



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN

EVALUACIÓN HISTOLÓGICA DE EMBRIONES  
NO ECLOSIONADOS DE TORTUGA MARINA *Caretta caretta* y  
*Chelonia mydas*, RECOLECTADOS AL TÉRMINO DEL PERIODO  
DE INCUBACIÓN EN EL CAMPAMENTO TORTUGARIO  
DE XPU HA DE QUINTANA ROO

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
MÉDICA VETERINARIA ZOOCTECNISTA

P R E S E N T A:  
LINDA WENDOLYNE VILCHIS TAVERA

ASESOR:  
DR. GUILLERMO VALDIVIA ANDA

COASESOR:  
DR. JUAN CARLOS DEL RIO GARCIA



Cuautitlán Izcalli, Estado de México

2011



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

**ASUNTO: VOTO APROBATORIO**

**DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO  
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**

**ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ  
Jefa del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautilán**

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos **LA TESIS:**

Evaluación histológica de embriones no eclosionados de tortuga marina Caretta caretta y Chelonia mydas, recolectados al término del periodo de incubación en el campamento tortugario de XPU HA de Quintana Roo

Que presenta la pasante: **Linda Wendolyne Vilchis Tavera**  
Con número de cuenta: **40601152-9** para obtener el Título de: **Médico Veterinario Zootecnista**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"**  
Cuautilán Izcalli, Méx. a 20 de Septiembre de 2011.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	<b>NOMBRE</b>	<b>FIRMA</b>
<b>PRESIDENTE</b>	Dr. Guillermo Valdivia Anda	
<b>VOCAL</b>	MVZ. Rodolfo Córdoba Ponce	
<b>SECRETARIO</b>	M. en C. Gerardo López Islas	
<b>1er SUPLENTE</b>	M. en C. Tiziano Santos Morán	
<b>2do SUPLENTE</b>	MVZ. Hugo César López Farias	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120).  
HHA/pm

## **DEDICATORIAS:**

### **A mi familia:**

A mis abuelos siempre me apoyaron a estudiar Medicina Veterinaria, a pesar de que dos de ellos ya descansan en paz.

A mis padres que siempre han respetado y apoyado mis decisiones.

A mis hermanos, que deben de saber que lo importante en la vida es hacer lo que a uno le gusta.

A mis amigos, que siempre me han brindado su oído y sus consejos así como compartirme su vida. Principalmente a mis mejores amigos de la preparatoria y de la universidad.

A mi gato, que llegó a mi vida desde que empecé a estudiar la licenciatura.

### **A todos los animales:**

Que merecen el respeto y la humildad que los humanos debemos aportarles.

## **RECONOCIMIENTOS:**

### **A mis asesores:**

Dr. Guillermo Valdivia Anda y Dr. Juan Carlos Del Rio García.  
Por su apoyo y observaciones para fortalecer la estructura de este trabajo.

M. en C. Cesar Cuenca Verde.  
Por el apoyo técnico para la realización del trabajo

### **A mis sinodales:**

MVZ. Rodolfo Córdoba Ponce, M. en C. Gerardo López Islas,  
M. en C. Tiziano Santos Morín y MVZ. Hugo César López Farias.  
Por sus críticas constructivas y sus sugerencias para la presentación de este trabajo.

**ESTE TRABAJO FUE REALIZADO CON EL APOYO DE LOS  
PROYECTOS:**

Programas de Apoyo de Investigación e Innovación Tecnológica  
(PAPIIT)

IT224311-3

Programas de Apoyo de Investigación e Innovación Tecnológica  
(PAPIIT) IN216005.

Programa de Apoyo a Proyectos para el Mejoramiento de la  
Enseñanza (PAPIME) PE 200707

**CON EL EQUIPO E INSTALACIÓN DE:**

Laboratorio de Patogenicidad Microbiana de la Unidad de  
Investigación Multidisciplinaria en Salud Animal de la FESC,  
Campo 4

Laboratorio de Diagnóstico Integral Veterinario (DIVET®).

# ÍNDICE

	Página
1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCIÓN.....	2
3. ANTECEDENTES.....	5
4. MARCO TEÓRICO.....	6
5. JUSTIFICACIÓN.....	10
6. HIPÓTESIS.....	11
7. OBJETIVOS.....	12
8. MATERIAL Y MÉTODOS.....	13
9. RESULTADOS.....	18
10. DISCUSIÓN.....	41
11. CONCLUSIONES.....	45
12. BIBLIOGRAFÍA.....	46

## LISTA DE CUADROS

Página

<b>Cuadro 1.</b> Clasificación de Huevos no eclosionados de las tortugas marinas <i>Caretta caretta</i> y <i>Chelonia mydas</i> en el campamento Tortuguero Xpu Ha.....	9
<b>Cuadro 2.</b> Embriones de tortuga marina clasificados en 3 fases de desarrollo.....	14
<b>Cuadro 3.</b> Hallazgos histopatológicos en 12 muestras de <i>Caretta caretta</i> .....	18
<b>Cuadro 4.</b> Hallazgos histopatológicos en 11 muestras de <i>Chelonia mydas</i> .....	19
<b>Cuadro 5.</b> Tabla de contingencia.....	27
<b>Cuadro 6.</b> Lesiones en tráquea de <i>Caretta caretta</i> .....	29
<b>Cuadro 7.</b> Lesiones en intestino delgado y nodo linfático de <i>Caretta caretta</i> .....	30
<b>Cuadro 8.</b> Lesiones en hígado de <i>Caretta caretta</i> .....	32
<b>Cuadro 9.</b> Lesiones en tráquea, intestino delgado y nodo linfático de <i>Chelonia mydas</i> .....	33
<b>Cuadro 10.</b> Lesiones en tráquea e intestino delgado de tortugas marinas en fase 1.....	36
<b>Cuadro 11.</b> Lesiones en tráquea e intestino delgado de tortugas marinas en fase 2.....	37
<b>Cuadro 12.</b> Lesiones en tráquea e intestino delgado de tortugas marinas en fase 3.....	38
<b>Cuadro 13.</b> Lesiones en hígado y nodo linfático, de tortugas marinas en fase 3.....	40

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Recolección adecuada en frasco de formalina.....	13
<b>Figura 2.</b> Tráquea, de <i>Caretta caretta</i> , tinción H.E. ....	20
<b>Figura 3.</b> Pulmón, de <i>Caretta caretta</i> , tinción H.E.....	21
<b>Figura 4.</b> Intestino delgado, de <i>Caretta caretta</i> , tinción H.E.....	22
<b>Figura 5.</b> Intestino delgado, de <i>Chelonia mydas</i> , tinción H.E.....	23
<b>Imagen 6.</b> Hígado, de <i>Caretta caretta</i> , tinción H.E.....	24



## **1. RESUMEN**

El presente proyecto se inició con la recepción de 23 muestras de huevos de tortugas marinas de las especies *Caretta caretta* y *Chelonia mydas*, las cuales no llegaron a eclosionar después de su periodo natural de incubación. Las muestras provenían del campamento tortuguero Xpu Ha de Quintana Roo, México. Su recolección se realizó bajo el permiso de colecta científica Of. No. SGPA/DGVS/04297/09 y fue con el propósito de analizar histológicamente sus órganos y determinar con ello, si la causa de muerte fue de tipo bacteriano.

En el momento de la recolección, los huevos fueron agrupados en tres etapas de desarrollo, para tomar las muestras bacteriológicas e histológicas correspondientes. Las muestras fueron almacenadas en recipientes con formol al 10%, siendo clasificadas de acuerdo a la especie, zona de procedencia, el número de nido y número de huevos tomados de dicho nido (Lucio, 2010). Después fueron transportadas, al laboratorio de Patogenicidad Microbiana de la Unidad de Investigación de la FES Cuautitlán-UNAM, donde fueron procesadas para la obtención de cortes histológicos, utilizando la tinción de Hematoxilina - Eosina. Al finalizar la revisión histológica, se reportaron únicamente los hallazgos histopatológicos, los cuales se analizaron mediante  $X^2$ , para determinar cuáles debían de ser considerados estadísticamente significativos.

## 2. INTRODUCCIÓN

El éxito en la eclosión de los huevos de tortuga depende de la interacción que existe entre una serie de factores: salinidad, humedad, temperatura, flujo de gases, lluvia, depredación, inundación, erosión y agentes infecciosos (Kasha & Downie, 1999; Bárcenas & Maldonado, 2009). Es importante considerar, trasladar los nidos a establecimientos de incubación, en caso de que exista riesgo para su eclosión, y también con el fin de disminuir la mortalidad de los huevos (Kasha & Downie, 1999). El llevar a cabo un seguimiento de malformaciones de embriones y neonatos de tortugas marinas, de determinada zona, aporta a largo plazo, las herramientas para identificar cambios que indiquen una relación con los contaminantes de la zona y sus respectivos impactos (Carswell & Lewis, 2003).

La persistencia de las poblaciones naturales de tortuga marina, depende en gran medida, del éxito de incubación de sus huevos en las playas de anidación. (Bell *et al.*, 2003).

Durante el desarrollo embrionario, las tortugas generan  $\text{CO}_2$ , consumen  $\text{O}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$  del medio, cuyos gradientes dentro del nido tienen relación con el éxito de eclosión (Ralph *et al.*, 2005).

