



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**DESCRIPCIÓN DE ALGUNOS ASPECTOS HEMATOLÓGICOS Y
BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS DE LA COLONIA DE TORTUGA
NEGRA (*Chelonia mydas*) ESTABLECIDA EN BAHÍA SALADO,
REGIÓN DE ATACAMA**

Beatriz Daniela Brito Carrasco

Memoria de Título para optar al
Título Profesional de Médico
Veterinario
Departamento de Patología Animal

PROFESOR GUÍA: ANA MARÍA RAMÍREZ KAMANN

Financiamiento Proyecto DPA14LIHBCA1415100

y O.N.G Qarapara, Tortugas Marinas Chile

SANTIAGO, CHILE
2016

AGRADECIMIENTOS

A mis profesores por su rol formador y motivante. Principalmente quiero agradecer sinceramente a mi profesora guía de Memoria de Título, Dra. Ana María Ramírez, quien dedico esfuerzo, ingenio y conocimientos en pos del desarrollo óptimo de este trabajo. También agradecer a Doctora Claudia Godoy y María Evangelista Pérez quienes dedicaron su tiempo a enseñarme.

A mis compañeros de la ONG Qarapara, quienes me entregaron sus conocimientos e hicieron el desarrollo de esta Memoria una experiencia inolvidable. Especialmente quiero agradecer a Rocío Álvarez por haberme iniciado en el maravilloso mundo de las tortugas marinas y por haberme entregado los conocimientos técnicos fundamentales para el desarrollo de la presente Memoria de Título.

A mi familia, sin quienes no podría ser la persona que soy hoy. A mi padre por su constante e infinito amor y apoyo. Y a mi madre, quien inculcó en mí con mucho amor las metodologías de estudio que me permitieron cursar de manera exitosa mis estudios universitarios.

Finalmente agradecer a mis amigos de la vida y de veterinaria quienes renovaron mis energías, especialmente José del Río quien siempre estuvo ahí para darme aliento y apoyo.

ÍNDICE

Resumen	3
Abstract	5
Introducción	7
Revisión Bibliográfica	9
I. Las Tortugas Marinas	9
II. <i>Chelonia mydas</i>	11
III. Hematología de las tortugas marinas	12
Objetivo General	14
Objetivos Específicos	14
Materiales y Métodos	15
· Área de estudio	15
· Individuos muestreados	16
· Captura y sujeción	16
· Recolección de muestras	17
· Procesamiento de muestras	17
· Tinción frotis	18
· Análisis bioquímica sanguínea	19
· Determinación de valores promedio	20
Resultados	21
Discusión	28
Conclusión	38
Bibliografía	39
Anexos	49

RESUMEN

En años recientes se han establecido algunos valores de referencia para variables hematológicas en los quelonios de vida libre. Debido a que los valores bioquímicos y hematológicos de tortugas marinas además de variar según la genética, madurez, sexo, y estado migratorio, pueden variar con la localización geográfica, hábitat y dieta se recomienda realizar estudios que lleven a establecer valores basales en cada sitio de congregación. Por lo cual obtener valores hematológicos basales de las tortugas que llegan a las costas chilenas permitiría un mayor grado de conocimiento y asertividad en las decisiones y estrategias de conservación para la especie. El objetivo de la presente memoria de título fue describir algunos aspectos hematológicos y bioquímicos sanguíneos de la población natural más austral conocida de tortuga negra (*Chelonia mydas*) establecida en Bahía Salado, Región de Atacama, y así contribuir al conocimiento del estado sanitario de los individuos que la conforman. Se analizó extendidos sanguíneos en búsqueda de hemoparásitos y se midió el hematocrito y 17 variables de bioquímica sanguínea en los 7 individuos de *C. mydas* capturados. Los individuos muestreados corresponden en su mayoría a hembras adultas (n=5) y en menor proporción a juveniles de sexo indeterminado (n=2). La totalidad de individuos se presentó sano al examen clínico realizado por el médico veterinario a cargo. Las muestras sanguíneas fueron obtenidas desde la vena yugular externa inmediatamente luego de la captura para reducir el estrés. Las muestras fueron procesadas y almacenadas en terreno para luego ser transportadas al Laboratorio de Hematología y Bioquímica Clínica de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, donde fueron analizadas. Una vez obtenidos los resultados, se calculó la media, desviación estándar y la mediana y se reportaron los valores mínimos y máximos para cada variable considerando las muestras en su conjunto pero no intervalos de confianza debido al bajo n. El volumen globular aglomerado y la proteína plasmática total se encontraron dentro de los valores de referencia utilizados para *C. mydas* en otras partes del mundo. Los rangos estrechos obtenidos para proteína total, albumina, globulinas, glucosa, ácido úrico, calcio, fosforo y bilirrubina total se podrían deber al número bajo de muestras. La evaluación de los extendidos sanguíneos en búsqueda de hemoparásitos determinó que no existe presencia de estos. El número de muestras utilizadas en el presente

estudio fue de 7 individuos diferentes, lo cual no permitió realizar comparaciones estadísticamente significativas. Esto indica que se debe seguir trabajando en el área para así incrementar el n y poder obtener rangos de referencia para la colonia que sean estadísticamente significativos. En conclusión, tomando en cuenta los resultados obtenidos para las variables de hematología, bioquímica sanguínea y evaluación de la presencia de hemoparásitos, en conjunto con los resultados del examen clínico externo de las tortugas de Bahía Salado, es posible sugerir que es una colonia sana y que los resultados sanguíneos encontrados en el presente estudio serían propios de esta colonia debido al tipo hábitat, a la alimentación disponible (tipo y abundancia) y a la estructura sexual y etaria de los individuos que la conforman.

SUMMARY

In recent years some reference values have been established for hematological variables in chelonians. The biochemical and hematological values vary according to the genetics, maturity, sex, and immigration status. Also they may vary with the geographic location, habitat and diet. Therefore is recommended to carry out studies that establish reference values in each congregation site. For that reason obtaining biochemical and hematological reference values of the sea turtles that inhabits the Chilean coasts is important as that would provide a greater degree of knowledge and assertiveness in the conservation decisions and strategies for the species. The objective of the present study was to describe some hematological and biochemical aspects of the most austral known natural stock of black turtle (*Chelonia mydas*) established in Bahía Salado, Atacama Region, and thus to contribute to the knowledge of the health status of the individuals that inhabit the bay. Blood films were analyzed in search of haemoparasites and hematocrit and 17 variables of blood biochemistry were measured. The individuals sampled correspond mostly to adult females (n= 5) and juveniles of undetermined gender (n= 2). All of the individuals were classified as healthy after the clinical examination performed by the veterinarian in charge. Blood samples were obtained from the external jugular vein immediately after the capture, reducing stress. Samples were prepared and stored in the field, and transported for analysis to the Laboratory of Hematology and Clinical Biochemistry at the Faculty of Veterinary Sciences and Animal Husbandry at the University of Chile. Mean, standard deviation, medium and minimum and maximum values for each variable were obtained considering the samples as a whole without considering confidence intervals due to the low n. The packed cell volume and plasma total protein were found to be within the reference values used for *C. mydas* in other parts of the world. The narrow ranges obtained for total protein, albumin, globulins, glucose, uric acid, calcium, phosphorus and total bilirubin may be due to the low number of samples. Blood film analysis determined no presence of hemoparasites. The low number of samples used in the present study did not allow making statistically significant comparisons so we must continue studying the area in order to capture more animals that improve the total number to obtain reference ranges for the colony to be statistically significant. Taking into account all the hematological results,

coupled with the clinical external examination of the turtles of Bahía Salado, it is possible to suggest that this is a healthy colony. In conclusion, the hematologic and blood biochemical features found in the present study would be a feature of this colony due to the habitat, food availability (type and abundance) and to the sex and age structure of the individuals that conform this colony.

INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas, diversos factores como pesca incidental, fragmentación de hábitats, caza directa y venta ilegal de carne y huevos han llevado a una disminución de las poblaciones de tortugas marinas a nivel mundial. Una de las cinco especies de tortugas marinas registradas en el Pacífico Sur Oriental y documentadas en nuestro país corresponde a *Chelonia mydas* (*C. mydas*), catalogada como una especie “en peligro de extinción” por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) (Frazier y Salas, 1982; Donoso y Dutton, 2010). Si bien existen registros de avistamiento, para esta especie, hasta el extremo sur del país (Isla Desolación (53°00`S, 74°10`O), región de Magallanes) (Frazier y Salas, 1982), los principales sitios de alimentación se concentran en las regiones de Arica-Parinacota, Antofagasta y Atacama, identificándose al menos cuatro lugares donde se congregan individuos juveniles y adultos durante todo el año (Brito, 2001; Marambio, 2005; Guerra, 2006; Salinas y Sielfeld, 2007).

Bahía Salado (27°41`S, 71°00`O), ubicada a 80 km al sur de Copiapó (Región de Atacama) ha sido descrito como el sitio de alimentación más austral del Pacífico Sur Oriental para la *C. mydas*, del morfotipo denominado tortuga negra (Brito *et al.*, 2007). Este lugar, además de constituir un sitio de alimentación y desarrollo de *C. mydas*, corresponde a una de las dos localidades donde se encuentra *Zostera chilensis* (Kuo, 2005; Geosensing, 2009), una especie de pasto marino endémico de las costas de Chile, el cual ha sido recientemente catalogado como “en peligro de extinción” por la UICN y con poblaciones decrecientes por causas desconocidas (Short *et al.*, 2011).

C. mydas, a diferencia del resto de las tortugas marinas, ha sido descrita históricamente como una especie herbívora que se alimenta principalmente de algas y pastos marinos en zonas cercanas a la costa (Amorocho y Reina, 2007; Burkholder *et al.*, 2011). Los pastos marinos corresponden a un grupo funcional de plantas marinas con flores, arraigadas en las costas de los océanos del mundo. Constituyen un soporte de las redes alimentarias marinas y proporcionan un hábitat esencial para muchas especies costeras, jugando un rol fundamental en el equilibrio de los ecosistemas costeros y el desarrollo humano (Short *et al.*, 2011).

En la actualidad existe evidencia científica sobre el rol que *C. mydas* cumple como regulador de las comunidades de pastos marinos, a través de un proceso de coevolución (Christianen *et al.*, 2012). De este modo, la presencia conjunta de *C. mydas* y *Zostera chilensis* en Bahía Salado, sugiere una estrecha relación simbiótica, similar a la que existe entre *C. mydas* y otras especies de pastos marinos distribuidos en el mundo, como es el caso de *Halophila hawaiiiana* en Hawaii, *Phyllospadix torreyi* en México y *Thalassia hemprichii* en Australia (López-Mendilaharsu *et al.*, 2003; Sheppard *et al.*, 2008; Short *et al.*, 2011).

A pesar del estado crítico en el que se encuentran estas especies, las condiciones geográficas y oceanográficas del lugar han motivado a grandes inversores a querer establecer el proyecto de termoeléctrica más grande en Sudamérica, la Termoeléctrica Castilla (Contraloría General de la República de Chile, 2011). Adicionalmente, la falta de conocimiento de los recursos naturales presentes en Bahía Salado, especialmente en lo que concierne al ambiente marino, ha llevado a una incerteza en cuanto a qué impacto podría generar la instauración de un proyecto de esa magnitud.

En este contexto y dado lo expuesto, es que se hace imperativo obtener información sobre esta congregación de tortugas y su entorno, siendo la medición del estado de salud una parte muy importante. Dentro de este último ámbito es que la medición de parámetros sanguíneos constituye un aporte para entender el estado sanitario y también establecer parámetros para futuras investigaciones.

La presente Memoria de Título se desarrolló en el contexto del Proyecto de investigación titulado “Conociendo y protegiendo a las tortugas marinas y su hábitat en Bahía Salado, Región de Atacama” ejecutado por la O.N.G. Qarapara Tortugas Marinas Chile, el cual pretende caracterizar una colonia natural de *C. mydas* que se alimenta en Bahía Salado.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

I. Las Tortugas marinas

Taxonomía

Reino: Animalia

Phylum: Chordata

Clase: Reptilia

Orden: Testudines

Las tortugas marinas son reptiles del orden Testudines que se clasifican en dos familias taxonómicas; Cheloniidae, que contiene a seis especies (*Chelonia mydas*, *Caretta*, *Lepidochelys olivacea*, *Lepidochelys kempii*, *Eretmochelys imbricata* y *Natator depressus*) y Dermochelyidae, que comprende como única especie a *Dermochelys coriacea* (Bowen y Karl, 2007).

Las siete especies de tortugas marinas abarcan una gran diversidad de nichos ecológicos, entre las que encontramos a las oceánicas como lo son la tortuga laúd (*Dermochelys coriacea*) y la tortuga cabezona (*Caretta caretta*); también están las tortugas de carey comedoras de esponjas (*Eretmochelys imbricata*), que ocupan los arrecifes de coral. Por otra parte, la tortuga olivácea (*Lepidochelys olivacea*) y la tortuga lora (*Lepidochelys kempii*) son carnívoras costeras y la tortuga verde (*Chelonia mydas*), que es la única herbívora y presenta distribución costera. Todas las tortugas marinas tienen una fase juvenil oceánica, excepto por la tortuga franca oriental (*Natator depressus*), la cual está restringida a Australia, Nueva Guinea y océanos adyacentes (Bowen y Karl, 2007).

