# Universidad de Guadalajara

Facultad de Ciencias



Aspectos Jisico-Químicos y Microbiológicos del Moco Presente en la Oviposición de Tortuga Marina ( Lepidochelys olívacea y Permochelys coriacea ) y su Implicación en el Cultivo Artificial del Huevo.

Tesis Profesional

Juan Ramon González García

Guadalajara, Jal., 1989.



## UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS

Expediente .

1477/88 Número

SR. JUAN RAMON GONZALEZ GARCIA PRESENTE. -

Manifiesto a usted que con esta fecha ha sido aprobado el tema de Tesis "ASPECTOS FISICO-QUIMICOS Y MICRO BIOLOGICOS DEL MOCO PRESENTE EN LA OVIPOSICION DE TORTUGA -MARINA (Lepidochelys olivacea Chelonia agassizi y Dermochelys coriacea Y SU IMPLICACION EN EL CULTIVO ARTIFICIAL DEL-HUEVO" para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo informo a usted que ha sido acep tado como Director de dicha Tesis el Q.F.B. Adolfo Cárdenas-Ortega.



ATENTAMENTE "AÑO ENRIQUE DIAZ DE LEON" "PIENSA Y TRABAJA"

Guadalajara, Jal., Diciembre 5 de 1988 EL DIRECTOR

DR. CARLOG ASTENGO OSUNA

FACULTAD DE CIENCIAS

EL SECRETARIÓ

ING.ADOLFO ESAIMOZ DE LOS MONTEROS CARDENAS.

.F.B.Agolfo Cardenas Ortega, Director de Tesis.-Pte.

c.c.p. El expediente del alumno.

'.misd

Guadalajara, Jal; 7 de Julio 1989.

Ing. Adolfo Espinoza de los Monteros Cárdenas.

Director de la Facultad de Ciencias.

Universidad de Guadalajara.

Presente.

Habiendo realizado las observaciones pertinentes al trabajo de tesis que presenta el C. Juan Ramón González García, considero que puede imprimirse, por lo que pido a Usted permita se reali-cen los trámites para el exámen correspondiente.

Sin mas por el momento, agradezco las atenciones que se sirva -brindar a la presente.

Atentamente.

O.F.B. Adodfo Cárdenas Ortega.

Director de Tesis.

Aspectos Fisico-químicos y Microbiológicos del Moco Presente en la Oviposición de Tortuga Marina (Lepidochelys olivacea y Dermo-chelys coriacea) y su Implicación en el Cultivo Artificial del -Huevo.

Juan Ramón González García.

Tesis dirigida por el QFB. Adolfo Cárdenas Ortega.

Septiembre, 1989.

### Esta tesis se realizó:

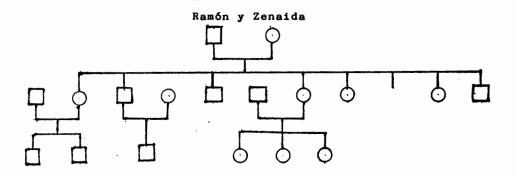
- En el campamento tortuguero de la Universidad de Guadalajara en el Playón de Mismaloya, Jal.
- En el campamento tortuguero de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo en Maruata, Mich.
- En el campamento tortuguero "El farito" de la Universidad Nacio nal Autónoma de México en el Playón de Mexiquillo, Mich.
- En el laboratorio de Cirugía Experimental de la Unidad de Investigación Biomédica de Occidente del INSS. (UIBO-INSS).
- En el laboratorio de Bioquímica Genética de la UIBO-IMSS.
- En la División de Biología del Desarrollo de la UIBO-IMSS.
- En el laboratorio de Microbiología del Intituto de Patología Infecciosa y Experimental "Dr. Francisco Ruiz Sánchez" de la Universidad de Guadalajara.

## AGRADECIMIENTOS

- QFB Adolfo Cárdenas Ortega director de esta tesis, por su apoyo, empuje y guía durante la realización de este trabajo y por ser una persona muy positiva.
- QFB Martha Luz Zavala Silva por su asesoría en el trabajo micro biológico, por sus enseñanzas y amistad.
- Biol. Javier Robles y a todos los que participan en la protec-ción de la tortuga marina en el campamento de Maruata, Mich. -por su asesoría y ayuda para la realización de este trabajo.
- Biol. Laura Sarti Martinez junto con todos los que participan en la protección de la tortuga marina en el campamento de "El farito" en el Playón de Mexiquillo, Mich. por su asesoría y apo yo en el trabajo.
- QFB Anselmo Velázquez Cabrera por su asesoría y ayuda en la determinación de la osmolaridad.
- M en C José Sánchez Corona director de la UIBO-IMSS.
  Lab. Ofelia Contreras Sánchez y a todos los que colaboran en el laboratorio de Bioquímica Genética de la UIBO-IMSS. por su ayuda y asesoría en la cuantificación de mucopolisacáridos y en -- las cromatografías.
- QFB Cecilia Terrazas por su ayuda en la determinación de sodio, potasio y calcio.
- A Lupita Romo, Lucy, Rosi, Cuquita, Lupita y Raymundo por todos sus consejos, enseñanzas y ayuda.
- Dr Eduardo Vázquez Valls por su apoyo para la realización del trabajo.
- Dr Lourdes Ramírez Dueñas por toda su ayuda y comentarios.
- Biol. Rosi Chávez y Sra Adriana Hermosillo por su granote de arena y por su constante apoyo.
- Sra Josefina Olivares Camarena por su ayuda.
- A mis MAESTROS.
- A mis compañeros de la 4ª generación. ("lo pior").
- A mis amigos.

#### DEDICATORIAS

Porque son lo mas importante y querido que tengo, dedico este trabajo a :



A mi Universidad agradeciendole mi formación académica.

Y para :

"La libertad mas que licencias y derechos implica responsabilidades y obligaciones".

Hesse

## INDICE:

Introducción	1
Objetivos	4
Netodología	5
Resultados	15
Discusión	25
Apéndice A: Tablas	38
Apéndice B: Figuras	61
Bibliografía	66

## INTRODUCCION:

Debido al drástico descenso en las poblaciones de tortuga marina, fué necesario instalar campamentos en las zonas de desove, con el fin de proteger a las hembras anidadoras y evitar el saqueo de --- huevos (1.2).

En algunas areas de protección se ha llevado un programa de vigilancia de nidos naturales o nidos "in situ", que consiste en seña
lar el lugar donde las tortugas ovipositan, evitando la manipulación y el traslado del huevo (1).

La forma más frecuente de protección de huevos en la mayoría de zonas de anidación, se realiza efectuando recorridos por la playa
hasta localizar una tortuga desovando, se colectan los huevos en
una bolsa de plástico y se trasladan a un lugar protegido denominado "corral de sembrado" o "vivero", ahí se entierran los huevos
imitando las condiciones naturales. Una vez transcurrido el perió
do de incubación, las tortugas hijas emergen del nido y son liberadas al mar (3.4).

Estas actividades, si bién han disminuido el saqueo de huevo, se enfrentan al problema del aumento de la mortalidad durante el pe-

riódo de incubación, en los "viveros". Esto se observó en estu-dios realizados con nidos de Chelonia agassizi (tortuga negra),
en Colola, Mich. en las temporadas 82 - 83, 83 - 84 (5), 84 - 85
(1) y 85 - 86 (5); y de Dermochelys coriacea (tortuga laúd) en Me
xiquillo, Mich. en las temporadas 84 - 85 (1), 85 - 86 y 86 - 87
(6), (Tabla 1).

La disminución de la eclosión en los nidos de "vivero" podría estar relacionada con:

- El transporte del huevo, que propicia golpes y movimientos que inducen la mortalidad de los embriones (7, 8).
- La forma de transporte, ya que al ir el huevo cubierto con arena, se podría ocasionar un deterioro de las membranas que favorecería la contaminación bacteriana de los embriones.

Y

- El contacto directo del hombre con el huevo, que aumenta más la probabilidad de contaminación bacteriana.

Durante la oviposición de las tortugas, se observa que los huevos son expulsados junto con un moco blanquecino, pegajoso y resbaladizo; siendo su función específica actualmente desconocida. La utilización de

este moco durante el transporte del huevo, ofrece grandes posibili dades de mejorar los índices de eclosión en los nidos transplanta dos al "vivero", ya que; colectando el huevo y el moco directamen te de la tortuga, se evita la adherencia de partículas de arena a las membranas, se reduce el riesgo de contaminación bacteriana al evitar el contacto directo del hombre con el huevo, y este viajaría en un medio acuoso que le amortiguaría los golpes y el movi-miento ocasionado durante su transporte hacia el "vivero", y además lo protegería de una posible deshidratación. Con el presente estudio se pretende; saber si la utilización del moco durante el transporte y sembrado del huevo tiene efecto en los índices de eclosión, determinar características fisico-químicas del moco que ayuden a conocer su efecto en la viabilidad del huevo, y establecer una relación bacteriológica entre el moco y -

los huevos no eclosionados de una misma tortuga.