Es importante determinar y prevenir las causas de mortalidad embrionaria de las tortugas marinas, para lograr aumentar la población de neonatos y aumentar la supervivencia de los huevos. (Bell *et al.*, 2003). Dentro de las causas de mortalidad están los factores ambientales y las causas antropogénicas (provocadas por el hombre). Los factores ambientales tienen un papel importante en la cría, para la determinación del sexo, el crecimiento y su fisiología. En caso de que los nidos se vieran afectados por contaminantes que llegan al mar, éstos pueden llegar a tener malformaciones. Los factores antropogénicos se consideran como la principal causa

de mortalidad entre los adultos y los huevos, debido a la pesca y la caza furtiva de las tortugas. (Bárceñas & Maldonado, 2009)

En el diagnóstico de las enfermedades infecciosas de las poblaciones, se debe de comprender la diferencia entre el estar infectado por el agente y el manifestar la enfermedad (afección evidente) a causa del agente. Un diagnóstico completo de enfermedades virales, bacterianas o micóticas incluiría intentos para aislar e identificar al agente microbiano. Los especímenes deben de ser colectados y transportados de tal manera que la viabilidad del microorganismo sea preservada y con el fin de prevenir que ocurran cambios mínimos en la composición de la microbiota, lo cual cause un crecimiento desproporcionado de bacterias, donde algunas presenten mayores tasas de crecimiento. Es posible llegar a la identificación de los procesos, causas de enfermedad y mortalidad, mediante necropsias y biopsias. Los resultados de una sola prueba de diagnosis deben ser interpretados en el contexto del panorama completo, incluyendo la historia y el patrón de la enfermedad en la población, manifestaciones clínicas, resultados de otras pruebas y lesiones visibles e histopatológicas. (Eckert *et al.*, 2000)

Algunas herramientas de apoyo para el diagnostico de las alteraciones en los tejidos son la histopatología y la microscopia electrónica de transmisión (TEM). Dentro de la detección de agentes infecciosos en un corte de tejidos, se buscan los virus, bacterias, hongos y parásitos. (Jacobson, 2007).

Las tinciones rutinarias de tejido tales como las de Hematoxilina - Eosina, (H-E) las tinciones especiales como la de Gram (Brown y Brimm), la de impregnación de plata (Warthin-Starry, Plata Gomori Methamine), y tinción de ácido-alcohol resistente (Ziehl-Neelsen), son de utilidad para detectar la existencia de lesiones histológicas características, y ayudar en el diagnostico del agente causal (Eckert *et al.*, 2000).

Para reconocer las alteraciones histológicas observadas es importante tener un conocimiento de las características normales de los diferentes órganos y tejidos (Moura *et al.*, 2009) y posteriormente hacer una descripción adecuada de las lesiones morfológicas.

En una revisión histológica, se debe de considerar que algunos agentes no producen una alteración específica que los evidencie; por ejemplo, el frío y el calor causan daño tisular, pero en este tipo de casos, no existe evidencia directa de la causa de destrucción del tejido, considerándose también de que en caso de exista algún tipo de agente químico, éste pudieran haber sido catabolizado después de que aparecieran lesiones en el hígado, pero antes de que se haya producido la muerte. También en el caso del aislamiento microbiano a partir de un tejido, no significa necesariamente que éste agente haya causado la lesión en cuestión. Así mismo, la evidencia de la respuesta del hospedador cambia según progresa la enfermedad. (Cheville, 1994)

### 3. ANTECEDENTES

Existe interés en proyectos de protección y conservación de las tortugas marinas, y esta investigación no es la excepción, puesto que tiene sus bases dentro de la colaboración del Centro para la Protección y Conservación de la Tortuga (CPCTMXP) Xpu Ha, Quintana Roo, (Of. No. SGPA/DGVS/03766/09), junto con la Unidad de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMA) Xpu Ha (INE/CITES/DGVS-ZOO-P-0048-97-QR), desarrollado desde hace 10 años, siendo apoyado el programa de tortugas marinas por medio de personal capacitado, espacios físicos de resguardo, investigación y laboratorio. (Lucio, 2010)

Así mismo, Lucio, 2010, realizó un análisis morfológico y bacteriológico de los huevos de las tortugas marinas analizadas en esta tesis. Denotando que las bacterias aerobias registradas, de aislamientos bacterianos, son resultado de la microbiota ambiental y algunas de tipo patógeno. Finalmente, atribuyó en su trabajo, que en los nidos donde hubo mayor registro de la alteración de microbiota bacteriana, era en los que se les realizó mayor manejo, pero delimitando, que la estación del año, posición geográfica y el impacto antropogénico, repercutieron en la contaminación por bacterias. Simplemente, se observó que en la especie donde se realizó mayor manejo, se obtuvo mayor número de géneros bacterianos, la cual fue *Caretta caretta*.

Domínguez, 2009, realizó una evaluación histológica junto con necropsia, de embriones y crías de tortuga Lora (*Lepidochelys kempii*), para la determinación de su mortalidad. Encontrando en su proyecto, anormalidades de origen congénito, como anoftalmia, amelia, microcefalia, ectopia del corazón y albinismo; algunas de ellas documentadas como significativas. En su estudio histológico, analizó esófago, tráquea, estómago, intestino, pulmón corazón, riñón y encéfalo; categorizó sus hallazgos en autólisis, sin cambios patológicos aparentes, con congestión de eritrocitos y/o infiltrados de heterófilos de escasos a abundantes, donde se atribuyó a una hematópoyesis extramedular de animales inmaduros.

#### **4. MARCO TEÓRICO**

La tortuga marina *Caretta caretta*, es conocida como tortuga boba o tortuga caguama y la tortuga marina *Chelonia mydas*, principalmente como tortuga verde. Ambas especies comprenden ciertas diferencias morfológicas. A continuación se hace referencia a algunas características respecto a los huevos, la incubación y la eclosión.

##### **Generalidades**

##### **Huevos de tortuga marina**

###### **a) Tortuga Caguama (*Caretta caretta*)**

El tamaño del huevo determina, en gran medida, la longitud y el peso de las crías que nacen, de forma que huevos más grandes producen crías más pesadas y más largas (Odzemir *et al.*, 2007).

###### **b) Tortuga verde (*Chelonia mydas*)**

El tamaño del huevo es de un diámetro promedio de 48.4 mm, con un peso de 48.3 g. (Marquez, 1996)

##### **Incubación**

Se menciona que la temperatura está altamente relacionada con el tiempo de incubación, creándose un incremento en el metabolismo embrionario a mayores temperaturas (Houghton & Hays, 2001)

###### **a) Tortuga Caguama (*Caretta caretta*)**

El periodo de incubación aproximado es entre 52-56 días. Cuando la temperatura es de 29.5°C se da una relación proporcionada de sexos (Mrosofsky *et al.*, 2002).

La temperatura puede delimitar el tiempo de incubación y la predominancia del sexo de las tortugas. Por ejemplo: El periodo de incubación puede oscilar entre 46 y 70 días, porque las temperaturas altas aceleran el desarrollo y si son durante el segundo tercio de la incubación producen más hembras, mientras que condiciones más frías retrasan el proceso y producen más machos; temperaturas arriba de 32 °C ó por debajo de 27 °C producirían individuos de un sólo sexo. (Mrosovsky *et al.*, 2002)

De acuerdo a Crain y Gillette, 1998, la determinación del sexo en los quelonios, se presenta la durante la primera fase de la incubación, en la ontogénesis, y no durante la fertilización, a diferencia de otros animales con genotipos para la determinación sexual (GSD por sus siglas en inglés, Genotypic Sex Determination).

El periodo de incubación comprende dos fases:

- a) desde la postura hasta el momento de la eclosión (60 días aproximadamente)
- b) desde la eclosión hasta que el neonato emerge a la superficie.

(Botero, 1994; Guzmán & Osma, 1990)

Llegada la eclosión, en algunas tortugas dentro de su caparazón no han reabsorbido completamente el vitelo, y por lo tanto permanecen allí hasta completar el proceso de absorción. En ese momento se desencadena el fenómeno de salida del nido, el cual es de tipo masivo, y generalmente sucede en horas de la noche. (Botero, 1994)

## **Eclosión**

### **a) Tortuga Caguama (*Caretta caretta*)**

Es un proceso lento, masivo y nocturno, en donde incluso, los pitidos que algunos neonatos emiten, pueden ayudar a la sincronización de este proceso; el cual inicia con el picado y rasgado de la cáscara con el diente córneo provisional del rostro, en donde el neonato irá saliendo poco a poco del huevo con movimientos separados con periodos de reposo, hasta la salida total del huevo, que puede durar más de dos días, aunado a la emergencia vertical en grupo del nido hasta la superficie, esto puede durar alrededor de 4 días. La longitud media de los neonatos en el caparazón, oscila entre 35 y 45 mm, con un peso entre 15 y 20 gr. (Odzemir *et al.*, 2007).

