

**UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA**

**FACULTAD DE VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



**“EVALUACIÓN DE LOS VALORES  
HEMATOLÓGICOS EN LA TORTUGA TARICAYA  
(*Podocnemis unifilis*) DEL CENTRO DE RESCATE  
DE LA RESERVA ECOLÓGICA TARICAYA,  
PUERTO MALDONADO, MADRE DE DIOS”**

Formatted: Font: 18 pt

**Tesis para optar el Título Profesional de  
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**Talía Salas Arrisueño**  
**Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia**

**Lima – Perú**

**2013**

A mi familia por su apoyo  
incondicional durante todo el proceso  
de esta tesis.

Un agradecimiento especial al Blgo.  
M.V. M.Sc. David Montes, a la  
Reserva Ecológica Taricaya, a la Beca  
TReeS de Tambopata Reserve  
Society, y todas aquellas personas que  
ayudaron directamente con la  
elaboración de esta tesis

## RESUMEN

La hematología representa una herramienta diagnóstica muy útil en quelonios. El objetivo de esta investigación fue el de evaluar los siguientes valores hematológicos: hematocrito, hemoglobina, conteo total de glóbulos rojos, índices eritrocitarios, proteínas totales, conteo total y diferencial de glóbulos blancos, para *Podocnemis unifilis* mantenidas en el Centro de Rescate Taricaya de la Reserva Ecológica Taricaya. Se colectó sangre de 37 ejemplares. Los valores obtenidos de esta investigación fueron  $21.00\% \pm 3.27$  de hematocrito,  $5.60 \text{ g/dl} \pm 1.07$  de hemoglobina,  $2.87 \times 10^5/\mu\text{L} \pm 0.46$  de eritrocitos,  $7.60 \text{ fL} \pm 1.24$  de volumen globular medio,  $196.24 \text{ picogramos/cel} \pm 36.93$  de hemoglobina globular media,  $25.93 \text{ g/dl} \pm 2.35$  de concentración de hemoglobina globular media y  $3.10 \text{ g/dl} \pm 0.49$  de proteínas totales;  $2.19 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 0.72$  de leucocitos,  $1.37 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 0.17$  de heterófilos,  $1.25 \times 10^2/\mu\text{L} \pm 0.55$  de basófilos,  $8.3 \times 10^1/\mu\text{L} \pm 5.46$  de eosinófilos,  $2.62 \times 10^2/\mu\text{L} \pm 1.18$  de linfocitos,  $6.12 \times 10^1/\mu\text{L} \pm 5.46$  de monocitos y  $2.8 \times 10^2/\mu\text{L} \pm 1.05$  de azurófilos. La cantidad y variedad de insumos empleados en la alimentación influyen en los valores de las variables hematológicas.

**Palabras clave:** *Podocnemis unifilis*, hematología, alimentación, estrés

## ABSTRACT

Hematology represents a useful diagnostic tool in chelonians. The aim of this investigation was to assess the following hematological values: hematocrit, hemoglobin, total red blood cell counts, erythrocytic indexes, total protein, and the total and differential white blood cell counts, for *Podocnemis unifilis* raised in the rescue centre “Centro de Rescate Taricaya” of the “Reserva Ecológica Taricaya”. The values obtained in this study were  $21.00\% \pm 3.27$  for PCV,  $5.60 \text{ g/dl} \pm 1.07$  for hemoglobin,  $2.87 \times 10^5/\mu\text{L} \pm 0.46$  of total red blood cells,  $7.60 \text{ fL} \pm 1.24$  of mean globular volume,  $196.24 \text{ picogramos/cel} \pm 36.93$  of mean globular hemoglobin,  $25.93 \text{ g/dl} \pm 2.35$  of mean concentration of globular hemoglobin and  $3.10 \text{ g/dl} \pm 0.49$  of total proteins;  $2.19 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 0.72$  white blood cells,  $1.37 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 0.17$  de heterophils,  $1.25 \times 10^2/\mu\text{L} \pm 0.55$  de basophils,  $8.3 \times 10^1/\mu\text{L} \pm 5.46$  of eosinophils,  $2.62 \times 10^2/\mu\text{L} \pm 1.18$  of lymphocytes,  $6.12 \times 10^1/\mu\text{L} \pm 5.46$  of monocytes and  $2.8 \times 10^2/\mu\text{L} \pm 1.05$  of azurophils. Nutrition and stress influence the levels of hematological variables. The quantity and variety of foods used in the diet influence in the values of hematological variables.

**Key words:** *Podocnemis unifilis*, hematology, nutrition, stress

## INTRODUCCIÓN

En el Perú habitan aproximadamente 400 especies de reptiles, de las cuales 12 son tortugas acuáticas continentales. La tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*) es una especie de quelonio que habita los grandes ríos y lagos de la Amazonía. A diferencia de los individuos adultos, los juveniles se encuentran generalmente en los estanques pequeños y riachuelos (R.C. Vogt 2008). La distribución geográfica de esta especie abarca todos los afluentes del río Amazonas y el río Orinoco, en los países de Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia, Venezuela y Brasil.

Esta especie perteneciente al orden Testudines, se caracteriza por tener el cuello largo, el que doblan hacia los lados para alinearlos con el caparazón, razón por la cual se les incluye en el suborden Pleurodira. La taricaya es un quelonio de tamaño mediano, donde el caparazón de las hembras llega a tener una longitud de 33-50cm (Soini 1998, Álvarez 2005) y 12.4-46.5cm (Vogt 2008) mientras que los machos tienen caparazones con medidas de 37cm (Soini 1998, Álvarez 2005) y 9.8-36.9cm (Vogt 2008). En cuanto al peso, las hembras pesan más que los machos, con un rango de 5-12kg (Soini 1998, Álvarez 2005) o 0.30-11.20 (Vogt 2008) y los machos de 4.3kg (Soini 1998, Álvarez 2005) o 0.15-4.30kg (Vogt 2008). En el Perú, se ha reportado que las hembras adultas alcanzan un promedio de longitud de caparazón de 38.6-51.8 cm y un peso de 5.25-11kg (Vogt 2008).

