

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



" ESTIMACION DE LOS PARAMETROS HEMATOLOGICOS EN NEONATOS DE LEPIDOCHELYS OLIVACEA ECLOSIONADOS EN CONDICIONES SEMINATURALES "

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

LICENCIADO EN BIOLOGIA

PRESENTA :

RICARDO SOLIS ZAMORA

GUADALAJARA, JALISCO, AGOSTO DE 1992.

A mi madre Rosa María por su infinita
paciencia, confianza y cariño.

A Ma. del Consuelo por todo el amor, apoyo y ánimo
que siempre me ha brindado.

A todos mis compañeros del laboratorio de Tortuga
Marina.

A Fco. Martín por la amistad y ayuda
que siempre me ha demostrado.

A todas aquellas personas que creen y laboran por una
convivencia sana y armoniosa con la naturaleza.

RECONOCIMIENTOS

Al Biol. Fco. Javier Perea Díaz, director de esta tesis, por su amistad, apoyo, dedicación y paciencia que me brindo durante mi formación profesional.

Al Biol. Enrique Godínez Domínguez, por su apoyo en el manejo de los programas estadísticos.

Al Biol. Fco de Asís Silva Batiz, por todas las atenciones y facilidades que me otorgo durante el desarrollo de este trabajo.

Al Biol. José Mariscal Romero, por gran ayuda en el manejo de la Bioestadística.

Al Biol. Jorge Rojo Vásquez, por toda la ayuda prestada en el manejo de los programas computacionales.

Al DR. Eulogio Pimienta Barrios, por las facilidades otorgadas en la utilización de su equipo de laboratorio.

Al Biol. Alfredo Corona Rivera, por su desinteresada ayuda en la obtención de la micrografía.

A la Biol. Gabriela Vásquez, por el apoyo en playa en la toma del material biológico

Al Q.F.B. Adolfo Cárdenas, sinodal de este trabajo, por sus valiosas recomendaciones.

A la Q.F.B. Rosa Ma. Domínguez, sinodal del presente, por las observaciones realizadas durante este trabajo.

A todas aquellas personas que de alguna forma contribuyeron en la elaboración de este trabajo.

INDICE GENERAL

| | | |
|------|--|--------|
| I | INTRODUCCION _____ | PAG. 1 |
| II | DIAGNOSIS DE LA ESPECIE <i>Lepidochelys olivacea</i> _ | 2 |
| III | ANTECEDENTES _____ | 4 |
| IV | PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA _____ | 11 |
| V | HIPOTESIS Y OBJETIVOS _____ | 13 |
| VI | MATERIAL Y METODOS _____ | 14 |
| VII | RESULTADOS _____ | 21 |
| VIII | DISCUSION _____ | 28 |
| IX | CONCLUSIONES _____ | 38 |
| X | BIBLIOGRAFIA _____ | 40 |
| XI | CARTA DE ACEPTACION DE LA TESIS _____ | 45 |
| XII | CARTA DEL VISTO BUENO DEL DIRECTOR DE LA TESIS | 61 |
| XIII | APENDICE _____ | 62 |

I. INTRODUCCION

Las tortugas marinas son los representantes más antiguos de los reptiles, aparecieron en el período triásico de la Era Mesozoica, hace aproximadamente 230 millones de años (1). Están ubicadas taxónomicamente en el Orden Chelonia (quelonios), que incluye a más de doscientas especies registradas de tortugas terrestres, dulceacuícolas y marinas registradas (2). Existen ocho especies de tortugas marinas agrupadas en dos familias, la familia DERMOCHELYDAE representada únicamente por la especie Dermochelys coriacea conocida como "Laúd", la familia CHELONIDAE contiene a las siete especies de tortugas marinas restantes: Caretta caretta ("Cahuama"); Eretmochelys imbricata ("Carey"); Chelonia agassisi ("Prieta"); Chelonia depressa ("Kikila"); Chelonia mydas ("Verde"); Lepidochelys kempi ("Lora") y Lepidochelys olivacea ("Golfina") (2, 3). Exceptuando a la Tortuga Kikila todas las demás anidan en las costas del país, en el Pacífico particularmente en Jalisco se ha observado arribar a las playas a Golfina, Prieta, Laúd y Carey (3, 4).

II. Diagnósis de la especie Lepidochelys olivacea

(Tortuga Golfina)

Son animales pulmonados, poiquilótermos y ovíparos, llegan a medir entre 57 y 80 cm de largo curvo de carapacho y con un peso de hasta 45 kg (5), el número de huevos promedio por anidación es de 95 y realizan de dos a tres anidaciones por temporada con periodos de anidación bianuales y trianuales (6).

El cuerpo se encuentra encerrado entre una concha dorsal ósea arqueada llamada carapacho, cubierta por una delgada capa dérmica de color verde grisáceo, con pliegues irregulares que forman espacios lisos denominados escudos o escamas dérmicas (7).

La región ventral se encuentra cubierta por una placa ósea denominada peto o plastrón, también recubierta por una delgada capa dérmica de color amarillo pálido (7).

La cabeza con cuello largo es de forma triangular grande y ancha moderadamente cóncava a los lados, la boca esta formada por un pico córneo, ambos maxilares son lisos y de bordes cortantes. Dos orificios nasales se encuentran en el pico córneo. Los ojos laterales están provistos de párpados superiores e inferiores y con una membrana nictitante. No existe oído externo e interno, la membrana timpánica está cubierta por una delgada capa de piel (2, 7).

Las extremidades salen de los márgenes del carapacho y plastrón, ambas en forma de aletas siendo las anteriores más largas que las posteriores. En los machos adultos se observa una uña larga y curva en las aletas anteriores (2, 7).

La apertura cloacal se encuentra sobre el lado ventral en la base de la cola y en los machos la pared cloacal se forma un órgano copulador primitivo (1).

Al parecer no existe dimorfismo sexual en neonatos de Lepidochelys olivacea para distinguir hembras de machos (8).

III. ANTECEDENTES

La sangre en los vertebrados varía en constituyentes químicos y en elementos formes. En la mayoría de los vertebrados los eritrocitos son ovalados y aplanados, poseen un núcleo conspicuo que produce un abultamiento en el centro de la célula (1). Los mamíferos son los únicos vertebrados en que los glóbulos rojos pierden el núcleo al transformarse en células maduras circulantes por ello, son de vida relativamente corta (1).

Los glóbulos blancos o leucocitos presentan diferencias en origen, forma y función desempeñada, dependiendo del grupo taxonómico de la especie estudiada (1). En mamíferos el origen, forma y función de estas células es ampliamente conocida, sin embargo, en especies evolutivamente inferiores como reptiles, anfibios y peces la información no esta completamente estudiada (9).

La hematología en reptiles y especialmente en tortugas no esta desarrollada desconociéndose hasta ahora datos completos de recuentos celulares sanguíneas (biometrías hemáticas) realizados para las especies marinas (10).

Las cuentas eritrocitarias son variables en los diferentes órdenes, específicamente para *Chelonia* existen diferencias entre las tortugas terrestres adultas cuya cuenta eritrocitaria varía de entre $1.54 \times 10^5/\text{mm}^3$ para *Chelydra serpentina* hasta $2.9 \times 10^6/\text{mm}^3$ para *Testudo graeca*; en las tortugas marinas la cuenta eritrocitaria varía de $2.92 \times 10^5/\text{mm}^3$ para *Caretta caretta* hasta $8.16 \times 10^5/\text{mm}^3$ para *Chelonia mydas mydas* (10).

La estimación del paquete globular o hematocrito en el orden *Chelonia* también presenta un amplio rango de valores que van desde 9 % (cc/100 cc) para *Chrysemys scripta* hasta 49 % en *Dermochelys Coriacea* (10).

Las estirpes leucocitarias reptileanas son morfológicamente diferentes a las descritas para mamíferos, aunque su función puede ser similar encontrándose: linfocitos, monocitos, eosinófilos, heterófilos, células plasmáticas y basófilos, además de trombocitos o células fusiformes (10, 11).

Las cuentas leucocitarias y eritrocitarias se encuentran influenciadas por múltiples factores como son: especie, edad, sexo, estación anual, estado nutricional y algunas enfermedades (11).

ERITROCITOS

Los eritrocitos reptileanos son células ovales de aproximadamente 22 micras (μ) de largo por 13 μ de ancho (10), que contienen hemoglobina y un núcleo más o menos central con bordes irregulares, son de mayor talla que los eritrocitos de mamíferos (10, 11). Existen células juveniles llamadas reticulocitos policromatófilos, fácilmente demostrados con un colorante supravital como el azul de metileno (11).

La vida de los eritrocitos en algunas especies de tortugas y reptiles es de tres años (11). Algunos trabajos sugieren que la vida de los eritrocitos en reptiles depende principalmente de la temperatura ambiental (10, 11, 12, 13).

Los eritrocitos seniles pueden identificarse en fresco o en frotis, en estos el núcleo se hincha y se hace amorfo perdiendo previamente su patrón de cromatina densa, la membrana celular eventualmente se lisa, la hemoglobina se pierde y circula por el plasma, o por el contrario, la célula es fagocitada por macrófagos y/o por trombocitos (11).

Existe una alta incidencia de macrocitos y microcitos, que son comunes en los extendidos sanguíneos; además se observan eritrocitos anormales en forma de huso, esféricos o parecidos a una pera entre otros, algunas de estas formas son posiblemente debidas a deformaciones causadas por el manejo de la muestra al realizar el frotis (11).

TROMBOCITOS

Los trombocitos o células fusiformes de reptiles son elípticos y usualmente más pequeños que los eritrocitos, el citoplasma es finamente granular y son teñidos de color azul pálido, el núcleo es central relativamente grande y liso (11). Las células fusiformes (a diferencia de las plaquetas de los mamíferos), son células verdaderas y no fragmentos de pseudopodos de los megacariocitos que se encuentran en la médula ósea de los mamíferos; los trombocitos de todos los vertebrados, exceptuando a los mamíferos son enteramente diferentes en estructura aunque su función puede ser similar (1). Los trombocitos reptileanos son responsables de activar la fagocitosis del pigmento hemo, bacterias y detritus celulares amorfos, los cuales son digeridos en su citoplasma, las células fusiformes son pluripotenciales y pueden transformarse en eritrocitos bajo ciertas condiciones (11).

LINFOCITOS

Los linfocitos reptileanos son células mononucleadas grandes y largas, el citoplasma es finamente granular con inclusiones azurofilas y/o hialinas cuando son teñidas con las técnicas de Romanowsky y azul de cresil brillante. El núcleo de los linfocitos jóvenes o prolinfocitos es de posición central y usualmente contienen un sólo nucléolo bien definido (11).

Las cuentas linfocitarias absolutas al igual que las demás estirpes leucocitarias, son altamente variables y están influenciadas por múltiples factores como son: especie, edad sexo, estación anual, estado nutricional y patologías acompañantes. Se observan cuentas linfocitarias altas en verano y cuentas bajas durante el invierno cuando los reptiles están en hibernación (11).

MONOCITOS

Los monocitos de reptiles se identifican al igual que los de mamíferos como células mononucleares, son más grandes que los linfocitos, el citoplasma es finamente granular, teñido de un color azul gris brillante con las técnicas del Romanosky, la cromatina nuclear es finamente granular. Las cuentas de monocitos varían usualmente entre 0.5 % al 3 %, del total los leucocitos (11).

EOSINOFILOS

Los eosinófilos son fácilmente identificados por los gránulos esféricos intracitoplasmicos, los cuales aceptan la eosina con tinciones convencionales de sangre. La tinción del núcleo es de color azul pálido y usualmente esta situado en un extremo de la célula. Estas células dan respuesta a procesos de enfermedades sistémicas por parásitos y estímulos no específicos y stress, pueden degranularse sin lisarse, perdiendo los gránulos la capacidad de aceptar la eosina y aparecen como fantasmas, pero la membrana celular permanece intacta, tales células pueden ser identificadas fácilmente con microscopio óptico bajando el condensador e incrementando la intensidad de luz o con microscopia de contraste de fases (11). El valor numérico del porcentaje de eosinófilos en la cuenta diferencial de las células blancas es variable en la práctica clínica oscilando del 7-20 % del total de células blancas (11).

HETEROFILOS.

Los heterófilos de reptiles así como los verdaderos eosinófilos son contados como otros granulocitos acidófilos. se diferencian porque poseen gránulos fusiformes en forma de pequeñas agujas o varillas, estas son teñidas de color café con las técnicas de Romanoswky. Son mononucleares o polinucleares y se encuentran más frecuentemente en la sangre de chelonios que de otros reptiles, el número se incrementa durante el verano, y disminuye durante la hibernación (11).

CELULAS PLASMATICAS

Los plasmocitos reptileanos son aparentemente similares a linfocitos en tamaño y forma, pero el núcleo es de posición excéntrica, el citoplasma es basófilo (azul) y presenta un halo perinuclear, que usualmente circunda cerca de 1/3 del núcleo. Se postula que los plasmocitos reptileanos pueden sintetizar inmunoglobulinas como los de vertebrados superiores, aunque no está demostrado (11).

NEUTROFILOS

Estas células presentan núcleos no segmentados, con bordes algo ondulados y cromatina granular burda. El citoplasma contiene hebras fibrosas, gránulos basófilos, azurófilos y/o levemente eosinófilos (11).

