23 de 1/2 pulgada proporciona los mejores resultados. Para tortugas de 0.5-5 kg, una aguja de calibre 21 de 1 pulgada es satisfactoria, mientras que agujas de calibre 21 y 1.5 pulgadas funcionan mejor en los animales más grandes, excepto en tortuga laúd (*Dermochelys coriacea*; ver más adelante). El mejor anticoagulante es la heparina de litio o sodio. El EDTA (también anticoagulante) se deberá evitar ya que causa hemólisis en la sangre de las tortugas marinas. Es importante colocar a la tortuga de manera que el seno se llene con sangre. Por esta razón, se han obtenido resultados consistentes cuando



Figura 2. Después de la anestesia local, la tortuga se sujeta en posición invertida para la laparoscopia. Se requieren técnicas quirúrgicas estériles en este procedimiento para evitar infecciones. El laparoscopio está siendo insertado dentro de la manga, la cual ha sido introducida en el peritoneo.

la cabeza de la tortuga se encuentra más abajo que el cuerpo. Ya sea un bastidor en ángulo para sujetar a la tortuga, un banco o mesa inclinada o una playa de anidación inclinada (con asistentes sujetando al animal) funcionan bien. Siempre se debe de limpiar cuidadosamente el cuello con alcohol (conteniendo al menos 70% de etanol), u otro antiséptico antes de tomar la muestra.

El seno se localiza a ambos lados de la línea media del cuello entre $1/3$ y $1/2$ de la distancia entre la parte posterior de la cabeza y el borde anterior del caparazón. Dependiendo del tamaño de la tortuga, el seno está dentro de los 0.5 a 3 cm laterales a la línea media. Existen algunas variaciones entre individuos, por lo cual no es inusual tener que insertar la aguja de 3 a 5 veces para localizar el seno. Si de un lado del cuello no se obtiene sangre, se debe tratar del lado opuesto. Siempre inserte la aguja verticalmente (90 grados con respecto al plano del cuello) en el cuello y *no* mueva la aguja lateralmente para localizar el seno. Esto puede causar daño innecesario al tejido. Una vez insertada la aguja, aplique succión y mueva la aguja lentamente hacia arriba y hacia abajo hasta localizar el seno. *No* remueva la aguja del cuello mientras se esté aplicando succión ya que esto puede dañar su muestra.

Centrifugue la sangre inmediatamente o manténgala en hielo hasta centrifugar. Separe el plasma

de las células rojas y guarde ambas fracciones preferiblemente a temperaturas ultra frías para almacenamiento a largo plazo e investigaciones posteriores. Entre los proveedores de equipos biomédicos y científicos se pueden encontrar varias marcas de centrífugas eléctricas pequeñas y portátiles. Se prefieren las temperaturas ultra frías ($< -50^{\circ}\text{C}$) para almacenar productos de la sangre ya que estas bajas temperaturas reducen los cambios de las proteínas. A corto plazo, las temperaturas ultra frías pueden lograrse usando hielo seco o nitrógeno líquido. Para almacenaje por periodos largos se recomienda un ultra congelador eléctrico o un congelador de nitrógeno líquido.

Ya que los senos del cuello de las tortugas del género *Lepidochelys* y las caguamas (*Caretta caretta*) son más grandes (particularmente en individuos inmaduros), se localizan más fácilmente que los de las tortugas verdes (*Chelonia mydas*) y careyes (*Eretmochelys imbricata*). Puede ser problemático tomar muestras de hembras anidadoras adultas de todas las especies después de que han estado reptando por la playa. El seno parece estar más comprimido que en los animales recién sacados del agua. El muestreo en laúdes es más difícil porque sus cuellos son muy grandes y requieren de una aguja larga (3 a 3.5 pulgadas) como aquellas usadas para el muestreo de líquido espinal. La piel coriácea es excepcionalmente difícil de penetrar y existen varios retos en el procedimiento, incluyendo la coagulación en la aguja larga (por lo que el interior de la aguja deberá ser revestido con anticoagulante antes de tomar la muestra). Se ha descrito una prometedora técnica alternativa para obtener muestras de las aletas posteriores en laúdes (Dutton, 1996). Como regla general, extraer la sangre de la hembra en el proceso de cubrir sus huevos puede ser difícil porque el seno se reduce en tamaño y se dificulta localizarlo. La toma de muestra es fácil si uno puede anticipar el final de la oviposición y obtener la muestra antes de que comience a cubrir; sin embargo, una desventaja de esta técnica es que las tortugas de la mayor parte de las especies pueden abortar el final de su desove.