- 1.- Evaluar el efecto de la presencia o ausencia del moco durante el transporte y sembrado del huevo, referido a los índices de eclosión.
- 2.- Determinar características fisico-químicas del moco.
- 3.- Establecer una relación bacteriológica entre el moco y los -- huevos no eclosionados de la misma tortuga.

## METODOLOGIA: .

El estudio del moco constó de tres etapas:

- 1.- Trabajo de campo.
- 2.- Trabajo de laboratorio.
- 3.- Análisis de datos.
- 1.- Trabajo de campo.
- 1.1 Obtención de muestras de moco para su análisis en el laboratorio.

Se realizó en las playas de: Playón de Mismaloya, Jalisco --
(105° y 29' W y 20° oo' N) del 28 de agosto al 5 de octubre -
de 1987 y Maruata, Michoacán (103° 21' W y 18° 15' N) del 5 -
de agosto al 2 de noviembre de 1987 con Lepidochelys olivacea

(tortuga golfina); y en el Playón de Mexiquillo, Michoacán --
(102° 48' 47" y 102° 55' 17" W y 18° 05' 23" y 18° 08' 19" N),

del 8 de noviembre al 17 de enero de 1988 con Dermochelys co-
riacea.

Durante el desove se colectó el huevo junto con el moco directamente de la tortuga en una bolsa de plástico de 40 x 60 cm.

nueva, evitando el contacto con las manos y con la arena. --Cuando el último huevo fué expulsado se retiró la bolsa, se -amarró y se trasladó inmediatamente al campamento. Una vez --ahí, se esperó a que el moco se sedimentara en el fondo de -la bolsa, se cortó una esquina inferior y se dejó fluir libre
mente aproximadamente 20 ml. de moco hacia un tubo estéril el
cuál se selló con cinta adhesiva. Los tubos con el moco fueron guardados en un lugar fresco y trasladados al laboratorio
lo antes posible, una vez ahí se colocaron en refrigeración.

1.2 Evaluación del efecto de la presencia o ausencia de moco du-rante el transporte y sembrado del huevo, referido a los índi ces de eclosión.

En el Playón de Mismaloya, Jalisco, se colectaron 17 nidos de ...
Lepidochelys olivacea y se subdividieron en tres grupos:

- "Huevos con arena"; inmediatamente después de que se colectó el nido, se separó aproximadamente un tercio de huevo y
se llenó de arena del lugar de la oviposición. Se transportó al "vivero" y se sembró como se hace generalmente en las
técnicas de conservación actuales (1,3,4).

- "Huevos limpios"; los dos tercios restantes de huevos, via jaron juntos hacia el "vivero", una vez ahí se separó un -- tercio, se limpió con papel absorvente estéril y se sembró.
- "Huevos con moco"; el último tercio de huevos quedó con el moco y así fué sembrado.

Los tres subnidos fueron sembrados en secuencia dentro del "vivero" del campamento.

La manipulación del huevo se hizo con guantes estériles.

En Maruata, Michoacán se colectaron 9 nidos de <u>Lepidochelys</u> - olivacea. Cada nido se dividió en tres formas:

- "Huevos con moco". Anteriormente explicado.
- "Huevos enjuagados", el enjuague se efectuó con aproximadamente 100 ml. de agua destilada estéril.
- "Huevos limpios", con papel absorvente estéril.

Se colectaron 3 nidos más de <u>Lepidochelys</u> y estos se dividie-ron en 2 formas:

- "Huevos con moco".
- "Huevos enjuagados".

En Mexiquillo, Michoacán, se colectaron 9 nidos de Dermochelys

coriacea sembrándose cada uno en dos grupos:

- "Huevos con moco".
- "Huevos enjuagados".

Los subnidos se revisaron terminando el periódo de incubación.

Los datos obtenidos de la eclosión consistieron en:

- Número de huevos sembrados.
- Número de huevos eclosionados.
- Número de huevos no eclosionados.
- 1.3 Obtención de huevos no eclosionados para su estudio microbiologico en el laboratorio.

Al momento de la revisión de los subnidos, se tomó al azar un huevo no eclosionado, se guardó en un frasco estéril y se ---- transportó al laboratorio donde se mantuvo en refrigeración.

En Maruata, Michoacán, se seleccionaron 7 huevos no eclosionados de Lepidochelys, y en Mexiquillo, Michoacán, se selecciona

- ron, 10 huevos no eclosionados de Dermochelys.
- 2.- Trabajo de laboratorio.
- 2.1 Análisis fisico-químico parcial del moco efectuandose en el la

boratorio de Cirugía Experimental de la Unidad de Investiga--ción Biomédica de Occidente del IMSS y abarcó los siguientes -aspectos:

- 2.1.1 Determinación del pH del moco utilizando un potenciómetro -Corning Scientific instruments Modelo 7 (9). Esta determina
  ción se hizo el mismo día que las muestras llegaron al labo-
- 2.1.2 Determinación de la osmolaridad del moco utilizando un osmómetro digital automático (10). Osmette A, precision systems, inc.
- 2.1.3 Determinación de cloro por el método de Schales y Schales -(11).
- 2.1.4 Determinación de sodio por flamometría (12). Flamómetro coleman modelo 21.
- 2.1.5 Determinación de potasio por flamometría (12). Flamómetro coleman modelo 21.
- 2.1.6 Determinación de calcio por flamometría (12). Flamómetro coleman modelo 21.
- 2.1.7 Determinación colorimétrica de proteínas totales, albúmina y

- globulina por el método de Biuret (13). Utilizando el espectrofotómetro coleman junior II modelo 6-20.
- 2.1.8 Determinación colorimétrica de glucosa por la técnica de --
  Hultman con ortotoluidina (14). Utilizando el espectrofotóme

  tro coleman junior II modelo 6-20. Se hizo el mismo día que

  llegaron las muestras al laboratorio.
- 2.1.9 Cromatografía en capa fina de aminoácidos (15).
- 2.1.10 Cromatografía en capa fina de mono, di y oligosacáridos (16).
- 2.1.11 Cuantificación colorimétrica de mucopolisacáridos (17). Utilizando el espectrofotómetro Zeizz PMQ-3.
- La tabla 2 explica el número de muestras de moco colectadas en las distintas playas, para las diferentes pruebas realizadas en el aná lisis fisico-químico. En las determinaciones el tamaño de muestra varió, ya que en ocasiones la cantidad de moco colectada resultó insuficiente para correr las pruebas.
- 2.2 Estudio microbiológico del moco, efectuado en el laboratorio 
  del Instituto de Patología Infecciosa y Experimental de la Uni

  versidad de Guadalajara.
- 2.2.1 Cuantificación de mesofilicos aerobios y coliformes presen--

tes en el moco, por el método de dilución en tubo y recuento en placa utilizando agar estandar y medio selectivo de agar bilis rojo violeta (18). Las cuales se interpretaron a las - 24 hrs de incubación. Trabajandose 14, 13 y 11 muestras de - Mismaloya, Jalisco, Maruata, Michoacán y Mexiquillo, Michoacán, respectivamente.

Esta prueba se hizo inmediatamente después de que las mues-tras llegaron al laboratorio.

- 2.2.2 Aislamiento e identificación de mesofílicos aerobios presentes en el moco de 7 <u>Lepidochelys</u> de Maruata, Michoacán y de lo Dermochelys de Mexiquillo, Michoacán.
- 2.2.3 Aislamiento e identificación de mesofílicos aerobios presentes en huevos no eclosionados.

El huevo no eclosionado se mantuvo en refrigeración y para trabajarlo se limpió con una solución antiséptica (Isodine)

para eliminar bacterias del exterior de la membrana, una vez

terminada la limpieza se vació el interior del huevo en un mortero estéril desechándose la membrana, se trituró el contenido y se guardó en un frasco estéril. Posteriomente se --

aislaron los microorganismos inoculando cajas de Petri con medio de gelosa sangre y agar Eosina Azul de Metileno (EMB) y se identificaron a través de pruebas bioquímicas (19,20 y21).

Se trabajaron 7 huevos no eclosionados de <u>Lepidochelys</u> de M<u>a</u>
ruata, Michoacán y 10 huevos no eclosionados de <u>Dermochelys</u>.