BASOFILOS

Los basófilos son de redondos a ovales con contorno irregular, contienen gránulos citoplasmicos esféricos o en forma de varilla, teñidos intensamente de azul a morado, el núcleo de central a excéntrico y es grande teñido de azul (11).

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La tortuga marina ha sido sujeta por el hombre a una explotación irracional trayendo como consecuencia la gran disminución de su población. Actualmente existen instituciones con planes de trabajo encaminadas a la investigación básica y al restablecimiento de sus poblaciones mediante diversos enfoques, uno de ellos es el semicultivo de estos organismos en condiciones seminaturales (14, 15). En tortugas marinas silvestres se han descrito patologías dérmicas (16-18), para los organismos en cautiverio lo son a deficiencias nutricionales, lesiones y enfermedades cutáneas (19- 21).

La Universidad de Guadalajara tiene un programa de protección a la Tortuga Marina en el cual se desarrolló un semicultivo de neonatos en dos fases: una realizada en playa y otra en laboratorio en la ciudad de Guadalajara. Durante el cultivo en playa se observó morbilidad y mortalidad con una frecuencia del 15 % (Programa Tortuga Marina: 1991, datos no publicados) datos similares son reportados en otro estudio (22), el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades no fue realizado por carecer de parámetros clínicos y de estudios de laboratorio que permitieran establecer el origen o las causas.

La estimación de parámetros hematológicos permitiría establecer la causa de algunas enfermedades como anemia nutricional o infecciones sistémicas, sin embargo los valores hematológicos normales para descartar estas posibilidades son desconocidos. Esto hace necesario la realización de un estudio

muestral con el objeto de determinar los parámetros hematológicos normales en neonatos de Lepidochelys olivacea.

En el presente trabajo describimos las constantes hemáticas y estirpes celulares observada en neonatos de Lepidochelys olivacea eclosionados en la Reserva Federal "Playón de Mismaloya" durante la temporada de anidación de 1991. El manejo de las crías fue autorizado por la Secretaria de Desarrollo Social; Dirección de Conservación Ecológica de los Recursos Naturales, oficio No. 412. (1). 7247. (Anexo 1).

V. HIPOTESIS

Con la estimación de los valores hematológicos en neonatos de Lepidochelys olivacea es factible evaluar algunas diferencias en la salud de crías eclosionadas en condiciones seminaturales.

VI. OBJETIVOS

- 1.- Estimar los parámetros hematológicos en crías vigorosas de Lepidochelys olivacea eclosionadas en condiciones seminaturales.
- 2.- Estimar los parámetros hematológicos en crías no vigorosas de Lepidochelys olivacea eclosionadas en condiciones seminaturales.
- 3.- Comparar los parámetros hematológicos obtenidos para establecer diferencias entre ambos grupos.

VII. MATERIAL Y METODOS

De los corrales de incubación del Programa Interinstitucional de Protección y Conservación a la Tortuga Marina durante los meses de Septiembre a Noviembre temporada 1991 se estudiaron 46 crías elegidas al azar, provenientes de diferentes nidos y divididas en dos grupos: a) crías vigorosas (n=27) emergidas por sus propios medios y con vitalidad en sus movimientos; b) crías no vigorosas (n=19) obtenidas al destapar el nido y sin vitalidad en sus movimientos.

Las crías seleccionadas se pesaron en balanza granataria y midieron largo y ancho recto, de carapacho y plastrón, con un vernier conforme a métodos descritos (22).

Para casi todo el trabajo hematológico se requiere sangre sin coagular, la literatura no menciona cuales anticoagulantes son utilizados en especies reptileanas, y las cantidades utilizadas para el trabajo clínico, por tal motivo se probaron en seis muestras de sangre, diferentes concentraciones de los siguientes anticoagulantes: ACD, EDTA y HEPARINA.

Se descartó la utilización de la mezcla de oxalatos de amonio y potasio (mezcla de Heller-Paul o de Wintrobe) por las siguientes desventajas: a) no pueden hacerse frotis después de unos cuantos minutos, b) el oxalato produce degeneración nuclear de los leucocitos y hemólisis de los glóbulos rojos, c) aparecen vacuolas en el citoplasma de los granulocitos y los lóbulos nucleares se unen hasta formar una masa esférica, d) los núcleos de linfocitos y monocitos presentan prolongaciones y se dividen

en lóbulos, todas éstas alteraciones son reportadas en sangre de mamíferos, principalmente en humanos (20, 21).

El empleo del ACD (Acido Cítrico-Dextrosa) resulta útil en la hematología para preservar y estudiar los antígenos de los glóbulos rojos, sin embargo el empleo de éste anticoagulante resulta inconveniente por el volumen que es requerido ya que se añaden 4 ml de sangre a 1 ml de ACD lo que produce dilución de la sangre, alterando los valores obtenidos en hematocrito y recuento celular (20, 21).

El anticoagulante EDTA (sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético) agente quelante impide que el calcio se ionice y ejerce por lo tanto una acción anticoagulante muy intensa. Tiene muchas ventajas en la hematología: a) pueden hacerse recuentos de GR y GB además de hematocrito aun después de varias horas de obtenida la muestra, b) permite preparar buenos frotis sin alterar la morfología de leucocitos y eritrocitos después de tres o cuatro horas de la obtención, c) impide que las plaquetas se aglutinen o adhieran a superficies, d) son posibles recuentos bastante exactos de todos los elementos formes de la sangre (20, 21).

La HEPARINA es un anticoagulante natural, actúa como agente antitrombínico e impide la transformación de la fibrina en fibrinógeno, es el mejor cuando se busca reducir al mínimo la hemolisis y es utilizado para pruebas de electrolitos y estudios de la fragilidad de los glóbulos rojos. La utilización de la heparina en los extendidos sanguíneos presenta la desventaja de

producir alteraciones morfológicas en las células sanguíneas al ser teñidas con los colorantes de May-Grünwald, Geimsa, Leishman o Wright (9, 20, 21).

Los resultados de la acción de estos anticoagulantes se muestran en el siguiente esquema:

| CRIA # | ANTICOAGULANTE | CONCENTRACION | EFECTO |
|--------|----------------|----------------|---|
| 1 | ACD. | 0.2 ml | Se forman algunos coágulos desde el inicio y antes de una hora coagula. |
| 2 | ACD. | 0.4 ml | Se forman algunos coágulos y antes de 3 horas coagula completamente. |
| 3 | EDTA. | 0.02 ml al 5% | La sangre hemolisa y obscurece antes de 30 minutos. |
| 4 | EDTA. | 0.02 ml al 10% | La sangre hemolisa y obscurece antes de 60 minutos. |
| 5 | HEPARINA | 0.2 mg. | Fluidez normal y coágulos muy pequeños. |
| 6 | HEPARINA | 0.4 mg. | La sangre permanece con apariencia y fluidez normal. |

Por los resultados obtenidos la sangre se maneja con heparina a una concentración de 0.4 mg por cada mililitro de sangre y refrigerada a 4°C hasta su utilización.

De las crías se obtuvo aproximadamente 300 µl de sangre por punción ventricular (10, 11) con jeringa de 1 ml. estéril la cual contenía heparina (0.3 - 0.4 mg/ml de sangre); después se pasó a tubos estériles de 13 por 100 mm y se realizaron las siguientes pruebas: recuento celular, microhematocrito, cuantificación de hemoglobina, semicuantificación de glucosa y extendidos sanguíneos.

Se realizó un control interno mediante la toma al azar de 5 crías vigorosas, la cantidad total de sangre extraída se dividió en tres alícuotas.

Se estimó por fórmulas matemáticas el Volumen Globular Medio ($VGM = Hto \times 10 / CE$), Hemoglobina Corpuscular Media ($HCM = Hb \times 10 / CE$) y Concentración Media de Hemoglobina Corpuscular ($CMHC = Hb \times 100 / Hto$) (9, 24, 25, 26).

Todos los datos obtenidos fueron sometidos a análisis estadístico, obteniéndose media aritmética y desviación estándar, se efectuaron pruebas T-Student y análisis de varianza (ANOVA), eligiendo 0.05 % como límite de confianza para establecer diferencias entre ellas (27). Los análisis estadísticos fueron realizados con los programas computacionales STATGRAFICS 2.1 y QUATRO PRO 3.0.

RECUESTO CELULAR

La sangre se aspiró con pipeta de "Thoma" y se llevó hasta la marca 1.0, después se llenó hasta la marca 101 con Buffer Natt and Herrick para células reptileanas (NaCl 66.4mM; NaSD4 17.6mM; Na2HPO4 22mM; KH2PO4 1.84mM; Formaldehído 0.75 % y azul de Metileno 0.01 %) de esta manera obtenemos una dilución 1:100, se agitó de tres a cinco minutos para homogenizar las células sanguíneas, inmediatamente se desechó la mitad del contenido de la pipeta y cargamos dos hemocitómetros de manera convencional. Se contaron los eritrocitos (CE) y leucocitos (CL) presentes en 5 espacios y el promedio de eritrocitos y leucocitos se multiplicó por 5000 y 1000 respectivamente (11).

El recuento de los reticulocitos fue obtenido contando los eritrocitos presentes en 5 cuadros y expresado en porcentaje.

Se efectuaron 4 recuentos para cada organismo con el fin de obtener una media estadística.

MICROHEMATOCRITO

El tubo capilar heparinizado se llenó con sangre sin llegar hasta el extremo opuesto, sellado a la flama de un mechero, centrifugado a 4000 r.p.m. durante 30 minutos, luego se procedió a determinar el hematocrito midiendo con un vernier el volumen total de la sangre y el empaquetado celular. El resultado es expresado por el porcentaje de empaquetamiento en mm^3 . Para la determinación del hematocrito se tomó el promedio de tres tubos capilares.

CUANTIFICACION DE HEMOGLOBINA

La cuantificación de la hemoglobina se realizó por el método de cianometahemoglobina, el cual se basa en la oxidación de la hemoglobina al diluir la sangre en una solución de cianuro de potasio y ferrocianuro de potasio, pasando la hemoglobina a cianometahemoglobina de color rojo anaranjado brillante para la lectura espectrofotométrica a 540 nm (28, 29). La cuantificación se realizó por duplicado obteniendo el promedio de la D.O. de dos determinaciones multiplicada por el factor de calibración del Drabkin y fue expresada en gHb/dl. Se realizó una curva de calibración del Drabkin (graf.1), con un estándar de cianometahemoglobina de una concentración de 59.8 mg/100 ml, (Acuglobin Ortho Diagnostic Systems).

con el siguiente esquema:

| | TUBO # | | | | | |
|---------------|--------|--------|------|------|-------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | n |
| DRABKIN | 5 ml | 4.5 ml | 4 ml | 2 ml | - | 5 ml |
| ACUGLOBIN | - | 0.5 ml | 1 ml | 3 ml | 5 ml. | |
| MUESTRA PROB. | - | - | - | - | - | 20µl |

$$59.8 \text{ mgHb por } 100 \text{ ml/dl} = 0.0598 \text{ g/dl.}$$

$$0.0598 \text{ g/dl} \times 250 = 14.95 \text{ gHb/dl.}$$

$$\text{Factor de Calibración} = \frac{\text{Valor del Acuglobin de Hb en g/dl}}{\text{Lectura del Acuglobin en D.O}}$$

$$\text{FC} = \frac{14.95 \text{ gHb/dl}}{0.384} = 38.9323$$

$$0.384$$

$$\text{FC} = 38.93 \times \text{D.O.}$$

SEMICUANTIFICACION DE GLUCOSA

La semicuantificación de glucosa se realizó con cinta reactiva Haemo Glukotest 20-800 mg/dl (LAKESIDE), depositando una cantidad suficiente de sangre en el sitio reactivo de la cinta, se dejó reposar un minuto, posteriormente se limpio la sangre depositada y se dejó transcurrir dos minutos para comparar la cinta con la escala patrón. Se registró únicamente una lectura, (excepto en algunos casos donde no se observó reacción se realizaron más de dos determinaciones).

EXTENDIDOS SANGUINEOS

Para efectuar los extendidos sanguíneos se tomó un portaobjetos limpio, desgrasado y seco, se depositó una gota pequeña en un extremo del portaobjetos aproximadamente a 1 cm de un extremo del portaobjetos y con otro portaobjetos limpio como el anterior, se acercó el borde de uno de sus extremos hasta que toque la sangre, se inclina este portaobjetos hasta formar un ángulo agudo, dejando que la sangre se extendiera por capilaridad y se deslizó, con un sólo impulso, dirigiéndolo al extremo contrario. Las placas fueron teñidas con colorante de Wright utilizando una solución de fosfatos (KH_2PO_4 anhidro, NA_2HPO_4 anhidro 0.067 M, pH 6.8) (27). Se realizaron tres frotis sanguíneos por muestra. La identificación morfológica se realizó por las características antes mencionadas.

VII. RESULTADOS

Los resultados de los parámetros morfométricos y de peso para crías vigorosas son mostrados en la tabla 1, observándose que las crías vigorosas tienen en promedio para el largo recto de carapacho (LRC) 4.08 cm, ancho recto de carapacho (ARC) 3.26 cm, largo curvo de carapacho (LRP) 3.21 cm, ancho recto de plastrón (ARP) 2.79 cm y el PESO 14.33 g. La tabla 2 muestra los valores promedio de las crías no vigorosas observándose para el LRC 3.93 cm, ARC 3.20 cm, LRP 3.17 cm, ARP 2.73 cm y para el PESO 12.34 g. además se muestran las desviaciones estándar en cada uno de los parámetros determinados.