Características generales

Las tortugas marinas están entre los reptiles de mayor tamaño y son los únicos que llevan a cabo largas migraciones. Gracias a estudios de captura-recaptura y de telemetría, es que se ha podido determinar que las migraciones están determinadas por la abundancia de

recursos, generando así viajes de cientos a miles de kilómetros entre sitios establecidos de alimentación y las áreas de reproducción (James *et al.*, 2005; Bowen *et al.*, 2006).

Su morfología externa se caracteriza en primer lugar por la presencia de escamas (familia Cheloniidae) o piel gruesa, como es el caso de *Dermochelys coriacea*. Además, difieren morfológicamente de otras tortugas (de tierra y agua dulce) en alcanzar un gran tamaño corporal durante la adultez, por tener sus aletas anteriores hipertrofiadas y aplanadas, mientras que las aletas posteriores son más pequeñas y con forma de remo. En cuanto al caparazón, éste es aplanado, para así cumplir una función hidrodinámica. Poseen además, glándulas lagrimales modificadas, llamadas glándulas de sal, y pulmones hipertrofiados para soportar largos periodos de apnea. Todo lo anterior permitió su adaptación al medio marino y a las largas migraciones que estos animales realizan (Wykenen, 2001 y 2003).

Con respecto al dimorfismo sexual, éste sólo se evidencia cuando los especímenes llegan a la adultez y se manifiesta por diferencias en sus colas y posición de la abertura cloacal. En el caso de los machos, la cola se extiende más allá del margen del caparazón, y la abertura cloacal se encuentra cercana a la punta de la cola. En el caso de quelonios inmaduros o hembras, la cola se presenta dentro del margen del caparazón y la apertura cloacal es más cercana al plastrón (zona ventral del caparazón) (Wykenen, 2001).

Así como muchos otros animales ectotermos, las tortugas marinas tienen reproducción estacional, aunque en algunas poblaciones ocurre a lo largo de todo el año. La mayoría de las poblaciones tienen ciclos reproductivos forzados por condiciones medioambientales próximas, facilitando así la supervivencia de los padres y de las crías, permitiendo un máximo esfuerzo reproductivo. Además, estas son filopátricas, es decir, tienen una importante fidelidad al sitio de cortejo y de anidación (Hamann *et al.*, 2003).

Ciclo de vida

El ciclo de vida de todas las tortugas marinas incluye dos estados de desarrollo entre la eclosión y la madurez sexual. Éstos corresponden al estado juvenil y sub adulto. Las crías emergen del nido, y se dirigen inmediatamente al agua, donde inician un nado hacia corrientes de altamar. Aquí pasan a estado juvenil, permaneciendo algunos años en hábitat

oceánico, alrededor de una década, antes de cambiar al estado sub adulto con alimentación del fondo marino. Alcanzan el estado adulto una vez que entran en ciclo reproductivo (Bowen y Karl, 2007).

II. *Chelonia mydas*

La especie *C. mydas*, denominada comúnmente como “Tortuga Verde o Negra”, es considerada como una de las tortugas de mayor tamaño, alcanzando entre 135 y 160 Kg en la adultez y un largo de caparazón que puede llegar a medir un metro (m). La madurez sexual es alcanzada entre los 20 y 50 años y entra en época reproductiva cada dos a cuatro años. Es la única especie herbívora que se alimenta principalmente de algas y pastos marinos, dieta característica de los estados juvenil y adulto. Sin embargo, durante la fase oceánica presenta una dieta principalmente carnívora. Es considerada como una especie en peligro de extinción por la UICN (NOAA Fisheries, 2013; The IUCN red list of threatened species, 2013).

Morfotipo negro

Existe una población de *C. mydas* restringida al Océano Pacífico sur oriental, denominada como Tortuga Negra. Se denomina de esta manera debido a que se diferencia morfológicamente de las demás poblaciones de *C. mydas* por su coloración, ya que posee piel oscura. Además, posee otras características morfológicas que la distinguen de las demás poblaciones de *C. mydas* alrededor del mundo, como lo es su caparazón con forma de corazón, el cual presenta un angostamiento de hacia su cola y son más robustas aunque de un menor tamaño que la tortuga verde (Pritchard y Mortimer, 1999). Con respecto a su distribución, anidan en zonas tropicales y subtropicales, estando aisladas reproductivamente de las otras poblaciones de *C. mydas* y migran hasta latitudes altas hacia el norte y sur del Ecuador (Pritchard y Mortimer, 1999). La costa chilena es una importante área de alimentación y desarrollo para individuos juveniles de tortuga negra, de un tamaño entre 28 y 79,5 cm de largo curvo de caparazón (LCC). Se las puede encontrar desde el extremo norte de Chile, con el registro más austral ubicado en la Isla Desolación. Siendo la zonas de mayor prevalencia las costas de las regiones de Arica y Parinacota, Antofagasta y Atacama (Donoso y Dutton 2010; Guzmán y Campodónico, 1973).

III. Hematología de las tortugas marinas

Los estudios hematológicos en reptiles se remontan hacia a mediados del siglo XX (Gaumer y Goodnight, 1957; Martin y Bamberger, 1952). Desde ahí, ha habido un aumento substancial de reportes en la literatura relacionada con la micro y ultraestructura de las células sanguíneas de quelonios (Casal y Oros, 2007; Flint, 2010). Sin embargo, los estudios en hematopoyesis, caracterización de parámetros hematológicos y de bioquímica sanguínea no han sido suficientes. En Chile existe escasa información sobre la hematología de estos reptiles locales, utilizándose para la evaluación de éstos la información disponible de otras regiones geográficas del planeta (Aguirre y Balazs, 2000; Bolten y Bjorndal, 1992; Flint, 2010; Hasbún *et al.*, 1998; Labrada-Matargón, 2010; Lewbart *et al.*, 2014; Montilla *et al.*, 2008).

Como sucede en otras especies animales, en los quelonios, las diversas enfermedades como hemoparásitos y enfermedades inflamatorias se asocian con cambios en los parámetros hematológicos (Zhang *et al.*, 2011). Por otra parte, la bioquímica sanguínea es otra valiosa herramienta diagnóstica para la evaluación renal, hepática y muscular en las tortugas marinas y pueden estar relacionados, además, con su estado fisiológico y nutricional (Montilla *et al.*, 2008; Labrada-Martagón, 2010). El apoyo hematológico al diagnóstico de enfermedades como la fibropapilomatosis, una enfermedad emergente de las tortugas marinas, es un ejemplo de ello. Los estudios han mostrado una correlación negativa entre los valores hematológicos y los grados de severidad de la enfermedad, es decir, los hematocritos más bajos se observaron en los animales más afectados (Lara, 2011; Montilla *et al.*, 2008; Rossi, 2009).

En años recientes se han establecido algunos valores de referencia para variables hematológicas en los quelonios de vida libre y cautiverio (Aguirre y Balazs, 2000; Bolten y Bjorndal, 1992; Flint, 2010; Flint *et al.*, 2010; Hasbún *et al.*, 1998; Labrada-Matargón *et al.*, 2010; Lara, 2011; Lewbart *et al.*, 2014; y Montilla *et al.*, 2008). Sin embargo, los valores bioquímicos y hematológicos de tortugas marinas además de variar según la genética, madurez, sexo, y estado migratorio, pueden variar con la localización geográfica, tipo de hábitat y la dieta, por lo que es recomendable realizar estudios que lleven a

establecer valores basales en cada sitio de congregación (Flint, 2010). A lo anterior se suma que actualmente las costas y océanos están intervenidos, en gran medida por la actividad humana y la urbanización (pesquerías, muelles, termoeléctricas, etc.), lo que conlleva a un detrimento del medio ambiente marino en el cual estas especies se desenvuelven (Campbell *et al.*, 2009).

La determinación del estado sanitario de quelonios se ha vuelto cada vez más importante para su conservación y manejo. El estado sanitario puede ser utilizado, además, como indicador biológico de la salud de los ecosistemas acuáticos locales, debido a la longevidad de los quelonios y su capacidad de permanecer en un sitio de alimentación hasta por 30 años antes de alcanzar su madurez sexual. Es por esto que, la caracterización hematológica y bioquímica comparativa entre tortugas marinas clínicamente sanas y enfermas, así como la descripción de los factores fisiológicos y medioambientales pueden proveer información importante para su manejo y estrategias de conservación (Zhang *et al.*, 2011).

El análisis hematológico también provee información para la evaluación de quelonios rehabilitados antes de ser liberados hacia la naturaleza (Zhang *et al.*, 2011). Esto es importante en el escenario actual en Chile, ya que, se han aumentado los esfuerzos para rehabilitar tortugas varadas. Por lo tanto, contar con valores hematológicos basales de las tortugas que llegan a las costas chilenas permitiría un mayor grado de conocimiento y asertividad en las decisiones y estrategias de conservación de la especie.

Por lo tanto, la presente Memoria de Título pretende describir algunos aspectos hematológicos y bioquímicos sanguíneos de la colonia natural de tortuga negra (*C. mydas*) establecida en Bahía Salado, Región de Atacama y contribuir al conocimiento del estado sanitario de los individuos que la conforman.

OBJETIVO GENERAL

Estudiar variables de hematología y bioquímica sanguínea en una colonia natural de tortuga negra (*Chelonia mydas*) localizada en Bahía Salado, Región de Atacama.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar cuantitativamente constituyentes hematológicos como el volumen globular aglomerado (VGA) y proteína plasmática de la tortuga negra.
2. Evaluar cuantitativamente constituyentes de bioquímica sanguínea como proteína sérica, albumina, globulinas, glucosa, urea, ácido úrico, calcio y fósforo de la tortuga negra.
3. Describir la presencia de hemoparásitos en la sangre de la tortuga negra.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El estudio se realizó en un área de congregación de tortugas marinas, denominada “Playa La Hedionda” ($27^{\circ}41'08''S$, $71^{\circ}00'32''O$), la cual se emplaza en Bahía Salado, ubicada a 80 km al suroeste de Copiapó, en la Región de Atacama. Esta región presenta un clima desértico con densa nubosidad costera y precipitaciones mayormente de tipo frontal, las cuales ocurren casi exclusivamente durante el invierno.

Bahía Salado es un sector de aguas poco profundas y playas de fondos duros y arenosos. El extremo sur de la bahía se encuentra protegida del embate directo de las corrientes, por una punta rocosa denominada “Punta Cachos”, que tiene una extensión de aproximadamente 4 km. Por el norte presenta otra proyección rocosa de unos 500 m. La bahía presenta además, una alta abundancia de algas marinas y una variación anual de la temperatura del agua entre los 15 y 21 °C, sin embargo, en Playa La Hedionda, la temperatura puede alcanzar los 24° C en los meses más cálidos. Ésta se ubica a 250 m de la proyección rocosa del extremo norte de la bahía (**Figura 1**), y presenta un fondo rocoso de baja profundidad, variando entre 1 y 2 m., inclusive a más de 60-80 metros desde la costa (Marambio, 2005).

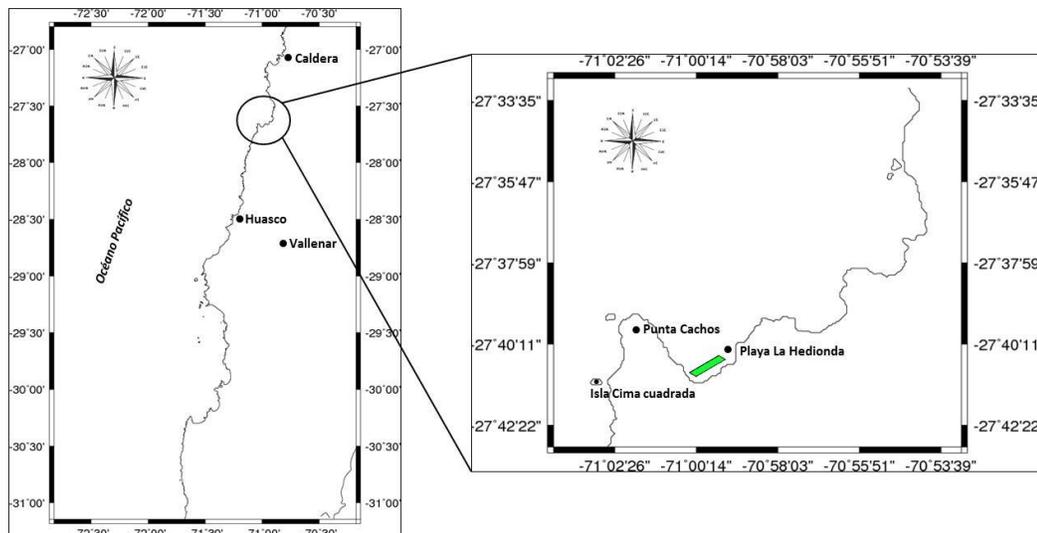


Figura 1. Mapa geográfico de la Playa La Hedionda, Bahía Salado, Región de Atacama. El rectángulo, indica el sector de congregación de *Chelonia mydas*.