Las pruebas bioquímicas utilizadas son:

- Rojo de metilo (MR). Acidez o alcalinidad total.
- Citrato de Simmons. Utilización del citrato como única fuente de carbono.
- MIO: Movilidad, producción de indcl, descarboxilación de la ornitina.
- Fa: Presencia de la enzima fenilalaninadesaminasa.
- TSI: Fermentación de los azúcares glucosa, sacarosa y lactosa, producción de gas, ácido sulfídrico  $(\mathrm{H}_2\mathrm{S})$ .
- LIA: Descarboxilación de la lisina.
- Urea: Hidrólisis.
- Catalasa: Presencia de
- Oxidasa: Presencia de
- OF manitol: Oxidación o fermentación

- OF glucosa: Oxidación o fermentación
- Crecimiento en SS.
- Reducción de nitratos a nitritos y de nitritos e nitrógeno.
- Na Cl al 6.5% tolerancia.
- Cloruro de Etilhidrocupreina (PN)
- 3.- Análisis de datos:
- 3.1 Se utilizó la prueba de X, con corrección de Yates, para la contrastación de resultados obtenidos en el experimento de --efecto del moco en los índices de eclosión. Considerandose el límite de significancia menor de 0.05, (P<0.05).
- 3.2 Para los resultados obtenidos en el análisis fisico-químico del moco, se utilizaron medidas de variación continúa, como la media y la desviación estandar. Para la contrastación de me-- dias se utilizó la prueba "t" de student estableciendose el ni vel de significancia menor de 0.05, (P< 0.05).
- 3.3 En relación a las bacterias presentes en moco y huevo no eclo
  .
  . sionado de la misma tortuga, se consideró la "discordancia"; tomándose como positiva cuando ninguna de las bacterias encontra

das en el moco coincidió con las bacterias encontradas en el -

nuevo no eclosionado.

## RESULTADOS:

- En el experimento de efecto del moco en los indices de eclosión realizade en el Playón de Mismaloya, Jalisco se incubaron 1806 -huevos provenientes de diecisiete <u>Lepidochelys</u>, divididos en tres
  grupos. (Tabla 3):
- a) Quinientos veinticuatro "huevos con arena" presentaron tres--cientos cincuenta y una eclosiones lo que representa un porcen
  taje de 66.98.
- b) De seiscientos setenta y un "huevos con moco" sembrados, eclosionaron cuatrocientos ochenta y uno dando un porcentaje de --71.68.
- c) Los "huevos limpios" hicieron un total de seiscientos once, de los cuales eclosionaron cuatrocientos setenta y cuatro equiva-
- En la tabla 4, se muestra el resultado del análisis estadístico de X,<sup>2</sup> con corrección de Yates, de las variables del Playón de -- Mismaloya, Jal. en donde se nota, que las proporciones obtenidas en los grupos a) y b) difieren significativamente de la propor--- ción del grupo c).

En la Playa de Maruata, Michoacán (Tabla 5), se colectaron nueve nidos de <u>Lepidochelys</u> con un total de 918 huevos incubados en tres grupos:

- a) "Huevos con moco" con un número de trescientos cuatro, de los cuales eclosionaron ciento doce que da un porcentaje de 36.84.
- b) "Huevos enjuagados" que sumaron trescientos siete, eclosionando ciento treinta y ocho representando un porcentaje de 44.95.
- c) "Huevos limpios" un total de trescientos siete, eclosionaron ciento setenta y uno con un porcentaje de 55.70.
  - Ahora bién; para los grupos a) y b) se aumentó el tamaño de -muestra a 12 tortugas, modificandose los valores:
- a) "Huevos con moco" sumando cuatrocientos treinta y seis y eclosionando doscientos treinta y dos con un porcentaje de 53.21.
- b) "Huevos enjuagados" con un número de cuatrocientos treinta y nueve de los cuales eclosionaron doscientos sesenta y siete -- dando un porcentaje de 60.82.

La tabla 6 señala que la diferencia en las proporciones de eclo-sión en la Playa de Maruata, Michoacán si fué significativa.

En el Playón de Mexiquillo, Michoacán (Tabla 7) el total de hue-vos fué de quinientos setenta y tres colectados de nueve hembras de Dermochelys divididos en:

- a) "Huevos con moco" un total de doscientos ochenta y cinco de -los cuales eclosionaron ciento cincuenta y ocho, que dá un por
  centaje de 55.43.
- b) "Huevos enjuagados" con un número de doscientos ochenta y ocho y de estos eclosionaron ciento cincuenta y seis con un porcentaje de 54.16.

En la tabla 8 se indica que la diferencia en los valores de eclosión en el Playón de Mexiquillo, Michoacán no fué significativa con una F >0.05.

Resultados obtenidos en el análisis fisico-químico del moco, con la contrastación estadística utilizando la prueba "t" de student.

La tabla 9 muestra los valores medios obtenidos en la determina-ción de pH, donde se observaron diferencias estadisticamente sig-

La tabla 10 muestra los valores promedio obtenidos en la determinación de la osmolaridad, se observa que no hubo diferencias estadisticamente significativas.

La tabla 11 muestra los valores promedio obtenidos en la determinación de cloro, puede observarse que no hubo diferencias estadis
ticamente significativas.

La tabla 12 muestra los valores promedio obtenidos en la determinación de sodio, donde hubo diferencias estadisticamente significativas entre <u>Lepidochelys</u> de Mismaloya, Jal. contra <u>Lepidochelys</u> de Maruata, Mich.; y entre <u>Lepidochelys</u> de Maruata, Mich., contra <u>Dermochelys</u> de Mexiquillo, Mich.

La tabla 13 muestra los valores promedio obtenidos en la determinación de potasio, donde hubo diferencias estadisticamente significativas entre los valores de <u>Lepidochelys</u>, tanto de Mismaloya,

Jal., como de Maruata, Mich., contra <u>Dermochelys</u> de Mexiquillo, Mich.

La tabla 14 muestra los valores promedio obtenidos en la determi.
nación de calcio, se observa una diferencia estadisticamente significativa entre las Lepidochelys de Mismaloya, Jal., contra las

Dermochelys de Mexiquillo, Mich.

La tabla 15 muestra los valores promedio obtenidos en la determinación de proteínas totales, donde hubo diferencias estadistica-mente significativas en los valores de <u>Lepidochelys</u> de Mismaloya,

Jal., contra <u>Lepidochelys</u> de Maruata, Mich. y de <u>Dermochelys</u> de Me
xiquillo, Mich.

La tabla 16 muestra los valores promedio obtenidos en la determinación de albúmina. Y no hubo diferencias estadisticamente significativas.

La tabla 17 muestra los valores promedio en la determinación de - globulinas. Se observa que no hubo diferencias estadisticamente -- significativas.

La tabla 18 muestra los valores promedio obtenidos en la determinación de glucosa. Hubo diferencias estadisticamente significativas entre Lepidochelys de Mismaloya, Jal., contra Lepidochelys de Maruata, Mich.

La tabla 19 muestra los valores promedio obtenidos en la cuantifi.
.
cación de mucopolisacáridos. Se observan diferencías estadisticamente significativas entre Lepidochelys de Maruata, Mich., contra

Dermochelys de Mexiquillo, Mich. y entre las especies de Lepido-chelys y Dermochelys.

En Maruata, Mich., el día 05-08-87 a inicios de la temporada de <u>a</u> nidación se colectó moco a 11 <u>Lepidochelys</u> y el día 18-09-87, a - mediados de la misma temporada se realizó un segundo muestreo colectando 8 muestras de moco de <u>Lepidochelys</u>. A las primeras 11 no se les determinó el pH, las proteínas totales, la albúmina ni las globulinas.

La tabla 20 muestra los valores promedio obtenidos en los diferentes muestreos realizados en Maruata, Mich., para la determinación de la osmolaridad donde las diferencias son estadisticamente significativas.

La tabla 21 muestra los valores promedic obtenidos en la determinación de cloro de los diferentes muestreos realizados en Maruata,
Mich. y las diferencias no son estadisticamente significativas.

En la tabla 22 se observan los valores promedio de la determina-ción de sodio en los diferentes muestreos realizados en Maruata,

Mich. Las diferencias no son estadisticamente significativas.

Los valores promedio obtenidos en la determinación de potasio para los diferentes muestreos realizados en Maruata, Mich., se indican en la tabla 23. El análisis estadístico de los valores fué significativo.

La tabla 24 señala los valores promedio obtenidos en la determina ción de calcio de los diferentes muestreos realizados en Maruata, Mich. Las diferencias no son estadisticamente significativas.