En la tabla 3 se observan los resultados obtenidos en el análisis estadístico de las pruebas t-Student y análisis de varianza (ANOVA) para la morfometría y peso entre los grupos de crías vigorosas y no vigorosas, observándose diferencias estadísticamente significativas solo para LRC ($P= 0.016$) y altamente significativa para el peso ($P=9.2 \times 10^{-5}$).

Las tablas 4 y 5 muestran los resultados obtenidos para los valores hematológicos de: glóbulos rojos (GR), glóbulos blancos (GB), trombocitos (TROMBO), reticulocitos (RETIS), hematocrito (HTO), hemoglobina (Hb), volumen globular medio (VGM), hemoglobina corpuscular media (HCM), concentración media de hemoglobina corpuscular (CMHC) en las crías vigorosas y no vigorosas respectivamente.

En la tabla 6 se describe el análisis estadístico para los valores hematológicos en crías vigorosas y no vigorosas, apreciándose diferencias significativas para GR ($P=0.23$), GB ($P=0.44$) y altamente significativas para HB ($P=1.38 \times 10^{-5}$), HTO ($P=1.57 \times 10^{-9}$) y el VGM ($P=5.89 \times 10^{-3}$).

La semicuantificación de glucosa (figura 2) en sangre para las crías vigorosas es homogénea (40 a 180 mg/dl), en las crías no vigorosas es heterogénea apreciándose valores desde 0 hasta 180 mg/dl, aún cuando se observó valores de 120 mg/dl en 5 crías.

CONTROL INTERNO

Los resultados de los coeficientes de variabilidad del control interno son mostrados en la tabla 7, fueron obtenidos tanto intra como intermuestra; exceptuando RETIS y TROMBO los resultados observados para todos los parámetros obtenidos intramuestrales son uniformes o muy confiables, para TROMBO con coeficiente de variación de 5.79 % es relativamente uniforme, mientras que para RETIS con coeficiente de variación de 10.98 % es considerado como variable. Los resultados de los coeficientes de variabilidad intermuestrales indican como uniforme o muy confiable a Hb, como relativamente uniformes los siguientes parámetros: GB, Hto, VGM, HCM y CMHC, como variable a GR y muy variables a RETIS y TROMBO.

TABLAS

Tabla 1.-PARAMETROS MORFOMETRICOS Y PESO DE CRIAS VIGOROSAS

| TORTUGA # | LRC cm. | ARC cm. | LRP cm. | ARP cm. | PESO gr. |
|------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|
| 1 | 3.90 | 3.18 | 3.09 | 2.58 | 12.50 |
| 2 | 3.85 | 3.02 | 3.10 | 2.68 | 13.30 |
| 3 | 3.93 | 3.02 | 3.22 | 2.60 | 14.00 |
| 4 | 3.78 | 3.05 | 3.00 | 2.62 | 11.50 |
| 5 | 4.00 | 3.10 | 3.15 | 2.67 | 13.40 |
| 6 | 3.82 | 3.12 | 3.00 | 2.63 | 12.80 |
| 7 | 4.00 | 3.12 | 3.15 | 2.63 | 13.80 |
| 8 | 3.87 | 3.10 | 3.10 | 2.70 | 12.10 |
| 9 | 4.00 | 3.11 | 3.05 | 2.60 | 13.30 |
| 10 | 3.93 | 3.13 | 3.12 | 2.63 | 13.20 |
| 11 | 4.05 | 3.18 | 3.18 | 2.64 | 13.60 |
| 12 | 3.96 | 3.14 | 3.08 | 2.64 | 12.40 |
| 13 | 3.80 | 3.06 | 2.96 | 2.63 | 12.00 |
| 14 | 3.90 | 3.15 | 3.14 | 2.70 | 12.60 |
| 15 | 3.88 | 3.22 | 3.02 | 2.75 | 12.05 |
| 16 | 4.25 | 3.42 | 3.51 | 2.95 | 16.10 |
| 17 | 4.30 | 3.460 | 3.28 | 3.02 | 16.20 |
| 18 | 4.14 | 3.45 | 3.30 | 3.20 | 16.30 |
| 19 | 4.50 | 3.51 | 3.40 | 3.02 | 17.80 |
| 20 | 4.25 | 3.50 | 3.41 | 2.92 | 15.70 |
| 21 | 4.35 | 3.54 | 3.38 | 3.02 | 16.50 |
| 22 | 4.36 | 3.50 | 3.50 | 2.93 | 16.70 |
| 23 | 4.46 | 3.44 | 3.42 | 2.97 | 15.30 |
| 24 | 4.33 | 3.32 | 3.30 | 2.90 | 16.20 |
| 25 | 4.14 | 3.33 | 3.30 | 2.77 | 15.00 |
| 26 | 4.16 | 3.45 | 3.30 | 2.98 | 15.70 |
| 27 | 4.38 | 3.52 | 3.45 | 2.96 | 16.90 |
| PROMEDIO | 4.08 | 3.26 | 3.21 | 2.79 | 14.33 |
| DESV. ST. | 0.21 | 0.17 | 0.16 | 0.17 | 1.81 |

DESV. ST. = Desviacion estandar.

Tabla 2.- PARAMETROS MORFOMETRICOS Y PESO DE CRIAS NO VIGOROSAS.

| TORTUGA # | LRC cm. | ARC cm. | LRP cm. | ARP cm. | PESO gr. |
|------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|
| 1 | 3.84 | 3.10 | 3.10 | 2.60 | 11.10 |
| 2 | 3.90 | 3.05 | 3.14 | 2.56 | 12.2 |
| 3 | 4.03 | 3.17 | 3.27 | 2.68 | 12.2 |
| 4 | 3.73 | 3.20 | 3.11 | 2.65 | 11.7 |
| 5 | 3.87 | 2.86 | 3.17 | 2.62 | 11.7 |
| 6 | 3.67 | 2.98 | 2.95 | 2.56 | 10.00 |
| 7 | 3.84 | 3.05 | 3.15 | 2.56 | 11.80 |
| 8 | 3.75 | 3.10 | 3.10 | 2.55 | 12.00 |
| 9 | 4.10 | 3.35 | 3.23 | 2.90 | 13.10 |
| 10 | 4.04 | 3.40 | 3.30 | 2.91 | 13.60 |
| 11 | 4.13 | 3.40 | 3.27 | 2.95 | 13.30 |
| 12 | 4.18 | 3.32 | 3.29 | 2.90 | 13.60 |
| 13 | 4.08 | 3.30 | 3.23 | 2.90 | 12.90 |
| 14 | 4.00 | 3.32 | 3.24 | 2.80 | 12.50 |
| 15 | 3.92 | 3.22 | 3.2 | 2.78 | 12.20 |
| 16 | 4.08 | 3.45 | 3.24 | 2.95 | 13.40 |
| 17 | 3.65 | 2.98 | 3.04 | 2.46 | 11.90 |
| 18 | 4.01 | 3.37 | 3.18 | 2.90 | 13.00 |
| 19 | 4.00 | 3.24 | 3.17 | 2.76 | 12.40 |
| PROMEDIO | 3.93 | 3.2 | 3.17 | 2.73 | 12.34 |
| DESV. ST. | 0.15 | 0.16 | 0.08 | 0.15 | 0.89 |

DESV. ST. = Desviación estandar.

**Tabla 3.- ANALISIS ESTADISTICO DE MORFOLOGIA
Y PESO EN CRIAS VIGOROSAS Y NO VIGOROSAS.**

| | | LRC. | ARC. | LRP. | ARP. | PESO. |
|--------------|-----------|----------|-------|-------|-------|-----------|
| VIGOROSAS | PROMEDIO | 4.08 | 3.26 | 3.21 | 2.79 | 14.33 |
| | DESV. ST. | 0.21 | 0.179 | 0.161 | 0.175 | 1.81 |
| NO VIGOROSAS | PROMEDIO | 3.93 | 3.20 | 3.17 | 2.73 | 12.34 |
| | DESV. ST. | 0.15 | 0.164 | 0.088 | 0.159 | 0.89 |
| | T-S. | P=0.0167 | NS. | NS. | NS. | P=9.28E-5 |
| | ANOVA | P=0.0168 | NS. | NS. | NS. | P=0.000 |

T-S.= Prueba t-student.

ANOVA.= Analisis de varianza.

NS.= No significativo.

Tabla 4.- VALORES HEMATOLOGICOS DE CRIAS VIGOROSAS

| TORTUGA # | GR X10 ⁶ | GB X10 ³ | RETIS % | TROMBO X 10 ³ | Hb g/dl | HTO % | VGM fl. | HCM pg. | CMHbC % |
|------------------|---------------------|---------------------|-------------|--------------------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 1 | 7.78 | 8.50 | 6.28 | 3.75 | 5.97 | 26.65 | 55.76 | 12.51 | 22.43 |
| 2 | 5.44 | 9.25 | 2.29 | 6.50 | 5.37 | 27.51 | 50.57 | 9.87 | 19.53 |
| 3 | 3.71 | 4.00 | 4.37 | 3.50 | 7.06 | 20.38 | 54.93 | 19.04 | 34.66 |
| 4 | 6.30 | 7.50 | 0.19 | 6.50 | 7.47 | 26.87 | 42.66 | 11.86 | 27.81 |
| 5 | 5.69 | 3.75 | 0.43 | 5.00 | 7.53 | 27.80 | 48.86 | 13.24 | 27.09 |
| 6 | 6.13 | 9.00 | 3.11 | 4.00 | 7.31 | 25.88 | 42.23 | 11.94 | 28.27 |
| 7 | 6.39 | 7.00 | 6.45 | 1.75 | 6.79 | 27.27 | 42.67 | 10.63 | 24.91 |
| 8 | 5.45 | 3.75 | 1.46 | 3.75 | 6.42 | 23.63 | 43.35 | 11.78 | 27.18 |
| 9 | 6.14 | 4.75 | 1.01 | 1.25 | 7.88 | 24.53 | 39.95 | 12.84 | 32.13 |
| 10 | 5.78 | 5.00 | 5.19 | 2.00 | 6.65 | 21.89 | 37.87 | 11.51 | 30.41 |
| 11 | 4.89 | 4.75 | 4.60 | 6.25 | 6.28 | 22.72 | 46.46 | 12.85 | 27.67 |
| 12 | 5.56 | 3.00 | 4.71 | 3.50 | 5.64 | 20.93 | 37.65 | 10.15 | 26.96 |
| 13 | 4.66 | 3.50 | 2.14 | 2.75 | 5.74 | 22.95 | 49.26 | 12.32 | 25.01 |
| 14 | 6.63 | 3.00 | 0.75 | 1.75 | 7.70 | 28.37 | 42.79 | 11.62 | 27.17 |
| 15 | 6.43 | 3.25 | 0.97 | 3.75 | 7.14 | 25.69 | 39.95 | 11.11 | 27.80 |
| 16 | 7.31 | 7.75 | 0.51 | 1.75 | 7.20 | 25.30 | 34.61 | 9.85 | 28.46 |
| 17 | 4.40 | 6.75 | 0.85 | 2.50 | 6.48 | 20.23 | 45.98 | 14.73 | 32.04 |
| 18 | 6.70 | 4.50 | 1.49 | 1.75 | 6.56 | 21.22 | 31.67 | 9.79 | 30.91 |
| 19 | 6.69 | 6.50 | 0.93 | 1.25 | 8.66 | 24.93 | 37.27 | 12.94 | 34.73 |
| 20 | 6.68 | 9.00 | 2.62 | 2.75 | 6.92 | 26.16 | 39.17 | 10.37 | 26.48 |
| 21 | 7.58 | 6.25 | 0.82 | 1.25 | 7.14 | 27.21 | 35.90 | 9.42 | 26.24 |
| 22 | 7.03 | 7.25 | 1.60 | 3.25 | 7.31 | 30.21 | 42.98 | 10.41 | 24.22 |
| 23 | 8.41 | 9.75 | 1.78 | 6.50 | 7.76 | 28.46 | 33.84 | 9.23 | 27.29 |
| 24 | 6.11 | 7.75 | 2.86 | 1.50 | 6.71 | 24.57 | 40.22 | 10.99 | 27.32 |
| 25 | 6.48 | 5.75 | 2.37 | 1.50 | 7.29 | 23.49 | 36.25 | 11.26 | 31.07 |
| 26 | 7.18 | 7.75 | 1.56 | 2.75 | 7.82 | 27.70 | 38.35 | 10.89 | 28.24 |
| 27 | 6.5 | 5.75 | 2.30 | 4.25 | 8.38 | 28.31 | 43.56 | 12.90 | 29.63 |
| PROMEDIO. | 6.11 | 6.10 | 2.35 | 3.05 | 7.01 | 25.22 | 42.04 | 11.71 | 27.99 |
| DESV. ST. | 1.02 | 2.07 | 1.80 | 1.72 | 0.80 | 2.71 | 6.00 | 1.95 | 3.31 |

DES. ST. = Desviacion estandar.