Figura 3. La evaluación ultrasónica del ovario es posible usando la sonda ultrasónica y colocándola en el área inguinal justo atrás del plastrón. No se utiliza anestesia, solo tres asistentes están inmovilizando a la tortuga en un neumático de automóvil.

Radioinmunoensayos de hormonas

Así como el trabajo sobre la química sanguínea de algunos componentes como iones y azúcares puede dar una indicación del estado de salud del animal, los niveles específicos de ciertas hormonas en la circulación pueden también proveer indicios así como datos precisos del estado reproductivo o conducta del individuo. Muchos ensayos hormonales (endócrinos) están ahora disponibles en equipos de varias compañías tales como ICN Pharmaceuticals (Costa Mesa, California USA) o Diagnostic Products Corporation (DPC) (Tarzana, California USA). Muchos esteroides pueden ser analizados en hospitales veterinarios docentes o laboratorios especializados. Cada ensayo debe ser validado (probar que funciona) para las especies y hormonas en estudio. Actualmente varios laboratorios de Estados Unidos tienen buena experiencia con ensayos de tortugas marinas (ver Guillette *et al.*, 1991;

Owens, 1997; Wibbels *et al.*, 1990). La técnica de determinación del sexo basada en la testosterona (Owens *et al.*, 1978) requiere de un ensayo especial para testosterona el cual es lo bastante sensitivo para detectar las hormonas a niveles muy bajos como aquellos encontrados en animales jóvenes (ver Wibbels *et al.*, 1993 y Wibbels, este volumen). Este sensible ensayo no es un procedimiento de rutina.

Laparoscopia

Esta forma de cirugía usa un telescopio miniatura para ver directamente dentro de la cavidad peritoneal. Este es un procedimiento potencialmente peligroso y no debe intentarse hasta no contar con un entrenamiento veterinario adecuado (Wood *et al.*, 1983). La laparoscopia puede ser usada para determinar el sexo en tortugas inmaduras o el estado reproductivo de los adultos (ver también Wibbels, este volumen). También puede ser de valor en diagnósticos de problemas en hígado, pulmones, vejiga y tracto intestinal; sin embargo, este tipo de evaluaciones requiere de bastante experiencia veterinaria y no debe realizarlo un novato. El equipo mínimo necesario es un laparoscopio, trocar o punzón, manga o funda, proyector de fibra óptica y los instrumentos básicos de cirugía (Figura 2). El costo mínimo estimado de este equipo es de alrededor de US\$4,000 dependiendo del tamaño y opciones del equipo adquirido.

Antes de realizar la cirugía es esencial familiarizarse completamente con la anatomía de las tortugas marinas. Además, la cirugía deberá realizarse en colaboración con un veterinario hasta desarrollar la habilidad adecuada. Es importante usar técnicas asépticas todo el tiempo para prevenir infecciones. Siguiendo una limpieza quirúrgica (tres aplicaciones alternadas de etanol al 70% y jabón quirúrgico de yodo), el animal se inmoviliza en una posición invertida y se le inyecta anestesia local en el músculo y la dermis de la pared peritoneal del área inguinal. Se hace una incisión de 1-2 cm a través de la piel y se empuja el trocar y la manga a través de los músculos y la pared peritoneal para introducirlos a la cavidad corporal. Se necesita tener especial precaución para evitar entrar demasiado a la parte posterior (donde el trocar podría golpear el riñón) o entrar muy profundo (donde el trocar podría golpear el pulmón o el tubo digestivo). Después de entrar a la cavidad peritoneal, deberá verificarse este hecho con el laparoscopio antes de inflar la cavidad corporal con aire filtrado. La inflación (conocida como insuflación) es necesaria para