Dentro de las características físicas se describe al caparazón de forma convexa, ovalada y con ligero ensanchamiento en la parte posterior, presentando una cresta dorsal poco

prominente (Soini 1998, Álvarez 2005), es liso y abombado sobre las extremidades (Vogt 2008). La coloración es gris oscura, marrón o verde oliva en las crías, y en los bordes presentan una tonalidad naranja amarillenta (Vogt 2008). En adultos el caparazón es de color negruzco (Soini 1998, Álvarez 2005), los bordes presentan una tonalidad marrón claro o gris en las hembras y negra en los machos (Vogt 2008). El plastrón varía de amarillento en juveniles, a moteado negruzco o marrón en adultos (Soini 1998, Álvarez 2005, Vogt 2008). La zona anterior del plastrón tiende a ser más amplia que la parte posterior, carece de escudo nugal (Álvarez 2005) y la muesca anal es mayor en los machos que en las hembras (Vogt 2008).

En las hembras adultas la cabeza es marrón por encima y claro amarillentas en la quijada (Soini 1998, Álvarez 2005), en los machos y juveniles la cabeza es verde oscuro o marrón con manchas amarillas (Vogt 2008). Los patrones de las manchas amarillas varían de acuerdo a la población e individuos, pero generalmente son: postorbitales, suborbitales, interorbitales, nasales, parietales, alargadas por encima del tímpano y a lo largo de la mandíbula inferior (Vogt 2008). La cabeza presenta un surco en la frente que va desde la nariz hasta el medio de los ojos (Soini 1998, Álvarez 2005), posee una muesca en el maxilar superior y un hocico alargado (Vogt 2008); y en el mentón lleva una bárbula central, u ocasionalmente dos (Soini 1998, Álvarez 2005, Vogt 2008). Las extremidades y la cola son de color gris, negro o marrón claro en todos los individuos (Vogt 2008).

Las características para la determinación sexual son: 1) la hembra es de mayor tamaño que el macho; 2) los machos presentan la cola más larga y gruesa; 3) la muesca anal del caparazón en los machos es más amplia; 4) algunos machos pueden presentar la coloración juvenil en la cabeza aunque de menor intensidad; 5) el iris del ojo es de color negruzco en hembras y verduzco en machos. (Soini 1998, Álvarez 2005, Vogt 2008).

La alimentación se basa principalmente en plantas acuáticas (Álvarez 2005); en un estudio se ha encontrado que un 89.46% del volumen de contenido estomacal proviene de



materia vegetal, en comparación al 1.15% de origen animal (Vogt 2008). Dentro la materia vegetal, las semillas y los frutos son los que predominan, llegando a representar el 38.9% del volumen de contenido estomacal (Vogt 2008). Las taricayas se consideran individuos neustófagos, ya que se caracterizan por consumir partículas u organismos que se encuentran en la superficie del agua (Vogt 2008).

La madurez sexual en las taricayas se da entre los 5-6 años (Soini 1998, Álvarez 2005) una vez que llegan a tener un tamaño de 27.2 cm para los machos y 43.4 cm para las hembras (Vogt 2008). La temporada de desove varía ampliamente, de acuerdo a la distribución geográfica, ya que depende de la disminución de los niveles del río. En Perú, en el río Pacaya y río Madre de Dios se da entre julio y agosto (Vogt 2008). Esta especie produce una o dos nidadas de huevos de cáscara dura y elíptica durante el periodo de dos meses de la temporada de anidación, teniendo un rango de 14-49 huevos por nidada en el Perú (Vogt 2008). La eclosión ocurre después de 55-70 días de incubación, y las crías recién abandonan el nido entre 72-97 días después del desove. Entre las principales amenazas para los nidos se encuentran depredadores naturales como caimanes, hormigas, jaguares y halcones entre otros; los cambios en el nivel de los ríos que pueden desencadenar inundaciones y amenazas antropogénicas como el saqueo de los nidos, (Vogt 2008).

La tortuga taricaya representa un sustento económico y alimenticio para las comunidades nativas. Los huevos de las tortugas del género *Podocnemis* han sido utilizados como materia prima para la alimentación y la producción de aceite para lámparas; este uso y la posible vulnerabilidad a consecuencia de la convivencia y proximidad con humanos existe desde hace por lo menos dos siglos, lo cual ha llevado a un uso indiscriminado de estas especies como recurso. (K. Conway 2004). La caza furtiva de los huevos de taricaya se ha incrementado desde el año 1988 y llega a sobrepasar el 90% de la producción total de huevos, anualmente. La principal amenaza para *Podocnemis unifilis* es la extracción excesiva de los individuos de

cualquier edad y huevos para el consumo humano o la venta para el comercio de mascotas, así como la depredación natural y humana de los nidos (Vogt 2008).

A nivel nacional *P. unifilis* se encuentra categorizada como una especie en situación vulnerable de acuerdo al decreto supremo N° 034-2004-AG. A nivel internacional la IUCN la clasifica también en la misma categoría y para CITES se considera que pertenece al Apéndice II (dónde la especie no se encuentra en peligro de extinción por el momento pero podría serlo a no ser que se controle el comercio). Según el plan de Conservación Prioritario de la “Tortoise and Freshwater Turtle Specialist Group se les clasifica dentro de la categoría 1, dónde se indica que están en “problemas debido a la sobreexplotación de huevos y carne, y algunos son particularmente vulnerables en lugares de anidación” (Tortoise and Freshwater Turtle Specialist Group 1991).