Tabla 5.- VALORES HEMATOLOGICOS DE CRIAS NO VIGOROSAS.

| TORTUGA # | GR X10 ⁵ | GB X10 ³ | RETIS % | TROMBO X10 ³ | Hb/dl | HTO % | VGM fl. | HCM pg. | CMHC % |
|------------------|---------------------|---------------------|---------|-------------------------|-------|-------|---------|---------|--------|
| 1 | 5.26 | 6.50 | 5.22 | 2.25 | 7.90 | 28.66 | 54.50 | 15.02 | 27.56 |
| 2 | 6.20 | 12.5 | 3.42 | 3.75 | 7.72 | 32.27 | 52.06 | 12.46 | 23.94 |
| 3 | 6.06 | 4.00 | 2.47 | 5.75 | 6.40 | 29.49 | 48.67 | 10.56 | 21.71 |
| 4 | 6.70 | 9.50 | 3.07 | 5.25 | 11.48 | 35.01 | 52.25 | 17.14 | 32.80 |
| 5 | 6.46 | 9.75 | 3.48 | 6.25 | 11.46 | 37.95 | 58.74 | 17.74 | 30.21 |
| 6 | 6.00 | 5.00 | 2.29 | 3.50 | 10.12 | 36.73 | 61.22 | 16.87 | 27.55 |
| 7 | 6.90 | 6.25 | 1.08 | 6.25 | 10.41 | 37.89 | 54.92 | 15.09 | 27.48 |
| 8 | 7.10 | 5.75 | 2.28 | 2.25 | 10.80 | 36.36 | 51.22 | 15.21 | 29.70 |
| 9 | 8.35 | 3.75 | 0.74 | 2.75 | 9.86 | 29.28 | 35.07 | 11.81 | 33.70 |
| 10 | 7.78 | 9.50 | 1.12 | 1.25 | 9.01 | 29.00 | 37.28 | 11.58 | 31.07 |
| 11 | 6.73 | 6.25 | 3.52 | 2.25 | 7.29 | 31.18 | 46.34 | 10.84 | 23.40 |
| 12 | 6.48 | 6.75 | 3.08 | 2.25 | 6.63 | 29.03 | 44.81 | 10.24 | 22.86 |
| 13 | 6.47 | 5.00 | 1.73 | 1.75 | 7.08 | 38.57 | 59.61 | 10.95 | 18.36 |
| 14 | 5.72 | 6.75 | 1.74 | 3.50 | 7.45 | 34.15 | 59.71 | 13.03 | 21.82 |
| 15 | 8.06 | 4.50 | 2.48 | 2.75 | 9.67 | 29.55 | 36.66 | 12.00 | 32.73 |
| 16 | 7.7 | 10.25 | 2.59 | 2.75 | 8.38 | 32.16 | 41.70 | 10.89 | 26.08 |
| 17 | 5.46 | 11.25 | 2.05 | 7.75 | 7.96 | 30.33 | 55.55 | 14.58 | 26.24 |
| 18 | 8.02 | 12.00 | 2.49 | 6.00 | 8.09 | 28.18 | 35.14 | 10.09 | 28.73 |
| 19 | 8.08 | 9.00 | 1.70 | 4.75 | 8.50 | 29.51 | 36.52 | 10.52 | 28.82 |
| PROMEDIO | 6.81 | 7.59 | 2.45 | 3.84 | 8.74 | 32.38 | 48.52 | 12.98 | 27.09 |
| DESV. ST. | 0.92 | 2.70 | 1.02 | 1.82 | 1.54 | 3.54 | 8.91 | 2.50 | 4.12 |

DESV. ST. = Desviacion estandar.

Tabla 6.- ANALISIS ESTADISTICO PARA LOS VALORES HEMATOLOGICOS EN CRIAS VIGOROSAS Y NO VIGOROSAS

| | GR $\times 10^{-5}$ | GB $\times 10^{-3}$ | RETIS % | TROMBO $\times 10^{-3}$ | Hb g/dL | Hto % | VGM IL | HCM PE | CMHC % |
|--------------|---------------------|---------------------|---------|-------------------------|---------|-----------|-----------|-----------|--------|
| VIGOROSAS | PROMEDIO | 6.11 | 6.1 | 2.35 | 3.05 | 7.01 | 42.04 | 11.7 | 27.99 |
| | DESV. ST. | 1.02 | 2.07 | 1.76 | 1.72 | 0.80 | 5.96 | 1.94 | 3.3 |
| NO VIGOROSAS | PROMEDIO | 6.81 | 7.59 | 2.45 | 3.84 | 8.75 | 48.33 | 12.98 | 27.09 |
| | DESV. ST. | 0.92 | 2.69 | 1.02 | 1.82 | 1.54 | 8.91 | 2.48 | 4.12 |
| | T-S | P=0.237 | P=0.442 | NS | NS | P=1.38E-5 | P=1.57E-9 | P=5.89E-3 | NS |
| | ANOVA | P=0.238 | P=0.442 | NS | NS | P=0.000 | P=0.000 | P=0.0059 | NS |

NS = No Significativo.

T-S = t student.

ANOVA = Analisis de varianza.

Tabla 7.- COEFICIENTES DE VARIABILIDAD EN LAS DETERMINACIONES DE LOS PARAMETROS HEMATOLOGICOS DEL CONTROL INTERNO.

| | GR X 10 ⁻³ | GB X 10 ⁻³ | RETIS % | TROMBO X 10 ⁻³ | Hb/dl | Hto % | VGM dl | HCM Pg | CMHC % |
|--|-----------------------|-----------------------|---------|---------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| COEFICIENTE DE VARIABILIDAD. INTRA MUESTRAS. | 0.75 % | 3.87 % | 10.98 % | 5.79 % | 0.38 % | 1.15 % | 1.28 % | 0.49 % | 1.05 % |
| COEFICIENTE DE VARIABILIDAD. INTER MUESTRAS. | 10.15 % | 5.01 % | 23.18 % | 28.41 % | 2.73 % | 9.32 % | 9.92 % | 9.21 % | 8.01 % |

Tabla 8.- CORRELACIONES DE LOS PARAMETROS HEMATOLOGICOS DE CRIAS VIGOROSAS Y NO VIGOROSAS.

| | PARAMETROS | CRIAS VIGOROSAS | | CRIAS NO VIGOROSAS | |
|--|-------------|-----------------|-----------|--------------------|-----------|
| A) CORRELACION SOLO CRIAS VIGOROSAS | GR vs LRC | r= 0.5360 | p= 0.004 | r= 0.407 | NS. |
| | GR vs Hb | r= 0.5551 | p= 0.0027 | r= 0.2811 | NS. |
| | GR vs Hto | r= 0.6065 | p= 0.008 | r=-0.2684 | NS. |
| | GR vs HCM | r=-0.7320 | p= 0.0000 | r=-0.4320 | NS. |
| | Hb vs PESO | r= 0.4382 | p= 0.0222 | r=-0.4320 | NS. |
| | CMHC vs HCM | r= 0.5362 | p= 0.0039 | r=0.3737 | NS. |
| B) CORRELACION SOLO CRIAS NO VIGOROSAS | VGM vs LRC | r= 0.0678 | NS. | r=-0.5193 | p= 0.0227 |
| | VGM vs PESO | r= 0.1472 | NS. | r= 0.6136 | p= 0.0052 |
| | VGM vs GR | r= 0.2042 | NS. | r=-0.8468 | p= 0.0000 |
| | VGM vs Hto | r= 0.1793 | NS. | r= 0.7322 | p= 0.0040 |
| | VGM vs HCM | r=-0.0815 | NS. | r= 0.6500 | p= 0.0026 |
| | HCM vs LRC | r=-0.1965 | NS. | r=-0.8229 | p= 0.0000 |
| | HCM vs PESO | r=-0.1211 | NS. | r=-0.7838 | p= 0.0001 |
| | CMHC vs GR | r=-0.0658 | NS. | r= 0.5509 | p= 0.0145 |
| C) CORRELACIONES AMBOS GRUPOS | CMHC vs Hb | r= 0.5369 | p= 0.0039 | r= 0.7845 | p= 0.0000 |
| | Hb vs LRC | r= 0.4796 | p= 0.0114 | r=-0.5667 | p= 0.0114 |
| | Hb vs Hto | r= 0.4284 | p= 0.0258 | r= 0.4811 | p= 0.0371 |
| | GR vs PESO | r= 0.4445 | p= 0.0202 | r= 0.5106 | p= 0.0255 |

NS. = No significativo.

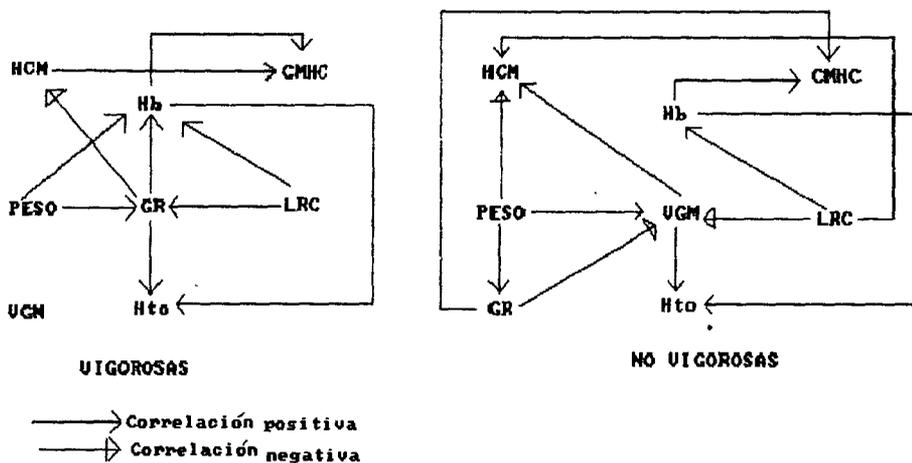


figura 1.

Diagrama de flujo de las relaciones de biomasa y parámetros hematológicos en crías vigorosas y no vigorosas.

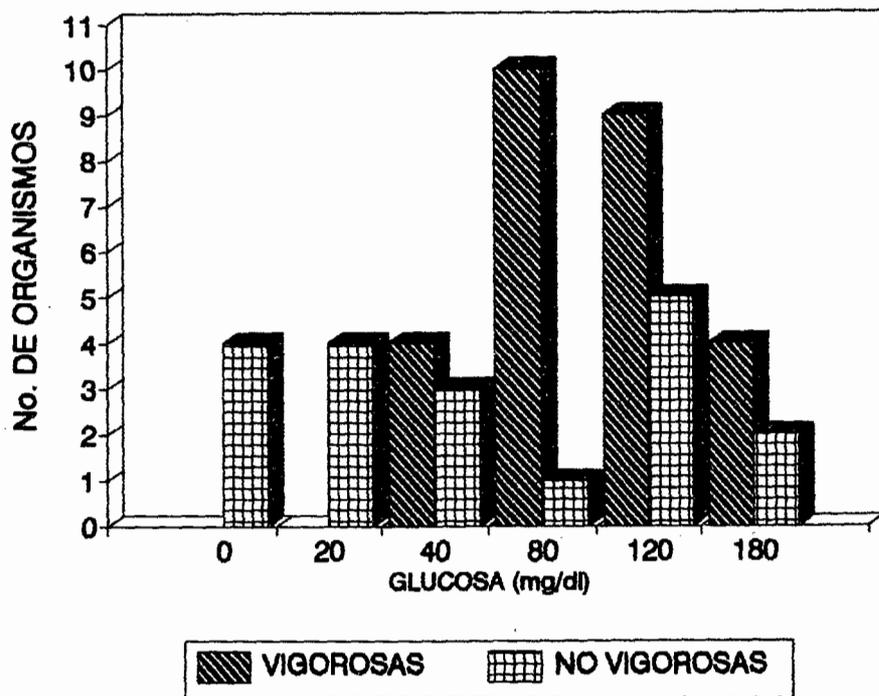


figura No 2.
 Distribución de frecuencias para la semicuantificación de glucosa en crías vigorosas y no vigorosas.

DENSIDAD OPTICA.

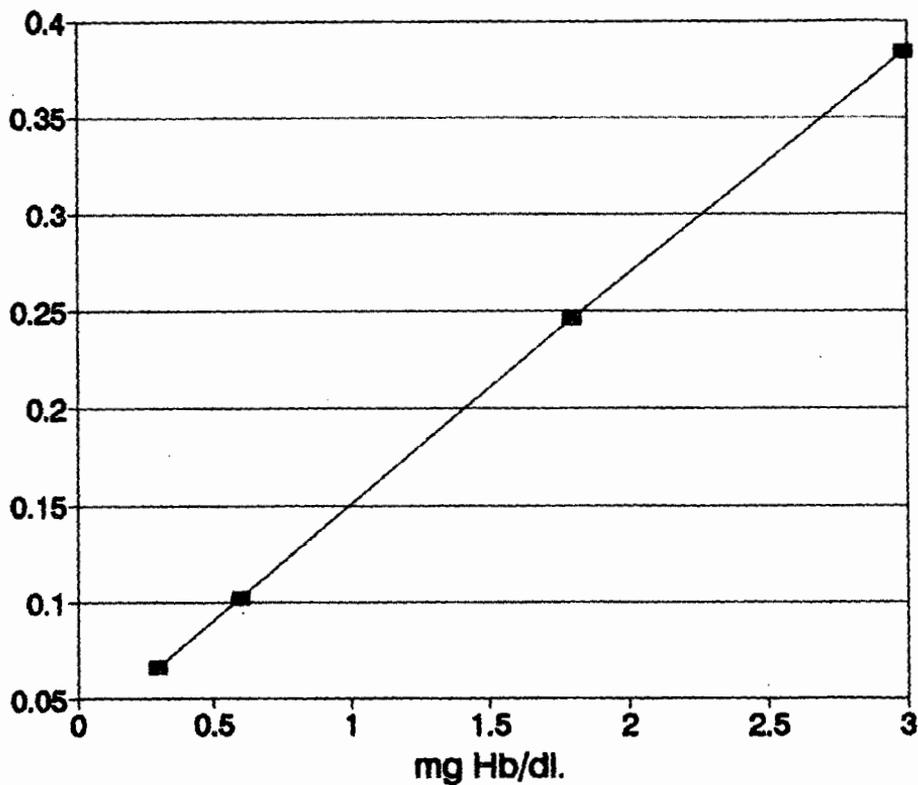


Diagrama No 1.
Curva de calibración del Drabkin.