### **b) Tortuga verde (*Chelonia mydas*)**

La longitud media de los neonatos en el caparazón es aproximadamente de 50.4 mm, con un peso de 26.3 g. (Márquez, 1996)

En general, los neonatos de tortuga marina, se encaminan hacia el mar, orientados por la iluminación del horizonte hacia mar abierto, guiados por un gradiente de luz ubicado entre el cielo y el océano. Siendo, por otro lado, un peligro, la presencia de luces artificiales como las residenciales, luces de seguridad o recreación que en ese momento iluminen las playas de anidación, lo que provoque que las tortuguitas se orienten hacia tierra adentro, donde pueden morir aplastadas por algún vehículo, depredadas por perros y otros animales domésticos, o muertas por exposición al sol. Un ejemplo de instinto de protección de su nido, en las tortugas hembras, está en los datos provenientes del análisis de las luces costeras de comunidades en Playa Grande y Tortuguero (Costa Rica), los cuales confirman que las tortugas prefieren anidar fuera de los sitios de influencia de las luces y las tortugas verdes específicamente anidan donde no hay luz. (Chacón, 2004)



### **Criterios de evaluación de fases embrionarias (Desarrollo embrionario)**

La forma de evaluación embrionaria, adaptada en la investigación de Lucio 2010, en los huevos no eclosionados de tortuga marina, puede llevarse a cabo, dentro de tres categorías (cuadro 1).

**Cuadro 1. Clasificación de Huevos no eclosionados de las tortugas marinas *Caretta caretta* y *Chelonia mydas* en el campamento Tortuguero Xpu Ha. Tomado y modificado de Miller J.D. 1985**

Sin Desarrollo Aparente (HSDA)	Huevos donde se observa separada la albúmina de la yema, sin evidencia de blastocisto, pueden ser de consistencia cremosa, color beige, rosa o con áreas púrpuras.
No identificados (HNI)	No se distingue ningún tipo de desarrollo, son de apariencia oscura, dentro del huevo y en el cascarón se consideran como huevos podridos.
Con Desarrollo Aparente (HCDA)	Fase 1: embrión muy pequeño, sin pigmentación, o remanentes de sangre
	Fase 2: embriones, a mitad del desarrollo, presentan pigmentación, yema en un 50%
	Fase 3: Se observa el embrión bien formado, casi a término, la presencia de yema es <25%

## **5. JUSTIFICACIÓN**

Puesto que la histopatología proporciona una importante información para relacionar la etiología de diversas infecciones incluso la identificación de agentes infecciosos, beneficia la obtención del conocimiento sobre las posibles causas de mortalidad de las tortugas, y en caso de ser infeccioso, proponer medidas curativas o de medicina preventiva con el fin de conservar a las tortugas marinas en México. (Klatt, 2007; Gámez *et al.*, 2009)

## **6. HIPÓTESIS**

Si los agentes infecciosos pueden causar directamente la muerte o disfunción celular, causando daño tisular, entonces, microscópicamente pueden notarse algunos de estos agentes y/o las alteraciones tisulares con la tinción de hematoxilina y eosina (H.E.)

## **7. OBJETIVOS**

### **General**

Establecer si la causa de muerte de las tortugas analizadas, fue de origen bacteriano.

### **Particulares**

- Reportar hallazgos histopatológicos, utilizando la tinción de H.E.
- En caso de presentarse hallazgos histopatológicos, determinar si existe relación con los resultados de los aislamientos bacterianos de los especímenes.

## 8. MATERIAL Y MÉTODOS

Se recibieron 23 embriones de tortugas marinas, cada uno conservado en paraformaldehído bufferado al 4% según Thierry, 2000 (figura 1) y con su rotulación individual correspondiente, de acuerdo a Lucio, 2010, como se observa en el siguiente ejemplo:

- Nido: (Xp-Cc/28-09)
  - **Xp**= Zona de procedencia, Xpu Ha
  - **Cc**= Especie *Caretta caretta*
  - **Cm**= Especie *Chelonia mydas*
- Muestra: (Xp5XXVIIa1)
  - **Xp5**= Identificación de estación en la que se localizó el nido (Xp1 a Xp5)
  - **XXVII**= Número de nido
  - **Letra “a”** = Número de huevos para la muestra
  - **Número “1”** = Tipo de muestra que se utilizó para análisis bacteriológico (albúmina=1, hígado=2, líquido gástrico=3)

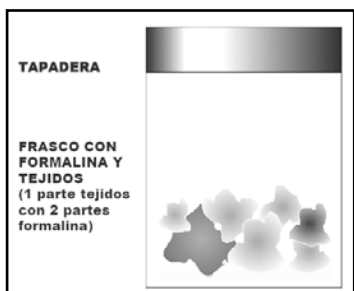


Figura 1. Recolección adecuada en frasco de formalina.  
(Thierry, 2000)

Los embriones, también tenían una rotulación de “fase de desarrollo”, dentro de la clasificación de “Huevos Huevos no eclosionados con Desarrollo Aparente” ó “HCDA”, cuadro 2.

**Cuadro 2. Embriones de tortuga marina clasificados en 3 fases de desarrollo**

<b>Fase</b>	<b>Descripción</b>
<b>1 Embrión</b>	Tamaño muy pequeño. Sin pigmentación o remanentes de sangre.
<b>2 Feto</b>	A mitad del desarrollo. Presenta pigmentación. Yema en un 50%.
<b>3 Nacimiento</b>	Bien formado, casi a término. Presencia de yema es <25%.

(Lucio, 2010)

## **8.1 Trabajo en laboratorio**

Realizado en el laboratorio de Patogenicidad Microbiana de la Unidad de Investigación de la FES Cuautitlán-UNAM, ubicado en el Km. 2.5 de la Carretera Cuautitlán-Teoloyucan, Municipio de Cuautitlán Izcalli, Estado de México.

Se trabajó en base a la rotulación ya establecida de los embriones recibidos.

### **Técnica de inclusión en parafina.**

Esta técnica, fue realizada de acuerdo a Gómez & Campos 2009.

### **Fijación**

Se utilizó una solución de formol al 10%, y se realizó desde que se recolectaron los especímenes no eclosionados, ya que mediante ello se interrumpen los procesos del metabolismo celular y se conservan las estructuras celulares y tisulares, ya en el laboratorio, a cada muestra le fue cambiado su fijador, por un nuevo formol, esto para aclarar el líquido donde estaban conservadas. En el proceso cada muestra fue lavada con agua, para eliminar los restos de fijador, siendo seleccionadas las muestras a evaluación histológica y así proseguir con ellas. Se realizó corte de porciones de órganos, como son: hígado, tráquea, pulmón, nodo linfático, médula espinal, intestino y riñón; se identificó cada muestra y se colocaron en cajas de preparación histológica.

Puesto que la parafina no se mezcla con el agua, fue imprescindible retirar el agua de las muestras, y ello fue mediante la deshidratación, la cual es llevada a cabo por el alcohol etílico, por lo que las piezas de tejido fueron colocadas en soluciones crecientes de etanol (50, 70, 80, 90, 95 y 100%). Una vez deshidratadas, se procedió a su aclaramiento, es decir, a la sustitución del agente deshidratante por otro, llamado líquido intermedio, que sea miscible con el medio de inclusión.

Se inició el proceso de infiltración introduciendo cada pieza en una mezcla a partes iguales de líquido intermedio y parafina. Posteriormente se realizó la inclusión, la cual tiene por objeto la ocupación por parafina de todos los espacios de la pieza de tejido, que naturalmente estaban ocupados por agua, este proceso fue realizado en estufas de inclusión. Más tarde se realizaron varios pases en parafina líquida con el criterio de conseguir que la parafina caliente ocupara los espacios intra e intercelulares, manejando una temperatura de 45-60°C.

Finalmente, se realizaron los bloques sólidos de parafina, utilizando moldes metálicos en donde colocamos cuidadosamente cada muestra e inmediatamente fue rellenado con parafina líquida, dejándose enfriar a temperatura ambiente para su solidificación.

### **Corte**

Se utilizó el micrótopo, que es un instrumento especializado para la obtención de láminas delgadas a partir del bloque de parafina, este instrumento fue de funcionamiento manual. Se realizaron cortes de 5 micras de grosor, los cuales, se extendieron por flotación en agua a 37°C y se recogieron con portaobjetos, para dejarlos secar en una estufa.

### **Coloración**

Para realizar la coloración, se procedió primeramente a la desparafinación utilizando un disolvente orgánico (xileno). Después se procedió a la hidratación del corte en soluciones decrecientes de etanol y finalmente agua destilada.

La coloración utilizada fue la de Hematoxilina-Eosina (H-E), la cual utiliza un colorante de carácter básico (hematoxilina) que tiñe estructuras ácidas de las células y tejidos, a las cuales se les denomina basófilas, tal y como el núcleo celular o acúmulos de ácidos nucleicos como los ribosomas; y un colorante de carácter ácido



(eosina) que tiñe estructuras básicas que se denominan eosinófilas o acidófilas, tal y como el citoplasma celular o algunos orgánulos como las mitocondrias. Con esta coloración, los núcleos celulares se aprecian de color azul violeta y el citoplasma de color rosa-anaranjado. Cabe recordar, que cuando un colorante cambia de color en contacto con un componente del tejido, se denomina metacromático y el fenómeno se conoce como metacromasia.

### **Conservación.**

Se procedió a la conservación de las muestras utilizando resina natural.

## 9. RESULTADOS

Clasificados por especie y órganos lesionados (cuadro 3), 8 tortugas de 12 muestras analizadas, presentaron lesiones.