La hematología se considera una herramienta diagnóstica y pronóstica de fácil ejecución (Reavill 1994). En reptiles, los estudios hematológicos son pocos (Maya 2007), sin embargo, el interés en la hematología de reptiles ha aumentado, debido a que ahora hay una mayor conciencia sobre los temas de biodiversidad y conservación (Irizarry 2010). La evaluación del hemograma y el frotis provee información rápida y valiosa de la interpretación del estado de salud de reptiles (McArthur 2004). Los parámetros hematológicos y bioquímicos también son considerados importantes para la evaluación y monitoreo del estado de salud de los quelonios (F. Zhang et al, 2011 y T.W. Campbell 2007). Los datos hematológicos proporcionan pistas sobre la existencia de condiciones que afectan los componentes celulares de la sangre periférica, así el hemograma puede ser utilizado para detectar y analizar condiciones como anemia, inflamación, parasitemia, neoplasias hematopoyéticas y desórdenes de hemostasia (T.W. Campbell 2004). Existen una gran cantidad de variables que pueden generar cambios significativos y/o específicos en la sangre periférica, como son: condiciones infecciosas o inflamatorias, edad, sexo, estación, especie, medio ambiente, estado nutricional, estrés, estado fisiológico, en cautiverio o vida libre, técnicas de muestreo y procesamiento de muestra; por lo

tanto valores normales en especies de reptiles variará dependiendo de estos factores (Mc Arthur 2010, Campbell 2007, Rosskopf 2000). El estrés en mamíferos causa una condición llamada leucograma de estrés, el cual se caracteriza por una monocitosis, linfopenia y eosinopenia (A. Bodnariu, 2008). La epinefrina liberada por el estrés induce a leucocitosis fisiológica (J. Montané *et al.*, 2003).

Existen varios estudios hematológicos en reptiles, incluyendo quelonios, a nivel mundial; entre los cuales podemos mencionar los realizados en: *Chelonoidis chilensis chilensis* (“tortuga terrestre argentina”, Troiano y Silva 1998), *Mauremys leprosa*, (“tortuga galápagos leprosa”, Hidalgo-Villa *et al* 2007), *Graptemys gibbonsi* (“tortuga mapa de Pascagoula”) y *Cuora amboinensis* (“tortuga caja de Malasia”) (Perpiñán D. *et al* 2008).

Troiano y Silva determinaron valores hematológicos de referencia para *C. chilensis chilensis* diferenciándolo entre sexo, edad y estación del año. Los parámetros del eritrograma fueron mayores en invierno que en verano, donde el recuento de glóbulos rojos fue  $700 \times 10^9/L \pm 74 \times 10^9/L$  y  $599 \times 10^9/L \pm 25 \times 10^9/L$  respectivamente; para el caso de sexo y edad los valores fueron muy similares, los machos tuvieron  $689 \times 10^9/L \pm 34 \times 10^9/L$  y las hembras  $688 \times 10^9/L \pm 24 \times 10^9/L$ , paralelamente los valores en juveniles fueron de  $660 \times 10^9/L \pm 34 \times 10^9/L$  y en adultos de  $658 \times 10^9/L \pm 32 \times 10^9/L$ . Así mismo el hematocrito en invierno fue de  $22.3\% \pm 1.26$  mientras que en verano de  $21.35 \pm 3.5$ , en referencia al sexo los machos presentaron un hematocrito de  $22\% \pm 1.8\%$  y las hembras de  $23\% \pm 3.8\%$ , tampoco hubo gran diferencia cuando se midió el hematocrito de acuerdo a la edad, donde los juveniles obtuvieron hematocritos de  $22.3\% \pm 1.26\%$  y los adultos de  $23\% \pm 3.98\%$ . Los valores de hemoglobina fueron  $11 \text{ g/dL} \pm 3.37 \text{ g/dL}$  durante el invierno y  $9.4 \text{ g/dL} \pm 1.3 \text{ g/dL}$ , para los machos fue de  $10 \text{ g/dL} \pm 1.54 \text{ g/dL}$  y las hembras  $10.4 \text{ g/dL} \pm 1.49 \text{ g/dL}$ , en cuanto a la edad los jóvenes presentaron valores de  $10.1 \text{ g/dL} \pm 1.65 \text{ g/dL}$  y los adultos de  $10 \text{ g/dL} \pm 1.84 \text{ g/dL}$ . En cuando a los valores del leucograma el conteo total de leucocitos fue de  $9.2 \times 10^9/L \pm 1.2 \times 10^9/L$  en invierno,  $11.2 \times 10^9/L \pm 2.5 \times 10^9/L$  en verano,  $8.8 \times 10^9/L \pm 2.3 \times 10^9/L$  para machos,  $8.9 \times$

$10^9/L \pm 2.3 \times 10^9/L$  para hembras,  $8.9 \times 10^9/L \pm 2.5 \times 10^9/L$  en juveniles y  $9 \times 10^9/L \pm 2.6 \times 10^9/L$  en individuos adultos. Los valores obtenidos en el conteo diferencial de leucocitos, expresados en porcentajes, fueron para los linfocitos:  $26 \pm 8.6$  en invierno,  $25 \pm 2.3$  en verano,  $26 \pm 11$  en machos y juveniles,  $26 \pm 2.36$  en hembras y  $25 \pm 2.6$  en adultos; para los monocitos:  $5 \pm 2.1$  en invierno,  $4 \pm 2.5$  en verano,  $5.5 \pm 1.4$  para machos,  $5 \pm 1.5$  para hembras,  $5 \pm 2.3$  en juveniles y  $5 \pm 1.5$  en adultos; para los azurófilos:  $9 \pm 5$  en invierno,  $8 \pm 2$  en verano,  $7.8 \pm 1.9$  para machos,  $8 \pm 3$  para hembras,  $8 \pm 2.4$  en juveniles y  $7.2 \pm 3.32$  en adultos; para heterófilos:  $28 \pm 2$  en invierno,  $29 \pm 2.3$  en verano,  $27.5 \pm 5$  para machos,  $28 \pm 2.1$  para hembras,  $28 \pm 4$  en juveniles y  $29 \pm 2.4$  en adultos; para eosinófilos  $32 \pm 8$  en invierno,  $32 \pm 5$  en verano,  $32 \pm 14$  para machos,  $31 \pm 9.5$  para hembras,  $31 \pm 12$  en juveniles y  $32.7 \pm 3.78$  en adultos; y por último para basófilos  $0$  en invierno,  $1 \pm 1.3$  en verano,  $1 \pm 0.8$  para machos,  $2 \pm 0.2$  para hembras,  $1 \pm 0.5$  en juveniles y  $0.9 \pm 0.2$  en adultos.