En la tabla 25, están los valores promedio obtenidos de los diferentes muestreos realizados en Maruata, Mich., en la determina---ción de la glucosa, donde las diferencias si son estadisticamente

Y

significativas.

La tabla 26 muestra los valores promedio obtenidos en la cuantificación de mucopolisacáridos de las diferentes colectas realizadas en Maruata, Mich. Aquí las diferencias no son estadisticamente -- significativas.

Las cromatografías de aminoácidos y azúcares resultaron negativas.

La figura 1 muestra la cromatografía de aminoácidos de 5 muestras

de <u>Lepidochelys</u>, colectadas en Mismaloya, Jal. La figura 2 mues--

tra la cromatografía de azúcares de estas mismas muestras.

Las figuras 3 y 4 muestran la cromatografía de aminoácidos y azúcares en: 1.- Una <u>Lepidochelys</u> de Mismaloya, Jal. 2.- Una <u>Lepido-</u>
chelys de Maruata, Mich.; y 3.- Una <u>Dermochelys</u> de Mexiquillo, -Mich. En ambas figuras los resultados son negativos.

En el estudio microbiológico realizado, se observaron los siguientes resultados:

En las 7 muestras de moco y de huevos no eclosionados de <u>Lepido--</u>chelys colectadas en Maruata, Mich. se encontró:

- En moco se aislé un total de 15 cepas y se identificaron 12 tipos diferentes de bacterias.
- En huevos no eclosionados se aislaron un total de 12 cepas y se identificaron 7 tipos diferentes de bacterias, (Tabla 27).

La tabla 28 muestra el porcentaje de la frecuencia de las dife-rentes bacterias encontradas en moco y huevo no eclosionado de 7

Lepidochelys

En Mexiquillo, Mich., se tomaron 10 muestras de <u>Dermochelys</u> para el aislamiento e identificación de bacterias presentes en~moco y huevos no eclosionados:

- En moco se aíslaron un total de 24 cepas y se identificaron 13 tipos diferentes de bacterias.
- En huevo no eclosionado se aislaron 21 cepas y se identificaron 12 tipos diferentes de bacterias (Tabla 29).

En la tabla 30 se observa el porcentaje de la frecuencia de bacterias encontradas en moco y huevos no eclosionado de  $\underline{\text{Dermochelys}}$ , (N=10).

Para la identificación de bacterias presentes en el moco y en hue vos no eclosionados se muestrearon 7 <u>Lepidochelys</u> de Maruata, --Mich. (Tabla 27) y 10 <u>Dermochelys</u> de Mexiquillo, Mich. (Tabla 29).

Al sumarlas nos da una N=17 tortugas muestreadas. Del total de 17 tortugas se encontró discordancia en 9 muestras dando un porcenta je de 52.94 y no se encontró discordancia en 8 muestras con un --

porcentaje de 47.06 (Tabla 31).

Resultados obtenidos en el recuento de mesofílicos aerobios y co-

liformes presentes en el moco.

La tabla 32 muestra el número de bacterias por mililitro de moco,

de 14 Lepidochelys de Mismaloya, Jal.

La tabla 33 muestra el número de bacterias por mililitro de moco,

de 13 Lepidochelys de Maruata, Mich.

La tabla 34 muestra el número de bacterias por mililitro de moco de 11 Dermochelys muestreadas en Mexiquillo, Mich.

## DISCUSION:

En los resultados del experimento de efecto del moco en los indices de eclosión tanto en Mismaloya, Jal. como en Maruata, Mich. -(Tablas 3 y 5), se observa que el grupo de "huevos limpios" tuvo mejor índice de eclosión que los demás grupos, pudiendo esto de-berse: A las condiciones de manejo diferentes que se les dió du-rante el transporte del huevo hacia el "vivero" comparado con el grupo de "huevos con arena" (Tabla 3). El huevo al ser ovipositado pasa por la cloaca arrastrando las tacterias de la flora intes tinal que se encuentran ahí, quedando atrapadas en mayor propor-ción en el moco (Tablas 32, 33 y 34), y que al sembrarse junto --con los "huevos con moco" (Tablas 3 y 5), propiciara un riesgo ma yor de contaminación bacteriana durante la incubación del huevo. El enjuagar con agua destilada estéril los huevos (grupo "Huevos enjuagados" Tablas 5 y 7), si bién eliminó bacterias también eliminó moco y evitó que éste al secarse en la membrana formara una película. El grupo "huevos limpios" se transportó al "vivero" en el moco, pero una vez ahí se limpió el huevo utilizando guantes y

Papel absorvente estériles, la limpieza permitió reducir el núme-

ro de bacterias al eliminar el exceso de moco y también permitió que éste secara formando una película alrededor de la membrana. 
pe la comparación de los grupos "huevos limpios" y "huevos enjuagados" (Tabla 5), la diferencia en los porcentajes de eclosión su
giere que la permanencia de la película de moco favorece la via-bilidad del huevo, esto es posiblemente porque la película sirva

como sellador final en la maduración del huevo y que al enjuagar
lo se altere la porosidad de la membrana y por lo tanto aumentar

la mortalidad de los embriones.

Los resultados obtenidos en el playón de Mexiquillo, Mich. (Tabla 7), no son significativos debiendose tal vez al poco tamaño de -- muestra.

Aunque los datos obtenidos en el presente estudio no son concluyentes, los resultados hasta aquí discutidos pudieran tener valor
aplicativo en los programas de protección y conservación de la -tortuga marina, ya que; en la mayoría de las zonas de anidación,
las condiciones de colecta y transporte del huevo son similares a
las que se le dió al grupo "huevos con arena" (pag. 6). Para fines prácticos dentro de dichos programas resultaría eficaz: colec

tar el huevo y el moco directamente de la tortuga en una bolsa de plástico nueva; amarrar la bolsa y transportarla al "vivero" del campamento; esperar a que el moco se sedimente; cortar una esquina inferior y tirar el exceso de moco para eliminar bacterias; va ciar el huevo al nido artificial directamente de la bolsa (sin to car el huevo con las manos); y registrar el número de huevos sembrados solo una vez y preferentemente al término de la eclosión - (suma de cascarones y de huevos no eclosionados), lo que evita la manipulación directa del huevo.

Sería interesante comparar resultados entre los índices de eclosión del grupo "huevos limpios" contra índices de eclosión de ni
dos naturales, ya que si bién; estos evitan los incovenientes del
transporte y sembrado artificial del huevo, el arrastre de bacterias atrapadas en el moco durante la oviposición, nos dá un riesgo mayor de contaminación bacteriana durante el periódo de incuba

Dentro de los resultados obtenidos en el análisis fisico-químico del moco, se observa que existen diferencias estadisticamente sig

ción.

nificativas entre los valores obtenidos en: La determinación del pH (Tabla 9). La determinación de sodio (Tabla 12). La determinación de potasio (Tabla 13). La determinación de calcio (Tabla 14). La determinación de proteínas totales (Tabla 15). La determinación de glucosa (Tabla 18). Y cuantificación de mucopolisacáridos (Tabla 19).

Estas diferencias pudieran deberse a variaciones:

- Ambientales en las distintas playas de anidación.
- Entre las especies.
- En la dieta de las tortugas.
- En el tiempo de traslado de las muestras de moco de la playa al laboratorio.

Para tratar de explicar la variación en los valores de pH (Tabla 9), creemos que pudo haber influído además, la cantidad de bacterias presentes en el moco.

Los resultados estadísticos de las determinaciones de potasio (Tabla 13), sugieren que pudiera existir una diferencia entre especies, ya que; Lepidochelys de Mismaloya, Jal., contra Dermochelys de Mexiquillo, Mich., fué estadisticamente significativa; Lepido--

chelys de Maruata, Mich., contra <u>Dermochelys</u> de Mexiquillo, Mich., también lo fué; y en <u>Lepidochelys</u> contra <u>Dermochelys</u> directamente, se observa esta diferencia estadisticamente significativa.

En la determinación de glucosa (tablas 18 y 25), consideramos que el método utilizado pudiera no ser el adecuado, ya que; al ocasio nar una hidrólisis con la ortotoluidina se pudieran presentar resultados falsos positivos, al liberar glucosa de las moléculas de mucopolisacáridos existentes en el moco. Estos valores de glucosa detectados en el moco hacen suponer que faciliten la prolifera--ción de microrganismos, lo que vendría a apoyar los resultados ob tenidos de mejores índices de eclosión en el grupo "huevos lim--pios" contra el grupo "huevos con moco" (tablas 3 y 5), ya que; al sembrar a estos con el mocó aumenta elriesgo de contaminación por las bacterias arrastradas durante la oviposición, y si estas al aprovechar las moléculas de glucosa se reproducen, entonces el riesgo de contaminación bacteriana en el periodo de incubación -también se incrementa.