Individuos muestreados

En este estudio se recolectaron muestras sanguíneas de 7 individuos capturados en las temporadas de primavera verano 2013 y 2014. Estos corresponden en su mayoría a hembras adultas y en menor proporción a juveniles de sexo indeterminado. La totalidad de individuos se presentó sano al examen clínico realizado por el médico veterinario a cargo (**Anexo 1**). El largo curvo del caparazón (LCC) se determinó utilizando una cinta métrica flexible, y largo recto del caparazón (LRC) se midió utilizando un pie de metro. El estrato etario se determinó basándose en lo descrito por Zárata *et al.* (2003), quienes estudiaron la colonia reproductiva más cercana a nuestro sitio de estudio para *C. Mydas* del morfotipo negro. Este considera como tamaño mínimo descrito para las hembras un LCC $\geq 60,7$ cm. Por lo que los individuos menores a esa talla se consideraron como juveniles. Con respecto a la determinación del sexo en los animales adultos, se utilizó el largo de la cola como la variable determinante. Considerándose como hembras a aquellos individuos que la cola no sobrepasó el borde caudal del caparazón y como machos a aquellos cuya cola si lo sobrepasó (Wyneken, 2004). Finalmente para la condición corporal se utilizó una escala del 1 al 5, donde 1 corresponde a un individuo en muy mala condición corporal y 5 a una muy buena (**Anexo 2**).

Captura y sujeción

La captura de los individuos se realizó mediante el uso de redes de enmalle, el cual corresponde al método tortugas marinas más utilizado en zonas de alimentación, debido a su eficiencia y seguridad. Su uso se recomienda especialmente en el caso de bahías protegidas de aguas tranquilas y poco profundas (Eckert *et al.*, 2000), condiciones que se cumplieron plenamente para este estudio. Quienes realizaron este procedimiento fue personal con conocimiento y entrenamiento en este tipo de manejo, lo que es importante para minimizar el estrés en los animales. Para la realización de las capturas y toma de muestras se contó con un permiso de pesca de investigación otorgado por la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, Ministerio de Economía, Fomento y Turismo de Chile (**Anexo 3 y 4**).

Una vez que los animales fueron capturados en la red, se desenredaron y trasladaron cuidadosamente a un lugar tranquilo en la costa para continuar con los procedimientos en el orden que se indica: i) obtención de muestras sangre para hematología y bioquímica clínica; ii) fotoidentificación; iii) obtención de datos morfométricos; iv) colecta de otras muestras biológicas; v) marcaje y; vi) liberación. El procedimiento fue realizado mediante sujeción física, sin necesidad de administrar anestesia. Los tiempos de manipulación de los individuos no superaron los 30 minutos minimizando así el estrés.

Recolección de muestras para hematología y bioquímica sanguínea

De cada individuo se recolectaron 4 ml de sangre desde la vena yugular externa, ubicada en la porción dorsal del cuello (Campbell, 2006). Se utilizaron jeringas de 5 ml con agujas de 21G. La sangre obtenida fue depositada en un tubo de recolección con el anticoagulante heparina de litio (Li) (BD Vacutainer®, NJ USA. 68 USP) y homogenizada durante 30 segundos. Cada tubo fue colocado en una gradilla para tubos dentro de un contenedor refrigerado (Coleman®) para su posterior transporte al lugar habilitado como laboratorio de terreno.

Procesamiento de las muestras de sangre en terreno

- Extendidos o frotis de sangre: luego de la recolección de la muestra y su homogeneizado en tubos con heparina de litio, se realizaron tres extendidos de sangre por cada individuo con la técnica “del porta objeto”. A continuación, fueron secados al aire, fijados en metanol por cinco minutos y luego almacenados en una caja para porta objetos para ser analizados en el Laboratorio de Hematología y Bioquímica Clínica de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile.

Por otra parte, se llenaron con sangre dos capilares sin anticoagulante para microhematocrito hasta un nivel $\frac{3}{4}$ y fueron centrifugados por cinco minutos a 12.000 rpm en una microcentrífuga Hawksley® (Hawksley y Sons Ltd, England). Los capilares fueron utilizados para realizar las siguientes mediciones:

- Volúmen Globular Aglomerado (VGA): en uno de los capilares se determinó, mediante una escala, el valor del VGA expresado en porcentaje, correspondiente al total de células eritrocitarias en sangre.
- Proteínas Plasmáticas Totales (PPT): el mismo capilar utilizado para leer el VGA fue cortado y se le extrajo el plasma heparinizado que fue depositado en un refractómetro manual compensado para proteínas (modelo SPR-N ATAGO®, Japan) donde se procedió a la lectura de la PPT.

- Extracción de plasma para bioquímica sanguínea: el resto de la sangre heparinizada fue procesada para obtener plasma en un periodo máximo de una hora luego de la toma de muestra. La muestra fue centrifugada a 3.500 rpm por 15 minutos en una microcentrífuga personal (EDVOTEK®, Taiwan). El plasma heparinizado resultante fue traspasado con pipeta Pasteur estéril a criotubos, los cuales fueron mantenidos en nitrógeno líquido (-196 °C) hasta ser procesados en el Laboratorio de Hematología y Bioquímica Clínica de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile.

Tinción de los extendidos de sangre

Cada extendido de sangre fue teñido con una tinción Romanowsky, en este caso May-Grünwald-Giemsa, de acuerdo al protocolo descrito en Schalm's Veterinary Hematology (Jain, 1986). Estos extendidos fueron analizados para observar la presencia de hemoparásitos en la sangre de esta colonia de tortuga negra.

Los frotis previamente fijados con metanol en terreno fueron nuevamente fijados en el laboratorio con metanol técnico durante cinco minutos a temperatura ambiente, esto con el fin de obtener el mejor resultado al momento de la tinción ya que al estar los frotis secos por muchos días no se obtiene el resultado esperado. A continuación, se procedió a desechar el sobrenadante del fijador y se colocó en cada frotis la solución de tinción May-Grunwald (Merck®, Germany) elaborada en proporción 1:1 con la tinción stock y el buffer fosfato (PBS, pH 7). Se incubó durante 10 minutos a temperatura ambiente. Luego se desechó el sobrenadante de esta tinción y se colocó en cada frotis la solución de tinción Giemsa elaborada con 2 ml de PBS y cuatro gotas de tinción Giemsa (Merck®, Germany). Se incubó durante 10 minutos a temperatura ambiente. A continuación, se desechó el

sobrenadante de la tinción, se lavó con agua corriente y luego se dejó secar a temperatura ambiente. Para su análisis se observó el frotis para cada individuo, en cada frotis se examinó un total 20 campos en microscopio óptico (Carl Zeiss®, modelo Standard 20) en objetivo de inmersión (100x).

Este procedimiento fue realizado en el Laboratorio de Hematología y Bioquímica Clínica de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile.

Análisis de la bioquímica sanguínea

Para el perfil bioquímico se obtuvo proteína total (PT), albúmina (Alb), glucosa (Glu), urea (U), ácido úrico (AcU), calcio (Ca), fósforo (P), bilirrubina total (BT), creatinina (Crea), aspartato amino transferasa (AST), deshidrogenasa láctica (LDH), creatinina quinasa total (CK) y triglicéridos (TG) mediante la utilización del equipo Microlab 100 de MERK® de acuerdo a las siguientes metodologías:

- Proteína total: Método Colorimétrico Biuret Punto Final. (Total Protein, BioMed Egy Chem®, Egypt).
- Albúmina (Alb): Método Colorimétrico Punto Final. (Albumin, BioMed, Egy Chem®, Egypt).
- Glucosa: Método GOD-Trinder (Glucosa Liquiform, Labtest Diagnostica S.A.®, Brasil).
- Urea (U): Método Cinético (Urea Cinética K056 Líquido Estable, Bioclin®, Quibasa Química Básica Ltda, Brasil).
- Ácido Úrico (AcU): Método Cinética Enzimática (Uricostat AA, Wiener® Lab., Argentina)
- Calcio (Ca): Método Colorimétrico Arsenazo III. (Calcium-Arsenazo III, BioMed, Egy Chem®, Egypt).
- Fósforo (P): Método Colorimétrico UV Punto Final (Fósforo UV K068, Bioclin®, Quibasa Química Básica Ltda, Brasil).
- Bilirrubina total (BT): Método Colorimétrico Punto Final (Bilirrubina, Labtest Diagnostica S.A.®, Brasil).
- Creatinina (Crea): Método Tasa Fija (Creatinina, BioMed, Egy Chem®, Egypt).

- Aspartato Amino Transferasa (AST/GOT) EC 2.6.1.1.: Método Cinético (GOT, BioMed, Egy Chem®, Egypt).
- Deshidrogenasa Láctica (LDH) EC 1.1.1.27.: Método Cinético (LDH Liquiform, Labtest Diagnostica S.A.®, Brasil).
- Creatinina quinasa total (CK) EC 2.7.3.2.: Método Cinético (CK-NAC Liquiform, Labtest Diagnóstica S.A.®, Brasil).
- Triglicéridos (TG): Método Colorimétrico GPO-PAP (Triglicéridos L.S, BioMed, Egy Chem®, Egypt).

Las globulinas (Glo) fueron determinadas por la diferencia entre la Proteína Total (PT) y las albuminas (Alb). Una vez obtenido el valor para las globulinas fue posible obtener la relación Alb/Glo.

Determinación de Valores Promedio o intervalos de referencia

Para determinar los Valores Promedio se utilizó estadística descriptiva como sugiere la American Society of Veterinary Clinical Pathology (ASVCP) (Friedrichs *et al.*, 2012). En este contexto, debido a que el número de muestras obtenidas fue de 7 individuos diferentes no fue posible obtener el intervalo de referencia por la baja certeza de los límites basado en la baja cantidad de muestras, por lo tanto, se calculó la media, desviación estándar y la mediana y se reportaron los valores mínimos y máximos para cada variable considerando las muestras en su conjunto y sin considerar intervalos de confianza debido al bajo n. El programa estadístico utilizado fue Microsoft Excel 2013 (Microsoft Corporation®, USA).

RESULTADOS

Se capturaron 7 individuos clínicamente sanos de *C. mydas*, según los parámetros establecidos en la Ficha Clínica utilizada (Anexo 1). La mayoría de los especímenes evaluados correspondieron a hembras adultas (n=5), y el resto de los individuos se catalogaron como juveniles de sexo indeterminado (n=2). Entre los parámetros morfométricos obtenidos destacamos el Largo Curvo del Caparazón (LCC) con valores entre 51,5 a 81,8 cm (media = 65,5 cm) y el peso 29 a 78 Kg (media = 41 Kg),

Tabla 1. Caracterización de tortugas negras (*C. mydas*) muestreadas en Bahía Salado, Región de Atacama. Se determinaron los parámetros de Largo Curvo del Caparazón (LCC), Largo Recto del Caparazón (LRC), Peso, Estrato Etario, Sexo y Condición Corporal de los 7 individuos muestreados.

Marca N°	LCC (cm)	LRC (cm)	Peso (Kg)	Estrato Etario	Sexo	Condición Corporal
801/802	63	56,6	29	Adulto	Hembra	3
803/804	81,8	72,6	72	Adulto	Hembra	5
805/806	58,8	54,7	24	Juvenil	Indeterminado	3
807/808	51,5	47,7	17	Juvenil	Indeterminado	4
809/810	65,6	58,8	30	Adulto	Hembra	5
811/812	75,5	67,6	57	Adulto	Hembra	5
813/814	62,3	57,3	38	Adulto	Hembra	4

Para la determinación de parámetros hematológicos basales se tomaron muestras sanguíneas y analizaron en terreno, obteniéndose los valores del Volumen Globular Aglomerado (VGA) y las Proteínas Plasmáticas Totales (PPT), los que se detallan en la Tabla 2.

Tabla 2. Parámetros hematológicos basales de tortugas negras (*C. mydas*) muestreadas en Bahía Salado, Región de Atacama. Mediante la obtención de sangre desde la vena yugular externa en capilares para microhematocrito, se determinó de los 7 individuos muestreados: el Volumen Globular Aglomerado (VGA) medidos en una escala las Proteínas Plasmáticas Totales (PPT) medidas en un refractómetro manual (n=7)

Marca N°	VGA %	PPT g/dL
801/802	37	6
803/804	24	5,4
805/806	32	6
807/808	43	6,5
809/810	38	6,2
811/812	36	5,0
813/814	29	5,0

Con los datos mostrados en la tabla anterior se obtuvieron los Límites Inferior, Superior y algunas mediciones estadísticas como la Media, Mediana y Desviación Estándar para el VGA y las PTT para los individuos evaluados de la colonia de tortuga negra establecida en Bahía Salado (**Tabla 3**). En el caso del VGA se obtuvo una media de 34% mientras que la mediana obtuvo un valor de 36%. En el caso de la PPT, expresada en g/dL, la media obtuvo, al igual que la mediana, un valor de 6 g/dL. Con respecto a los rangos para el VGA y PPT fueron de 24 a 43% y de 5,0 a 6,5 g/dL, respectivamente.