visualizar los órganos internos. Cuando la examinación está completa, todo el aire debe ser removido antes de suturar la herida. Una única sutura profunda y dos suturas superficiales usualmente son adecuadas para cerrar la herida.

Actualmente, la práctica común es evitar el uso de anestésicos generales (con aprobación de un veterinario) para esta cirugía particular ya que con la anestesia local se incurre en menor riesgo de mortalidad, es adecuada para reducir el dolor aparente, y permite un período mucho más corto de observación post-operatoria (Wood *et al.*, 1982; Wibbels *et al.*, 1990).

Es posible producir hemorragias severas o la muerte si se golpean órganos vitales durante la entrada del trocar. En tortugas marinas, aún para expertos laparoscopistas puede esperarse una tasa de mortalidad del 1-2%, bajo buenas condiciones. Las dos causas más comunes de mortalidad incluyen hemorragias excesivas debido a la mala colocación del trocar y muerte debido a síntomas no-específicos en tortugas que ya están en situación comprometida debido a otras condiciones. Por ejemplo, una tortuga con sobrecalentamiento puede tener expansión del gas pulmonar o del tubo digestivo pudiendo perforarse fácilmente, aún con la mejor de las técnicas. Adicionalmente, las tortugas marinas con una carga parasitaria pesada, infección bacteriana severa o con obesidad aguda pueden sucumbir fácilmente durante la cirugía. Los animales en cautiverio son particularmente susceptibles a infecciones en la herida suturada. Animales con cualquiera de los síntomas arriba mencionados no deben someterse a este tipo de cirugía. Si una tortuga muere durante la operación, es necesario pedir a un veterinario independiente que realice una necropsia para determinar la causa de la muerte.

Ultrasonografía

El uso de imágenes de ultrasonido (Rostal *et al.* 1990) ha probado ser ideal en la evaluación rápida de la condición de los ovarios en las hembras adultas (Plotkin *et al.*, 1995). Si bien se requiere investigación adicional para explotar todo el potencial de esta técnica, posee claras ventajas sobre la laparoscopia quirúrgica en algunas situaciones. Lo más importante es que no requiere de técnicas asépticas, incisiones, ni suturas quirúrgicas. Por esta razón, la ultrasonografía es generalmente rápida, muy segura y no invasiva. Una ventaja adicional es que las imágenes reflejadas (sonogramas) pueden almacenarse como video o

cuadros fijos y, de la imagen en vivo o de una grabación en vídeo, tomar medidas exactas de estructuras tales como los folículos o huevos. Las desventajas comparando con la laparoscopia, son que no se ve el color real del tejido o las figuras más pequeñas donde las estructuras carecen de densidades heterogéneas. Por ejemplo, ha sido difícil distinguir ovarios inmaduros de testículos inmaduros, una tarea que es fácilmente realizada usando la aproximación quirúrgica. Otra desventaja es que los instrumentos, los cuales son esencialmente una microcomputadora con sonda sensorial, cuestan varios miles de dólares cuando se compran nuevos y requieren de un suministro de energía seguro y confiable. El sistema ideal de campo une un generador a un suministro de energía ininterrumpido (UPS) y luego al instrumento.