En cuanto a los resultados de la osmolaridad, potasio y glucosa - (tablas 20, 23 y 25), de los muestreos realizados en Maruata, ---

Mich., el primero al inicio de la temporada de anidación y el segundo a mitad de la misma, sugieren que existen variaciones de estos tres parámetros a lo largo de la temporada de anidación. Estas variaciones pudieran afectar la porosidad de la membrana y posiblemente el intercambio de gases entre el embrión y el medio ambiente; lo que pudiera reflejar variaciones en los índices de esclosión a lo largo de la temporada de anidación.

Las cromatografías de aminoácidos y de azúcares resultaron negativas (figuras 1, 2, 3 y 4), debiéndose probablemente a que se corrieron hasta 15 y 20 días después de la colecta de muestras, --tiempo suficiente para que las bacterias presentes en el moco pudieran utilizar a estos como fuente de energía.

Para establecer diferencias fisico-químicas entre e intraespecies, es necesario; realizar muestreos representativos a lo largo de la temporada de anidación y trabajar las muestras en la playa o transportarlas al laboratorio transcurriendo el menor tiempo posible.

Las zonas de anidación donde llegan a ovipositar 2 o más especies de tortugas, serían ideales para establecer diferencias fisico- químicas entre ellas, ya que; se elimina el inconveniente de las

variaciones naturales de las distintas zonas de anidación y ha--bría menos variaciones en cuanto a la posible participación en -los resultados debidos a la dieta de las tortugas.

Del total de 17 tortugas muestreadas para su estudio microbiológico (tabla 31), se encontró discordancia en 9 muestras, dando un - porcentaje de 52.94, interpretandose esto como que; en el 52.94% de las muestras, las bacterias del moco no infectaron a los hue-vos no eclosionados muestreados. Y no se encontró discordancia en 8 muestras con un valor de 47.06%; esto adquiere una gran impor-tancia, tomando en cuenta:

- Que las muestras de moco y huevo no eclosionado proceden de la misma tortuga.
- el muestreo del huevo no eclosionado, de alguna manera incrementa la variabilidad ambiental y por lo tanto la discordancia.
- Que el manejo del huevo se hizo con guantes estériles.
- Que al muestrear al azar solo un huevo no eclosionado de todos los posibles en cada nido de tortuga, no se pueden extrapolar los resultados para todos los huevos del nido y por lo tanto -- la representatividad de los huevos no eclosionados muestreados es limitada.
- Que hubo un mejor índice de eclosión en los huevos sembrados -- sin moco respecto a los huevos sembrados con el (tablas 3 y 5).
- Que el número de bacterias presentes por mililitro de moco es elevado (tablas 32, 33 y 34).

Esto pudiera interpretarse; que en el 47.06% de las muestras, las .

bacterias del moco probablemente hayan infectado a los huevos no

eclosionados muestreados.

Después del periódo de incubación, al revisar los nidos se observan los huevos eclosionados en forma de cascarones y huevos no ecclosionados. Dentro de estos, encontramos principalmente:

- Huevos no fecundados. Que presentan el vitelo totalmente intacto (se diferencía muy bién la clara de la yema).
- Huevos con poco y en ocasiones imperceptible desarrollo embrionario. Estos huevos exteriormente presentan una coloración rosa
  da e interiormente se observa el vitelo con una consistencia -granulosa (no hay diferencia entre la clara y la yema).
- Huevos con embriones totalmente visibles y con el vitelo intacto. (Si se diferencía la clara de la yema).
- Huevos con fetos.

con poco desarrollo embrionario.

Si las bacterias presentes en el moco infectan al huevo, esta infección debe ocurrir en las primeras horas o días de la incuba--ción; lo que debe reflejar un aumento de huevos no eclosionados -

En caso de que esta suposición resultara verdadera, al subdividir un nido de tortuga en dos grupos: 1.- Huevos sembrados con moco -

y 2.- Huevos sembrados sin moco, se esperaría una mayor propor---

ción de huevos no eclosionados con poco desarrollo embrionario en el primer grupo. Y si además, se les hiciera un estudio microbio-

lógico a estos huevos, pudiera encontrárseles un valor de no discordancia mayor que en los demás tipos de huevos no eclosionados,

con relación a las bacterías presentes en el moco de la misma to $\underline{\underline{}}$ 

uga.

## CONCLUSIONES:

- 1.- La presencia o ausencia de moco durante el transporte y sem-brado del huevo, si afecta los índices de eclosión.
  - El grupo "huevos limpios" presentó el valor más alto en los índices de eclosión.
- 2.- No hubo diferencias estadísticamente significativas en los va lores de la osmolaridad, cloro, albúmina y globulinas.

Hubo diferencias estadisticamente significativas en los valores del pH para las diferentes playas.

En valores de sodio hubo diferencias estadisticamente signi—
ficativas entre las <u>Lepidochelys</u> de Mismaloya, Jalisco contra
las <u>Lepidochelys</u> de Maruata, Mich. y entre las <u>Lepidoche—</u>
lys de Maruata, Mich. contra las <u>Dermochelys</u> de Mexiquillo,
Mich.

En los valores de potasio hubo diferencias estadisticamente significativas entre los valores de <u>Lepidochelys</u> de Mismaloya,

Jal. y de Maruata, Mich. contra <u>Dermochelys</u> de Mexiquillo, -
Mich.

En los valores de calcio hubo diferencias estadisticamente --

significativas entre los valores de <u>Lepidochelys</u> de Mismaloya,

Jal., contra Dermochelys de Mexiquillo, Mich.

En los valores de proteínas totales hubo diferencias estadisticamente significativas entre <u>Lepidochelys</u> de Mismaloya, Jal.,
contra <u>Lepidochelys</u> de Maruata, Mich. y <u>Lepidochelys</u> de Misma
loya, Jal., contra <u>Dermochelys</u> de Mexiquillo, Mich.

En los valores de la glucosa hubo diferencias estadisticamente significativas entre <u>Lepidochelys</u> de Mismaloya, Jal.,contra <u>Lepidochelys</u> de Maruata, Mich.

En los valores de Mucopolisacáridos hubo diferencias estadisticamente significativas entre <u>Lepidochelys</u> de Maruata, Mich.,
contra <u>Dermochelys</u> de Mexiquillo, Mich. y entre las especies
de <u>Lepidochelys</u> y <u>Dermochelys</u>.

El valor de la osmolaridad al inicio de la temporada de anida ción fué mayor que a mediados de la misma temporada.

El valor del potasio al inicio de la temporada, de anidación fué menor que el registrado a mitad de la misma temporada.

El valor de la glucosa fué mayor al inicio de la temporada de anidación que a mediados de la misma temporada.

de la misma tortuga, fueron no discordantes en el 47.06% de -

las muestras.

APENDICE A: TABLAS

NIDOS NA-

	VIVERO DE COLO- LA MICH.	TURALES - DE COLOLA MICH.	NIDOS DE VIVERO - DE MEXI- QUILLO,- MICH.	NIDOS NA- TURALES - DE MEXI QUILLO, - MICH.
82-83	77.85%	89.72%		
83-84	76.31%	83.03%		 
84-85	79.41%	86.90%	57.7 %	71.9 %
85-86	72.9%	85.6 %	42.59%	56.87%
86-87			49.30%	59.83%
"v:				exiquillo, Mich
	MISMALOYA JALISCO (Lepidochelys)		CH. nelys) (I	MEXIQUILLO MICH. Dermochelys)
pH	12	9		11
Osmolaridad	10	19		11
Cloro	12	20		11
Sodio	12	20		11
Potasio	12	20		11
	cio 12			
Calcio	12	20	į	- 11
	12	9		11
Calcio * Pt.Al.Gl. Glucosa				11
* Pt.Al.Gl.	11 12 a 6	9		11
* Pt.Al.Gl. Glucosa Cromatografí	11 12 a 6	9		11

NIDOS NA-

NIDOS DE

TEMPORADA

NIDOS DE

tes pruebas del análisis fisico-químico, en las distintas playas.

TABLA 3: Resultados obtenidos en el experimento de efecto del moco en los índices de eclosión, en el Playón de Mismaloya, -Jalisco. (N=17) (Lepidochelys).

GRUPOS	a) v	(d av	P > 0.05	No significativo.
GRUPOS	a) v	s c)	P< 0.001	significativo.
GRUPOS	b) ,	vs c)	P< 0.02	significativo.