**Cuadro 3. Hallazgos histopatológicos en 12 muestras de *Caretta caretta***

Descripción		Identificación		
Órgano	Lesiones	Nido: Xp – Cc	Muestra	(*HCDA) Fase
Tráquea	Epitelio con descamación leve	58-09	Xp5LVIIIa	2
		54-09	Xp5LIVa	3
	Epitelio con descamación moderada	63-09	Xp4LXIIIa	3
Intestino	Epitelio con descamación leve	35-09	Xp2XXXVa	2
		58-09	Xp5LVIIIa	2
		36-09	Xp5XXXVIa	3
		54-09	Xp5LIVa	3
	Degeneración Albuminosa leve	60-09	Xp5LXa	3
Hígado	Degeneración grasa moderada	28-09	Xp4XXVIIa	3
Nodo linfático	Atrofia leve	29-09	Xp5 XXIXb	3
		60-09	Xp5LXa	3

\* HCDA: Huevos con desarrollo aparente

Clasificados por especie y órganos lesionados (cuadro 4), 10 tortugas de 11 muestras analizadas, presentaron lesiones.

**Cuadro 4. Hallazgos histopatológicos en 11 muestras de *Chelonia mydas***

Descripción		Identificación		
Órgano	Lesiones	Nido Xp – Cm	Muestra	(*HCDA) Fase
Tráquea	Degeneración albuminosa leve	80-09	Xp5LXXXa	<b>3</b>
	Epitelio con descamación leve	72-09	Xp2LXXIIa	<b>1</b>
		55-09	Xp5LVb	<b>3</b>
		55-09	Xp5LVd	<b>3</b>
	Epitelio con descamación moderada	55-09	Xp5LVc	<b>3</b>
Intestino delgado	Degeneración albuminosa leve	72-09	Xp2LXXII b	<b>1</b>
		56-09	Xp5LVIa	<b>3</b>
		80-09	Xp5LXXXa	<b>3</b>
	Epitelio con descamación leve	55-09	Xp5LVa	<b>3</b>
		55-09	Xp5LVd	<b>3</b>
	Epitelio con descamación moderada	55-09	Xp5LVb	<b>3</b>
Nódo linfático	Atrofia leve	56-09	Xp5LVIa	<b>3</b>
		73-09	Xp2LXXXIIIa	<b>3</b>
		81-09	Xp5LXXXIa	<b>3</b>

\* HCDA: Huevos con desarrollo aparente

## FOTOGRAFÍAS MICROSCÓPICAS.

A) Nido: Xp – Cc 58-09 Muestra: Xp5LVIIIa

Fase de desarrollo aparente: FASE 2

Órgano: Tráquea

Descripción histopatológica: Epitelio con descamación leve

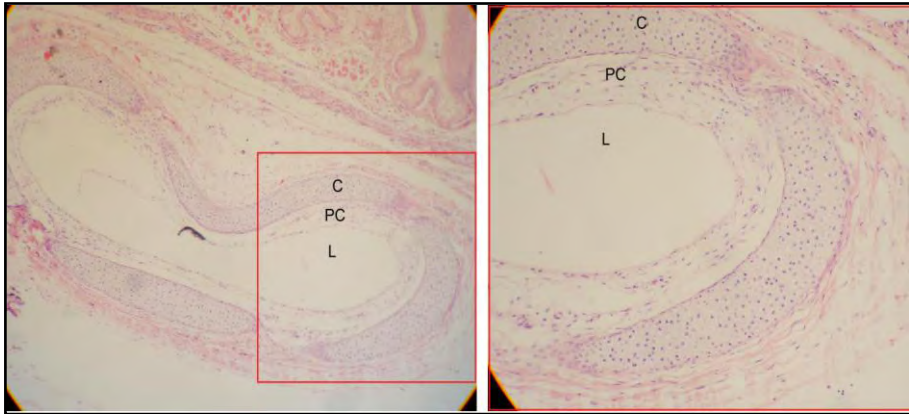


Figura 2A. 10 X

Figura 2B. 20X

VILCHIS/FESC/UNAM/2011

Figura 2. Tráquea, de *Caretta caretta*, tinción H.E.

### Descripción:

C. Cartilago Hialino

PC. Pericondrio

L. Luz

Se aprecia como un desprendimiento del tejido epitelial, en la observación microscópica, no se encontró la presencia del tejido epitelial

B) Nido: Xp-Cc/28-09 Muestra: Xp4XXVIIa

Fase de desarrollo aparente: FASE 3

Órgano: Pulmón

Descripción histopatológica: SCPA

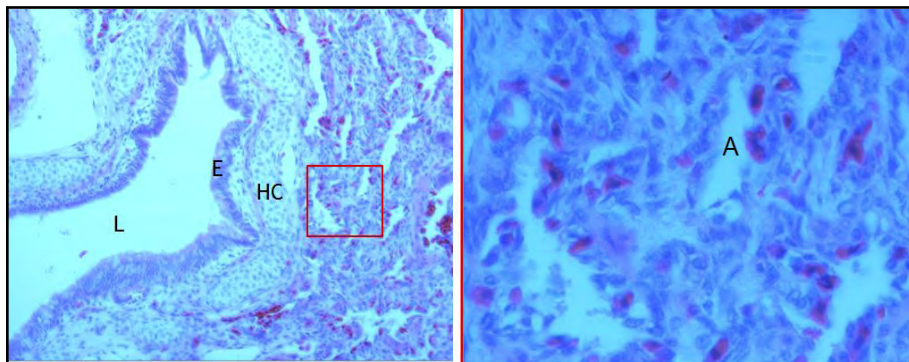


Figura 3A. 10 X

Figura 3B. 20X

VILCHIS/FESC/UNAM/2011

Figura 3. Pulmón, de *Caretta caretta*, tinción H.E.

**Descripción:**

A. Alveolos pulmonares, epitelio simple escamoso

HC. Cartilago Hialino

E. Epitelio pseudoestratificado cilíndrico ciliado

L. Luz

C) Nido: Xp-Cc/35-09 Muestra: Xp2XXXVa

Fase de desarrollo aparente: FASE 2

Órgano: Intestino delgado

Descripción histopatológica: Epitelio con descamación leve

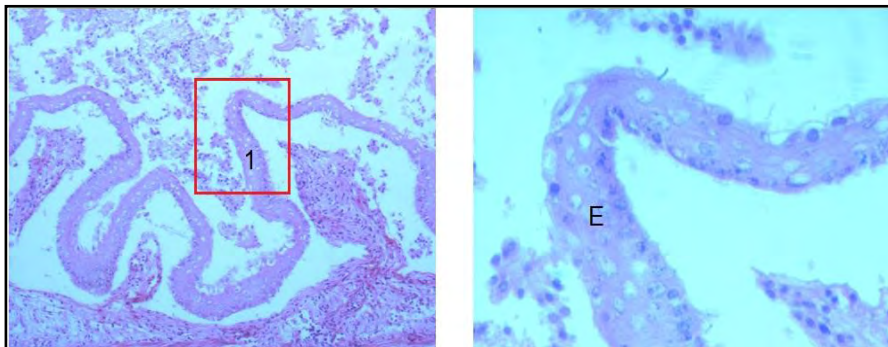


Figura 4A. 10 X

Figura 4B. 20X

VILCHIS/FESC/UNAM/2011

**Figura 4. Intestino delgado, de *Caretta caretta*, tinción H.E.**

### **Descripción:**

#### **1. Vellosidades**

**E.** Epitelio simple columnar con microvellosidades y exocrinocitos caliciformes

Es un desprendimiento del tejido epitelial, en ocasiones se pueden provocar zonas de escoriación (capas celulares superficiales) o úlceras (capas profundas de tejido)

**D)** Nido: Xp – Cm 72-09 Muestra: Xp2LXXII b

Fase de desarrollo aparente: FASE 1

Órgano: Intestino delgado

Descripción histopatológica: Degeneración albuminosa leve

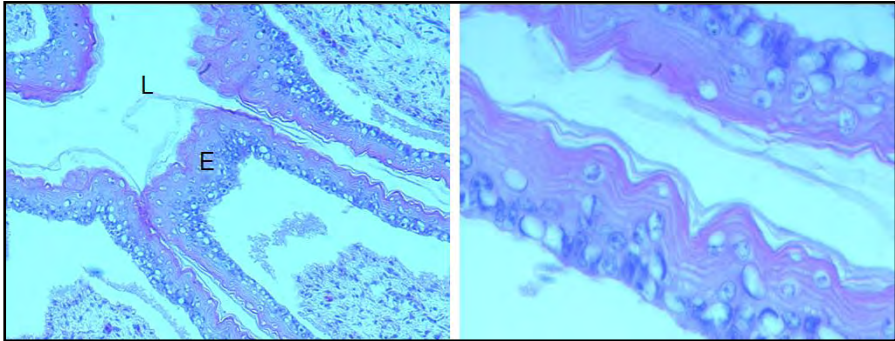


Figura 5A. 10 X

Figura 5B. 20X

VILCHIS/FESC/UNAM/2011

**Figura 5. Intestino delgado, de *Chelonia mydas*, tinción H.E.**

**Descripción:**

E. Epitelio

L. Luz

La degeneración albuminosa, se observa como un aumento del tamaño de la célula, y se torna redonda, esto debido a la compresión de la microvascularización del órgano. El núcleo celular se esta ligeramente desplazado e hiper cromático y el citoplasma presenta un aspecto turbio ( “ vidrio esmerilado”).

E) Nido Xp – Cc 28-09 Muestra Xp4XXVIIa.

Fase de desarrollo aparente: FASE 3

Órgano: Hígado.