Tabla 3. Análisis estadístico de los valores individuales de VGA y PPT de las tortugas negras (*C. mydas*) muestreadas en Bahía Salado, Región de Atacama. Se establecieron la Media, Desviación Estándar, Mediana, y los valores Mínimo y Máximo de las variables de VGA y PPT (n=7).

Variable	Media	Desviación Estándar	Mediana	Mínimo	Máximo
VGA (%)	34	6,31	36	24,0	43,0
PPT (g/dl)	6	0,67	6	5,0	6,5

Finalmente, los plasmas de las muestras sanguíneas obtenidas, fueron analizados en el Laboratorio de Hematología y Bioquímica Clínica de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile. Se evaluaron distintos parámetros bioquímicos utilizados rutinariamente en la clínica veterinaria y que permiten establecer la condición de salud del animal. La **Tabla 4** muestra los resultados de proteína total, albúmina, globulinas, relación A/G, glucosa, urea, ácido úrico, colesterol, calcio, fósforo, bilirrubina total, creatinina, triglicéridos y las enzimas AST, LDH, CK obtenidos para cada individuo mediante la utilización del equipo Microlab 100 de MERK® de acuerdo a las metodologías descritas anteriormente en materiales y métodos.

Al igual que para el VGA y PTT, los valores de los parámetros bioquímicos se establecieron sus Límites Mínimo y Máximo y fueron analizados estadísticamente determinándose su Media, Mediana y Desviación Estándar, detallados en la **Tabla 5**.

Tabla 4. Análisis de Bioquímica Sanguínea en de las tortugas negras (*C. mydas*) muestreadas en Bahía Salado, Región de Atacama. Mediante análisis automatizado se determinaron los parámetros bioquímicos sanguíneos para los 7 individuo muestreados: Proteína Total (g/dL), Albúmina (g/dL), Globulinas (g/dL), Relación A/G, Glucosa (mmol/L), Urea (mmol/L), Ácido úrico (g/dL) y Triglicéridos (mmol/L), Calcio (mmol/L), Fósforo (mmol/L), Bilirrubina total (µmol/L), Creatinina (µmol/L), CK (U/L), AST (U/L) y LDH (U/L) (n=7).

Marca N°	801/802	803/804	805/806	807/808	809/810	811/812	813/814
Proteína Total g/dL	6,10	5,50	6,70	6,51	6,33	5,01	5,16
Albúmina g/dL	2,29	2,47	2,45	2,91	2,81	2,11	2,13
Globulinas g/dL	3,8	3,03	4,25	3,6	3,52	2,9	3,03
A/G	0,6	0,82	0,58	0,81	0,8	0,73	0,7
Glucosa mg/dL	118,9	104,5	102,7	136,9	131,5	106,3	126,1
Urea mmol/L	0,8	1,8	2,8	0,8	1,0	1,1	0,5
Ácido úrico g/dL	1,0	1,0	1,0	2,0	1,0	1,0	2,0
Triglicéridos mg/dL	398	300	610	849	831	451	566
Calcio mg/dL	9,6	8,8	12	10,4	10	12	9,2
Fósforo mg/dL	14,5	14,8	11,7	12,6	11,7	11,1	9,9
Bilirrubina total µmol/L	1,1	1,2	0,6	1,1	0,65	0,93	1,02
Creatinina µmol/L	27,6	28,5	32	32,1	51,2	28,2	28,4
CK U/L	2.651	1.641	1.982	2.779	2.387	3.110	2.805
AST U/L	283	243	254	233	231	265	580
LDH U/L	1.127	329	408	516	364	431	1.067

Tabla 5. Análisis estadístico de los valores individuales de bioquímica sanguínea de las tortugas negras (*C. mydas*) muestreadas en Bahía Salado, Región de Atacama. Se establecieron la Media, Desviación Estándar, Mediana, Mínimo y Máximo de las variables de bioquímica sanguínea Proteína Total, Albúmina, Globulinas, Relación A/G, Glucosa, Urea, Ácido úrico, triglicéridos, Calcio, Fósforo, Bilirrubina total, Creatinina, CK, AST y LDH (n=7).

Variable	Media	Desviación Estándar	Mediana	Mínimo	Máximo
Proteína total g/dL	5,90	6,73	6,10	5,01	6,7
Albúmina g/dL	2,45	3,15	2,45	2,11	2,91
Globulinas g/dL	3,45	4,89	3,52	3,03	4,25
A/G	0,7	0,1	0,7	0,6	0,8
Glucosa mg/dL	118,1	13,9	118,9	102,7	136,9
Urea mmol/L	1,3	0,80	1,0	0,5	2,8
Ácido úrico mg/dL	1,3	1,29	1,0	1,0	2,0
TG mg/dL	572	210	566	300	849
Calcio mg/dL	10,3	1,3	10	8,8	12
Fósforo mg/dL	12,3	1,8	11,7	9,9	14,8
Bilirrubina total μmol/L	0,94	0,25	1,02	0,55	1,21
Creatinina μmol/L	32,6	8,41	28,5	27,6	51,2
CK U/L	2479	513	2651	1641	3110
AST U/L	298	125	254	231	580
LDH U/L	606	341	431	329	1127

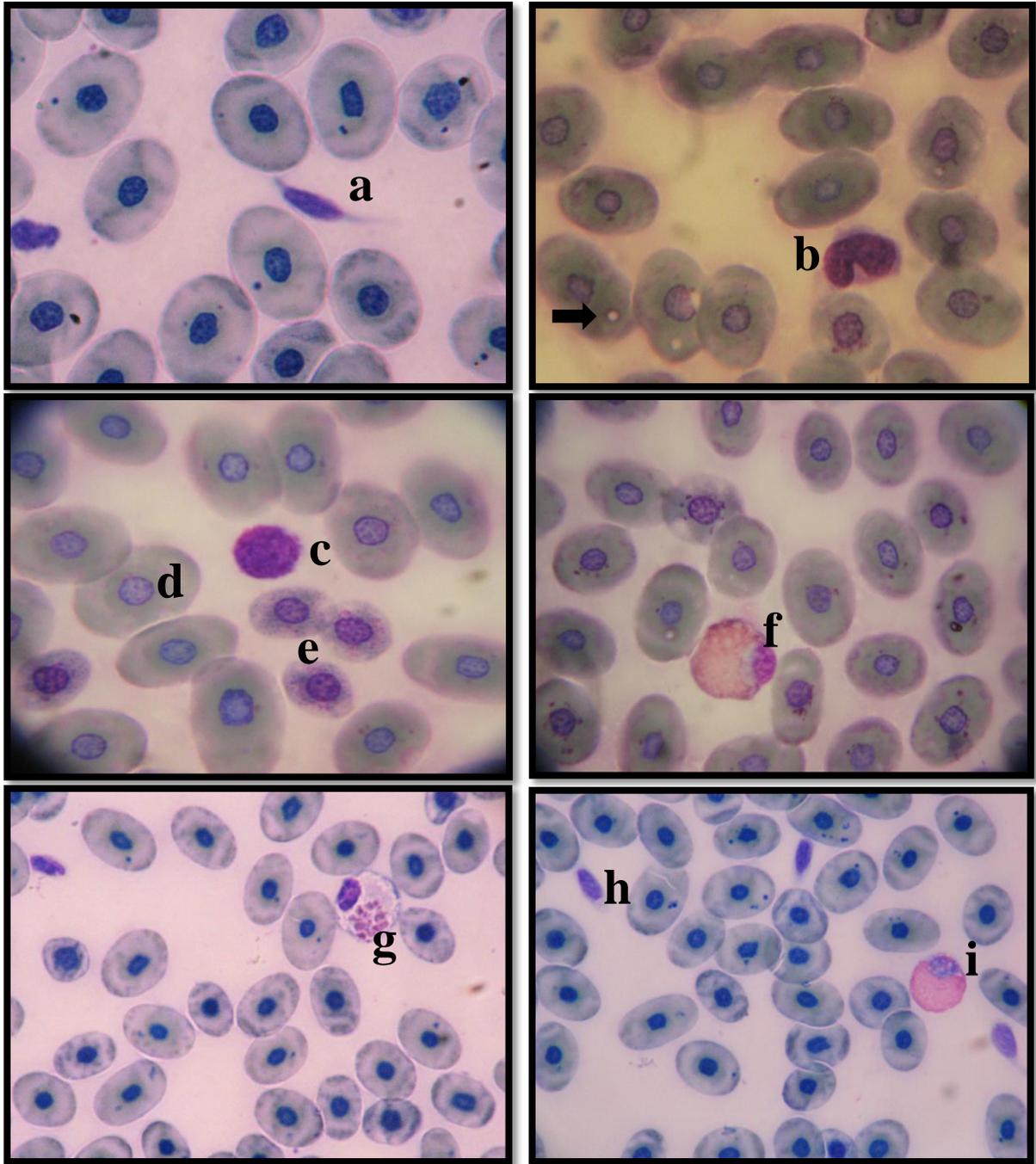


Figura 2. Morfología normal y ausencia de hemoparásitos en los extendido sanguíneo de las tortugas negras (*C. mydas*) muestreadas en Bahía Salado, Región de Atacama. Se realizaron frotis con sangre heparinizada y tinción Romanowsky May-Grunwald-Giemsa. Se analizaron en cada frotis un total de 20 campos bajo un microscopio óptico en objetivo de inmersión (100x). a: trombocito, b: monocito, flecha negra: inclusión intraeritrocitaria. c: linfocito, d: eritrocito maduro, e: eritrocitos inmaduros. f: heterófilo, flecha: gránulos intraeritrocitarios. g: eosinófilo, h: trombocito, i: heterófilo.

Como se describió en materiales y métodos, al realizar la toma de muestras se prepararon frotis sanguíneos que nos permitieran estudiar la morfología celular sanguínea y evaluar la presencia de hemoparásitos, y con esto, corroborar el estado sanitario observado en el examen clínico de los animales. Con éste objetivo, se analizó un frotis por cada individuo capturado, donde se pudo determinar la normalidad morfológica de las células sanguíneas (**Figura 2**) consistentes con aquellos descritos en la literatura (Campbell, 2012), y no se encontraron hemoparásitos.

DISCUSIÓN

Chile es un país de una amplia costa lo que le permite contar con una gran diversidad de especies marinas. Estos animales pueden estar dispersos a lo largo de todo el territorio o establecidos en colonias. Este último es el caso de las *Chelonia mydas* o tortugas negras que han encontrado una zona propicia para su alimentación en Bahía Salado, región de Atacama. Actualmente Chile no cuenta con información que permita la protección del hábitat y los animales que conforman esta colonia.

Recientemente la comunidad científica ha visto la necesidad de generar estrategias de protección para la colonia de tortugas negras de Bahía Salado, frente a la posibilidad de que se establezca en la zona una planta termoeléctrica. Por esta razón el presente trabajo planteó la necesidad de conocer algunos parámetros clínicos que nos permitan evaluar el estado sanitario de los especímenes que habitan la bahía. Es así como nuestra propuesta fue establecer valores de hematología y bioquímica sanguínea para *C. mydas*, el cual sería el primer estudio de este tipo en nuestro país.

Actualmente, la evaluación del estado sanitario de las *C. mydas* varadas y en rehabilitación a lo largo de Chile se basan en registros obtenidos en otras latitudes y océanos, como Australia, Ecuador, Venezuela, Estados Unidos, México y los Emiratos Árabes (Aguirre y Balazs, 2000; Bolten y Bjorndal, 1992; Flint *et al.*, 2010; Hasbún *et al.*, 1998; Labrada-Matargón *et al.*, 2010; Lewbart *et al.*, 2014; y Montilla *et al.*, 2008). Sin embargo, los valores bioquímicos y hematológicos de tortugas marinas, así como de otros reptiles pueden variar según la genética, madurez, sexo, y estado migratorio, así como por la localización geográfica, tipo de hábitat y la dieta, por lo que es recomendable realizar estudios que lleven a establecer valores basales en cada sitio de congregación (Anderson *et al.*, 2011; Barboza *et al.*, 2010; de Pedro *et al.*, 2005; Deem *et al.*, 2009; Dessauer y Nevo, 1969; Dutton y Taylor, 2003; Casal *et al.*, 2009; Flint *et al.*, 2010). Dentro de los principales analitos de importancia diagnóstica en reptiles se incluye la PT, Glu, AcU, AST, Ca y P (Campbell, 2014).