DESCRIPCION MORFOLOGICA DE LAS ESTIRPES ENCONTRADAS

ERITROCITOS

Los eritrocitos en neonatos de Lepidochelys olivacea son elípticos, miden en promedio aproximadamente 18 μ de largo y 11 μ de ancho. El citoplasma de bordes irregulares, es teñido homogéneamente de color anaranjado, algunas células presentan pequeños puntos claros parecidos a vacuolas.

El núcleo es generalmente elíptico mide aproximadamente 8 μ de largo y 5 μ de ancho, ubicado en el centro de la célula con contornos irregulares, la cromatina es teñida de color morado, con algunos gránulos más densos sin una distribución definida (Lámina 1).

Los reticulocitos (células jóvenes) fueron reconocidos fácilmente en el recuento celular por su coloración azul obtenida con el ringer Natt and Herrick. Sus dimensiones son muy parecidas a los eritrocitos (Lámina 2).

Fue común encontrar células de aproximadamente 21 μ de largo y 13 μ de ancho, éstas fueron consideradas como macrocitos (Lámina 3); también se observan células de aproximadamente 15 μ de largo y 8 μ de ancho, éstas las consideramos como microcitos (Lámina 3). En forma esporádica se aprecian células en forma de pera, huso, esféricas, y/o con apéndices (Laminas 4 y 5); además de eritrocitos cuyo núcleo se incha, perdiendo su patrón de cromatina densa, la membrana celular se lisa perdiendo la hemoglobina, estos son considerados como eritrocitos senectos (Lámina 6).

TROMBOCITOS

Estas células son de aproximadamente 10 μ de largo y 6 μ de ancho, presentan diversas formas como elípticas, ovales y esféricas, con bordes irregulares el citoplasma es azul cielo homogéneo apreciándose como una pequeña porción alrededor del núcleo.

El núcleo es grande con bordes irregulares, cubre la mayor parte de la célula, presenta gránulos regulares más densos que la cromatina (Láminas 7 y 8).

LINFOCITOS

Son células de redondas a ovaladas, con contorno regular miden aproximadamente 19 μ de largo y 17 μ de ancho.

El citoplasma se observa color violeta finamente fibrilar con vacuolas hialinas de número y tamaño variable.

El núcleo es irregular tenido de azul pálido, mide aproximadamente 7 μ de largo por 6 μ de ancho, puede ser de posición central a periférica. La cromatina es finamente fibrilar con pocos gránulos densos y ocasionalmente se observa un pequeño nucléolo (Lámina 9).

MONOCITOS

Células redondeadas con bordes irregulares de aproximadamente 15 μ de largo por 11 μ de ancho, citoplasma color azul pálido finamente granular.

El núcleo es grande de color morado y excéntrico, bilobulado o constreñido de aproximadamente 11 μ de largo y 8 μ de ancho, uno de los dos lóbulos es ligeramente más pequeño que el otro, generalmente presenta de 3 a 5 gránulos de cromatina más densamente teñidos por lóbulo, observándose comúnmente 2 gránulos grandes muy cercanos (Láminas 10, 11 y 12).

GRANULOCITOS ACIDOFILOS (EOSINOFILOS Y HETEROFILOS)

Son células relativamente grandes de forma esférica a oval con dimensiones de aproximadamente 14 μ de largo y 15 μ de ancho. La membrana plasmática es de contornos irregulares y en el citoplasma se aprecian gránulos de diferentes tamaños y número variable, con formas esféricas a cilíndricas adquiriendo un color anaranjado brillante por su alta afinidad a la eosina.

Es frecuente apreciar uno o dos gránulos acidófilos sobre el núcleo, el cual se localiza en un extremo de la célula.

El núcleo presenta contorno irregular con formas esféricas, bilobuladas o constreñidas, con aproximadamente 8 μ de largo y 7 μ de ancho, en algunas ocasiones se aprecian binucleados. La cromatina es teñida de morado a azul cielo, con algunos gránulos de coloración más densa y de diversos tamaños (Láminas 13, 14, 15 y 16).

PLASMOCITOS

Son células similares a los monocitos miden aproximadamente 15 μ de largo y 11 μ de ancho, el contorno celular es generalmente irregular con presencia de algunas proyecciones cortas, el citoplasma es teñido de color azul tenue opaco, pudiendo tomar en ocasiones una tonalidad morada tenue, además es finamente fibrilar, se observan gránulos finos de posición periférica, así como la presencia de una zona tenuemente teñida bordeando cerca de una tercera parte del núcleo.

El núcleo es de posición excéntrica de contornos regulares, generalmente no está en contacto con la membrana celular, ocupa aproximadamente el 50 % de la superficie de la célula y está ligeramente constreñido. La cromatina es teñida de color violeta claro, pudiendo variar la tonalidad a morado tenue es finamente fibrilar y granular observándose gránulos de cromatina densamente teñidos de número y tamaño variable, de 2 a 6 gránulos "grandes" y de 3 a 6 gránulos "pequeños", es frecuente observar la presencia de un gránulo denso en forma de triángulo o un par de fibras densas en forma de "V" (Láminas 17 y 18).

NEUTROFILOS

Estas células son ligeramente ovaladas presentan aproximadamente 13 μ de largo y 12 μ de ancho, con bordes irregulares, el citoplasma es color azul tenue finamente granular y fibrilar, se observan algunas zonas claras.

El núcleo es excéntrico cubre cerca de 50 % de la superficie de la célula con dimensiones aproximadas de 12 μ de largo y 8 μ de ancho, la cromatina es teñida de color morado con bordes irregulares, presentan entre 4 y 5 gránulos azurófilos con distribución homogénea y tendencia a formar un rombo (Láminas 12 y 18).

BASOFILOS

Células de redondas a alargadas con tallas que van de aproximadamente 10 a 14 micras de largo y de 8 a 12 micras de ancho, membrana plasmática uniforme, citoplasma con gránulos de redondos a alargados de número variable teñidos de color morado con densidad variable.

Núcleo de posición central a excéntrico, de aproximadamente 6 a 10 μ de largo y 5 a 8 μ de ancho, membrana nuclear regular, cromatina granular, teñida de azul cielo, se observan generalmente dos gránulos grandes más densamente teñidos localizados en un extremo del núcleo (Láminas 19 y 20).

FOTOGRAFIAS

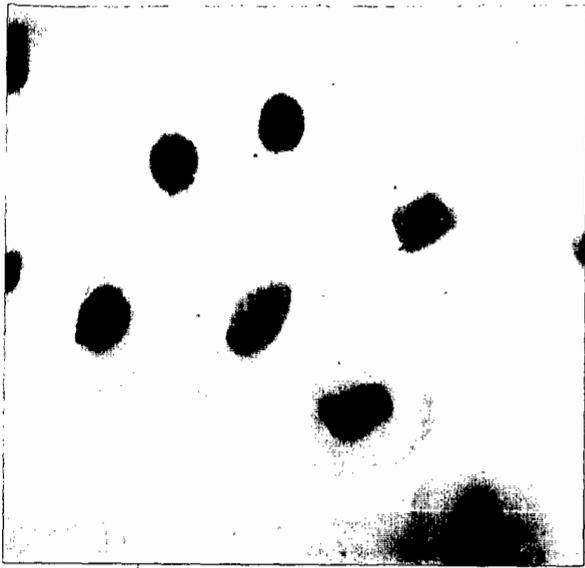


Lámina 1- Eritrocitos normales.

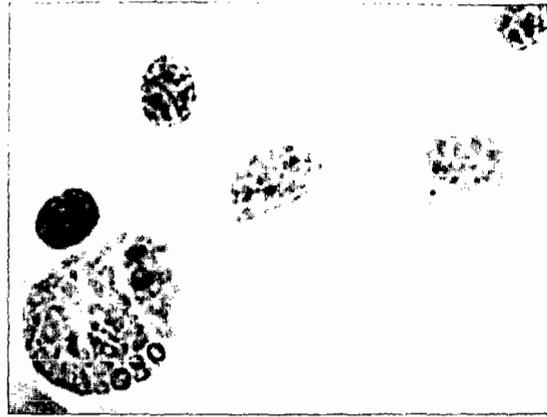


Lámina 2- Reticulocito.

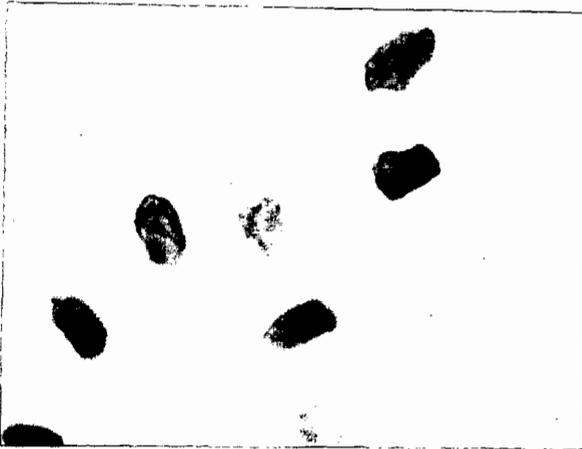


Lámina 3- Macrocyto y Microcyto.



Lámina 4- Eritrocito en forma de "pera".



Lámina 5- Eritrocito deforme.

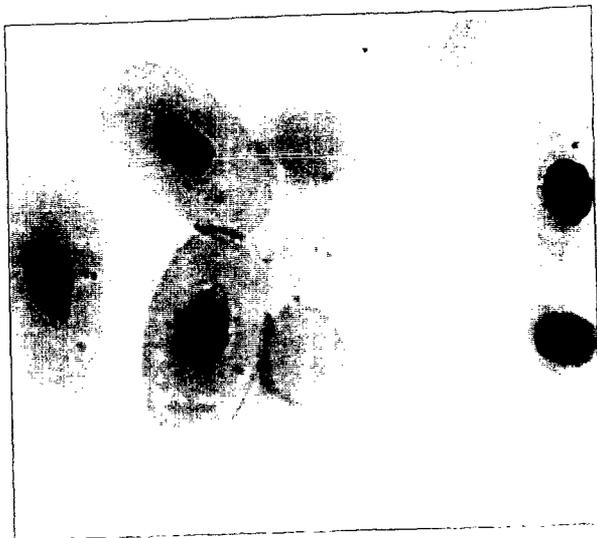


Lámina 6- Eritrocito senecto.

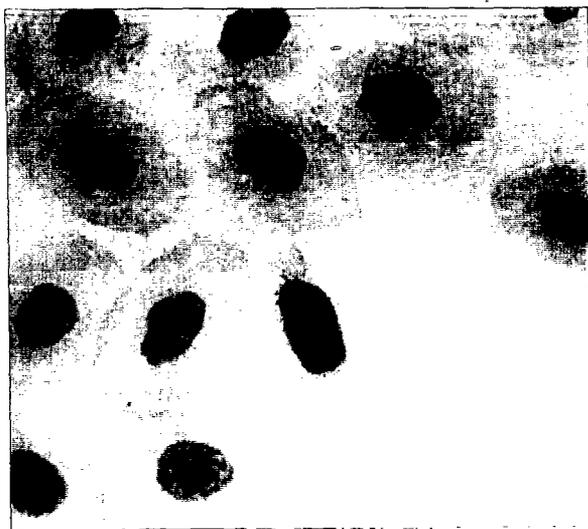


Lámina 7- Trombocito eliptico.

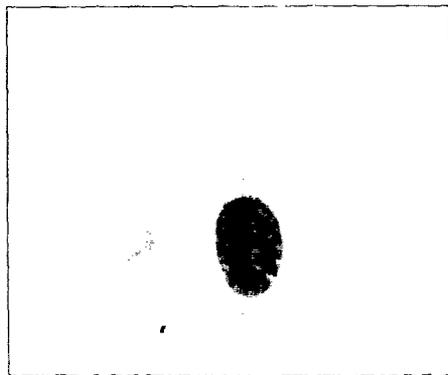


Lámina 8- Trombocito oval.