TABLA 4: Contrastación estadística de resultados obtenidos en el experimento de efecto del moco en los índices de eclo-sión, en el Playón de Mismaloya, Jalisco, utilizando la prueba X,<sup>2</sup>, con corrección de Yates.

GRUPOS		N	HUEVOS SEMBRA DOS.	HUEVOS ECLOSIO NADOS.	HUEVOS NO ECLO SIONA DOS.	% ECLOSION
HUEVOS CON MOCO	a )	9	304	112	192	36.84
HUEVOS ENJUAGADOS	ъ)	9	307	138	169	44.95
HUEVOS LIMPIOS	c )	9	307	. 171	136	55.70
HUEVOS CON MOCO	a )	12*	436	232	204	53.21
HUEVOS ENJUAGADOS	b)	12*	439	267	172	60.82

TABLA 5: Resultados obtenidos en el experimento de efecto del moco en los índices de eclosión en Maruata, Michoacán.

\* 3 nidos sumados. (Lepidochelys)

N		UPOS			
9	a)	vs	ъ)	P > 0.05	No Significativo
9	a)	vs	c)	P < 0.001	Significativo
9	ъ)	٧s	c)	P < 0.01	Significativo
12	a)	vs	b)	P < 0.05	Significativo

TABLA 6: Contrastación estadística de resultados obtenidos en el experimento de efecto del moco en los índices de eclo-sión, en Maruata, Michoacán, utilizando la prueba X,<sup>2</sup>, con corrección de Yates.

GRUPOS	HUEVOS SEMBRADOS	HUEVOS ECLOSIONADOS	HUEVOS NO ECLO SIONA DOS	% ECLOSION
HUEVOS CON MOCO a)	285	158	127	55.43
HUEVOS ENJUAGADOS b)	288	156	132	54.16

TABLA 7: Resultados obtenidos en el experimento de efecto del moco en los índices de eclosión en el Playón de Mexiquillo, Michoacán, (N=9). (Dermochelys).

7		
1 -	i	ļ
GRUPOS	a) vs b)	P >0.05 No Significative
		•
	1	· · _ · _ · _ · _ · _ · _ · _ · _

TABLA 8: Contrastación estadística de resultados obtenidos en el experimento de efecto del moco en los índices de eclosión,
en el Playón de Mexiquillo, Michoacán, utilizando la prue
ba X, 2, con corrección de Yates.

Grupos	N .	₹	SD	Análisis estadístico	("t" de Student)
a) Mismaloya, Jal.	12	8.1	0.6	a vs b P < 0.01	Significativo
b) Maruata, Mich.	9 ;	7.3	0.4	a vs c P < 0.02	Significativo
c) Mexiquillo, Mich.	11	7.6	0.1	b vs c P < 0.05	Significativo

TABLA 9: Valores promedio obtenidos en la determinación de pH.

Grupos	N	χ	SD	Aná	 lis	is	estadístic	0	("t" de Student)
<ul><li>a) Mismaloya, Jal.</li><li>b) Maruata, Mich.</li><li>c) Mexiquillo, Mich.</li></ul>	10 19	195.3 196.36 207.27	20.46 25.25 9.66	a	vs vs	c	P > 0.05 P > 0.05 P > 0.05	No	Significativo Significativo Significativo
1 Lepidochelys (a+b) 2 Dermochelys (c)	29 11	195.96	24.14 9.66	1	v s	2	P >0.05	No	Significativo

TABLA 10: Valores promedio obtenidos en la determinación de la Osmolaridad. mOsm/Kg.

Grupos	N	₹	SD	Análisis estadístico ("t" de Student)
a) Mismaloya, Jal.	12	0.80	0.09	a vs b P > 0.05 No Significativo
b) Maruata, Mich.	20	0.82	0.09	a vs c P > 0.05 No Significativo
c) Mexiquillo, Mich.	11 ·	0.79	0.05	b vs c P > 0.05 No Significativo
l Lepidochelys (a+b)	32	0.81	0.09	1 vs 2 P > 0.05 No Significativo
2 Dermochelys (c)	1,1	0.79	0.05	

TABLA 11: Valores promedio obtenidos en la determinación de Cloro. mEq/L.

Grupos	N	χ	SD	Análisis estadistico ("t" de Student)
a) Mismaloya, Jal.	12	118.7	11.0	a vs b P< 0.01 Significativo
b) Maruata, Mich.	20	128.2	5.0	a vs c P > 0.05 No Significativo
c) Mexiquillo, Mich.	· 11	123.6	4.8	b vs c P< 0.02 Significativo

TABLA 12: Valores promedio obtenidos en la determinación de Sodio. mEq/L.

Grupos	N	x	SD	Análisis estadístico ("t" de Student)
a) Mismaloya, Jal.	12	9.4	5.6	a vs b P> 0.05 No Significativo
b) Maruata, Mich.	20	7.9	4.3	a vs c P< 0.02 Significative
c) Mexiquillo, Mich.	1.1	4.9	1.0	b vs c P< 0.05 Significative
1 Lepidochelys (a + b)	32	8.5	4.9	1 vs 2 P< 0.05 Significative
2 Dermochelys (c)	11	4.9	1.0	

TABLA 13: Valores promedio obtenidos en la determinación de Potasio. mEq/L.

Grupos	N	<del>x</del>	sp	Análisis estadístico ("t" de Student)
a) Mismaloya, Jal.	12	9.6	5.4	a vs b P> 0.05 No Significativo
b) Maruata, Mich.	20	6.8	3.5	a vs c P< 0.02 Significativo
c) Mexiquillo, Mich.	11	5.0	0.9	b vs c P> 0.05 No Significativo
1 Lepidochelys (a+b)	32	7.8	4.5	1 vs 2 P> 0.05 No Significativo
2 Dermochelys (c)	11	5.0	0.9	

TABLA 14: Valores promedio obtenidos en la determinación de Calcio. mgr/100 ml.

	Grupos	N	Ā ∜ SD	Análisis estadístico ("t" de Student)
a)	Mismaloya, Jal.	11	0.09 0.11	a vs b P< 0.01 Significative
ъ)	Maruata, Mich.	9	0.3 0.2	a vs c P< 0.02 Significative
c)	Mexiquillo, Mich.	11	0.24 0.15	b vs c P > 0.05 No Significativo

TABLA 15: Valores promedio obtenidos en la determinación de Proteinas Totales. gr/100 ml.

Grupos	N	<del>x</del>	SD	Anális	is	estadístic	0	("t" de Student)
a) Mismaloya, Jal.	11	0.04	0.05	a vs	 ъ	P > 0.05	No	Significativo
b) Maruata, Mich.	9	0.07	0.08	avs	С	P > 0.05	No	Significativo
c) Mexiquillo, Mich.	11	0.04	0.06	b vs	c	P > 0.05	No	Significativo
1 Lepidochelys (a+b)	20	0.05	0.07	1 vs	2	P > 0.05	No	Significativo
2 <u>Dermochelys</u> (c)	11	0.04	0.06					

TABLA 16: Valores promedio obtenidos en la determinación de Albúmina. gr/100 ml.

Grupos	Ŋ		SD	Análisis estadístico ("t" de Student)	
a) Mismaloya, Jal.	11	0.25	0.71	a vs b P > 0.05 No Significativo	
b) Maruata, Mich.	9	0.24	0.18	a vs c P > 0.05 No Significativo	·
c) Mexiquillo, Mich.	11	0.19	0.13	b vs c P > 0.05 No Significativo	
1 <u>Lepidochelys</u> (a+b)	20	0.25	0.54	1 vs 2 P > 0.05 No Significativo	: •
2 <u>Dermochelys</u> (c)	11	0.19	0.13	÷	

TABLA 17: Valores promedio obtenidos en la determinación de Globulinas. gr/100 ml.

Grupos	N	X	SD	Análisis estadístico ("t" de Student)
a) Mismaloya, Jal.	12	2.10	3.03	a vs b P< 0.01 Significativo
b) Maruata, Mich.	20	17.74	19.26	a vs c P. > 0.05 No Significativo
c) Mexiquillo, Mich.	11	6.38	7.76	b vs c P > 0.05 No Significativo

TABLA 18: Valores promedio obtenidos en la determinación de Glucosa. mgr/100 ml.