Los valores hematológicos para *M. leprosa* en vida libre fueron determinados de acuerdo al sexo por Hidalgo-Vila *et al.* El hematocrito para los machos fue de  $20.5\% \pm 5.04\%$  y para las hembras de  $18.5\% \pm 4.9\%$ . El total de glóbulos rojos fue de  $0.42 \times 10^6/\mu L \pm 0.21 \times 10^6/\mu L$  y  $0.33 \times 10^6/\mu L \pm 0.14 \times 10^6/\mu L$  para machos y hembras respectivamente. En cuanto al conteo total de glóbulos blancos los valores para los machos fueron de  $4.58 \times 10^3/\mu L \pm 2.34 \times 10^3/\mu L$  y para las hembras  $4.40 \times 10^3/\mu L \pm 2.52 \times 10^3/\mu L$ . En el conteo diferencial de leucocitos halló los siguientes valores en porcentajes, para heterófilos fue  $53.8 \pm 17.1$  en machos y  $58.5 \pm 17.3$  en hembras;  $35.2 \pm 16.6$  y  $32.6 \pm 17.5$  en machos y hembras respectivamente para los eosinófilos; los linfocitos presentaron porcentajes entre  $5.8$  y  $6.3$  en hembras y machos respectivamente, para los monocitos los valores fueron de  $4.3 \pm 3.4$  en los machos mientras que en las hembras fueron de  $2\%$ ; por último los valores en ambos sexos para los basófilos fueron de  $0$ .

Perpiñán *et al.* (2008) determinaron los valores hematológicos de *G. gibbonsi* y *C. amboinensis* ambas en cautiverio, donde el hematocrito fue de  $21.25\%$  y  $23.0\%$

respectivamente. Para *G. gibbonsi* los valores totales de eritrocitos fueron de  $0.37 \times 10^{12}/L$ , de leucocitos  $1.46 \times 10^9/L$ ; en el conteo diferencial de leucocitos se encontró  $0.07 \times 10^9/L$  de eosinófilos,  $0.21 \times 10^9/L$  de heterófilos,  $0.80 \times 10^9/L$  de basófilos,  $0.07 \times 10^9/L$  de monocitos y  $0.35 \times 10^9/L$  de linfocitos. Paralelamente *C. amboinensis* presentó un conteo total de eritrocitos de  $0.42 \times 10^{12}/L$ , y de leucocitos  $5.28 \times 10^9/L$ ; en el conteo diferencial de leucocitos se encontró  $0.79 \times 10^9/L$  de eosinófilos,  $2.06 \times 10^9/L$  de heterófilos,  $1.08 \times 10^9/L$  de basófilos,  $0.26 \times 10^9/L$  de monocitos y  $1.08 \times 10^9/L$  de linfocitos.

A nivel sudamericano existen pocos estudios sobre hematología en quelonios; unos de los pocos reportados son sobre *Podocnemis expansa* (“la tortuga charapa”), en cautiverio en zoológicos de Venezuela (Martinez *et al.* 2007), de un zoológico en Brasil (Oliveira *et al.* 2008), donde se han llegado a establecer parámetros referenciales, además de otro zoológico donde se evaluó el efecto de la nutrición en la hematología (Tavares-Dias *et al.* 2009). Los valores hematológicos determinados para la tortuga charapa por Martinez *et al.* (2007) fueron establecidos de acuerdo al sexo en individuos de zoológicos. El hematocrito fue de  $34.30\% \pm 12.68\%$  y  $31.75\% \pm 3.10\%$  para hembras y machos respectivamente. El total de eritrocitos para las hembras fue de  $0.47 \times 10^9/L \pm 0.18 \times 10^9/L$  y para los machos de  $0.43 \times 10^9/L \pm 0.05 \times 10^9/L$ . Para el conteo total de leucocitos los machos tuvieron conteos de  $3.80 \times 10^9/L \pm 1.40 \times 10^9/L$  y las hembras conteos de  $3.08 \times 10^9/L \pm 1.26 \times 10^9/L$ . Oliveira *et al.* (2008) determinó parámetros hematológicos utilizando individuos *P. expansa* de un zoológico. Encontró que el hematocrito fue de  $25.1\% \pm 6.9\%$ , la hemoglobina de  $6.5 \text{ g/dL} \pm 1.2 \text{ g/dL}$  y el conteo total de eritrocitos fue de  $0.28 \times 10^6/\mu\text{L} \pm 0.07 \times 10^6/\mu\text{L}$ ; también calculó los índices eritrocitarios obteniendo  $922.3 \text{ fL} \pm 150.2 \text{ fL}$  para MCV, y  $26.2 \text{ g/dL} \pm 5.4 \text{ g/dL}$ . Descubrió una correlación positiva entre la hemoglobina y los conteos totales de glóbulos rojos al igual que entre la hemoglobina y el hematocrito. En el leucograma encontró que el total de leucocitos fue de  $6072.03/\mu\text{L} \pm 2349.0/\mu\text{L}$ . Para el conteo diferencial de leucocitos halló que los valores absolutos fueron de  $863.0/\mu\text{L} \pm 332.0/\mu\text{L}$  para los linfocitos,  $378.0/\mu\text{L} \pm 204.0/\mu\text{L}$  para azurófilos,  $2883.0/\mu\text{L} \pm 1064.0/\mu\text{L}$  para heterófilos,  $1373.0/\mu\text{L} \pm 658.0$  para eosinófilos, y por