En el ultrasonido de ovario, la tortuga se coloca sobre su caparazón en una posición confortable para sujetarla (Figura 3). Un asistente puede inmovilizar fácilmente una tortuga de las especies más pequeñas (como una *Lepidochelys*) en un neumático de automóvil mientras se hace el ultrasonido. Las tortugas grandes requieren de más asistentes que garanticen la seguridad de la tortuga, de los investigadores y de la máquina. El ultrasonido no ha sido muy útil en machos, pero una circunstancia inusual puede mencionarse en caso de que pudiera ser útil en estudios de anatomía y fisiología de tortugas marinas. Los machos adultos muestran cierta suavidad en la parte media del plastrón (Wibbels *et al.*, 1991). Con el ultrasonido, uno puede visualizar directamente los latidos del corazón, así como el flujo sanguíneo en los vasos mayores. Esto no es posible en tortugas inmaduras o hembras debido a la densidad del plastrón.

Literatura Citada

Dutton, P. H. 1996. Methods for collection and preservation of samples for sea turtle genetic studies, p.17-24. *In*: B. W. Bowen y W. N. Witzell (Editores), Proceedings of the International Symposium on Sea Turtle Conservation Genetics. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-396. U.S. Dept. Commerce.

Guillette, L. J., Jr., K. A. Bjorndal, A. Bolten, T. Gross, B. Palmer, B. Witherington y J. Matter. 1991. Plasma estradiol-17B, progesterone, prostaglandin F, and prostaglandin E2 concentrations during natural oviposition in the loggerhead turtle (*Caretta caretta*), General and Comparative Endocrinology 82:121-130.

- Owens, D. W. 1995. The role of reproductive physiology in the conservation of sea turtles, p.39-44, 589-590. *In*: K. A. Bjorndal (Editor), *Biology and Conservation of Sea Turtles*, Edición Revisada. Smithsonian Institution Press, Washington D.C.
- Owens, D. W., J. R. Hendrickson, V. Lance, y I. P. Callard. 1978. A technique for determining sex of immature *Chelonia mydas* using radioimmunoassay. *Herpetologica* 34:270-273.
- Owens, D. W. y G. J. Ruiz. 1980. New methods of obtaining blood and cerebrospinal fluid from marine turtles. *Herpetologica* 36:17-20.
- Owens, D. W. 1997. Hormones in the life history of sea turtles, p.315-341. *In*: P. L. Lutz y J. A. Musick (Editores), *The Biology of Sea Turtles*. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Plotkin, P., R. Byles, D. C. Rostal y D. W. Owens. 1995. Independent versus socially facilitated oceanic migrations of the olive ridley *Lepidochelys olivacea*. *Marine Biology* 122:137-142.
- Rostal, D. C., T. Robeck, D. Owens y D. C. Kraemer. 1990. Ultrasonic imaging of ovaries and eggs in Kemp's ridley sea turtles (*Lepidochelys kempi*) *Journal of Zoo Wildlife Medicine*. 21:27-35.
- Wibbels, T., D. W. Owens y D. R. Rostal. 1991. Soft plastra of adult male sea turtles: An apparent secondary sexual characteristic. *Herpetological Review* 22:47-49.
- Wibbels, T., G. Balazs, D. Owens y M. Amoss. 1993. Sex ratio of immature green turtles inhabiting the Hawaiian archipelago. *Journal of Herpetology* 27:327-329.
- Wibbels, T., D. Owens, C. Limpus, P. Reed y M. Amoss. 1990. Seasonal changes in gonadal steroid concentrations associated with migration, mating, and nesting in loggerhead sea turtles. *General and Comparative Endocrinology* 79:154-164.
- Wood, J. R. y Wood, F. E. 1980. Reproductive biology of captive green sea turtles *Chelonia mydas*. *American Zoologist* 20:499-505.
- Wood, F. E., K. H. Critchley y J. R. Wood. 1982. Anesthesia in the green turtle, *Chelonia mydas*. *American Journal of Veterinary Research* 43:1882-1883.
- Wood, J. R., F. E. Wood, K. H. Critchley, D. E. Wildt y M. Bush. 1983. Laparoscopy of the green sea turtle, *Chelonia mydas*. *British Journal of Herpetology* 6:323-327.