Al observar la colonia y monitorear la frecuencia de respiraciones de los individuos, pudimos determinar un área específica donde las tortugas pasan gran parte del día, la que

coincide con la presencia de bosques de ulva y pasto marino, así como el sitio que alcanza las mayores temperaturas de la bahía, todos factores importantes para establecer una colonia de alimentación. Esta información nos permitió delimitar el sitio para el posicionamiento de las redes de captura y el muestreo de los animales. Pese a esto durante las temporadas de primavera-verano 2013-2014 solo logramos capturar 7 individuos, número insuficiente para obtener valores de referencia, por lo que no fue posible realizar comparaciones con validación estadística. Sin embargo, a partir de estos datos, se iniciará un registro permanente que será actualizado durante las temporadas futuras.

El grupo de individuos muestreados está conformado principalmente por hembras adultas y juveniles de *C. mydas* del morfotipo negro con largos curvos del caparazón (LCC) de 51,5 a 81,8 cm (Tabla 1). La importancia de conocer las medidas morfométricas de los individuos estudiados, como el LCC y recto del caparazón (LRC), es que existen estudios que demuestran correlaciones entre la talla y las variables de hematología y bioquímica sanguínea que serán revisadas más adelante en el presente trabajo.

Bahía Salado, al ser el sitio de alimentación más austral para el morfotipo negro (Brito *et al.*, 2007), presenta particularidades en sus variables ambientales, que podrían determinar o influir en las diferencias reportadas de hematocrito y bioquímica sanguínea obtenidas en este estudio, como son la temperatura del agua, disponibilidad y tipo de alimento, entre otros (Aguirre y Balazs, 2000; Bolten y Bjorndal, 1992; Moon *et al.*, 1999; Stacy *et al.*, 2015). Por ejemplo, se han registrado correlaciones entre la temperatura a la que está expuesto el animal y sus variables de hematología y bioquímica sanguínea. En un estudio realizado por Osborne *et al.* (2010) encontraron una correlación positiva entre la temperatura del agua y las concentraciones de PT en *C. caretta*. Esto podría ser importante teniendo en cuenta que las temperaturas del agua registradas en Bahía Salado fluctúan en la estación más cálida entre 16,4 y 19,1 °C, y en la más fría entre 13,2 y 14,3 °C, por lo que para este estudio se obtuvieron muestras solo en la época cálida.

Con respecto a las variaciones relacionadas con la dieta, Anderson *et al.* (2011), estudiaron los efectos de la variación en la alimentación en los perfiles bioquímicos de *Chelonia mydas* y *Lepidochelys kempii*, reportando incrementos significativos

postprandiales en los niveles de PT, Alb y AST para la tortuga verde, demostrando que esta conducta puede incidir en los valores que adoptan algunas variables hematológicas y bioquímicas en sangre. Además, se ha visto que variables como la Glu, TG y P se relacionan con el estatus nutricional y la dieta de tortugas marinas (Anderson *et al.*, 2015; Tavares-Días, 2009; Whiting *et al.*, 2007). En el caso de Bahía Salado aún no se conoce completamente la dieta que posee la colonia establecida, pero los resultados obtenidos en el presente estudio indican que al menos dos de estos indicadores (Glu y P) se encontrarían dentro de lo observado en lugares de alimentación en otras áreas geográficas (Aguirre y Balazs, 2000; Campbell, 2014; Zhang *et al.*, 2011). Adicionalmente, la evaluación de la condición corporal (CC) registrada en los individuos de la colonia nos hace suponer que independiente de la composición final de la dieta de las tortugas de Bahía Salado, éstas se encontrarían en un adecuado estado nutricional (Tabla 1).

Otras variables de bioquímica sanguínea estudiadas fueron PT, Alb y Glo. Algunas causas de hiperproteinemia incluyen la deshidratación o hiperglobulinemia asociada a una enfermedad inflamatoria crónica (Campbell, 2014; Stacy *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2011). Además, en reptiles hembra se ha demostrado aumentos marcados de PPT en etapa de vitelogenesis (Hamann *et al.*, 2003; Kuchling, 1999). Por el contrario, entre las causas más comunes de hipoproteinemia se encuentran la desnutrición crónica, el síndrome de mala absorción, parasitismo, pérdida severa de sangre, hepatopatías crónicas y enfermedad renal (Campbell, 2014; Stacy *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2011). Los valores obtenidos para PT, Alb y Glo (Tabla 4 y 5) en el presente estudio fueron similares a los reportados por Flint *et al.* (2010), Montilla *et al.* (2008) y Aguirre y Balazs (2000). Sin embargo, se encuentran en el nivel superior normal del rango. En este estudio se obtuvo una media de 5,9 g/dL para la PT con un mínimo de 5,01 y un máximo de 6,7 g/dL, mientras que en Venezuela se encontraron valores que van desde los 3,16 a los 6,0 g/dL (Montilla *et al.*, 2008) y en las islas de Hawaii se reportaron valores que van desde los 2,9 a los 6,7 g/dL (Aguirre y Balazs, 2000). Los valores reportados para la Alb en el presente estudio (2,45-2,91 g/dL) son superiores a los reportados por Aguirre y Balazs (2000) (0,6-2,2 g/dL), Montilla *et al.* (2008) (1,11-2,02 g/dL) y Labrada-Matargón *et al.* (2010) (0,79-2,00 g/dL). En el caso de las G (3,03-4,25 g/dL), se encontraron dentro de los rangos reportados por los estudios de

otros autores, como Flint *et al.* (2010) que reportaron un rango de referencia de 1,54 a 4,66 g/dL, o Bolten y Bjorndal (1992) reportaron un rango de 1,9 a 5,2 g/dL. La función eritrocitaria es el transporte de oxígeno desde los pulmones hacia los distintos tejidos del cuerpo y el transporte de carbono desde el cuerpo hacia los pulmones. Un VGA o hematocrito bajo indica anemia o hemodilución, por ejemplo, por contaminación de la muestra con hemolinfa. Por el contrario, un VGA alto podría indicar hemoconcentración por deshidratación o policitemia. La anemia es uno de los hallazgos más comunes en tortugas marinas con enfermedades crónicas, traumas y desnutrición (Campbell, 2014; Zhang *et al.*, 2011; Stacy *et al.*, 2015). En el análisis del hematocrito (Tabla 2 y 3) se obtuvieron valores que se ajustan dentro de los rangos establecidos por Flint *et al.* (2010) (13,4-53,2%) y Bolten y Bjorndal (1992) (26,4-42%), cercano a los límites superiores. Si tomamos en consideración los valores obtenidos para el VGA, PT, Alb y Glo de los animales muestreados, los cuales se encuentran cercanos a los límites superiores respecto a lo reportado en estudios consultados, podríamos afirmar que se encuentran en una condición de hemoconcentración o deshidratación (Tabla 2, 3, 4 y 5). Sin embargo, las diferencias observadas en estos analitos, también se pueden deber a ciertas particularidades como la estructura etaria y sexual de la colonia en conjunto con las particularidades del ecosistema (baja temperatura del agua y alimentación disponible entre otros) en que se desenvuelven estos animales. Si esto es cierto, estos serían los valores normales para individuos en etapa de maduración sexual y para hembras adultas en el periodo no reproductivo en Bahía Salado, lo cual se podría determinar incrementando el número de individuos muestreados para así lograr un n representativo que nos permita determinar rangos referenciales para esta colonia. Por otra parte, es probable que el aumento de las PT y Alb observada en nuestro muestreo, se deba a la alimentación con *Zostera chilensis* (pasto marino endémico de Chile), como se observó en el estudio realizado por Whiting *et al.* (2007), donde se comparó una población de tortuga verde con una dieta preferente de pasto y la otra de algas, se encontró que los individuos adultos con dieta preferente de pastos marino presentaban valores significativamente superiores de PT y Alb, dado posiblemente por el mayor valor proteico que presentarían los pastos en comparación con las algas.

En el caso de la Glu el rango obtenido en este estudio (102,7-136,9 mg/dL) (Tabla 4 y 5) fue similar a los obtenidos por Aguirre y Balazs (2000) (86-133mg/dL), Flint *et al.* (2010) (66,6-178,3 mg/dL) y Montilla *et al.* (2008) (71-183 mg/dL). Pese a lo que se pudiera pensar, la Glu no es un indicador específico de la función pancreática ni del padecimiento de la diabetes mellitus, aunque se han reportado casos de ésta en algunos quelonios en donde se registran incrementos marcados de Glu en sangre (Frye, 1999; Stahl, 2003). También se describe hiperglicemia en la insuficiencia renal, lipidosis hepática y anorexia prolongada (Martínez-Silvestre *et al.*, 2013). La hipoglicemia en reptiles se puede producir por la privación de alimento, la malnutrición, las hepatopatías graves, las septicemias y las endocrinopatías (Campbell, 2014; Zhang *et al.*, 2011).

De igual manera la urea (0,5-2,8 mmol/L) y el ácido úrico (1,0-2,0 mg/dL) (Tabla 4 y 5) se encontraron dentro de los rangos reportados por otros estudios. Estos analitos son indicadores del catabolismo proteico y permiten evaluar la función renal (Holz y Raidal, 2006; Selleri y Hernandez-Divers, 2006). Los productos nitrogenados de desecho excretados por los reptiles incluyen cantidades variables de AcU, U y amoníaco, dependiendo del entorno natural del animal. Su determinación se ve afectada en una muestra lipémica (incremento del valor) o hemodilución con linfa (disminución del valor). Los reptiles carnívoros tienen mayor concentración de AcU sanguíneo que los reptiles herbívoros y muestran una hiperuricemia postprandial (Campbell, 2014; Martínez-Silvestre *et al.*, 2013). En base a estos analitos se ha reportado en otros sitios de alimentación de la tortuga negra, que su dieta no es estrictamente herbívora. Es el caso de la publicación de Amorocho y Reina (2007) en la que establecieron que la dieta de *C. mydas*, en un sitio de alimentación de la costa pacífica colombiana, se compone en mayor proporción de materia animal. En virtud de lo anterior y dados los niveles de U detectados en este estudio, parece bastante probable postular que la dieta de las tortugas negras de Bahía Salado no presentaría altos niveles proteicos, siendo más bien herbívora, debido a la semejanza con los valores mencionados por Montilla *et al.* (2008) para individuos adultos del morfotipo verde, los cuales son estrictamente herbívoros. Sin embargo en comparación con otras poblaciones herbívoras presentaría adecuados niveles proteicos, lo cual estaría fundamentado en la presencia de *Z. chilensis* en la dieta de esta colonia. Lo anterior pone de

manifiesto la necesidad de determinar el tipo de alimentación que consumen los individuos *C. mydas* y los componentes dietarios disponibles en Bahía Salado, para lo cual se deben efectuar estudios más acabados de la dieta. La brumación en reptiles y anfibios, es un suceso en el cual también se observan incrementos de U y AcU. En animales sanos, los niveles son más elevados en el periodo post- brumación y disminuirán posteriormente, siendo más bajos en verano, debido al incremento del catabolismo proteico durante la época de brumación. En situaciones de disponibilidad hídrica restringida, se ha observado un incremento en los niveles de estos parámetros. En consecuencia, la deshidratación es un factor predisponente de la hiperuricemia (Campbell, 2014; Holz y Raidal, 2006; Selleri y Hernandez-Divers, 2006; Martínez-Silvestre *et al.*, 2013). Al estudiar los valores de VGA, PT y Alb de esta colonia se postuló que se podrían deber a una deshidratación leve lo cual no se relacionaba con los resultados obtenidos para la urea, la cual se encuentra dentro de los rangos normales reportados en otros estudios. Es por esto que podríamos inferir que los valores obtenidos en este estudio, tomando en cuenta similitudes y discrepancias, corresponderían a los valores normales para la colonia que habita Bahía Salado, descartando la posibilidad de deshidratación.

Con respecto a los valores obtenidos para los TG (Tabla 4 y 5), estos fueron bastante altos, reportándose en un rango de 300-849 mg/dL en comparación con Aguirre y Balazs (2000) y Labrada-Matargón *et al.* (2010), cuyos estudios presentan rangos de 28-331 mg/dL, 36-484 mg/dl, respectivamente, y que son los que presentan los valores para TG más altos de los revisados en el presente trabajo. Existen evidencias de que se produce un aumento de los TG, junto a mayores niveles de las proteínas, en la sangre de las hembras que llevan a cabo la vitelogénesis por el aumento de los estrógenos en hembras que inician su ciclo reproductivo, en comparación con lo que ocurre en hembras reproductivamente inactivas (Deem *et al.*, 2009). Además, se ha reportado que este aumento de los TG comenzaría en los sitios de alimentación, previo a la migración hacia los sitios de anidación, por lo que es plausible que las hembras adultas de Bahía Salado se encuentren en esta etapa si tomamos en consideración su talla (LCC), sus altas reservas grasas evidentes al examen clínico externo (Tabla 1) y que se encontrarían en el periodo entre anidaciones (Hamann *et al.*, 2003; Kuchling, 1999).