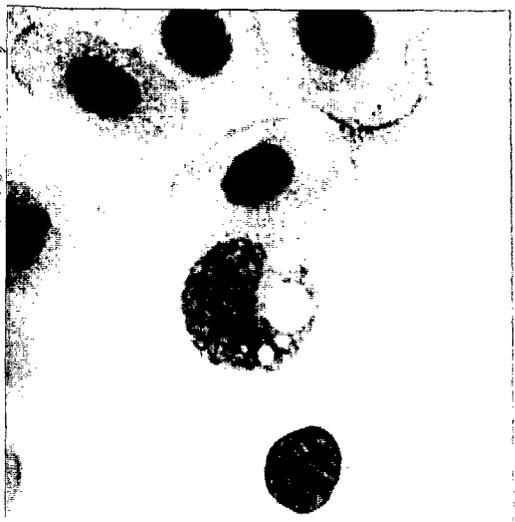


Lámina 9- Linfocito note las vacuolas hialinas.

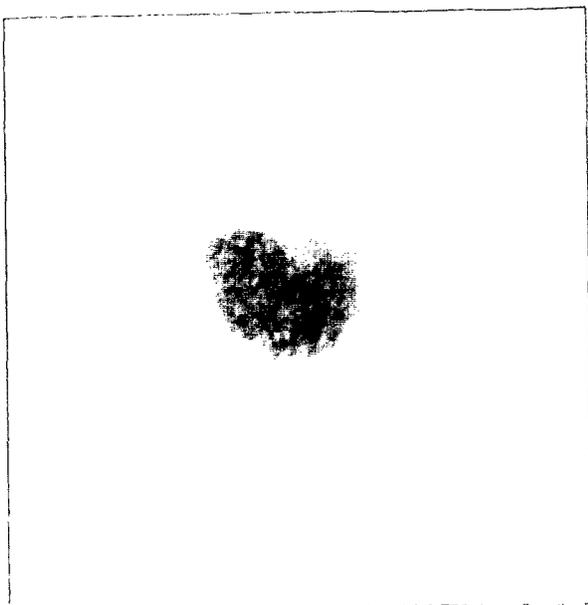


Lámina 10- Monocito, es facilmente identificado por su núcleo.

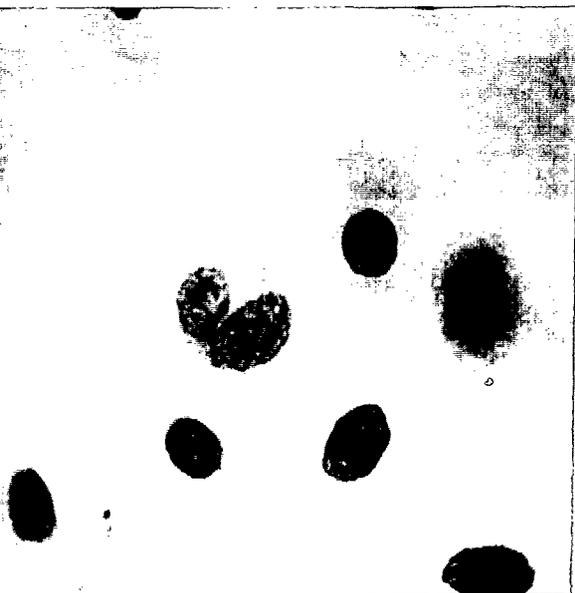


Lámina 11- Monocito, con núcleo bilobulado.

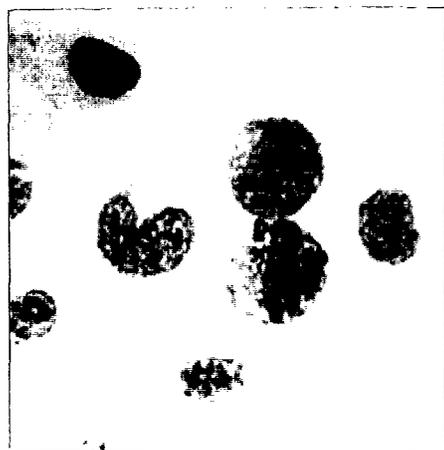


Lámina 12- Monocito, Neutrofilo y un Basofilo.

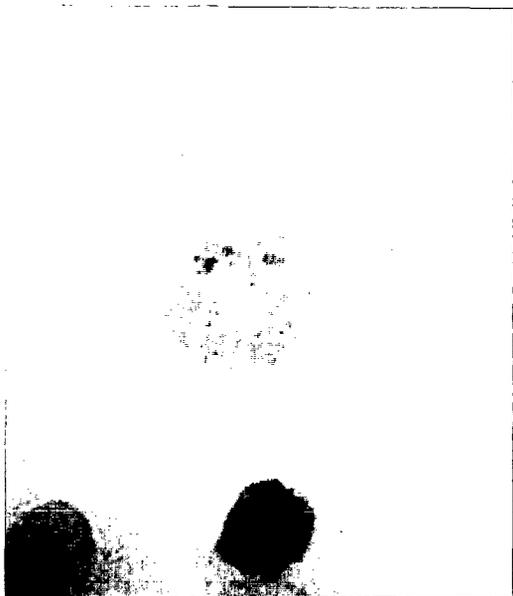


Lámina 13- Acidofilo con granulos redondos y núcleo bilobulado.

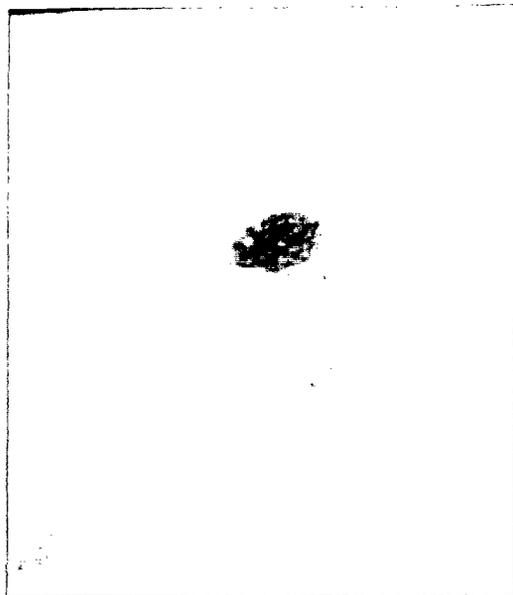


Lámina 14- Acidofilo con granulos fusiformes.

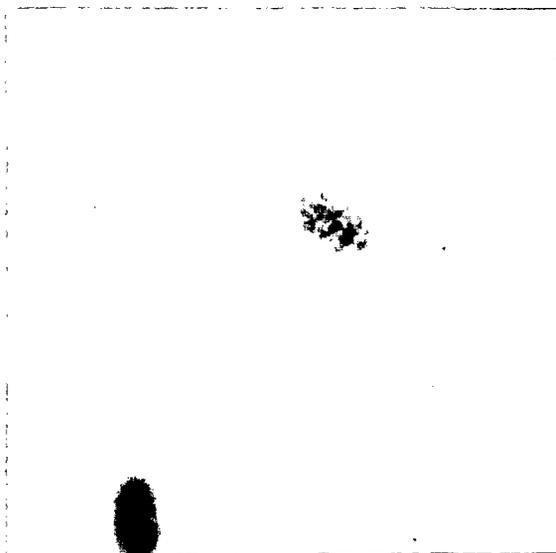
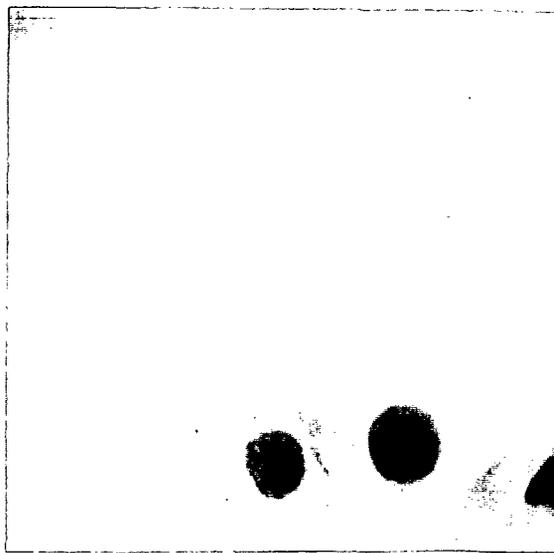


Lámina 15- Acidofilo, notese el granulo sobre el núcleo.



Lamina 16- Acidofilo degranulado, notese la forma de los granos.

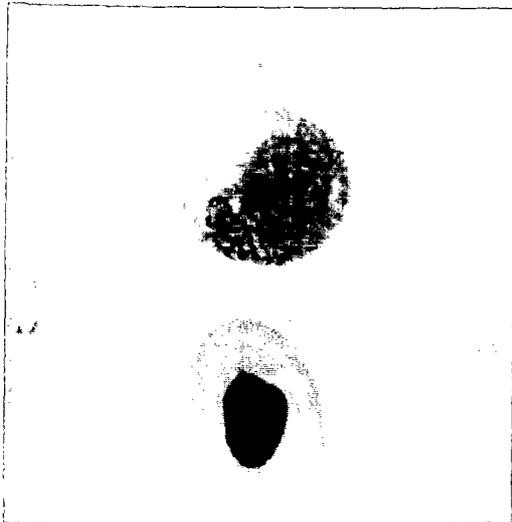


Lámina 17- Plasmocito.
note los granulos
del núcleo.

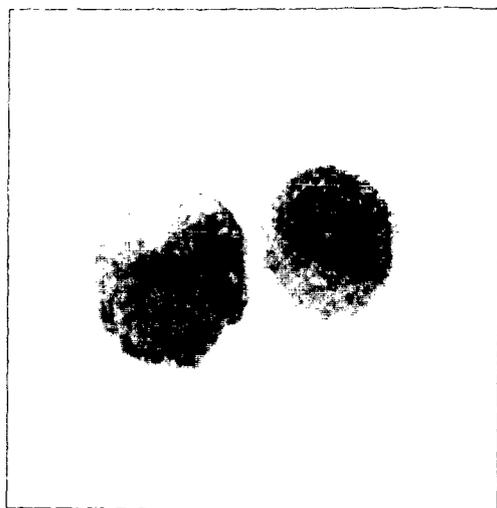


Lámina 18- Plasmocito vs.
Neutrofilo.

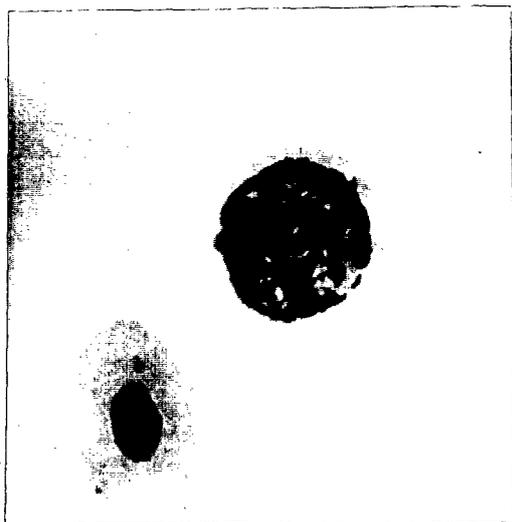


Lámina 19- Basofilo.



Lamina 20- Basofilo vs.
Neutrofilo.

VIII. DISCUSION

Los parámetros morfométricos en tortugas marinas comúnmente utilizados para establecer la talla de las especies son referidos a partir de los largos y anchos rectos del carapacho y plastrón, por ser estructuras óseas rígidas y comúnmente utilizadas para evaluar el crecimiento individual. Los parámetros morfométricos ARC, LRP y ARP sugieren que ambos grupos son similares, sin embargo, los resultados observados en LRC para los dos grupos estudiados establecen posibles diferencias (tabla 3). Las diferencias en LRC pueden ser explicadas por una observación directa, en la cual las crías no vigorosas se apreciaban más arqueadas en comparación con las vigorosas, además de la cloaca humedecida; por otra parte si consideramos la ligera diferencia entre el promedio de ambos grupos para LRP (0.04 cm), ARP (0.06 cm), ARC (0.06 cm), y el LRC (0.15 cm); si las crías vigorosas fueran más grandes la diferencia entre el LRP, ARP y ARC también deberían ser más grandes. En un estudio morfométrico se observaron diferencias para LRC, ARP y ALTURA CORPORAL entre crías emergidas y no emergidas de Lepidochelys olivacea (26).

En el peso de las crías se aprecian diferencias altamente significativas entre ambos grupos (tabla 3), las crías vigorosas son más pesadas que las no vigorosas, estas diferencias pueden ser explicadas por la pérdida de constituyentes orgánicos (biomasa) o probablemente a pérdida de líquidos corporales, o la combinación de ambos factores.

En las crías vigorosas se aprecia que la cantidad de vitelo (como constituyente orgánico) es mayor, mientras que en las no vigorosas es mucho menor, debido probablemente a que las crías vigorosas emergen inmediatamente después de la eclosión mientras que las crías no vigorosas por múltiples causas permanecen dentro del nido después que la eclosión a ocurrido, siendo extraídas después de 72 horas, durante éste tiempo las crías consumen parte del vitelo que es requerido para el mantenimiento de sus funciones vitales, agregándose el gasto de energía ocasionado por el continuo esfuerzo por la tendencia de salir a la superficie sugerido por los resultados en la semicuantificación de glucosa y posiblemente la temperatura del nido ocasione pérdida de líquidos corporales por la cloaca. Si consideramos el peso promedio observado en crías vigorosas como el 100 %, las no vigorosas tendrían el 13.89 % menos del peso de las crías vigorosas. En crías emergidas que han sido retenidas por cortos períodos de tiempo se ha observado el decremento de su peso corporal de hasta el 10 % por día de retención (Godínez-Domínguez, E. comunicación personal).