GRUPOS		Ā	SD	Análi	to the title of	stadístico ('	't" de Student)
a) Mismaloya, Jal.	12	0.47	0.26	a vs		P > 0.05 No	Significativo
b) Maruata, Mich.	20	0.37	0.23	a vs	С	P > 0.05 No	Significativo
c ) Mexiquillo, Mich.	11	1.61	2.35	b vs	c	P< 0.05	Significativo
1 Lepidochelys (a+b)	32	0.428	0.245	1 vs	2	P< 0.01	Significativo
2 Dermochelys (c)	11	1.61	2.35				

TABLA 19: Valores promedio obtenidos en la determinación de Mucopolisacáridos. mgr/ml.

Fecha de colecta	N	x	SD	Contrastación ("t" de student)
05 - 08 - 87	10	210.7	26.6	05-08-87 vs 18-09-87
18 - 09 - 87	8	179.5	13.99	P < 0.01 Significativo.

TABLA 20: Determinación de la osmolaridad en la Playa de Maruata, Michoacán. mOsm/Kg.

Fecha de colecta	N	x	SD	Contrastación ("t" de student)
05 - 08 - 87	11	0.8	0.037	05-08-87 vs 18-09-87
18 - 09 - 87	8	0.86	0.252	P > 0.05 No Significativo

TABLA 21: Determinación de cloro en la Playa de Maruata, Mich. mEq/L.

Fecha de colecta	N	x	SD	Contrastación ("t" de student)
05 - 08 - 87	11	126.1	1.814	05-08-87 vs 18-09-87
18 - 09 - 87	8	130.4	6.926	P > 0.05 No Significativo

TABLA 22: Determinación de Sodio en la Playa de Maruata, Michoacán.

mEq/L.

	Fecha de colecta	N	x	SD	Contrastación ("t" de student)
1	05 - 08 - 87	11	5	0.463	05-08-87 vs 18-09-87
	18 - 09 - 87	8	11.7	4.96	P < 0.001 Significativo

TABLA 23: Determinación de Potasio en la playa de Maruata, Michoacán.

mEq/L.

Fecha de colecta	N	x	SD	Contrastación ("t" de student)
05 - 08 - 87	11	5.2	2.785	05-08-87 vs 18-09-87
18 - 09 - 87	8	9.1	3. <b>7</b> 13	P > 0.05 No Significativo

TABLA 24: Determinación de Calcio en la playa de Maruata, Michoacán. mgr/100

Fecha de colecta	N	x	SD	Contrastación ("t" de student)
05 - 08 - 87	11	30.5	17.9	05-08-87 vs 18-09-87
18 - 09 - 87	8	2.15	0.41	P<0.001 Significativo

TABLA 25: Determinación de Glucosa en la Playa de Maruata, Michoacán. mgr/100 ml.

Fecha de colecta	N	x	SD	Contrastación ("t" de Student)
05 - 08 - 87	11	0.341	0.226	05-08-87 vs 18-09-87
18 - 09 - 87	8	0.462	0.281	P >0.05 No Significativo

TABLA 26: Determinación de Mucopolisacáridos en la playa de Maruata, Michoacán. mgr/ml.

Tortuga	Bacterias identificadas	Bacterias identificadas.	
nuestreada	en moco	en huevos no eclosionados	
1	Salmonella sp	Enterobacter aglomerans	Discordante
	Klebsiella pneumoneae	Enterobacter cloacae	
2	Enterobacter cloacae	* Enterobacter cloacae	No discordante
	Acinetobacter calcoaceticus		
3	Proteus mirabilis	* Proteus mirabilis	No discordante
	Serratia rubidaea		
	Shigella sp	•	
	Klebsiella pneumoneae		
4	Moraxella sp	Proteus mirabilis	Discordante
	Pseudomonas acidovorans	Pseudomonas aeruginosa	
5	Pseudomonas aeruginosa	Proteus vulgaris	Discordante
		Alcaligenes sp	
6	Klebsiella pneumoneae	Proteus vulgaris	Discordante
	Alcaligenes sp	Acinetobacter calcoaceticus	
7	Acinetobacter calcoaceticus	* Acinetobacter calcoaceticus	No discordante
	Citrobacter freundii	Enterobacter cloacae	

Total de cepas

15

12

## aisladas

TABLA 27: Bacterias aisladas e identificadas en moco y huevo no eclosionado de Lepidochelys (N=7).

\* Bacterias coincidentes en moco y huevo no eclosionado de la misma tortuga.

мосо	%	HUEVO NO ECLOSIONADO	%
Enterobacter cloacae	6.66	Enterobacter cloacae	25.00
Proteus mirabilis	6.66	Proteus mirabilis	25.00
Acinetobacter calcoaceticus	13.33	Acinetobacter calcoaceticus	16.66
Pseudomonas aeruginosa	6.66	Pseudomonas aeruginosa	8.33
Alcaligenes sp	6.66	Alcaligenes sp	~8.33
Citrobacter freundii	6.66	Enterobacter aglomerans	8.33
Pseudomonas acidovorans	6.66	Proteus vulgaris	8 <b>.3</b> 3
Moraxella sp	6.66		
Serratia rubidaea	6.66		
Shigella sp	6.66		
Salmonella sp	6.66		
Klebsiella pneumoneae	20.00		

TABLA 28: Porcentaje de la frecuencia de las diferentes bacterias encontradas en moco y huevos no eclosionados en 7 Lepidochelys.

NOTA: Las cepas de Salmonella y Shigella no se tipificaron.

Tortuga Muestreada	Bacterias identificadas en moco	Bacterias identificadas en huevos no eclosionados	•
1	Acinetobacter calcoaceticus* Alcaligenes sp	Acinetobacter calcoaceticus Pseudomonas acidovorans Moraxella sp	No discordante
2	Acinetobacter calcoaceticus Salmonella sp	Escherichia coli Alcaligenes sp	discordante
3	Proteus mirabilis * Serratia rubidaea Shigella sp Klebsiella pneumoneae	Proteus mirabilis	No discordante
4	Acinetobacter calcoaceticus Moraxella sp	Proteus mirabilis	discordante
5	Enterobacter cloacae Citrobacter diversus Acinetobacter calcoaceticus	Proteus mirabilis Estreptococo faecalis	discordante
6	Yersinia enterocolitica Pseudomonas cepacia	Alcaligenes sp	discordante
7	Serratia rubidaea * Pseudomonas aeruginosa * Klebsiella pneumonėae	Serratia rubidaea Pseudomonas aeruginosa	No discordante
8	Acinetobacter calcoaceticus	Citrobacter freundii Enterobacter cloacae	discordante

ţ

^

9	Pseudomonas aeruginosa * Salmonella sp Acinetobacter calcoaceticus	Pseudomonas aeruginosa Citrobacter freundii Proteus mirabilis Alcaligenes sp	No discordante
10	Citrobacter diversus * Alcaligenes sp * Enterobacter cloacae	Citrobacter diversus Alcaligenes sp Pseudomonas aeruginosa	No discordante

Total de cepas

aisladas

24

21

TABLA 29: Bacterias aisladas e identificadas en moco y huevos no eclosionados de  $\underline{\text{Dermoche}}$ - $\underline{\text{Lys}} \text{ (N=10)}.$ 

\* Bacterias coincidentes en moco y huevo no eclosionado de la misma tortuga.

мосо	%	HUEVO NO ECLOSIONADO	%
Alcaligenes sp	8.33	Alcaligenes sp	23.8
Pseudomonas aeruginosa	12.5	Pseudomonas aeruginosa	19.04
Acinetobacter calcoaceticus	25.00	Acinetobacter calcoaceti	
		cus	4.76
Moraxella sp	4.16	Moraxella sp	4.76
Enterobacter cloacae	4.16	Enterobacter cloacae	4.76
Pseudomonas acidovorans	4.16	Pseudomonas acidovorans	4.76
Serratia rubidaea	4.16	Serratia rubidaea	4.76
Citrobacter diversus	8.33	Citrobacter diversus	4.76
Salmonella sp	8.33	Proteus mirabilis	9.52
klebsiella pneumoneae	8.33	Citrobacter freundii	9.52
Yersinia enterocolitica	4.16	Estreptococo faecalis	4.76
Pseudomonas cepacia	4.16	Escherichia coli	4.76
Enterobacter aglomerans	4.16		

TABLA 30: Porcentaje de la frecuencia de las diferentes bacterias encontradas en moco y huevos no eclosionados en 10 Dermochelys.

	Número de muestras	%
Discordancia	9	52.94
No discordancia	8	47.06
	N = 17	

TABLA 31: Valores de la discordancia obtenidos en el estudio microbiológico del moco y huevo no eclosionado de la misma -tortuga.