último  $491.0/\mu\text{L} \pm 337.0/\mu\text{L}$  para basófilos. Tavares-Dias *et al.* (2009) al estudiar la hematología de *P. expansa* malnutridas, hallaron que el conteo total de glóbulos rojos fue de  $2.2 \times 10^5/\mu\text{L} \pm 0.6 \times 10^5/\mu\text{L}$  hematocrito fue de  $18.4\% \pm 5.2\%$ , la hemoglobina fue de  $1.9 \text{ g/dl} \pm 1.3 \text{ g/dl}$ , el VGM fue de  $852.0 \text{ fL} \pm 72.0 \text{ fL}$ , el CHGM fue de  $10.0 \text{ g/dl} \pm 5.1 \text{ g/dl}$ . A nivel leucocitario, el total de glóbulos blancos fue de  $4.62 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 1.92 \times 10^3/\mu\text{L}$ , donde  $8.46 \times 10^2/\mu\text{L} \pm 5.54 \times 10^2/\mu\text{L}$  fueron linfocitos,  $2.16 \times 10^2/\mu\text{L} \pm 1.37 \times 10^2/\mu\text{L}$  de azurófilos,  $1.17 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 0.70 \times 10^3/\mu\text{L}$  de heterófilos,  $1.61 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 0.795 \times 10^3/\mu\text{L}$  de eosinófilos y  $2.46 \times 10^2/\mu\text{L} \pm 1.44 \times 10^2/\mu\text{L}$  de basófilos.

La evaluación hematológica completa está dividida en tres grupos: (1) la evaluación eritrocítica, (2) la evaluación leucocitaria, y (3) la presencia de hemoparásitos (A. Irizarry, D.J. Weiss, Wardrop K.J. 2010). La evaluación eritrocítica incluye la determinación del hematocrito, el conteo total de glóbulos rojos y la concentración de hemoglobina. El hematocrito se puede determinar por el método del microhematocrito, realizando la centrifugación de capilares con sangre. El método más ventajoso y accesible para realizar el conteo total de glóbulos rojos es el de la dilución con la solución Natt and Herrick, utilizando la pipeta de Thoma y la cámara de Neubauer. Este método también permitirá realizar el conteo total de glóbulos blancos y trombocitos. La concentración de hemoglobina es hallada de la misma manera que para mamíferos, utilizando un espectrofotómetro. Una vez hallados estos valores se puede proceder a determinar los índices eritrocitarios: volumen globular medio, hemoglobina globular media y concentración de hemoglobina globular media. Con estos índices eritrocitarios se puede determinar las anemias.

El conteo total y diferencial de los leucocitos componen la evaluación leucocitaria del hemograma. El conteo total de leucocitos se realizó de la misma manera que el conteo total de glóbulos rojos, utilizando el método de Natt and Herrick. Para el conteo diferencial de leucocitos se tiñó con Wright-Giemsa un frotis sanguíneo hecho con la sangre sin anticoagulante. Se contaron 100 leucocitos en total, donde se obtuvieron en unidades de

porcentajes los valores de los heterófilos, eosinófilos, basófilos, linfocitos, monocitos y azurófilos.

Así mismo se llevó a cabo el recuento de plaquetas, la determinación de las proteínas totales y la presencia de hemoparásitos. El recuento de plaquetas se realizó también con el método de Natt and Herrick. Para la determinación de las proteínas totales se utilizó el refractómetro. La presencia de hemoparásitos se determinó por la lectura de frotices sanguíneos. Los hemoparásitos mas reportados en reptiles son: *Haemogregarina*, *Haemoproteus*, *Hepatozoon*, *Karyolysus*, *Plasmodium*, *Schellackia* y *Simondia* (Reavill 2005).

La Reserva Ecológica Taricaya ubicada en río Bajo Madre de Dios, Distrito las Piedras, Provincia de Tambopata, Departamento de Madre de Dios cuenta con 472 ha de bosque primario y lleva a cabo una serie de proyectos de conservación entre los cuales está el “Proyecto Tortuga”. El Proyecto Tortuga dirigido a la conservación de la taricaya, se basa en la recolección de nidos para ser transferidos a playas artificiales dentro de la reserva, la liberación casi inmediata de un gran porcentaje de la población nacida y la liberación posterior del porcentaje menor de tortugas mantenidas en cautiverio hasta la adultez.

La situación vulnerable en la que se encuentra *Podocnemis unifilis* incentiva realizar proyectos de conservación sobre esta especie. No se conoce mucho de los aspectos biológicos de esta especie en cautiverio o vida libre y menos aún sobre su hematología en condiciones de la Amazonía Peruana. Hasta la fecha no hay reporte alguno publicado sobre hematología realizado en la tortuga taricaya en el Perú, por tal motivo se planteó este trabajo el cual tiene como objetivo evaluar los valores hematológicos de la población en cautiverio de *Podocnemis unifilis* de la Reserva Ecológica taricaya, ubicada en la ciudad de Puerto Maldonado (Madre de Dios). Esto servirá como herramienta de evaluación diagnóstica, y a su vez aportar información biológica valiosa a usar en la conservación de la especie.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Sujetos de estudio

Los ejemplares de *P. unifilis* utilizados en este estudio tenían entre tres y cuatro años de edad, mantenidos en cautiverio en el Centro de Rescate de la Reserva Ecológica Taricaya; en Puerto Maldonado, Madre de Dios. Estos ejemplares son parte de un proyecto grande de conservación, que busca incrementar las poblaciones de esta especie. En ese lugar son medidos mensualmente y por lo tanto están acostumbrados a la contención física. Son mantenidos en diferentes pozas artificiales de material noble, separadas de acuerdo a la edad, donde el agua es cambiada cada 4 días aproximadamente. La alimentación a lo largo de su vida está representada en el Cuadro 1.

### Toma de muestra

Las muestras de sangre se obtuvieron a partir de la vena coccígea dorsal. Dependiendo del tamaño del animal se utilizaron jeringas de 1ml o 3ml con agujas de calibre 25, 26 ó 30. El volumen de sangre total en los reptiles es entre el 5% y 8% del peso vivo. El volumen a recolectar fue calculado individualmente de acuerdo al peso de cada tortuga, dónde se tomó como máximo el 10% del volumen sanguíneo total.