Al observar las diferencias en LRC y PESO de crías vigorosas y no vigorosas (menores en estas últimas) surge la interrogante, de si existe alguna relación entre estas dos variables en los dos grupos estudiados?. Para contestarla se realizó un análisis de correlación simple, el resultado obtenido establece una relación directa: a mayor LRC el PESO también será mayor, en crías

vigorasas el coeficiente de correlación es alto ($r = 0.9328$ y $p = 0.0000$), y en no vigorasas fue ligeramente menor pero altamente significativa ($r = 0.8411$ y $p = 0.0000$). Esto sugiere que ambos grupos son similares en los parámetros morfométricos y que la pérdida del peso y el arqueamiento del carapacho pudiera ser debida a pérdida de biomasa y líquidos corporales en las crías consideradas no vigorasas.

Los resultados del análisis estadístico de los valores hematológicos para las crías vigorasas y no vigorasas, muestran diferencias significativas para GR, GB, Hb, Hto y VGM (tabla 6), no encontrándose diferencias significativas para RETIS, TROMBO, HCM y CMHC, exceptuando este último parámetro, las crías no vigorasas presentaron un ligero aumento en los valores promedio comparados con el grupo de las crías vigorasas. Considerando estos resultados y las diferencias en LRC y PESO se sugiere que existe un efecto de hemoconcentración y el incremento de los valores hematológicos son debidos a posible pérdida de líquidos corporales ocasionado através de la cloaca la cual fue observada húmeda, causado por la permanencia de las crías en el nido después de la eclosión siendo sometidas al menos por 72 horas a la exposición del calor del nido.

Por lo anteriormente expuesto resulta interesante conocer: si están relacionados los parámetros LRC y PESO con los parámetros hematológicos?; si existe alguna relación entre los parámetros hematológicos de las crías de Lepidochelys olivacea?; y si ambos grupos presentan relaciones similares?.

Para contestar estas interrogantes se realizó un análisis de correlación simple con todas las variables hematológicas, así como el LRC y PESO de ambos grupos.

Las correlaciones significativas que se presentan en ambos grupos corresponden a la combinación Hb con LRC (positiva en vigorosas y negativa en no vigorosas), Hb con CMHC y Hto; GR con PESO -todas positivas- (tabla 8 C). En las crías vigorosas las correlaciones positivas fueron GR con LRC, Hb y Hto; Hb con PESO; y HCM con CMCH; la combinación GR con HCM mostró correlación negativa (tabla 8 A). Para el otro grupo se observaron correlaciones negativas para VGM con LRC y GR; HCM con LRC y PESO; las correlaciones positivas corresponden al VGM con PESO, Hto y HCM; GR con CMHC (tabla 8 B).

Los resultados sugieren una clara relación entre los parámetros hematológicos y las variables relacionadas con la biomasa (LRC y PESO) y sugieren que estos últimos juegan un rol en el mantenimiento del equilibrio de los valores hematológicos, el incremento o disminución en algún parámetro conduce a un rearrreglo hemodinámico.

En la figura 3 se muestran los diagramas que señala las relaciones observadas para crías vigorosas (figura 3 A), los GR y la Hb con una correlación directa debida a que los GR contienen Hb y los GR con el Hto por formar los primeros la mayor parte del paquete celular y por lo tanto la relación directa de Hb y Hto. La relación de GR y Hb con PESO y LRC (considerándolos como indicadores de la biomasa) es debida a los requerimientos de

oxigenación de la biomasa, de forma tal que a más biomasa se requieren más GR y Hb, para mantener la homeostasis del organismo.

La correlación inversa entre GR y HCM es posiblemente por la forma de estimar este último parámetro, en el cual a mayor cantidad de GR el valor del HCM disminuye. Las correlaciones de Hb con CMHC y HCM también son ocasionadas por la forma de calcularla, a mayor cantidad de Hb mayores serán los valores de CMHC y HCM manteniéndose la correlación de ambos con la Hb. El VGM parece no participar con los demás por carecer de correlación.

En las crías no vigorosas (figura 3 B), se mantienen correlaciones iguales entre GR y PESO; Hb con Hto y CMHC, pero se modifica la relación de LRC con Hb (inversa en este grupo), se pierden las relaciones de Hb con PESO; GR con LRC y HCM con CMHC; estableciéndose otras correlaciones en donde el VGM juega un papel central, relacionándose positivamente con el PESO, Hto y HCM; además los GR correlacionan con CMHC.

La relación inversa del LRC con Hb pudiera ser ocasionada por la deshidratación y el efecto de hemoconcentración, donde la Hb sufre un incremento significativo, mientras que la longitud del carapacho disminuida posiblemente a causa de la deshidratación manifestada por el arqueamiento, la relación VGM con PESO posiblemente es debida a los incrementos de los valores en los parámetros de la cuenta eritrocitaria y hematocrito, ambos son utilizados en la obtención del VGM, la relación VGM con el

Hto es establecida a partir de la formula del VGM, calculada en base al valor del Hto y los GR, en este caso el valor del Hto es mayor con respecto a los GR ocasionando que el VGM se incremente y correlacioné con el Hto, en cuanto la correlación VGM con HCM es directa y positiva, en ambos parámetros son calculados a partir de la cuenta eritrocitaria, correlacionándose así estos dos parámetros; la relación positiva de GR con CMHC es debida al incremento de los valores de la cuantificación de la hemoglobina, y el paquete celular sanguíneo, ambas relacionadas directamente con la cuenta eritrocitaria, estableciéndose así una relación con el CMHC. Por otra parte el VGM observó correlación inversa con: LRC y GR; debida a que la deshidratación produce posiblemente arqueamiento del carapacho disminuyendo la longitud de éste, a la vez se produce el efecto de hemoconcentración elevando los valores de la cuenta eritrocitaria y del paquete celular, la relación negativa del VGM y los GR es ocasionada por el mayor incremento del Hto con respecto al de los GR conduciendo a la relación: a menor cantidad de GR menor es el valor del VGM.

El HCM es correlacionado inversamente con la biomasa como es LRC y PESO, si las crías no emergen después de ocurrida la eclosión sufren de deshidratación y perdida del peso, esto les ocasiona disminución en la longitud del carapacho además de hemoconcentración, por lo tanto al disminuir la cantidad de biomasa los parámetros hematológicos son incrementados y con ellos la estimación de los parámetros entre ellos el HCM, estableciéndose así la relación inversa.

Las diferencias en los coeficientes de variabilidad intermuestrales del control interno, (tabla 7) son posiblemente debidas a las condiciones fisiológicas particulares de cada organismo, las cuentas eritrocitarias y leucocitarias varían en géneros, especies e interespecies, además otros factores como son sexo de los animales, edad, ciclos reproductivos, estado nutricional, estación del año y condiciones patológicas entre otros (11), los que inducen estas disparidades.

Por otra parte RETIS y TROMBO en el control interno fueron muy variables (tabla 7); en las crías vigorosas y no vigorosas se observaron desviaciones estándar altas (tablas 4 y 5) sin embargo las pruebas estadísticas no muestran diferencias significativas entre ambos grupos (tabla 6); esto sugiere que las dos estirpes pueden presentar gran variación entre los neonatos de Lepidochelys olivacea siendo necesario incrementar el número de muestras para obtener una menor dispersión en el conteo de estas estirpes o en su defecto indica que la técnica utilizada para el conteo de RETIS y TROMBOS no es el adecuado, siendo necesario la búsqueda de métodos alternativos para su conteo.

De las crías no vigorosas el 57.89 % presentó valores de glucosa no detectables hasta 40 mg/dl de sangre, el 42.10 % restante presento valores de glucosa entre 80 hasta 180 mg/dl de sangre (figura 2), éstas diferencias observadas para el mismo grupo pudieran sugerir que las crías con aparente cuadro hipoglucémico su permanencia dentro del nido fue mayor de 72 horas.

Por otra parte, el 70.37 % del grupo vigoroso presento valores entre 80 y 120 mg/dl considerados normales en mamíferos, el 14.81 % mostró 40 mg/dl y el restante de 180 mg/dl de glucosa en sangre.

Las diferencias observadas en la semicuantificación de glucosa en los dos grupos pudieran ser ocasionadas por las diferentes condiciones ambientales en que se encuentran ambos grupos después de ocurrida la eclosión; las crías vigorosas una vez emergidas se dirigen hacia el mar, mientras que el otro grupo permanece dentro del nido y son extraídas en ocasiones después de 72 horas, durante este lapso de tiempo el mantenimiento de sus funciones metabólicas vitales consumen glucosa a partir de las reservas energéticas del organismo generadas a partir del contenido del vitelo.

La morfología que es descrita en el presente trabajo es similar a la reportada para la clase Reptilia (11), por otra parte para Lepidochelys olivacea no fueron encontradas cuentas diferenciales para las células leucocitarias, así como tampoco referencias de las dimensiones de las diferentes estirpes celulares.

En neonatos de Lepidochelys olivacea registramos las medidas eritrocitarias de aproximadamente 18 μ de largo por 11 μ de ancho y núcleos de 8 μ de largo y 5 μ de ancho aproximadamente, sin embargo no se observaron similitudes para las dimensiones de los eritrocitos realizados en organismos adultos de la misma especie, además de no encontrarse datos sobre las dimensiones de los núcleos (10, 11). Las diferencias observadas en la talla eritrocitaria pueden estar influenciadas por varios factores como son: a) los organismos muestreados pertenecen a diferentes grupos de edad (los datos reportados son para adultos), b) Diferencias en las metodologías utilizadas en la medición de las células (difierieren las medidas en fresco del frotis seco).

La cuenta eritrocitaria promedio observada para los neonatos de Lepidochelys olivacea es diferente a la reportada para organismos adultos, siendo esta menor que para las crías, tal diferencia encontrada puede ser debida por: a) los diferentes estadios de los organismos; b) estado nutricional; c) condición de salud, d) estación anual en que fueron muestreados, e) el sexo de los individuos, f) el número de individuos muestreados (10).

Los valores promedio del Hematocrito en los neonatos también observó diferencias para el encontrado en los organismos adultos, siendo éste mayor, las diferencias encontradas son posiblemente atribuidas a los mismos factores que afectan a la cuenta eritrocitaria.

La aplicación de los métodos de laboratorio, a las prácticas de conservación de la tortuga marina, se consideran como una valiosa herramienta. Las técnicas de cultivo en las especies que están en peligro de extinción ofrecen una alternativa para la conservación; sin embargo el confinamiento de organismos aumenta en gran medida las posibilidades de contraer enfermedades de curso grave ocasionando mortalidad, los cultivadores se ven imposibilitados a establecer medidas curativas por carecer de parámetros clínicos que permitan ofrecer un diagnóstico y tratamiento adecuado. Los datos obtenidos en el presente trabajo muestran algunas diferencias entre crías vigorosas y no vigorosas, sin embargo no podemos establecer valores hematológicos constantes, siendo necesario para tal efecto incrementar el número de muestreos de estos organismos, con el fin de disminuir la sobreposición de los datos, además de incluir otros estudios como: velocidad de eritrosedimentación, b) determinación de proteínas totales, c) determinación cuantitativa de glucosa y d) la determinación de la fórmula leucocitaria, con la finalidad de apoyar la posible hemoconcentración, así como otros estudios con el objetivo de conocer el comportamiento de los parámetros hematológicos en organismos sanos como enfermos.

CONCLUSIONES

* Mediante la evaluación de los valores hematológicos es posible diferenciar condiciones en la salud de crías de Lepidochelys olivacea incubadas en condiciones seminaturales.

* Existe una alta correlación entre los parámetros hematológicos y las variables relacionadas con la biomasa como son LRC y PESO, sugiriéndose que estos últimos mantienen el equilibrio de los valores hematológicos, cuando estas variables disminuyen ocurre un rearrreglo hemodinámico.

* Es posible la estimación confiable de los parámetros hematológicos a excepción del recuento de reticulocitos y trombocitos los cuales resultaron ser muy variables.

* Los valores hematológicos de las crías no vigorosas comparados con las crías vigorosas fueron relativamente altos, sugiriéndose la existencia del efecto de hemoconcentración causado por deshidratación .

* La morfología celular descrita para la clase Reptilia es similar con la observada para los neonatos de Lepidochelys olivacea, sin embargo no fueron encontradas características propias para las estirpes celulares de estos organismos.

* La permanencia de las crías en el nido después de 72 horas de ocurrida la eclosión produce disminución de la semicuantificación glucosa con valores no detectables hasta 180 mg/dl de sangre.

* Existe una correlación fuerte entre el LRC y el PESO de las crías vigorosas y no vigorosas; a mayor longitud del LRC mayor será el valor del PESO y viceversa.