2.4

4814 32. jos

Tortuga Muestreada	No de Mesofílicos Aerobios	No de bacterias
2	11 600 000 31 000	112 000 14 000 11 700 000
3 4 5	722 000 000 540 000 000 18 100 000 000	89 000 000 12 500 000 000
6 7 8	6 900 000 000 2 800 000 000 2 120 000 000	5 100 000 000 1 500 000 000 270 000 000
9	50 000 000 000 11 000 7 250 000	40 800 000 000 0 180 000
12	7 600 000 164 000 1 180	2 100 000 151 000

TABLA 32: Resultados obtenidos en el recuento de bacterias presentes en moco de <u>Lepidochelys</u> colectado en Mismaloya, Ja-lisco. (No de bacterias/ml. de moco) (N=14).

Tortuga	No.	de Nes	ofílicos	No. de bacterias
Muestreada	·	Areo	bios	Coliformes
1		146 00	0 000	12 400 000
2	11	720 00	0 000	77 000 000
3	2	330 · 00	0 000	1 850 000 000
× 4		<u>्</u> रि	3 000	500
5		3 32	0 000	500
6		26	0 000	50 000
7		5 15	0 000	34 000
8	·	8	2 000	200
9		2 44	0 000	340
10		3 20	0 000	1 800
11		42	8 000	300
12,-		5	6 000	420
13		7 70	0 000	4 700 000

TABLA 33: Resultados obtnidos en el recuento de bacterias presen-tes en moco de <u>Lepidochelys</u> colectado en Maruata, Mich.
(No. bacterias/ml. de moco)(N=13).

Tortuga	No. de Mesofílicos	No. de Bacterias
Nuestreada	Aerobios	Coliformes
1	4,300 000 000	66 000 000
2	33 000	1 000
3	14 000	780
4	940 000 000	230 000
5	430 000	110 000
6	10 700 000	5 600 000
7	770 000	52 000
8	67 000 000	46 000
9	70 000 000	115 000
10	43 000 000	122 000
11	156 000 000	80 000

TABLA 34: Resultados obtenidos en el recuento de bacterias presentes en moco de <u>Dermochelys</u> colectado en Mexiquillo, Mi-choacán, (No. de bacterias/ml. de moco) (N=11).

APENDICE B: FIGURAS



FIGURA 1.- Cromatografía de aminóácidos de 5 Lepidochelys colec

tadas en Mismaloya, Jal.

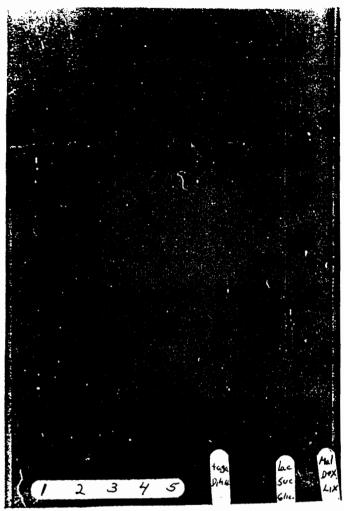


FIGURA 2.- Cromatografía de Azúcares de 5 Lepidochelys colecta--

das en Mismaloya, Jal.

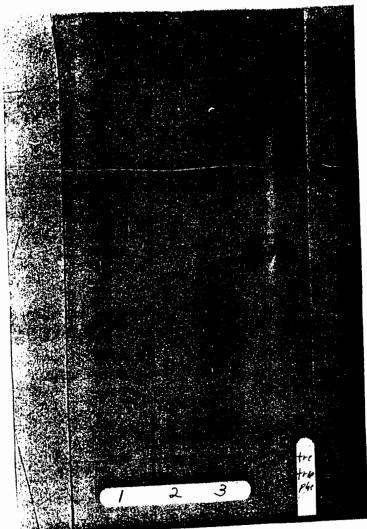


FIGURA 3.- Cromatografía de Aminoácidos de: 1.- Una Lepidochelys

de Mismaloya, Jal. 2.- Una Lepidochelys de Maruata, 
Mich. Y 3.- Una Dermochelys de Mexiquillo, Mich.

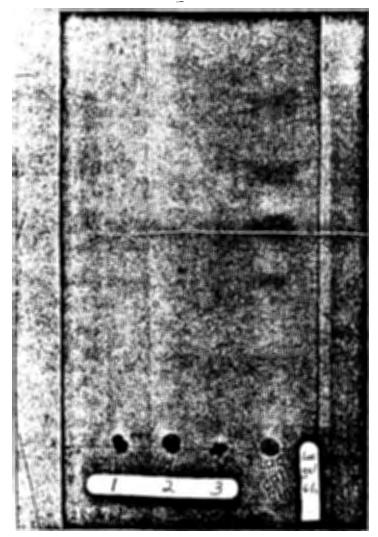


FIGURA 4.- Cromatografía de Azúcares de: 1.- Una <u>Lepidochelys</u> de

Mismaloya, Jal. 2.- Una <u>Lepidochelys</u> de Maruata, Mich.

Y 3.- Una <u>Dermochelys</u> de Mexiquillo, Mich.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Alvarado J. et al (1985). Ecología y conservación de las tor tugas marinas de Michoacán, México. U.M.S.N.H. Reporte técnico temporada 1984-85. Escuela de Biología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, México.
- 2.- Márquez M., R., Villanueva A., O. (1982) Situación actual y recomendaciones para el manejo de las tortugas marinas de la costa occidental Mexicana, en especial la tortuga golfina -- Lepidochelys olivacea. Ciencia pesquera. Instituto Nacional de Pesca. Secretaría de Pesca. México (3): 83-91.
- 3.- Márquez M., R., et al. (1977) Instructivo para la protección de las tortugas marinas. Instituto Nacional de Pesca. Serie divulgación: 2:35 pp.
- 4.- Pritchard, P.; Bacon, P., Berry, F., Carr, A; Fletmeyer, J. Gallagher, R.; Hopkins, S; Lankford, R; Márquez, R; Ogren, L; Pringle, W.Jr.; Reichart, H; y Witham, R. (1983). Manual sobre técnicas de investigación y conservación de las tortugas marinas. Segunda edición K. A. Bjorndal y G.H. Balazs, -

Editores. Center for environmental education. Washington, D.

c.

- 5.- Alvarado J. Comunicación personal.
- 6.- Sarti L. Comunicación personal.
- 7.- Colin J. Limpus, et al (1979). Movement induced Mortality of Loggerhead eggs. Herpetologica, 35 (4): 335-338.
- 8.- Colin J. Limpus (1980). Potential problems in artificial incubation of turtle eggs. Herpetofauna 12 (1): 23.
- 9.- Lehninger. Bioquímica. Segunda edición. Omega. 1982 pp 48-54.
- 10.- Clinical Chemistry. Principes an technics. Second Edition, Bio-science Laboratories, Edited By Henry, Cannon, Winkelman.
  Harper & Row. 1974 pp 736-739.
- 11.- Bayardo P.B.E: Apuntes de Análisis Clínicos. 1971; 145-147.
- 12.- Bayardo P.B.E: Apuntes de Análisis Clínicos. 1971; 147-149.
- 13.- Bayardo P.B.E. Apuntes de Análisis Clínicos. 1971; 122-124.
- 14.- Indice del manual de procedimientos del laborotorio clínico.

  IMSS. 1978: 238 240.
- 15.- Manual de procedimientos del laboratorio de Genética Bioquímica. UIBO IMSS Guadalajara, Jal. 35 - 41.

- 16.- Manual de procedimientos del laboratorio de Genética Bioquímica. UIBO IMSS Guadalajara, Jal. 47-53.
- 17.- Whiterman P.: (1973) The Quantitative Determination of Glycosaminoglycans in Urine with Alcian Blue 86 X. Biochem. J.
  131, 351-357.
- 18.- Pelczar, Reid, Chan. Microbiología. 4º edición (segunda edición en español). McGraw- Hill 1984. pp. 109-116.
- 19.- Lenette, E. H. A., Hausler, J.R. and Shadomy, H.J. editors:

  Manual of clinical Microbiology, 4 th. Edition, American Society of Microbiology, Washington, D.C. 1985.
- 20.- Bushman, R, E., and Gibbons, N.E. Bergey's Manual of Deter-minative Bacteriology. ed. 8. Baltimore, Williams & Wilkins.
- 21.- Metodos para identificar bacilos G- no fermentadores (BGNnF).

  Aguirre L.E. Infectología, año 7, num 6, Junio (1987) 287-298
- 22.- Siegel, S. (1985). Estadística no paramétrica. Editorial -Trillas, segunda edición.
- 23.- Downie, N.M., Heath, R.W. (1973). Métodos estadísticos aplicados. Haper & Row publishers inc. New York. México. Buenos

Aires. Panamá. Bogotá.