### Transporte de la muestra

Se colocó una gota de sangre sin anticoagulante sobre una lámina porta objetos para realizar el frotis. Se realizaron 4 frotices por muestra, los cuales fueron secados al aire y luego guardados. El resto de sangre se colocó inmediatamente en un microtubo con heparina litio como anticoagulante, ya que el ácido etilendiamiotetraacético (EDTA) causa hemólisis en



reptiles (Sykes J, Klaphake E. 2008). Las muestras en el anticoagulante fueron almacenadas en una caja de tecnopor con hielo molido, a una temperatura promedio de 4°C, por un promedio de 10 horas hasta su llegada al laboratorio.

#### **Determinación del hematocrito y concentración de hemoglobina**

Para la determinación del hematocrito, se centrifugaron los capilares a 12,000 x g por 5 minutos, y luego se midió utilizando la regla de hematocrito. Para la medición de la concentración de hemoglobina se utilizó un espectofotómetro.

#### **Conteo celular**

El conteo celular se realizó manualmente usando la cámara de Neubauer. En el conteo de glóbulos rojos y blancos la muestra de sangre fue diluida 1:200 con la solución Natt and Herrick e una pipeta de Thoma. Se colocaron 2 gotas en la cámara de Neubauer y se procedió a realizar en conteo. Los índices eritrocitarios se calcularon con los valores de hematocrito, concentración de hemoglobina y el conteo celular eritrocitario.

#### **Conteo diferencial de glóbulos blancos, morfología celular y presencia de hemoparásitos**

En los frotis sanguíneos se realizó el conteo diferencial de los leucocitos y se evaluó la morfología celular de los glóbulos blancos, donde la tinción utilizada fue la de Wright-Giemsa. Se aplica la tinción Wright-Giemsa al frotis, de manera que cubra toda la lámina, luego se agrega sobre la tinción el agua tamponada con mucho cuidado evitando que se rebalse la tinción. Se sopla cuidadosamente para asegurar la mezcla entre la tinción y el agua tamponada. Se deja por 7 minutos fijar la coloración, luego se enjuaga con agua, se pasa papel en la cara opuesta del frotis para evitar la acumulación de la tinción y se deja secar. En la evaluación de cada frotis se buscó también la presencia de hemoparásitos.

## RESULTADOS

Durante los meses de julio y agosto 2012 fueron muestreado y evaluaron un total de 37 animales de dos a tres años de edad, provenientes del centro de rescate de la Reserva Ecológica Taricaya. Todos los ejemplares incluidos en este estudio mostraron un aparente buen estado de salud general sin embargo se hallaron algunos ejemplares con edema subcutáneo en diferentes grados, sin que afectara su estado anímico mostrándose con actividad normal. La totalidad de los ejemplares utilizados para este estudio se encontraron bajo las mismas condiciones de alojamiento, alimentación y manejo.

Hasta el periodo de la colecta de las muestras, la alimentación de los ejemplares era inter-diaria y a base de hojas de *Lemna sp.* (lentejita de agua), hojas de *Portulaca oleracea* (verdolaga), hojas de *Musa paradisiaca* (plátano), hojas de *Pueraria phaseoloides* (kudzu), siendo estos insumos colectadas en la zona y suplementadas con pellets de alimento para peces (Purigamitana 25<sup>®</sup>, Puritilapia 32<sup>®</sup>, Puritilapia 40<sup>®</sup>) (Cuadro1) . La dieta alimenticia estaba basada en literatura acerca de su historia natural dónde se proporcionaban sólo cuatro especies vegetales, pero sin embargo la literatura abarca más de cincuenta insumos entre hojas, semillas, frutos, algas, peces, molusco e insectos. Además esta dieta en cautiverio nunca fue analizada. Posterior a la colecta se continuó con el seguimiento de los ejemplares, a los cuales se les cambió la dieta basada en el manejo de la misma especie en el Zoológico de Bronx; coincidiendo que a los 4 meses aproximadamente, el edema desapareció en la totalidad de los ejemplares.

Para el conocimiento de la condición corporal y el estado general de los animales muestreados se determinó el peso corporal en gramos (g) y se le evaluó físicamente. El cuadro 2

muestra los valores promedio, mínimo y máximo del peso corporal. El cuadro 3 muestra la clasificación del edema encontrado en la evaluación física.

**Cuadro 1: Alimentación de las tortugas taricaya (*Podocnemis unifilis*) en el Centro de Rescate de la Reserva Ecológica Taricaya**

Insumo	2008			2009												2010												
	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	
Alimento en Escamas	x	x	X	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x											
Pellets																	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Lentejita de agua																		x	x	x	x							x
Verdolaga								x	x	x	x	x	x							x	x	x	x	x	x			
Kudzu																												
Hoja de plátano																												

Insumo	2011												2012									
	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago		
Alimento en Escamas																						
Pellets	x	x	x	x	X	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Lentejita de agua	x	x	x	x	X								x	x	x	x	x					
Verdolaga					X	x	x	x	x	x							x	x	x	x		
Kudzu			x	x	X	x	x								x	x	x	x	x			
Hoja de plátano			x	x	X	x	x								x	x	x	x	x			

<b>Tortugas nacidas 2008</b>	<b>x</b>
<b>Tortugas nacidas 2009</b>	<b>x</b>

**Cuadro 2. Valores promedio, mínimo y máximo del peso corporal de 37 tortugas Taricaya en cautiverio en la Reserva Ecológica Taricaya**

Parámetro	n	Promedio ± D.E.	Valor Min.	Valor Máx.
Peso (g)	37	166 ± 72	70	276

**Cuadro 3. Frecuencia de los diferentes grados de edema presentes en 37 ejemplares de tortuga Taricaya en cautiverio en la Reserva Ecológica Taricaya**

Grado de Edema	n	Frecuencia
-	2	5.41
+	5	13.51
++	15	40.54
+++	13	35.14
++++	2	5.41
Total	37	

### **Eritrograma**

El Cuadro 4 muestra los valores e índices eritrocitarios al igual que los niveles de proteína en sangre de los ejemplares muestreados. El promedio encontrado en el presente estudio para el hematocrito fue de 21.00 % ± 3.27 %; 5.60 g/dl ± 1.07 g/dl para la hemoglobina, para el conteo total de eritrocitos fue de  $2.87 \times 10^5/\mu\text{L} \pm 0.46 \times 10^5/\mu\text{L}$ , y 3.10 g/dl ± 0.49 g/dl para las proteínas totales.