Descripción histopatológica: Degeneración Grasa moderada

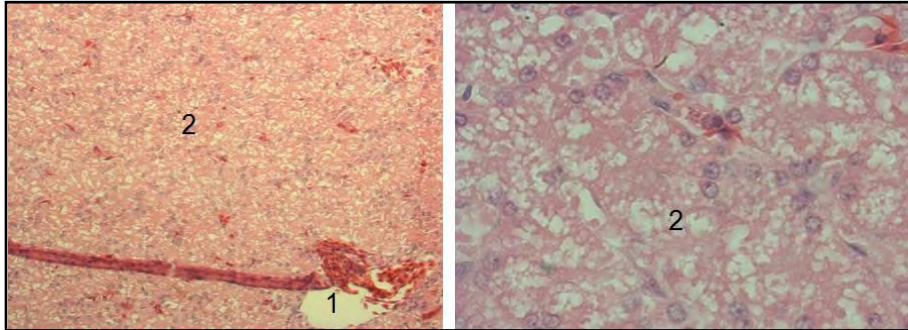


Figura 6A. 10 X

Figura 6B. 20X

VILCHIS/FESC/UNAM/2011

**Imagen 6. Hígado, de *Caretta caretta*, tinción H.E.**

**Descripción:**

1. Vena central
2. Parénquima hepático

La degeneración grasa presenta vacuolas de grasa en el citoplasma celular. La degeneración grasa supone un aumento absoluto de lípidos intracelulares (Robbins, 1997). En el hígado se presenta sobre todo en el área centrolobulillar. (Departamento de patología, 2003)



Las lesiones histológicas registradas, se valoraron con la técnica de la  $X^2$  de homogeneidad, Se procedió a clasificar los resultados en dos grupos:

A.- Especie de tortuga marina, B.- Fase de desarrollo

## **$X^2$ DE HOMOGENEIDAD**

### **Prueba de significación estadística**

Se realizó mediante la prueba de distribución  $X^2$  (de Pearson), llamada Chi cuadrado o Ji cuadrado, en la cual se procedió de la siguiente manera:

#### **Primero. Formulación de la Hipótesis**

##### **Ho (hipótesis nula):**

Las lesiones histológicas no son significativas en relación a un agente afectante

##### **H1 (hipótesis alternativa):**

Las lesiones histológicas son significativas en relación a un agente afectante

#### **Segundo. Establecer un nivel de significancia**

Nivel de significancia:  $\alpha = 0.05$  ( $X^2_{\text{tabla}} = 5.99$ ,  $GL = 2$ ) ( $X^2_{\text{tabla}} = 3.84$ ,  $GL = 1$ )

Para tener un nivel de confianza del 95% en nuestro procedimiento, el valor de alfa ( $\alpha$ ) debe ser de 0.05, lo cual corresponde al complemento porcentual de la confianza.

La  $X^2$  de cada uno de nuestros resultados, será comparada con el valor de significancia de 0.05, el cual ya tiene un valor establecido en tablas estadísticas ( $X^2_{\text{tabla}}$ ) dependiendo de los *grados libertad* (GL) obtenidos en cada *tabla de contingencia*, que es el nombre de la tabla donde ordenamos nuestros datos a analizar.

Los GL se obtienen de multiplicar las filas (F) y columnas (C) de la *tabla de contingencia*, así mismo se resta una unidad, esto se explica mediante una sencilla fórmula: (F-1) (C-1)

**Tercero.** Elección de la prueba estadística.

La fórmula de  $X^2$  es: 
$$X^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E}$$
.

El símbolo  $\Sigma$  (que es la letra griega sigma mayúscula) se usa para representar la suma de  $n$  términos que se puede calcular mediante una fórmula.

El símbolo  $n$ , representa el total de observaciones tomadas.

El símbolo  $O$ , representa el valor obtenido.

El símbolo  $E$ , representa el valor esperado.

Dependiendo del número de filas y columnas de una *tabla de contingencia*, se debe de obtener una frecuencia esperada ( $fe$ ), que básicamente es el valor esperado ( $E$ ) en la fórmula de  $X^2$ . Esto se ejemplifica de la siguiente manera:

**Cuadro 5. Tabla de contingencia**

Órgano	Descripción				Total
	Lesión	Hallazgos	SCPA		
Tráquea	Epitelio con descamación	leve	O1	O2	A
		moderada	O3	O4	B
<b>Total</b>			C	D	E

$$fe\ 1 = A \times C / E$$

$$fe\ 2 = A \times D / E$$

$$fe\ 3 = B \times C / E$$

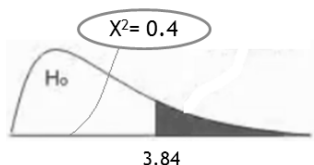
$$fe\ 4 = B \times D / E$$

Una vez obtenida la frecuencia esperada, se sustituyen los valores, utilizando la fórmula de  $X^2$ .

$$X^2 = \frac{\sum (O1-fe1)^2}{fe1} + \frac{(O2-fe2)^2}{fe2} + \frac{(O3-f3)^2}{fe3} + \frac{(O4-fe4)^2}{fe4}$$

**Cuarto.** Comparar el valor calculado, con el valor que puede ocurrir por azar

El resultado de  $X^2$  de cada *tabla de contingencia*, se compara con el valor establecido de  $X^2_{\text{tabla}}$  (de acuerdo al nivel de significancia, explicado en el segundo paso), para entonces aceptar o rechazar la  $H_0$ .



**Decisión:**  $0.4 < 3.84$

**Por lo tanto, acepta  $H_0$ .**

Si el valor de  $X^2$  calculado es mayor que el correspondiente en tablas ( $X^2_{\text{tabla}}=3.84$ ), se rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ).

En caso de que el valor sea menor, se acepta la hipótesis nula.

## **RESULTADOS:**

### **A.- ESPECIE DE TORTUGA MARINA**

Se registraron lesiones en tráquea, intestino delgado, nodo linfático e hígado. Se describió de manera individual el grado de lesión (leve, moderada, severa) y también cada órgano, y que en caso de no presentar lesión, era registrado en la columna SCPA (sin cambios patológicos aparentes).

a. *Caretta caretta*:

**Cuadro 6. Lesiones en tráquea de *Caretta caretta***

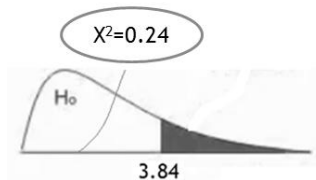
Órgano	Descripción			Total	
	Lesión	Hallazgos	SCPA		
Tráquea	Epitelio con descamación	leve	2	9	11
		moderada	1	9	10
<b>Total</b>			3	18	21

### **Cálculos:**

$$GL= 1, \alpha = 0.05$$

$$fe\ 1 = 1.6 \quad fe\ 2 = 9.4 \quad fe\ 3 = 1.4 \quad fe\ 4 = 8.6$$

$$X^2 = \sum \frac{(2-1.6)^2}{1.6} + \frac{(9-9.4)^2}{9.4} + \frac{(1-1.4)^2}{1.4} + \frac{(9-8.6)^2}{8.6} = 0.24$$



**Decisión:**  $0.24 < 3.84$

**Acepta  $H_0$ :** Las lesiones histológicas en tráquea, no son significativas en relación a un agente afectante.

**Cuadro 7. Lesiones en intestino delgado y nodo linfático de *Caretta caretta***

Órgano	Descripción			Total
	Lesión	Hallazgos	SCPA	
Intestino delgado	Epitelio con descamación leve	4	7	11
	Degeneración Albuminosa leve	1	7	8
<b>Total</b>		5	14	19
Nódo linfático	Atrofia leve	2	10	12

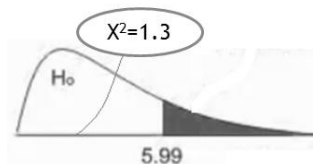
**Cálculos:**

**INTESTINO DELGADO**

GL = 1,  $\alpha = 0.05$

fe 1 = 2.9   fe 2 = 8.1   fe 3 = 2.1   fe 4 = 5.9

$$X^2 = \frac{(4-2.9)^2}{2.9} + \frac{(7-8.1)^2}{8.1} + \frac{(1-2.1)^2}{2.1} + \frac{(7-5.9)^2}{5.9} = 1.3$$



**Decisión:**  $1.3 < 3.84$

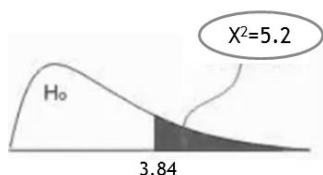
**Acepta Ho:** Las lesiones histológicas en Intestino delgado, no son significativas en relación a un agente afectante.