* Para el establecimiento de los parámetros hematológicos normales se requiere incrementar en gran medida el número de muestreos, con el fin de evitar la sobreposición de los valores hematológicos.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Weichert, C. K., Presch, W. 1986. Elementos de Anatomía de los Cordados. Cap 12. Aparato Circulatorio. 4ª edición., Mc Graw - Hill, pag. 331-382, México.
- 2.- Del Villar, J. A. 1987. LOS CORDADOS, Origen Evolución y Hábitos de los Vertebrados. Cap 16. Estudio Sistemático de los Reptiles. 7ª ed., C.N.E.B. CECSA, pag. 169-193, México.
- 3.- Benabib, N. y Cruz Wilson, E. (1981). Las tortugas Marinas en México. Naturaleza. 3:157-166.
- 4.- Silva, Francisco de Asís 1986. Temperaturas Pivote para la diferenciación Sexual en la tortuga Marina Lepidochelys olivacea y sus Implicaciones en las practicas de Conservación. Tesis de Licenciatura. Fac. de Ciencias U.D.G. cod. 076223394.
- 5.- Godínez-Domínguez E., F. Silva Batiz., I. Enciso- Padilla. 1991. Manual de Técnicas y Procedimientos de Protección en Campo de la Tortuga Marina en el Estado de Jalisco. Programa Interinstitucional de Protección y Conservación de la Tortuga Marina en el Estado de Jalisco; SEDUE, SEPESCA, COESE y U DE G. FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA.

- 6.- Casas Andreu, G. (1978) Análisis de la anidación de las tortugas marinas del género Lepidochelys olivacea en México. Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, 5:141-158.
- 7.- Casas Andreu, G. 1982. Anfibios y Reptiles de la Costa Suroeste del Estado de Jalisco con Aspectos sobre su Biogeografía. Tesis Doctoral. Fac. de Ciencias. UNAM
- 8.- Crastz, F. 1982. Embryological stages of the marine turtle Lepidochelys olivacea. Rev. Biol. Trop. 30:113-120.
- 9.- Coffin, D. L.; V. M. D. 1986. Laboratorio clínico en medicina veterinaria. Cap VII Hematología. 4a reimp., Ediciones Científicas. La Prensa Médica Mexicana S.A. pag. 125-170, México.
- 10.- Frair, W. Turtle red blood cell packed volumes, sizes and numbers. Herpetologica 33:167-190, 1977.
- 11.- Frye, F. L. 1981 Biomedical & surgical aspects of captive reptile husbandery. Cap 4 Hematology. 1st edition., Krieger Publishing Co. pag. 61-160, Melbourne, F. L.
- 12.- Brace, K. C, Altland, P. D.: Red Cell Survival in the Turtle. Am J Physiol, 183:91-94, 1955.

- 13.- Ballinger, R. E. and Hipp, T. G.; 1985. Hematological variations in the collared lizard Crotaphytus colaris (Sauria: iguanidae). Copeia 1985 (3): 782-784.
- 14.- Ehrenfeld, D., (1985a) Conservation theory, techniques and law. En: Bjorndal, K. A. (Ed.) Copeia 1985 (3): 456-463.
- 15.- Ehrenfeld, D., (1985b) Sea turtle conservation. Strategy, action plan and action projects. En: Bjorndal, K. A. (Ed.) Copeia 1985 (3): 566-583.
- 16.- Balazs, G.H., 1986. Fibropapillomas in Hawallian green turtles. Marine Turtle Newsletter. 39:1-3.
- 17.- Glazebrook, J.S. and Cambell, R.S.F.; 1990a. A survey of diseases of marine turtles in northern Australia I. Farmed turtles. Dis. Aquat. Org. Vol 9: 83-95, 1990.
- 18.- Glazebrook, J.S. and Cambell, R.S.F.; 1990b. A survey of the diseases of marine turtles in Northern Australia. II. Oceanarium-Reared and wild turtles. Dis. Aquat. Org. Vol. 9:97-104, 1990.

- 19.- Cisneros, M. P., Domínguez, L. A., Mendoza, L. M., García, T. N., Paz, R. R., Peralta, D. I. y Pérez, I. G. (199) Crias en cautiverio. VII Encuentro Interuniversitario sobre Tortugas Marinas de México. Realizado en la Fac. Ciencias, Universidad de Guadalajara.
- 20.- Murphy, J. B., 1973. A review of diseases and treatments of captive Chelonias: Dietary deficiencies. Hiss News Journal 1:173-179.
- 21.- Kochinsky, L. J., Burney C. M., Haines H, and Wondolosky Ch, M. Control of skin lesions in loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*) with an iodophor compund. National Oceanic and Atmospheric Administration. Technical Memorandum NMFS-SEFC-214, 1988.
- 22.- Godínez Domínguez, Enrique 1989. Variabilidad fenotípica en la población de tortuga marina Lepidochelys olivacea (Eschscholtz, 1829) del Playon de Mismaloya, Jalisco, temporada 1987. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. U.D.S. 079046531.

- 23.- Romero-Jarero J., Montero R. A. B., Ferrara G. M. J., Lizarraga P. L., y Rodríguez S. H. (1981). Estudio de las enfermedades cutáneas en las tortugas marinas bajo condiciones de cautiverio. Sepesca VII Simposio Latinoamericano sobre Oceanología Biológica. México.
- 24.- Lynch., Raphael., Mellor., Spare e Inwood,. 1985. Métodos de Laboratorio. 2ª Secc. HEMATOLOGIA. Cap 16 Obtención de muestras de sangre y citometría hemática. 2ª ed., 5ª Reimpresión. Interamericana, México. P 703-717.
- 25.- Aiquel, F. 1975. MANUAL DE ANALISIS CLINICOS. Cap. I Sangre. 3ª edición., Editorial Médica Panamericana, pag. 15-263, Buenos Aires.
- 26.- Koolb, E. 1976. Fisiología veterinaria Tomo I. Cap VII Fisiología de los líquidos Corporales: La Sangre. 2ª ed., Acribia, pag. 420-494, Zaragoza.
- 27.- Steel R. y J. Torrie 1985. Bioestadística. Principios y Procedimientos. Cap 20 Análisis de Varianza. 2ª ed., Mc Graw - Hill, pag. 230-350 México.
- 28.- Riggs, A. 1981. Preparation of blood Hemoglobins of vertebrates. Methods in Enzymol. 76: 5-29.

REPORTE DE ANOMALIAS

CUCBA

A LA TESIS:

LCUCBA00313

Autor:

Solis Zamora Ricardo

Tipo de Anomalía:

**Errores de Origen: Faltante de Folios No. 45 A 62
Se indica su existencia en Indice; No vienen**



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Sección
 Expediente
 Número

831/91

C. RICARDO SOLIS ZAMORA
 P R E S E N T E . -

Manifiestamos a usted, que con esta fecha ha sido aprobado el tema de Tesis " ESTIMACION DE LOS PARAMETROS HEMATOLOGICOS EN NEONATOS DE Lepidochelys olivacea ECLOSIONADOS EN CONDICIONES SEMINATURALES" para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como Director de dicha Tesis el Biol. Fco. Javier Perea Diaz.



FACULTAD DE
 CIENCIAS BIOLÓGICAS

A T E N T A M E N T E
 " PIENSA Y TRABAJA "
 POR "LIC. JOSE GUADALUPE GONZALEZ HERRANDEZ"
 Guadalupe, Jalisco, 17 de Noviembre de 1991.
 AL DIRECTOR

M. EN C. CARLOS HEAL ZARATE

EL SECRETARIO

M. EN C. MARTÍN PEDRO TENA MEZA

c.c.p.- El Biol. Fco. Javier Perea Diaz Director de Tesis.Pte.-
 c.c.p.- El expediente del alumno.
 CBZ>MPTM>Cglr.

Al contestar este oficio cifrese fecha y número

C. DR. JUAN LUIS CIFUENTES LEMUS
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
P R E S E N T E

Me permito manifestar a usted que una vez revisada la tesis "Estimación de los parámetros hematológicos en neonatos de Lepidochelys olivacea eclosionados en condiciones seminaturales". presentada por el C. RICARDO SOLIS ZAMORA y haber realizado las observaciones pertinentes, considero que se puede imprimir y solicito a usted atentamente se realicen los tramites para el examen respectivo.

Sin otro particular aprovecho la ocasión para reiterarle mi distinguida consideración.

A T E N T A M E N T E



BIOL. Fco. JAVIER PEREA DIAZ.
DIRECTOR DE TESIS.

Guadalajara Jal. a 28 de Agosto de 1992.



DIRECCION GENERAL DE CONSERVACION ECOLOGICA DE LOS RECURSOS NATURALES. RIO ELBA No. 20, 10o. PISO. COL. CUAUHTEMOC. 06500 MEXICO. D.F.

SECRETARIA DE DESARROLLO SOCIAL OFICIO No. 412. (1). 7247

Ciudad de México, 15 JUL 1992

M. EN C. ENRIQUE GODINEZ DOMINGUEZ. Y M. EN C. FRANCISCO JAVIER PEREA DIAZ. FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS. UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA. BLVD. GRAL. MARCELINO GARCIA BARRAGAN Y CORREGIDORA. S.R. GUADALAJARA. JAL.

Considerando que ha dado cumplimiento a los requisitos establecidos para efectuar investigaciones y/o colectas científicas de flora y fauna silvestres y acuáticas en el país, esta Dirección General con fundamento en los Artículos 79, fracción III; 80; fracción I y VI; y 83 de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente; 32 fracciones I, XXIII y XXVIII de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; así como en los Artículos 7 y 8 del Decreto que reforma, adiciona y deroga diversos Artículos de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal publicado en el D.O.F. del 25/05/92, ha tenido a bien autorizar la colecta de 100 (CIEN) crías de tortuga golfina (Lepidochelys olivacea), obtenidas de los corrales de incubación seminatural del Playón de Mismaloya, Jal., 30 (TREINTA) de los cuales servirán para realizar la estimación de parámetros hematológicos en neonatos y su traslado a la Universidad de Guadalajara y posterior liberación en el Playón de Mismaloya, durante el período comprendido entre el 1o. de agosto y el 30 de noviembre de 1992.

Esta autorización se expide en apoyo a los estudios sobre la proporción sexual de crías de tortuga golfina (L. olivacea) en corrales de incubación en el Playón de Mismaloya, Jal., y se sujetará a las siguientes condicionantes:

- 1.- Cumplir con las disposiciones Administrativas, Fiscales y de Sanidad exigibles por las autoridades competentes.
2.- En la realización del proyecto propuesto, se responsabilizará de cualquier impacto significativo a las poblaciones de la flora y fauna silvestres y acuáticas por lo que deberá considerar el riesgo de perturbación del ecosistema, antes de su ejecución y no llevarlo a cabo si el riesgo es alto.
3.- Al inicio de las actividades de campo, deberá presentarse ante la Delegación de Desarrollo Social en el Estado de Jalisco, ubicada en Liceo No. 505 Palacio Federal, Sector Hidalgo, Guadalajara, Jal., donde entregará por escrito su programa de trabajo. Asimismo, al término de las mismas, lo notificará por escrito remitiendo un informe que incluya avances, descripción y especificaciones de la investigación y/o colectas realizadas, la problemática detectada, comentarios y propuestas de solución al respecto.



SECRETARÍA DE DESARROLLO
SOCIAL

4, Durante el desarrollo de las actividades inherentes a la investigación deberá proporcionar las facilidades necesarias a un técnico que designe la Delegación Estatal de la Secretaría de Desarrollo Social en Jalisco quién fungirá como supervisor de esta Unidad Administrativa, y deberá remitir a ésta a mi cargo un informe detallado de las actividades realizadas al término de las mismas.

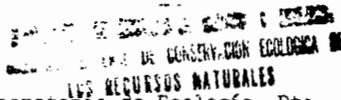
5. Deberá remitir a esta Dirección General, en un plazo no mayor de 30 (TREINTA) días concluida la vigencia de la presente, un informe que describa detalladamente las actividades realizadas, resultados obtenidos, problemática del área trabajada, alternativas de solución y en su oportunidad copia de las publicaciones producto de esta investigación.

6. Queda **estrictamente** prohibido efectuar colecta, transporte y aprovechamiento alguno de las especies de flora y fauna silvestres y acuáticas, raras, amenazadas y en peligro de extinción, así como realizar actividades en áreas naturales protegidas de México, excepto las mencionadas.

La presente autorización es personal e intransferible y habrá de mostrarse a las Autoridades Federales, Estatales y Municipales cuantas veces lo soliciten. El incumplimiento a las condiciones establecidas, dará origen a la cancelación automática de la misma y a la aplicación de la legislación correspondiente, según el caso.

A T E N T A M E N T E .
SUFRAGIO EFECTIVO. NO REELECCION.
LA DIRECTORA GENERAL.

Graciela de la Garza García
DRA. GRACIELA DE LA GARZA GARCIA.



- C.c.p. C. Fis. Sergio Reyes Luján.-Subsecretario de Ecología.-Pte.
C. Ing. J.L. Ibarra Rodríguez.-Delegado Estatal de la Secretaría de Desarrollo Social en Jalisco.-Guadalajara. Jal.
C. Biól. Wilfrido Márquez Ramírez.-Director de Flora y Fauna Silvestres.-Pte
C. M. en C. Carlos Beas Zárate.-Director de la Facultad de Ciencias Biológicas de la universidad de Guadalajara.-Blvd. Gral. Marcelino García Barragán y Corregidora, S.R.-Guadalajara, Jal.
C. Biól. Eleazar Loa Loza.-Subdirector de Patrimonio.-Pte.
C. M. en C. Silvia e. Zárate Vidal.-Jefa del Depto. de Flora y Fauna Acuáticas.-Pte.
- Archivo General (3147 y 17581).

GGG/WME/ELL/SBKV/amcs. (1006)