**Cuadro 4. Valores promedio de los parámetros del eritrograma y proteínas totales de tortugas****Taricaya en cautiverio en la Reserva Ecológica Taricaya**

Parámetro	N	Promedio $\pm$ D.E.	Valor Min.	Valor Máx.
Ht (%)	37	21.00 $\pm$ 3.27	13.00	30.00
Hb (g/dl)	37	5.60 $\pm$ 1.07	3.50	8.10
RT. Eritrocitos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	36	2.87 $\pm$ 0.46	2.15	3.90
VGM (fL)	36	760.44 $\pm$ 123.57	545.45	1021.28
HGM (picogramos/cel)	36	196.24 $\pm$ 36.93	130.30	263.83
CHGM (g/dl)	36	25.93 $\pm$ 2.35	21.00	31.50
Proteínas Totales (g/dl)	37	3.10 $\pm$ 0.49	1.70	4.40

Ht: hematocrito, Hb: hemoglobina, RT. Eritrocitos: recuento total de eritrocitos, VGM: volumen globular medio, HGM: hemoglobina globular media, CHGM: concentración de hemoglobina globular media.

**Leucograma**

El Cuadro 5 muestra los valores del leucograma, que incluyen el conteo total y diferencial de leucocitos. El promedio hallado en este estudio el conteo de leucocitos fue de  $2.19 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 0.72 \times 10^3/\mu\text{L}$ . El conteo diferencial resultó en: heterófilos 62.90%  $\pm$  7.7%, basófilos 5.7%  $\pm$  2.54%, eosinófilos 3.8%  $\pm$  2.5%, linfocitos 12.0%  $\pm$  5.4%, monocitos 2.8%  $\pm$  2.5% y azurófilos 12.8%  $\pm$  4.8%.

**Cuadro 5. Valores promedio de los parámetros del leucograma de tortugas taricaya en cautiverio en la Reserva Ecológica Taricaya**

Parámetro	N	Promedio $\pm$ D.E.	Valor Mín.	Valor Máx.
RT. Leucocitos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	36	2.19 $\pm$ 0.72	1.10	4.51
Heterófilo (%)	33	62.90 $\pm$ 7.7	46.0	82.5
Heterófilo ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	33	1.37 $\pm$ 0.17	0.51	3.72
Basófilo (%)	33	5.70 $\pm$ 2.54	1.0	11.5
Basófilo ( $\times 10^2/\mu\text{L}$ )	33	1.25 $\pm$ 0.55	0.11	5.19
Eosinófilo (%)	33	3.8 $\pm$ 2.5	0.0	11.5
Eosinófilo ( $\times 10^1/\mu\text{L}$ )	33	8.3 $\pm$ 5.46	0	51.86
Linfocito (%)	33	12.0 $\pm$ 5.4	3.0	24.0
Linfocito ( $\times 10^2/\mu\text{L}$ )	33	2.62 $\pm$ 1.18	0.33	10.82
Monocito (%)	33	2.8 $\pm$ 2.5	0.0	10.5
Monocito ( $\times 10^1/\mu\text{L}$ )	33	6.12 $\pm$ 5.46	0	47.36
Azurófilo (%)	33	12.8 $\pm$ 4.8	2.6	26.5
Azurófilo ( $\times 10^2/\mu\text{L}$ )	33	2.8 $\pm$ 1.05	0.29	11.95

### Hematíes jóvenes y células mitóticas

El cuadro 6 muestra la frecuencia de aparición de hematíes jóvenes y células mitóticas en los frotis sanguíneos durante el conteo diferencial de leucocitos.

**Cuadro 6. Frecuencia de aparición de hematíes jóvenes y células mitóticas en frotis sanguíneo de tortugas taricaya en cautiverio en la Reserva Ecológica Taricaya**

Parámetro	n	Frecuencia
Hematíes jóvenes		
+	9	12.33
++	47	64.38
+++	11	15.07
++++	6	8.22
Total	73	
Células Mitóticas		
0-1	51	69.86
2-3	14	19.18
4-5	4	5.48
+5	4	5.48
Total	73	



## DISCUSIÓN

En el Perú no existen muchos estudios sobre la hematología de quelonios, por lo que los resultados de ésta investigación fueron comparados con estudios hematológicos de otras especies de quelonios, en especial los acuáticos, llevadas a cabo en otros países. Con fines comparativos las unidades de algunos valores de la literatura han sido convertidas a las unidades utilizadas en esta investigación.

El conteo total de eritrocitos de este estudio arrojó un promedio de  $2.87 \times 10^5/\mu\text{l} \pm 0.46 \times 10^5/\mu\text{l}$  el cual es menor a los reportados en *C. chilensis chilensis*, en todas las condiciones descritas en el estudio. Asimismo, es menor que los valores obtenidos en *M. leprosa* en vida libre por Hidalgo-Vila *et al.* (2007), y que los obtenidos en *G. gibbonsi* y *C. amboinensis* en cautiverio por Perpiñán *et al.* (2008). En la comparación con *P. expansa*, en cautiverio en el estudio de Martínez *et al.* (2007) se encontró que los resultados de ésta investigación arrojaron un promedio mayor. Mientras que el estudio realizado por Oliveira-Júnior *et al.* (2008), en *P. expansa* en cautiverio reportaron un valor promedio muy similar al obtenido en esta investigación. Al enfrentar el resultado de este estudio con los obtenidos en el estudio de Tavares-Dias *et al.* (2009) en *P. expansa* en cautiverio existe mayor similitud con el valor de las tortugas control que con el de las malnutridas.