Dentro de los minerales evaluados en la bioquímica sanguínea (Tabla 4 y 5) está el Ca plasmático, el cual en reptiles permite evaluar función reproductiva, función paratiroidea y enfermedad ósea. La hipercalcemia es indicativa de la producción de huevos en hembras, exceso de niveles de vitamina D3 o Ca en dieta, entre otras (Campbell, 2014; Fryer, 1991; Hamann *et al.*, 2003; Kuchling, 1999; Mader, 2006). La hipocalcemia ocurre con deficiencias de Ca y vitamina D3 en dieta, exceso de P en dieta, alcalosis e hipoalbuminemia, entre otros (Campbell, 2014; Fryer, 1991; Mader, 2006). Los niveles de Ca (8,8-12 mg/dL) en la presente investigación se muestran dentro de los rangos establecidos por Labrada-Martagón *et al.* (2010) (4-12,45 mg/dL) para individuos de talla similar. Lo mismo ocurre para el fósforo en el cual se obtuvo un rango de 9,9-14,8 mg/dL para este estudio y un rango de 0,64-19,55 mg/dL fue reportado por Labrada-Martagón *et al.* (2010). La medición del fósforo es útil para evaluar dieta, enfermedad renal, y ciclo reproductivo en hembras, aumentando los niveles de P en este último caso (Campbell, 2014; Hamann *et al.*, 2003; Kuchling, 1999). La hiperfosfatemia, además, es indicativa de excesos de P dietario, hipervitaminosis de vitamina D3, enfermedad renal o trauma severo. Por el contrario, se produce hipofosfatemia en desnutrición o dietas bajas en P (Campbell, 2014; Martínez-Silvestre *et al.*, 2013).

Los niveles de bilirrubina total (0,55-1,21 $\mu\text{mol/L}$) reportados en este estudio (Tabla 4 y 5), son similares a los reportados por Flint *et al.* (2010), aunque la amplitud del rango es menor y los valores se concentran hacia el límite inferior reportado por el mismo autor (0,5-3,3 $\mu\text{mol/L}$). En el caso de los valores obtenidos para la creatinina (Tabla 4 y 5), se muestran muy similares al compararlos con el estudio mencionado anteriormente, reportándose rangos de 27,6-51,2 $\mu\text{mol/L}$ para el presente estudio y 24,7-47,6 $\mu\text{mol/L}$ para Flint *et al.* (2010). La BT y Crea son parámetros muy poco utilizados por su bajo valor diagnóstico en tortugas marinas ya que se encuentran en bajas concentraciones periféricas y presentan baja variabilidad (Campbell, 2014; Gelli *et al.*, 2004).

Al analizar los datos obtenidos para parámetros enzimáticos encontramos el caso de la CK, la cual es escasamente reportada en la mayoría de los estudios que determinan valores de bioquímica sanguínea, a excepción del trabajo realizado por Hasbún *et al.* (1998) donde se presentan valores dependiendo de la talla y sexo del animal. Sin embargo, la CK es

considerada como una variable de utilidad clínica para evaluar daño muscular en casos de tortugas varadas, con traumas, con daño iatrogénico en la sujeción o inyección intramuscular, entre otras (Stacy y Boylan, 2015). Es así como, Hasbún *et al.* (1998) reportaron para las hembras adultas, de LCC superiores a 89 cm, un rango para CK U/L de 122-3075 U/L, lo que concuerda con los valores determinados en el presente estudio (1641-3110 U/L) (Tabla 4 y 5).

Si analizamos la enzima LDH, su aumento en reptiles puede estar asociado a daño hepático, músculo esquelético o cardiaco. En tortugas marinas además, se han reportado valores basales superiores en tortugas adultas comparado con los niveles encontrados en individuos juveniles (Casal *et al.*, 2009; Campbell, 2014; Friye, 1991). Para la LDH, nuestro muestreo entregó un rango entre 329-1127 U/L (Tabla 4 y 5), valores similares a los reportados por Aguirre y Balazs (2000) en Kaneohe Bay (Hawái) (55-1286 U/L). Sin embargo, los valores reportados en la literatura muestran una alta variabilidad, ya que por ejemplo ese mismo estudio reportó en Kiholo y Kona (Hawái) valores entre 67-769 U/L, Bolten y Bjorndal (1992) en el Sur de las Bahamas reportaron un rango entre 48-342 U/L, y Flint *et al.* (2010) en Australia obtuvieron 74-477 U/L para LDH.

A diferencia de la enzima anterior, la actividad plasmática de AST no es considerada órgano específica debido a que su actividad enzimática puede ser encontrada en muchos tejidos. Es así como aumentos significativos de AST junto a LDH son indicativos de enfermedad hepática, mientras que aumentos de ésta junto a aumentos de CK son indicativos de daño muscular. El rango obtenido para AST en el presente estudio fue de 231-580 U/L (Tabla 5), similar a lo reportado por Aguirre y Balazs (2000) y Labrada-Martagón *et al.* (2010) con rangos de 47-491 U/L y 36-484 U/L, respectivamente. Distinto fue lo encontrado por Flint *et al.* (2010), que reportó rangos de referencia para AST en *C. mydas* de 74-244 U/L. Sin embargo, solo el individuo n° 813/814 del presente estudio (AST= 580 U/L) superó los valores reportados en otros estudios. Lo anterior se puede deber a un error pre analítico debido una hemólisis leve, no detectada a simple vista, ya que se describe que la AST aumenta su actividad frente a hemólisis. También es posible que se deba a una miositis en etapa inicial debido a la sensibilidad de las enzimas registradas con aumentos no significativos que es lo que ocurre con la AST. Esto es concordante con lo

reportado para otros estudios para LDH y CK, las cuales también fueron las más altas reportadas para el conjunto de muestras en el presente estudio (Koseoglu *et al.*, 2011; Lippi *et al.*, 2006).

En el presente trabajo no se realizaron recuentos celulares ni estudios diferenciales, por lo que no es posible indicar la distribución de los diferentes grupos celulares en sangre de *C. mydas* de la colonia de Bahía Salado. Sin embargo, si es posible indicar que todos los grupos celulares descritos en la Figura 2, presentan morfología celular sanguínea concordante con lo señalado en la literatura (Work *et al.*, 1998; Campbell, 2012).

Dentro de los eritrocitos observados, destacan la presencia principalmente de células maduras con presencia de inclusiones intracitoplasmáticas de forma circular y ovalada (Figura 2). Estas inclusiones citoplasmáticas no solo han sido descritas en *C. mydas*, sino también en otras tortugas acuáticas de vida libre (Zang *et al.*, 2011; Basile *et al.*, 2011). Su origen podría ser una inestabilidad de la hemoglobina que origina estas estructuras semejantes a cuerpos de Heinz de los eritrocitos mamíferos, o bien, organelos en proceso de degeneración, propio de la maduración eritrocitaria de estos reptiles. A nuestro parecer, la segunda opción es la más plausible dado que la presencia de cuerpos de Heinz implicaría un proceso oxidativo de la hemoglobina, lo que podría derivar en anemia por la destrucción de eritrocitos en el sistema retículoendotelial y la consecuente aparición de signos como decaimiento e ictericia. Dado que los individuos muestreados no presentaron ninguno de los signos recién mencionados, consideramos que esta no sería la causa de la aparición de estos corpúsculos intracitoplasmáticos.

Finalmente, y respecto a los hemoparásitos, se considera que su hallazgo en reptiles es una situación común, pero incidental. Sin embargo, algunos tienen el potencial de causar enfermedad, como anemias hemolíticas (Campbell, 2012). Los principales hemoparásitos descritos en tortugas marinas de vida libre corresponden a los géneros *Hemogregarina* y *Plasmodium* (Frye, 1991). De acuerdo a lo observado en el presente estudio, no se evidenció la presencia de alguno de los géneros de hemoparásitos mencionados (Figura 2). Una posible causa de la ausencia de hemoparásitos en la colonia de Bahía Salado, podría ser que estas tortugas no se encuentran expuestas a insectos chupadores de sangre, como

sanguijuelas, mosquitos, ácaros o garrapatas que son los principales transmisores de estos parásitos a reptiles acuáticos, formando parte de su ciclo biológico (Telford, 1984). Por otro lado, es posible que aun estando expuestos a alguno de estos invertebrados, la carga parasitaria no sea suficiente para detectarlos en sangre. Ambas opciones deberán ser evaluadas en estudios posteriores que aborden más profundamente las características hematológicas y citológicas de los individuos que componen esta colonia.

CONCLUSIÓN

Las muestras utilizadas en el presente estudio provinieron de solo 7 individuos, lo cual no permitió realizar comparaciones con mérito estadístico. Lo cual revela la necesidad de seguir trabajando en el área para así incrementar el tamaño de la muestra (n) y poder obtener rangos de referencia para la colonia que sean estadísticamente significativos.

El volumen globular aglomerado y la proteína plasmática total se encontraron dentro de los valores de referencia utilizados para *Chelonia mydas* en otras partes del mundo.

Los rangos estrechos obtenidos para proteína total, albúmina, globulinas, glucosa, ácido úrico, calcio, fósforo y bilirrubina total se podrían deber al número bajo de muestras.

Los altos valores reportados para los triglicéridos, en conjunto con las características de edad, sexo y depósito de reservas grasas observadas en la muestra de la colonia presente en Bahía Salado, sugieren que las hembras adultas podrían haber estado llevando a cabo la vitelogénesis al momento del estudio.

La evaluación de extendidos sanguíneos en búsqueda de hemoparásitos determinó que no existe presencia de estos en la colonia de *Chelonia mydas* presente en Bahía Salado.

Tomando en cuenta los resultados obtenidos para las variables de hematología, bioquímica sanguínea y evaluación de la presencia de hemoparásitos, en conjunto con los resultados del examen clínico externo de las tortugas de la colonia de Bahía Salado, es posible sugerir que ésta es una colonia sana.

En conclusión, las características hematológicas y bioquímicas sanguíneas encontradas en el presente estudio serían propias de esta colonia debido al tipo de hábitat, a la alimentación disponible (tipo y abundancia) y a la estructura sexual y etaria de los individuos que conforman la colonia.

BIBLIOGRAFÍA

AGUIRRE, A.; BALAZS, G. 2000. Blood Biochemistry Values of Green Turtles , *Chelonia Mydas* , With and Without Fibropapillomatosis. *Comparative Haematology International*, 10, pp.132–137.

AMOROCHO, D.; REINA, R. 2007. Feeding ecology of the East Pacific green sea turtle *Chelonia mydas agassizii* at Gorgona National Park, Colombia, *Endangered Species Research* 3:43-51.

ANDERSON, E.; MINTER, L.; CLARKE, E.; MROCH, R.; BEASLEY, J.; HARMS, C. 2011. The effects of feeding on hematological and plasma biochemical profiles in green (*Chelonia mydas*) and kemp's ridley (*Lepidochelys kempii*) sea turtles. *Veterinary medicine international*. 2011:1-7.

BARBOZA, N.; PANSERI, A.; MUSSART, N.; KOZA, G.; COPPO, J. 2010. Analisis multivariado de los cambios hemáticos y morfométricos de *Caiman latirostris* y *Caiman yacare* según especie, sexo y estación del año. *Revista Veterinaria*, 21(2):112–122.

BASILE, F.; DI SANTI, A.; CALDORA, M.; FERRETTI, L.; BENTIVEGNA, F.; PICA, A. 2011. Inclusion bodies in loggerhead erythrocytes are associated with unstable hemoglobin and resemble human heinz bodies. *Journal of Experimental Zoology* 315:416–423.

BOLTEN, A.; BJORNDAL, K. 1992. Blood profiles for a wild population of green turtles (*Chelonia mydas*) in the southern Bahamas: size-specific and sex-specific relationships. *Journal of wildlife diseases*, 28(3): 407–413.

BOWEN, B. ; KARL, S. 2007. Population genetics and phylogeography of sea turtles. *Molecular Ecology*. 16(23): 4886–4907.

BOWEN, B.; GRANT, W.; HILLIS-STARR, Z.; SHAVER, D.; BJORNDAL, K.; BOLTEN, A.; BASS, A. 2006. Mixed-stock analysis reveals the migrations of juvenile

hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) in the Caribbean Sea. *Molecular Ecology*. 16(1): 49–60.

BRITO J. 2001. Tortugas Marinas en Chile: Su Situación Actual. Taller Nacional de Trabajo para definir las Líneas de Acción Prioritarias de un Programa para la Conservación de las Tortugas Marinas. Valparaíso, Chile. pp.101-121.

BRITO, J.; DOMÍNGUEZ, G.; MARAMBIO, M. ; GYSEL, P. 2007. La Necesidad de Proteger a las Tortugas Marinas de Chascos, Bahía Salado, Región de Atacama, Chile. Estado Actual y Perspectivas de la Investigación y Conservación de las Tortugas Marinas en las Costas del Pacífico Sur Oriental. VII Simposio sobre Medio Ambiente. Antofagasta, Chile. pp. 20

BURKHOLDER, D.; HEITHAUS, M.; THOMSON, J.; FOURQUREAN, J. 2011. Diversity in Trophic Interactions of Green Sea Turtles *Chelonia mydas* on a Relatively Pristine Coastal Foraging Ground. *Marine Ecology Progress Series* 439: 277–293

CAMPBELL, L.; GRAY, N.; HAZEN, E. ; SHACKEROFF, J. 2009. Beyond baselines: rethinking priorities for ocean conservation. *Ecology and Society* 14(1): 14.