### NODO LINFÁTICO

GL= 1,  $\alpha = 0.05$

$$f_e = \frac{\text{número total}}{\text{categorías}} = \frac{12}{2} = 6 \quad f_o = 12$$

$$X^2 = \frac{\Sigma (2-6)^2}{6} + \frac{(10-6)^2}{6} = 5.2$$



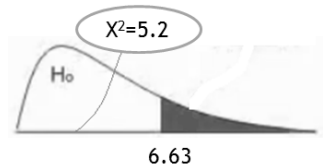
**Decisión:**  $5.2 > 3.84$

**Rechaza Ho:** Las lesiones histológicas en nodo linfático, son significativas en relación a un agente afectante.

Modificando el nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$  a  $\alpha = 0.01$ , obtenemos que:

$$GL = 2 - 1 = 1$$

$$\alpha = 0.01$$



**Decisión:**  $5.2 < 6.63$

**Acepta Ho:** Las lesiones histológicas en nodo linfático, no son significativas en relación a un agente afectante.

**Cuadro 8. Lesiones en hígado de *Caretta caretta***

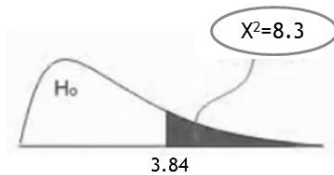
Órgano	Descripción			Total
	Lesiones	Hallazgos	SCPA	
Hígado	Degeneración grasa moderada	1	11	12

**Cálculos:**

GL= 1,  $\alpha = 0.05$

$f_e = 12/2 = 6$      $f_o = 12$

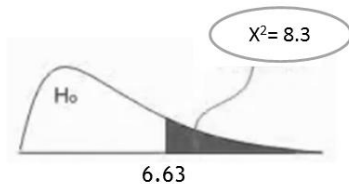
$$X^2 = \frac{\Sigma (1-6)^2}{6} + \frac{(11-6)^2}{6} = 8.3$$



**Decisión:**  $8.3 > 3.84$

**Rechaza Ho:** Las lesiones histológicas en hígado, son significativas en relación a un agente afectante.

Cambiando el nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$  a un valor de  $\alpha = 0.01$  ( $X^2_{\text{tabla}}=6.63$ , GL=1), obtenemos que: GL = 2 - 1 = 1,  $\alpha = 0.01$



**Decisión:**  $8.3 > 6.63$

**Rechaza Ho:** Las lesiones histológicas en hígado, son significativas en relación a un agente afectante.

**B. *Chelonia mydas*:**

**Cuadro 9. Lesiones en tráquea, intestino delgado y nodo linfático de *Chelonia mydas***

Órgano	Descripción			Total	
	Lesión	Hallazgos	SCPA		
Tráquea	Degeneración albuminosa leve		1	6	7
	Epitelio con descamación	leve	3	6	9
		moderada	1	6	7
<b>Total</b>			5	18	23
Intestino delgado	Degeneración albuminosa leve		3	5	8
	Epitelio con descamación	leve	2	5	7
		moderada	1	5	6
<b>Total</b>			6	15	21
Nodo linfático	Atrofia leve		3	8	11



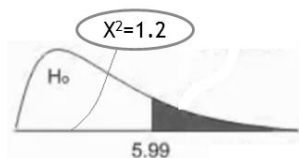
**Cálculos:**

### TRÁQUEA

GL= 2,  $\alpha = 0.05$

fe 1 = 1.5 fe 2 = 5.5 fe 3 = 1.9 fe 4 = 7.0 fe 5 = 1.5 fe 6 = 5.5

$$X^2 = \frac{\Sigma (1-1.5)^2}{1.5} + \frac{(6-5.5)^2}{5.5} + \frac{(3-1.9)^2}{1.9} + \frac{(6-7)^2}{7} + \frac{(1-1.5)^2}{1.5} + \frac{(6-5.5)^2}{5.5} = 1.2$$



**Decisión:**  $1.2 < 5.99$

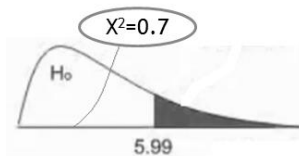
**Acepta Ho:** Las lesiones histológicas en tráquea, no son significativas en relación a un agente afectante.

### INTESTINO DELGADO

GL= 2  $\alpha = 0.05$

fe 1 = 2.3 fe 2 = 5.7 fe 3 = 2 fe 4 = 5 fe 5 = 1.7 fe 6 = 4.3

$$X^2 = \frac{\Sigma (3-2.3)^2}{2.3} + \frac{(5-5.7)^2}{5.7} + \frac{(2-2)^2}{2} + \frac{(5-5)^2}{5} + \frac{(1-1.7)^2}{1.7} + \frac{(5-4.3)^2}{4.3} = 0.7$$



**Decisión:**  $0.7 < 5.99$

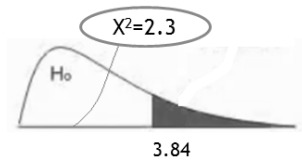
**Acepta Ho:** Las lesiones histológicas en intestino delgado, no son significativas en relación a un agente afectante.

## NODO LINFÁTICO

GL=1  $\alpha = 0.05$

fe= 11/2 = 5.5 fo= 12

$$X^2 = \frac{\Sigma (3-5.5)^2}{5.5} + \frac{(8-5.5)^2}{5.5} = 2.3$$



**Decisión:** 2.3 < 3.84

**Acepta Ho:** Las lesiones histológicas en nodo linfático, no son significativas en relación a un agente afectante.

## B.- FASE DE DESARROLLO

### FASE 1. Embrión

**Cuadro 10. Lesiones en tráquea e intestino delgado de tortugas marinas en fase 1.**

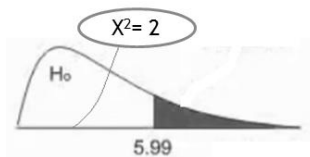
Órgano	Lesiones	Hallazgos	SCPA	Total
Tráquea	Epitelio Descamación leve	1	2	3
Intestino delgado	Degeneración Albuminosa leve	1	2	3

#### **Cálculos:**

$$GL = 2, \alpha = 0.05$$

$$fe = 3/3 = 1 \quad fo = 3$$

$$X^2 = \sum \frac{(1-1)^2}{1} + \frac{(0-1)^2}{1} + \frac{(2-1)^2}{1} = 2$$



**Decisión:**  $2 < 5.99$

**Acepta Ho:** Las lesiones histológicas en fase 1, no son significativas en relación a un agente afectante.

**FASE 2. Feto**

**Cuadro 11. Lesiones en tráquea e intestino delgado de tortugas marinas en fase 2.**

Órgano	Lesiones	Hallazgos	SCPA	Total
Tráquea	Epitelio Descamación leve	1	1	2
Intestino delgado	Epitelio Descamación leve	2	0	2

**Cálculos:**

GL = 1,  $\alpha = 0.05$

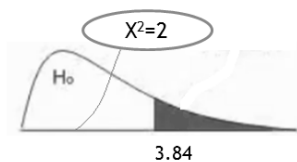
fe = 2/2 = 1 fo = 2

**TRÁQUEA**

$$X^2 = \frac{\sum (1-1)^2}{1} + \frac{(0-1)^2}{1} + \frac{(2-1)^2}{1} = 2$$

**INTESTINO DELGADO**

$$X^2 = \frac{\sum (2-1)^2}{1} + \frac{(0-1)^2}{1} = 1 + 1 = 2$$



**Decisión:**  $2 < 3.84$  se acepta  $H_0$

**Acepta  $H_0$ :** Las lesiones histológicas en fase 2, no son significativas en relación a un agente afectante.

**FASE 3. Nacimiento**

**Cuadro 12. Lesiones en tráquea e intestino delgado de tortugas marinas en fase 3.**

<b>Órgano</b>	<b>Lesiones</b>		<b>Hallazgos</b>	<b>SCPA</b>	<b>Total</b>
Tráquea	Degeneración albuminosa leve		1	8	9
	Descamación de Epitelio leve		3	8	11
	Descamación de Epitelio moderada		2	8	10
<b>Total</b>			6	24	30
Intestino delgado	Degeneración albuminosa leve		3	5	8
	Descamación de Epitelio	leve	4	5	9
		moderado	1	5	6
		severo	1	5	6
<b>Total</b>			9	20	29

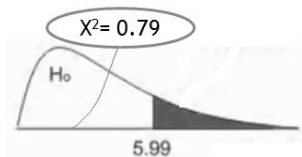
**Cálculos:**

**TRÁQUEA**

GL= 2,  $\alpha = 0.05$

fe 1 = 1.8   fe 2 = 7.2   fe 3 = 2.2   fe 4 = 8.8   fe 5 = 2   fe 6 = 8

$$X^2 = \frac{\Sigma (1-1.8)^2}{1.8} + \frac{(8-7.2)^2}{7.2} + \frac{(3-2.2)^2}{2.2} + \frac{(8-8.8)^2}{8.8} + \frac{(2-2)^2}{2} + \frac{(8-8)^2}{8} = 0.79$$



**Decisión:**  $0.79 < 5.99$

**Acepta  $H_0$ :** Las lesiones histológicas en fase 3 de tráquea, no son significativas en relación a un agente afectante.

**INTESTINO DELGADO**

GL = 3; ( $X^2_{\text{tabla}}=7.81$ , GL=3)

$\alpha = 0.05$

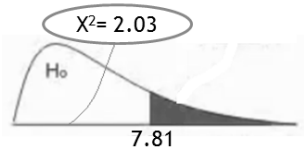
fe 1 = 2.48   fe 2 = 5.51   fe 3 = 2.79   fe 4 = 6.20

fe 5 = 1.86   fe 6 = 4.13   fe 7 = 1.86   fe 8 = 4.13

$$X^2 = \frac{\Sigma (3-2.48)^2}{2.48} + \frac{(5-5.51)^2}{5.51} + \frac{(4-2.79)^2}{2.79} + \frac{(5-6.20)^2}{6.20} + \frac{(1-1.86)^2}{1.86} + \frac{(5-4.13)^2}{4.13} + \frac{(1-1.86)^2}{1.86}$$

$$+ \frac{(5-4.13)^2}{4.13}$$

$X^2 = 2.03$



**Decisión:**  $2.03 < 7.81$

**Acepta  $H_0$ :** Las lesiones histológicas en fase 3 de intestino delgado, no son significativas en relación a un agente afectante.