CAMPBELL, T. 2006. Clinical pathology of reptiles. **In:** Mader, D (Ed.). Reptile medicine and surgery. Second edition. Saunders Elsevier. Florida, USA. pp.453-470.

CAMPBELL, T. 2012. Hematology of Reptiles. **In:** Thrall, MA. Weiser, G. Allison, RW and Campbell, T. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Wiley-Blackwell, 2nd Ed, pp. 277–297.

CAMPBELL, T. 2014. Clinical Pathology. **In:** Mader, D. and Divers, S. *Current therapy in reptile medicine and surgery*. Elsevier, pp. 70–92.

CASAL, A B. ; ORÓS, J. 2007. Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells of juvenile loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). *Research in veterinary science*, 82(2), pp.158–65.

CASAL, A.; CAMACHO, M.; LÓPEZ-JURADO, L.; JUSTE, C.; ORÓS, J. 2009. Comparative study of hematologic and plasma biochemical variables in Eastern Atlantic juvenile and adult nesting loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). *Veterinary clinical pathology / American Society for Veterinary Clinical Pathology*, 38(2): 213–218.

CHRISTIANEN, M.; GOVERS, L.; BOUMA, T.; KISWARA, W.; ROELOFS, J.; LAMERS, L.; VAN KATWIJK, M. 2012. Marine Megaherbivore Grazing may Increase Seagrass Tolerance to high Nutrient Loads, *Journal of Ecology* 100: 546–560.

CONTRALORÍA GENERAL DE LA REPUBLICA DE CHILE, DIVISIÓN DE AUDITORÍA ADMINISTRATIVA, UNIDAD DE AUDITORÍA ESPECIALES. 2011. Informe en investigación especial N° 49, de 2011, sobre el proceso de evaluación de impacto ambiental del proyecto central termoeléctrica castilla, en la Secretaría regional Ministerial de Salud de la región de Atacama. [en línea] <http://www.economia.cl/transparencia/2011/documentos/INFORME_INVESTIGACION_ESPECIAL_N_49_DE_2011.pdf> [consulta: 15-11-2014].

DE PEDRO, N.; GUIJARRO, A.; LÓPEZ-PATIÑO, M.; MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, R.; DELGADO, M. 2005. Daily and seasonal variations in haematological and blood biochemical parameters in the tench, *Tinca tinca* Linnaeus, 1758. *Aquaculture Research*, 36(12): 1185–1196.

DEEM, S.; NORTON, T.; MITCHELL, M.; SEGARS, A.; ALLEMAN, A.; CRAY, C. 2009. Comparison of blood values in foraging, nesting, and stranded loggerhead turtles (*Caretta caretta*) along the coast of Georgia, USA. *Journal of wildlife diseases*, 45(1): 41–56.

DESSAUER, H.; NEVO, E. 1969. Geographic variation of blood and liver proteins in cricket frogs. *Biochemical Genetics*, 3(2): 171–188.

DONOSO, M ; DUTTON, P. 2010. Sea Turtle Bycatch in the Chilean Pelagic Longline Fishery in the Southeastern Pacific: Opportunities for Conservation. *Biological Conservation*, 143: 2672-2684.

DUTTON, C.; TAYLOR, P. 2003. A comparison between pre- and posthibernation morphometry, hematology, and blood chemistry in viperid snakes. *Journal of zoo and wildlife medicine : official publication of the American Association of Zoo Veterinarians*, 34(1): 53–58.

ECKERT, K.; BJORN DAL, K.; ABREU-GROBOIS, F. ; DONNELLY, M. (Eds.). 2000. Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas. UICN/CSE Grupo Especialista en Tortugas Marinas. No. 4.

FLINT, M. 2010. Reference intervals for plasma biochemical and hematologic measures in loggerhead sea turtles. *Journal of wildlife diseases*, 46(3): 731–741.

FLINT, M.; MORTON, J.; LIMPUS, C.; PATTERSON-KANE, J.; MURRAY, P.; MILLS, P. 2010. Development and application of biochemical and haematological reference intervals to identify unhealthy green sea turtles (*Chelonia mydas*). *Veterinary Journal*. 185(3): 299-304.

FRAZIER, J.; SALAS, S. 1982. Tortugas Marinas en Chile. *Boletín Museo Nacional de Historia Natural*, 39: 63-73.

FRIEDRICHS, K.; HARR, K.; FREEMAN, K.; SZLADOVITS, B.; WALTON, R.; BARNHAR, K. ; BLANCO-CHAVEZ, J. 2012. ASVCP reference interval guidelines: determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. *Veterinary Clinical Pathology*. 41(4): 441–453.

FRYE, F. 1999. Spontaneous autoimmune pancreatitis and diabetes mellitus in a western pond turtle, *Clemmys marmorata*). *Proceedings A R A V.* 6: 103-106.

FRYE, F.; CENTOFANTI, B. 1991. Successful treatment of iatrogenic (diet- related) hypervitaminosis D and hypercalcemia in an iguana (*Iguana iguana*). *Proceedings. 4th Int Colloq Pathol Therapeut Reptiles Amphibians*. Pp. 244-250.

FRYE F. Hematology as applied to clinical reptile medicine. **In:** Frye F. Biochemical and surgical aspects of captive reptile husbandry. Vol. I:209–279.

GAUMER, A.; GOODNIGHT, C. 1957. Some aspects of the hematology of turtles as related to their activity. *American Midland Naturalist*. 58 (2): 332-340.

GELLI, D.; MORGANTE, M.; FERRARI, V. . 2004. Hematologic, serum biochemical, and serum electrophoretic patterns in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). Proceedings of the 11th Annual Conference of the Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians. Florida, USA. Pp. 149–152.

GEOSENSING. 2009. Informe Técnico “Determinación de la Biomasa de *Macrocystis integrifolia* (huiró canutillo), *Lessonia trabeculata* (huiró palo) y *Heterozostera chilensis* (pasto marino), Mediante Técnicas de Teledetección Aeroespacial en Bahía Chascos - Región de Atacama”. 43 pp.

GUERRA C. 2006. Taller de Revisión del Programa Regional para la Conservación de las Tortugas Marinas en el Pacífico Sudeste. Centro Regional de Estudios y Educación Ambiental, Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Universidad de Antofagasta. 12 pp.

GUZMAN, L.; CAMPODONICO, L. 1973. Presencia de *Chelonia mydas agassizii* Bocourt en magallanes. *Anales del instituto de la patagonia*. Punta Arenas. 4(1-3): 339-341.

HAMANN, M.; LIMPUS, C; OWENS, D. 2003. Reproductive cycles of males and females. **In:** Lutz, P.; Musick, J.; Wykenen, J (Eds.). *The biology of sea turtles volume II*. CRC press LLC. Florida, USA. pp. 135-161.

HASBÚN, C.; LAWRENCE, A.; NALDO, J.; SAMOUR, J.; AL-GHAIS, S. 1998. Normal blood chemistry of free-living green sea turtles, *Chelonia mydas*, from the United Arab Emirates. *Comparative Haematology International*, 8(3): 174–177.

HOLZ, A.; RAIDAL, S. 2006. Comparative Renal Anatomy of Exotic Species. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*; 9, 1-11.

JACOBSON, E.; K. BJORN DAL; A. BOLTEN; R. HERREN; HARMAN, G. ; WOOD, L. 2014. Establishing plasma biochemical and hematocrit reference intervals for

sea turtles in Florida. [en línea]. <http://accstr.ufl.edu/files/accstr-resources/CM_summary.htm>. [consulta: 14-11-2014].

JAIN, N. 1986. Schalm's veterinary hematology Fourth Edition. Lea y Febiger. Pp. 1221.

JAMES, M.; MYERS, R. ; OTTENSMEYER, A. 2005. Behaviour of leatherback sea turtles, *Dermochelys coriacea*, during the migratory cycle. Proceedings of the Royal Society. pp. 272.

KOSEOGLU, M.; HUR, A.; ATAY, A.; CUHADAR, S. 2011. Effects of hemolysis interferences on routine biochemistry parameters. *Biochemia medica*, 21(1): 79–85.

KUCHLING, G. 1999. The Reproductive Biology of the Chelonia. Zoophysiology. Springer. Germany. 223 pp.

KUO, J. 2005. A revision of the genus *Heterozostera* (Zosteraceae). *Aquatic Botany*. 81(2), 97-140.

LABRADA-MARTAGÓN, V.; MÉNDEZ-RODRÍGUEZ, L.; GARDNER, S.; LÓPEZ-CASTRO, M. y ZENTENO-SAVÍN, T. 2010. Health Indices of the Green Turtle (*Chelonia mydas*) Along the Pacific Coast of Baja California Sur, Mexico. I. Blood Biochemistry Values. *Chelonian Conservation and Biology*. 9(2):162-172.

LARA, M. 2011. Establecimiento de valores hematológicos y bioquímicos de las tortugas Carey (*Eretmochelys imbricata*) y blanca (*Chelonia mydas*), con y sin parásitos o fibropapiloma, que anidan en Yucatán. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias Agropecuarias. Merida, México. Unidad de posgrado y titulación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán, México. pp. 105.

LEWBART, G.; HIRSCHFELD, M.; DENKINGER, J.; VASCO, K.; GUEVARA, N.; GARCIA, J.; MUÑOZ, J.; LOHMANN, K. 2014. Blood Gases , Biochemistry , and Hematology of Galapagos Green Turtles (*Chelonia Mydas*). *Plos ONE*, 9(5): 1–7.

LIPPI, G.; SALVAGNO, G.; MONTAGNANA, M.; BROCCO, G.; GUIDI, G. 2006. Influence of hemolysis on routine clinical chemistry testing. *Clinical chemistry and laboratory medicine* : CCLM / FESCC, 44(3): 311–6.

LÓPEZ-MENDILAHARSU M.; GARDNER, S. ; SEMINOFF, J. 2003. *Chelonia mydas agassizii* (East Pacific Green Turtle), Diet. *Herpetological Review*. 34: 139-140.

MADER, D. 2006. Metabolic bone diseases. **In:** Mader D. *Reptile medicine and surgery*. 2nd ed. St. Louis: Saunders Elsevier. Pp. 841-851.

MARAMBIO, M. 2005. Identificación de una población de tortugas marinas en la costa de la III región de Chile. Santiago, Chile. Tesis para optar al Título de Médico Veterinario. Facultad de Ciencias Silvoagropecuarias, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Mayor. 155 pp.

MARTIN, W. ; BAMBERGER, J. 1952. New blood flukes (Trematoda: Spirochidae) from marine turtle, *Chelonia mydas* (L.). *The Journal of Parasitology*. 38(2): 105-110. [en línea]. <http://www.jstor.org/stable/3273828>. [consulta: 28-04-2014].

MARTÍNEZ-SILVESTRE, A.; LAVIN, S.; CUENCA, R. 2013. La bioquímica sanguínea en clínica de reptiles. *Consulta Difusion Veterinaria*, 200: 31–40.

MONTILLA, A.; HERNÁNDEZ, J.; BRAVO, A.; VERA, V. ; MESA, J. 2008. Valores bioquímicos en sangre de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) presentes en la Alta Guajira, Venezuela. *Revista Científica FCV-LUZ*. 18(4):431 - 436.

MOON, D.; OWENS, D.; MACKENZIE, D. 1999. The effects of fasting and increased feeding on plasma thyroid hormones, glucose, and total protein in sea turtles. *Zoological Science*, 16(4): 579–586.

NOAA FISHERIES. OFFICE OF PROTECTED RESOURCES. 2013. Green turtle (*Chelonia mydas*). [en línea]. <http://www.nmfs.noaa.gov/pr/species/turtles/green.htm> [consulta: 20-03-2014].

NORTON T. Y WYNEKEN J. 2015. Body Condition Scoring the Sea Turtle. LafeberVet. [en línea] < <http://lafeber.com/vet/body-condition-scoring-the-sea-turtle/>>. [consulta: 11-01-2015].

OSBORNE, A.; JACOBSON, E.; BRESSETTE, M.; SINGEWALD, D.; SCARPINO, R.; BOLTEN, A. 2010. Reference intervals and relationships between health status, carapace length, body mass, and water temperature and concentrations of plasma total protein and protein electrophoretogram. Journal of the American Veterinary Medical Association, 237(5): 561–567.

PRITCHARD, P. ; MORTIMER, J. 1999. Taxonomy , External Morphology and Species Identification. Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles. IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication. 4: 24.

ROSSI, S. 2009. Hematological profile of *Chelonia mydas* (Testudines, Cheloniidae) according to the severity of fibropapillomatosis or its absence. Brazilian Journal of Biology. 29(12): 974–978.

SALINAS, P.; SIELFELD, W. 2007. Registros de Cadáveres de Tortuga Negra *Chelonia agassizii* (Bocourt, 1868) en Bahía Chipana (21° 19'S – 70° 03'W). Iquique, Chile.

SELLERI, P.; HERNANDEZ-DIVERS, S. 2006. Renal diseases of reptiles. Veterinary Clinics of North America. Exotic Animal Practice, 9: 161-174.

SHEPPARD, J.; CARTER, A.; MCKENZIE, L.; COLES, R. 2008. Spatial patterns of sub-tidal seagrasses and their tissue nutrients in the Torres Strait, northern Australia: implications for management. Continental Shelf Research, 28(16): 2282-2291.

SHORT, F.; POLIDORO, B.; LIVINGSTONE, S.; CARPENTER, K.; BANDEIRA; BUJANG, J.; CALUMPONG, H.; CARRUTHERS, T.; COLES, R.; DENNISON, W.; ERFTEMEIJER, P.; FORTES, M.; FREEMAN, A.; JAGTAP, T.; AKAMAL; KENDRICK, G.; KENWORTHY, K.; NAFIE, Y.; NASUTION, I.; ORTH, R.; PRATHEP, A.; SANCIANGCO, J.; VAN TUSSENBROEK, B.; VERGARA, S.;

WAYCOTT, M. ; ZIEMAN, J. 2011. Extinction Risk Assessment of the World's Seagrass Species. *Biological Conservation*. 144:1961–1971.

STACY, N., BOYLAN S. 2014. Clinical Pathology of Sea Turtles. In: Mettee, Nancy. 2014. Clinical Pathology. *Marine Turtle Trauma Response Procedures: A Veterinary Guide*. WIDECASST Technical Report No. 16.

STACY, N.; ALLEMAN, A.; SAYLER, K. 2015. Diagnostic Hematology of Reptiles. *Clin. Lab. Med.*, 31(2011): 87–108.

STAHL, S. 2003. Diseases of the reptile pancreas. The veterinary clinics of North America. *Exotic animal practice*, 6(1): 191–212.

TAVARES-DIAS, M.; OLIVEIRA-JUNIOR, A.; SILVA, M.; MARCON, J.; BARCELLOS, J. 2009. Comparative hematological and biochemical analysis of giant turtles from the Amazon farmed in poor and normal nutritional conditions. *Veterinarski arhiv*, 79(6): 601-610.

TELFORD, S.R. 1984. Haemoparasites of reptiles. **In:** Hoff, G.L. Frye, F.L. Jacobson, E.R. Eds. *Diseases of Amphibians and Reptiles*. New York: Plenum, 385–517.

THE IUCN RED LIST OF THREATENED SPECIES. 2013. *Chelonia mydas* (Green Turtle). [en línea]. <<http://www.iucnredlist.org/details/4615/0>> [consulta: 05-04-2014].

WHITING, S.; GUINEA, M.; LIMPUS, C.; FOMIATTI, K. 2007. Blood chemistry reference values for two ecologically distinct populations of foraging green turtles, eastern Indian Ocean. *Comparative Clinical Pathology*, 16(2): 109–118.

WORK, T.M.; RASKIN, R.E.; BALAZS, G.H.; WHITTAKER, S.D. 1998. Morphological and cytochemical characteristics of blood cells from Hawaiian green turtles. *American Journal of Veterinary Research*, 59: 1252-1257

WYKENEN, J. 2003. The external morphology, musculoskeletal system, and neuro-anatomy of sea turtles. **In:** Lutz, P.; Musick, J.; Wykenen, J (Eds.). The biology of sea turtles volume II. CRC press LLC. Florida, USA. pp. 39-78.

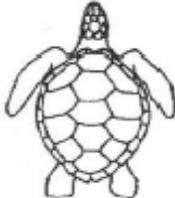
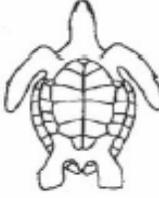
WYNEKEN, J. 2001. The Anatomy of Sea Turtles. U.S. Department of Commerce NOAA Technical Memorandum (NMFS-SEFSC-470). Miami, USA. pp.172.

ZÁRATE, P.; FERNIE, A.; DUTTON, P. 2003. First results of the east pacific green turtle, *Chelonia mydas*, nesting population assessment in the Galapagos islands. Proceedings of the Twenty-Second Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-503.

ZHANG, F.; GU, H.; LI, P. 2011. A Review of Chelonian Hematology. Asian Herpetological Research. 2(1):.12–20.

ANEXOS

Anexo 1. Ficha clínica utilizada para realizar el examen clínico externo a los individuos capturados.

				N° de Registro: _____			
				Persona a Cargo:		Ayudante	
Fecha: / /		Hora:	T° agua:	Ejemplar N°:		Peso (kg):	
Latitud:		Especie:		Forma de captura:		Sexo	
Longitud:		Cm <input type="checkbox"/> Lo <input type="checkbox"/> Dc <input type="checkbox"/> Cc <input type="checkbox"/>		Red <input type="checkbox"/> Rodeo <input type="checkbox"/> Manual <input type="checkbox"/>		Hembra <input type="checkbox"/> Macho <input type="checkbox"/> Indeterminado <input type="checkbox"/>	
Fortoidentificación N°-  Derecho N°-  Izquierd N°-  Frontal				Marque heridas, anomalías y su localización   Epibionte = 0 Epibionte vivo = x Herida = <input type="checkbox"/>			
Morfometría							
Medida		Cm	Medida		Cm		
Largo Curvo Caparazón mínimo (LCCmin)			Ancho de la cabeza (ACB)				
Largo Curvo Caparazón n-s (LCCn-s)			Largo total de la cola (LC)				
Ancho Curvo Caparazón (ACC)			Largo post-cloacal				
Largo recto del caparazón (LRC)			Largo del Plastrón (LP)				
Ancho Recto del Caparazón (ACC)			Ancho del Plastrón (AP)				
Largo de la cabeza (LCB)		Grupo etario: Juvenil _____ Adulto _____					
Condición de la tortuga : Sana <input type="checkbox"/> Herida <input type="checkbox"/> Enferma <input type="checkbox"/> Muerta <input type="checkbox"/>		Presencia Epibiontes: Si _____ No _____	Marcaje (marcar con x): Si _____ No _____		Número de Marca(s): Der: _____		
		Tipo: _____	Tipo de marca: _____		Izq: _____		
			Obs: _____				
Observaciones Clínicas: Condición corporal (1 a 5) _____ Estado hidratación _____ Estado de flotación _____ Carga ectoparásitos _____ Presencia de fibropapiloma _____ Signos de interacción con artes de pesca _____			Recaptura: No _____ Si _____ N° demarcas: Dre _____ Izq. _____ En caso de recaptura → Cambio en la condición corporal Si _____ No _____ Veterinario a cargo _____				
Observaciones: _____							

Anexo 2. Escala de condicion corporal utilizada por el *Georgia Sea Turtle Center* (GSTC) que consiste en un sistema de puntuación del 1-5. (Norton y Wyneken, 2015)

Puntaje	Categoría	Características de la categoría
1	Emaciada	Ojos hundidos, perdida de la musculatura de cuello y hombros, perdida de la grasa inguinal y visualización prominente de los huesos del cráneo y plastrón.
2	Delgada	Ojos levemente hundidos, visualización de la musculatura de cuello y hombros por pérdida de la capa grasa y visualización moderada de los huesos del plastrón.
3	Normal	Ojos normales, plastrón plano y sin visualización de estructuras óseas evidentes y zona de cuello con visualización grasa y muscular normal.
4	Robusta	Ojos normales, plastrón plano, cuello y zona inguinal con visualización de depósitos grasos.
5	Obesa	Ojos normales, plastrón con protrusión hacia el exterior, cuello y zona inguinal con visualización de depósitos grasos evidentes.

Anexo 3: Resolución exenta N° 917 que otorga el permiso de pesca de investigación publicado en el diario oficial el 23 de mayo de 2013 y con duración hasta el 23 de junio del 2014.



(EXTRACTO)

Por Resolución Exenta N° **917**
de esta Subsecretaría, autorizase a Rocío Álvarez Varas, para efectuar una pesca de investigación, de conformidad con los Términos Técnicos de Referencia del proyecto **"Caracterización de la población natural de tortuga negra (*Chelonia mydas*) y su hábitat, en Bahía Salado, Región de Atacama"**.

El objetivo consiste en caracterizar la población natural de tortuga negra (*Chelonia mydas*) y su hábitat, en Bahía Salado, Región de Atacama.

La pesca de investigación se efectuará por el término de 13 meses contados a partir de la fecha de publicación de la presente resolución, en el sector denominado Playa La Hedionda, Bahía Salado, Región de Atacama, donde podrá capturar las especies señaladas en la resolución extractada, en los términos allí indicados.

La peticionaria será la persona responsable de la pesca de investigación.

El texto íntegro de la presente resolución se publicará en el sitio de dominio electrónico de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura.

PABLO GALILEA CARRILLO
Subsecretario de Pesca y Acuicultura

VALPARAISO, - 5 ABR. 2013

Anexo 4: Extracto del diario oficial Núm. 40.898.- Año CXXXVII - N° 815.596 (M.R.) Santiago, Jueves 3 de Julio de 2014. Extensión de la Resolución exenta N° 917 en 6 meses y 2

semanas.

N° 40.898

DIARIO OFICIAL DE LA REPUBLICA DE CHILE
Jueves 3 de Julio de 2014

Cuerpo II - 3

Aeropuerto Arturo Merino Benítez, comuna de Pudahuel, Región Metropolitana. Su Objeto es: Promover la racionalización, desarrollo y protección de la actividad común de sus socios. El Directorio de la asociación quedó constituido por: Presidente: Héctor Eduardo Reyes Ibacache; Vicepresidente: Julio Enrique Barrios Escobar; Secretario: Rodolfo Valentín Concha Chávez; Tesorero: Luis Humberto Reyes Ibacache. Asistieron a la constitución de la asociación un total de 229 personas. Quedó inscrita en el Ministerio de Economía, Fomento y Turismo, bajo el número 4.436.

SUBSECRETARÍA DE PESCA Y ACUICULTURA

(Extractos)

Por resolución exenta N°1.346, de 15 de mayo de 2014, de esta Subsecretaría, modifícase la resolución exenta N° 917 de 2013, que autorizó a **ROCÍO ÁLVAREZ VARAS**, para efectuar una pesca de investigación de conformidad con el proyecto "Caracterización de la población natural de tortuga negra (*Chelonia mydas*) y su hábitat, en Bahía Salado, Región de Atacama", en los siguientes sentidos:

- A) Reemplázase en el inciso primero del numeral 3.-, la expresión "13 meses", por la frase "19 meses y 2 semanas".
- B) Reemplázase en el inciso segundo del numeral 3.-, el guarismo "4" por la cifra "6".
- C) Reemplázase el inciso primero del numeral 4, por el que se indica a continuación: "4.- En cumplimiento del objetivo de la presente pesca de investigación, el peticionario podrá realizar la retención temporal y muestreo de un máximo de 90 ejemplares de Tortuga negra (*Chelonia mydas*), a razón de un máximo de 15 individuos por campaña de muestreo."

El texto íntegro de la presente resolución se publicará en el sitio de dominio electrónico de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura.

Valparaíso, 15 de mayo de 2014.- Raúl Súnico Galdames, Subsecretario de Pesca y Acuicultura.

la normativa vigente y en la forma indicada en el Informe Técnico y resolución extractada.

Valparaíso, 27 de mayo de 2014.- Raúl Súnico Galdames, Subsecretario de Pesca y Acuicultura.

Por resolución exenta N° 1.531, de 6 de junio de 2014, de esta Subsecretaría, autorizase a **POCH AMBIENTAL S.A.**, para efectuar una pesca de investigación de conformidad con el proyecto "Línea base marina de recursos bentónicos, en el sector de descarga de Emisarios Submarinos de las Pisciculturas de Recirculación Chayahué, bahía de Pargua, comuna de Calbuco, X Región".

Se efectuará la pesca de investigación por el término de 24 meses contados a partir de la fecha de publicación de la presente resolución en la página web de la Subsecretaría, en el sector de Chayahué, comuna de Calbuco, X Región, donde podrá muestrear el recurso erizo rojo, en la forma señalada en la resolución extractada.

El texto íntegro de la presente resolución se publicará en el sitio de dominio electrónico de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura.

Valparaíso, 6 de junio de 2014.- Paolo Trejo Carmona, Subsecretario de Pesca y Acuicultura (S).

Por resolución exenta N° 1.663, de 26 de junio de 2014, de esta Subsecretaría, modifícase la resolución exenta N° 31, de 2014, en el sentido de señalar que la distribución de la fracción artesanal de la pesquería artesanal de Merluza común, correspondiente al Área Norte 2 de la VII Región, sometida al Régimen Artesanal de Extracción por organizaciones de pescadores artesanales, periodo enero-diciembre de 2014, expresada en toneladas, en lo relativo a la cuota residual, se efectuará de la siguiente manera:

RAE VII Norte 2	Cuota (ton)	
	Enero-Junio	Julio-Diciembre
Bolsón o cuota residual	32,094	0,001

Asimismo, modifícase la resolución exenta N° 726, de 2014, en el sentido