**Cuadro 13. Lesiones en hígado y nodo linfático, de tortugas marinas en fase 3.**

Órgano	Lesiones	Hallazgos	SCPA	Total
Hígado	Degeneración grasa moderada	1	13	14
Nodo linfático	Atrofia leve	4	10	14

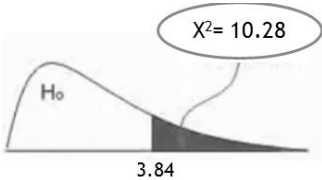
$G1 = 1, \alpha = 0.05$

$fe = 14/2 = 7 \quad fo = 14$

**Cálculos:**

**HÍGADO**

$$X^2 = \sum \frac{(1-7)^2}{7} + \frac{(13-7)^2}{7} = 10.28$$

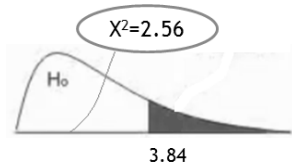


**Decisión:**  $10.28 > 3.84$

**Rechaza  $H_0$ :** Las lesiones histológicas en fase 3 de hígado, son significativas en relación a un agente afectante.

## NODO LINFÁTICO

$$X^2 = \frac{\Sigma (4-7)^2}{7} + \frac{\Sigma (10-7)^2}{7} = 2.56$$



**Decisión:**  $2.56 < 3.84$

**Acepta  $H_0$ :** Las lesiones histológicas en fase 3 de nodo linfático, no son significativas en relación a un agente afectante.



## 10. DISCUSIÓN

El objetivo de esta investigación fue detectar lesiones mediante el uso de la histología y de ser posible determinar causas de mortalidad en estas tortugas y en caso de ser relevante esta información, se les relacionaría con los resultados obtenidos en la investigación realizada por Lucio, 2010, sobre la resistencia bacteriana en estos especímenes, en donde algunos de los nidos monitoreados recibieron manejo porque se estimaba que existía el riesgo de perderlos, de acuerdo a esto se contó con tres clases de nidos:

- Nidos incubados naturalmente (los que no se movieron de su lugar original)
- Nidos reubicados dentro de la misma playa (situados dentro de las 5 estaciones de Xpu Ha, bajo el criterio de colocarlos cerca de su zona original de puesta y en una zona segura)
- Nidos trasplantados al corral de protección (los cuales se llevaron a un vivero ó en su defecto a una zona cercada dentro de la playa)

Dentro de los resultados se obtuvo que la degeneración grasa de hígado es estadísticamente significativa en la muestra Xp4XXVIIIa del Nido Xp- Cc 28-09. En la clasificación de Fase de desarrollo 3, nacimiento. En el registro del manejo de los nidos, se documenta que el nido Xp- Cc 28-09 fue reubicado en la playa, bajo 57 días de incubación; posterior a este periodo, se muestrearon los huevos no eclosionados respectivamente, donde la muestra Xp4XXVIIIa presentó albúmina hemorrágica, así mismo, dentro de los cultivos bacterianos se identificó: *Flavobacterium spp*, *Streptococcus spp*, *Chromobacterium spp*, *Corynebacterium spp*, *Pseudomonas spp*. En la revisión histológica (con tinción H.E.), se reportó hígado con degeneración grasa moderada. El agente causal de este hallazgo, se denominó de tipo no infeccioso, como por ejemplo: causa metabólica, hipoxia y/o tóxico.

Algunos agentes químicos pueden ser catabolizados después de aparecer lesiones en el hígado pero antes de producirse la muerte y un agente químico puede inhibir enzimas detoxificantes, lo que predispone a hepatotoxicidad por otro agente (Cheville, 1994); la degeneración grasa puede ser el resultado de:

1. Un aporte superior de ácidos grasos circulantes procedentes de los lípidos sanguíneos.
2. Una interferencia con enzimas unidas a las membranas del retículo endoplásmico liso (que transfieren los ácidos grasos al glicerol para formar triglicéridos).
3. Un bloqueo de la síntesis proteica en el retículo endoplásmico rugoso, del ensamblaje de lipoproteínas, o de la liberación de gránulos de lipoproteínas en la superficie celular.
4. Un bloqueo de la activación de los ácidos grasos por el acetil coenzima A (acetil-CoA), o de su paso a través de la membrana mitocondrial para entrar en las vías energéticas de la matriz mitocondrial en el ciclo de ácido cítrico.

Cabe mencionar que el hallazgo significativo en hígado, se delimitó dentro de la Fase 3, el nacimiento, es decir, donde la tortuga ya estaba próxima a su eclosión.

Así mismo, en el Nido: Xp – Cm 72-09 de la Muestra: Xp2LXXII b, que presentó degeneración albuminosa, pudo haber sido a causa de un daño por hipoxia; puesto que se presenta la disminución del pH intracelular, lo cual conlleva a que se precipite la cromatina nuclear, la mitocondria presente pérdida de gránulos de la matriz y se desarrolle una ligera hinchazón. Como los niveles de ATP disminuyen, deja de funcionar la bomba Na-K, lo cual permite que entren iones de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ca}^{++}$  al interior de la célula, saliendo de ésta, K y Mg, y junto con el  $\text{Na}^+$  ingrese  $\text{H}_2\text{O}$  a la célula. (Departamento de patología, 2003)

Por otro lado, la mayoría de las otras muestras presentaron descamación, y no resultaron estadísticamente significativas. Por ejemplo, la muestra Xp5LVb, del Nido Xp-Cm/55-09, presentó descamación epitelial leve en tráquea y pulmón, y descamación epitelial moderada en intestino. Se reportó que en su recolección inicial, a los 54 días de incubación, la tortuga sólo presentaba aspecto deshidratado. Y la muestra Xp5LIVa, del nido Xp-Cc/54-09, presentó descamación epitelial leve en tráquea e intestino. A los 51 días de incubación, el espécimen fue reportado deforme y sin cámara de aire.

A lo largo de la temporada monitoreada, la cual dio inicio el 9 de mayo de 2009 y finalizó el 23 de octubre de 2009, Lucio 2010 proporcionó los datos respecto a las nidadas registradas. De 5241 huevos registrados de *Caretta caretta*, se obtuvo que el 18% no eclosionó, con un total de 980 huevos no eclosionados (HNE), los cuales se clasificaron en Huevos Sin Desarrollo Aparente (HSDA), Huevos no Identificados (HNI) y Huevos Con Desarrollo Aparente (HCDA), estos últimos fueron clasificados en tres fases (cuadro 1), según el desarrollo que presentaban. Los que detuvieron su crecimiento en la Fase 1 fueron 20, de los cuales no se tomaron muestras a analizar. En Fase 2 fueron 75, se recolectó de éstos 2 especímenes. En Fase 3 fueron 128 y se recolectaron 10 de éstos especímenes.

De 4024 huevos registrados de *Chelonia mydas*, se obtuvo que el 7.7% no eclosionó. Los HCDA obtenidos en Fase 1, fueron 13, de los cuales se recolectaron 3 especímenes. En Fase 2 fueron 9, no se tomaron muestras. En Fase 3 fueron 13 y se recolectaron 8. Por lo tanto, se obtuvo un total de 23 huevos para muestras bacteriológicas, los cuales posteriormente fueron utilizadas para su evaluación histológica en el presente proyecto.

Los aislamientos bacterianos, reportan que los microorganismos detectados son parte de la microbiota ambiental y algunos son patógenos oportunistas. Sin embargo, el cultivo microbiológico del tejido puede detectar una bacteria que solo participa de forma secundaria en la enfermedad. El aislamiento de un microorganismo a partir de un tejido no significa necesariamente que haya causado la lesión en cuestión. (Cheville, 1994)

## 11. CONCLUSIONES

- Aunque el terreno de anidación presentaba algunas modificaciones ambientales a causa del hombre y algunos nidos fueron reubicados a otra zona de la playa o al corral de protección para su incubación, estas diferencias de manejo no resultaron ser un factor en el índice de mortalidad, ya que éste no se observó afectado, por lo tanto, no hay un efecto esperado de tipo antropogénico.
- La causa de muerte no causó un impacto de tipo microscópico. La posible etiología relacionada con la muerte se clasificó como no infecciosa, debido a que no se encontró reacción inflamatoria en los tejidos analizados.

## 12. BIBLIOGRAFÍA

1. Bárcenas Ibarra A., Maldonado Gasca A., Malformaciones en embriones y neonatos de tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*) en Nuevo Vallarta, Nayarit, México. *Veterinaria México* [en línea] 2009, vol. 40 [citado 2010-08-26]. <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=42311926003>.
2. Bell B.A., Spotila J.R., Paladino F.V., Reina R.D., Low reproductive success of leatherback turtles, *Dermodochelys coriacea*, is due to high embryonic mortality. *Biol Conservation* [en línea] 2003; vol. 115: 131-138 [citado 2010-08-26]. Disponible en Internet:  
[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6V5X-48B00JF-3&\\_user=10&\\_coverDate=01%2F31%2F2004&\\_rdoc=1&\\_fmt=high&\\_orig=search&\\_origin=search&\\_sort=d&\\_docanchor=&\\_view=c&\\_searchStrId=1449599240&\\_runOrigin=google&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=2dc8dbcea38262b488952eec4de51f0b&searchtype=a](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6V5X-48B00JF-3&_user=10&_coverDate=01%2F31%2F2004&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_origin=search&_sort=d&_docanchor=&_view=c&_searchStrId=1449599240&_runOrigin=google&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=2dc8dbcea38262b488952eec4de51f0b&searchtype=a)
3. Botero R., Comparación de la Incubación Artificial de Huevos de Tortuga Charapa (*Podocnemis expansa*, Schweigger, 1812) Respecto a Huevos de Nidos Naturales, en El Río Caquetá, Colombia. 1994. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. 87 p.
4. Carswell L.P., Lewis T.E., Embryo and hatchling abnormalities in loggerhead sea turtles on St. Vincent Island, Florida [en línea] 2003; in *Proc. 22nd Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*, Seminoff J. A. (compiler); NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-503, Miami, Fl: 185-186 [citado 2010-08-26]. Disponible en internet:  
<http://www.nmfs.noaa.gov/pr/pdfs/species/turtlesymposium2002.pdf>

5. Chacón D., Hancock J.M., Quesada C., López A., Corea L., Anidación de la Tortuga Baula *Derموchelys coriacea* en playa Gandoca, Talamanca, Costa Rica. Programa de Conservación de las Tortugas Marinas en el Caribe Sur, Talamanca, Costa Rica; anidación en Playa Gandoca, temporada 2004.  
[en línea] 2004 [citado 2011-08-05]. Disponible en internet:  
<http://www.latinamericaneaturtles.org/archivos/documentos/Gandoca2004.pdf>
6. Cheville N.F., Introducción a la anatomía patológica general veterinaria. 1994. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza España.
7. Crain, D., Gillette L., 1998. Reptiles as models of contaminant - induced endocrine disruption. *Animal Reproduction Science*. Vol 53: 1 - 4. Pág: 77 – 86
8. Departamento de patología. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM.  
[en línea] 2003 [citado 2011-09-20]. Disponible en internet:  
<http://www.geocities.ws/mvzpatologia/Page2/Page2.htm>
9. Domínguez Olivares M. Evaluación de la mortalidad en embriones y crías de tortuga lora (*Lepidochelys kempí*) por medio de necropsia e histopatología en Rancho nuevo, Tamaulipas. (tesis de licenciatura). Cuautitlán (México) México:Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, 2009.
10. Eckert K.L., Bjorndal K.A., Abreu-Grobois F.A., Donnelly M., Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas [en línea] 2000. ©2000 SSC/IUCN Marine Turtle Specialist Group [citado 2011-10-24].  
Disponible en internet:  
<http://mtsg.files.wordpress.com/2010/07/26-medicion-del-crecimiento-en-tortugas-marinas.pdf>

11. Gámez Vivaldo S., García Márquez L.J., Osorio Sarabia D., Vázquez García J.L., Constantino Casas F., Patología de las tortugas marinas (*Lepidochelys olivacea*) que arribaron a las playas de Cuyutlán, Colima, México. 2009, Vet. Méx., 40 (1) [en línea] 2009 [citado 2011-08-08]. Disponible en internet:

<http://www.medigraphic.com/pdfs/vetmex/vm-2009/vm091g.pdf>

12. Gómez De Ferraris E., Campos Muñoz A., Histología, Embriología e Ingeniería Tisular Bucodental. 3ra edición. Editorial Médica Paramericana, S.A. de C. V. [en línea] 2009 [citado 2011-08-08]. Disponible en internet:

[http://books.google.com/books?id=-](http://books.google.com/books?id=-L05LnysBesC&pg=PA427&dq=Gomez++Campos++2009.+Histolog%C3%ADa,+Embriolog%C3%ADa&hl=es&ei=YcBCTpmtOe6ksQKIhLjtCQ&sa=X&oi=book_r)

[L05LnysBesC&pg=PA427&dq=Gomez++Campos++2009.+Histolog%C3%ADa,+Embriolog%C3%ADa&hl=es&ei=YcBCTpmtOe6ksQKIhLjtCQ&sa=X&oi=book\\_r](http://books.google.com/books?id=-L05LnysBesC&pg=PA427&dq=Gomez++Campos++2009.+Histolog%C3%ADa,+Embriolog%C3%ADa&hl=es&ei=YcBCTpmtOe6ksQKIhLjtCQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CCoO6AEwAA#v=onepage&q=parafina&f=false)  
[esult&ct=result&resnum=1&ved=0CCoO6AEwAA#v=onepage&q=parafina&f=false](http://books.google.com/books?id=-L05LnysBesC&pg=PA427&dq=Gomez++Campos++2009.+Histolog%C3%ADa,+Embriolog%C3%ADa&hl=es&ei=YcBCTpmtOe6ksQKIhLjtCQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CCoO6AEwAA#v=onepage&q=parafina&f=false)  
[e](http://books.google.com/books?id=-L05LnysBesC&pg=PA427&dq=Gomez++Campos++2009.+Histolog%C3%ADa,+Embriolog%C3%ADa&hl=es&ei=YcBCTpmtOe6ksQKIhLjtCQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CCoO6AEwAA#v=onepage&q=parafina&f=false)

13. Guzmán N., Osma De Bonilla H., Serie Normal del Desarrollo Morfológico Embrionario de *Podocnemis unifilis*. 1990. *Acta Biológica Colombiana*. Vol 2, N° 6. Pág: 129-15.

14. Houghton, J.D.R., Hays G.C., Asynchronous emergence by loggerhead turtle (*Caretta caretta*) hatchlings. 2001. *Naturwissenschaften*, 88:133–136.

15. Jacobson Elliott R. Infectious Diseases and Pathology of reptiles Color Atlas and Text. CRC Taylor & Francis Group. [en línea] 2007 [citado 2010-08-26]. Disponible en internet: <http://www.general-search.net/fileinfo/13711049>



16. Kasha Y., Downie R., Embryological development of sea turtles (*Chelonia mydas*, *Caretta caretta*) in the Mediterranean by Zoology in the Middle East; 19: 55-69. ISSN 0939-7140 © Max Kasperek Verlag, Heidelberg.

[en línea] 1999 [citado 2010-09-28].

Disponible en internet:

<http://www.kasperek-verlag.de/PDF%20Abstracts/PDF19%20Abstracts/055-070%20KaskaDownie.pdf>

17. Klatt E.C., Robbins y Cotran Atlas de Anatomía Patológica. E. C.. Elsevier Saunders. [en línea] 2007 [citado 2011-08-08]. Disponible en internet:

[http://books.google.com/books?id=Z84eZf6V6xsC&printsec=frontcover&dq=Robbins+y+Cotran+.+Atlas+de+Anatomia+Patol%C3%B3gica+.+E.+C.+KLATT.+Elsevier&hl=es&ei=Gq5CTvDSEeWqsQK4tJWpCQ&sa=X&oi=book\\_result&ct=result&resnum=1&ved=0CDAQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com/books?id=Z84eZf6V6xsC&printsec=frontcover&dq=Robbins+y+Cotran+.+Atlas+de+Anatomia+Patol%C3%B3gica+.+E.+C.+KLATT.+Elsevier&hl=es&ei=Gq5CTvDSEeWqsQK4tJWpCQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CDAQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false)

18. Lucio Velasco R., Mortalidad en huevos no eclosionados de las tortugas marinas *Caretta caretta* y *Chelonia mydas* del centro tortugario XPU Ha de Quintana Roo (tesis de licenciatura). Cuautitlán (México) México: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, 2010

19. Márquez R., Las tortugas marinas y nuestro tiempo. 1996.1ra edición, D. R. © 1996, Fondo de Cultura Económica. México.

[en línea] 1996 [citado 2011-08-08]. Disponible en internet:

[www.bio-nica.info/biblioteca/Marquez1996LasTortugasMarinas.pdf](http://www.bio-nica.info/biblioteca/Marquez1996LasTortugasMarinas.pdf)

20. Moura L.R., Morphological aspects of the liver of the freshwater turtle *Phrynops geoffroanus* Schweigger, 1812 (Testudines, Chelidae) 2009. Braz. J. Morphol. Sci., vol. 26, no. 3-4, p. 129-134. [en línea] 2009 [citado 2011-08-08]. Disponible en internet: <http://jms.org.br/PDF/v26n3-4a01.pdf>

21. Mrosovsky N., Kamel S., Rees A.F., Margaritoulis D., Pivotal temperature for loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from Kyparissia Bay, Greece . Can. J. Zool., 80: 2118- 2124. [en línea] 2002 [citado 2011-10-08]. Disponible en internet:<http://www.seaturtle.org/members/TotEM/ARCHELON/abstracts/46.pdf>
22. Odzemir A., Çetin Ilgaz C., Kumlutaş Y., Durmuş S.H., Kaska Y., Türkozan O., An assessment of initial body size in loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*) hatchlings in Turkey. 2007. Zoological Science 24(4): 376-380.
23. Ralph C.R., Reina R.D., Wallace B.P., Sotherland P.R., Spotila J.R., Paladino F.V., Effect of egg location and respiratory gas concentrations on developmental success in nests of the leatherback turtle, *Dermochelys coriacea*. 2005. Australian Journal of Zoology 53(5):289-294.
24. Robbins S.L., Kumar V., Cotran R.S., Patología Humana. 1997. 6ª edición, Editorial McGraw-Hill-Interamericana.
25. Thierry M., Manual de necropsia de aves marinas para biólogos en refugios o áreas remotas. 2000. U. S. Geological Survey, National Wildlife Health Center, Hawaii Field Station. [en línea] 2000 [citado 2011-07-13]. Disponible en internet: <http://www.nwhc.usgs.gov/hfs/Globals/Products/Turtle%20manual%20spanish.pdf>