El promedio del hematocrito hallado en este estudio fue de  $21.00\% \pm 3.27\%$ , el cual es ligeramente mayor, pero aun encontrándose dentro del rango de variación de los valores reportados por Hidalgo-Vila *et al.* (2007) para *M. leprosa* en libertad. Así mismo se encuentran dentro del rango

de variación en el extremo menor a los valores descritos en diferentes condiciones para *C. chilensis chilensis* (Troiano & Silva 1998); para *C. amboinensis* y *G. gibbonsi* en cautiverio (Perpiñán *et al.* 2008). En comparación con los estudios realizados para *P. expansa* por Martínez *et al.* (2007) y Oliveira-Júnior *et al.* (2008), el resultado de este estudio fue bastante menor. Se encontró una diferencia en el valor del hematocrito entre *P.expansa* y *P.unifilis* a pesar de ser especies cercanas, lo cual se puede deber a las diferentes condiciones alimenticias. Tavares-Dias *et al.* (2009) mencionan que individuos de *P. expansa* malnutridos presentaron niveles más bajos de hematocrito que ejemplares bien alimentados, el cual es cercano al nivel obtenido en este estudio.

Para la hemoglobina, el valor promedio de este estudio fue de 5.60 g/dl  $\pm$  1.07 g/dl; el cual fue significativamente menor a los detallados por Troiano y Silva (1998) para *C. chilensis chilensis* en las diferentes condiciones estudiadas. En comparación con el estudio de Oliveira *et al.* (2009) en *P. expansa*, el valor promedio de la presente investigación también fue ligeramente menor pero no significativamente. Así mismo son similares a la de ejemplares de *P. expansa* bien nutridos indicados en el estudio de Tavares-Dias *et al.* (2009).

La presente investigación obtuvo como valores promedios de los índices eritrocitarios los siguientes valores 760.44 fL  $\pm$  123.57 fL para VGM, 196.24 picogramos/cel  $\pm$  36.93 picogramos/cel para HGM y 25.93 g/dl  $\pm$  2.35 g/dl para CHGM. El volumen globular medio (VGM) de este estudio fue mayor al hallado para *M. leprosa* por Hidalgo-Vila *et al.* (2007), y menor que de los valores de *P. expansa* bien y mal nutridas en el estudio de Tavares-Días *et al.* (2009), de igual manera ocurre con el estudio de Oliveira-Júnior *et al.* (2009) en *P. expansa*. Al comparar el valor de la concentración de hemoglobina globular media (CHGM) de este estudio con el descrito por Oliveira-Júnior *et al.* (2009) y el de Tavares-Días *et al.* (2009) para *P. expansa* se encuentra que los valores son muy similares.

Como parte de la evaluación hematológica de este estudio se determinó como valor promedio de las proteínas totales 3.10 g/dl  $\pm$  0.49 g/dl, el cual es similar a los valores reportados para *M. leprosa*

(Hidalgo-Vila *et al.* 2007), *P. expansa* (Oliveira-Júnior *et al.* 2009) bien nutridas (Tavares-Días *et al.* 2009).

El valor promedio del total de leucocitos para este estudio fue de  $2.19 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 0.72 \times 10^3/\mu\text{L}$ ; el cual es considerablemente menor que los valores promedio obtenidos en el estudio de Troiano y Silva (1998) en *C. chilensis chilensis*. Asimismo se encontró que los valores promedio de *M. leprosa* (Hidalgo-Vila *et al.* 2007), y para *C. amboinensis* (Perpiñán *et al.*, 2008) fueron mayores que los descrito en esta investigación. De la misma manera ocurrió al comparar lo valores promedio de *P. expansa* con este estudio. Los valores descritos por Martínez *et al.* (2007) y por Oliveira-Júnior *et al.* (2008) para *P. expansa* fueron mayores a los reportados en este estudio. De la misma manera ocurre cuando se enfrenta el valor del total de leucocitos de este estudio con el de Tavares-Días *et al.* (2009), siendo menor que las tortugas control y malnutridas, pero más cercano al de las malnutridas. Esta diferencia podría ir de la mano con el valor promedio del hematocrito, y podría ser por consecuencia de diferencias en el manejo de la alimentación; otra posible causa de esta diferencia es que los ejemplares utilizados en este estudio están acostumbrados al manejo y contención física por lo cual el estrés es menor pudiendo afectar los niveles leucocitarios en sangre. Montané *et al.* (2003) mencionan que la leucocitosis fisiológica se caracteriza por un aumento en el nivel de leucocitos totales, y en especial una neutrofilia, linfocitosis, monocitosis y ligera eosinopenia. Tavares-Días *et al.* (2009) reportaron un valor de  $4.62 \times 10^3/\mu\text{L}$  en ejemplares de *P. expansa* con malnutrición. Por otro lado, el valor promedio de este estudio fue mayor al valor promedio de la *G. gibbonsi* descrito por Perpiñán *et al.* (2008).

El total de heterófilos encontrados en este estudio, dentro del conteo diferencial es de  $1.37 \pm 0.17 \times 10^3/\mu\text{L}$  lo que representa un  $62.90 \pm 7.7 \%$  del total de leucocitos, el cual es menor a los reportados para *C. chilensis chilensis* por Troiano y Silva (1998) en las situaciones descritas; para *M. leprosa* y para *C. amboinensis* por Perpiñán *et al.* (2008), y para *P. expansa* (Martínez *et al.* 2007, Oliveira-Júnior *et al.* 2009). Mientras que en comparación con lo reportado por Perpiñán *et al.* (2007) para *G.*

*gibbonsi*, el valor obtenido para heterófilos en este estudio es mucho mayor. Los niveles bajos de heterófilos puede deberse a una mala alimentación, o a la ausencia de una leucocitosis fisiológica). Tavares-Dias *et al.* (2009) encontraron que los niveles de heterófilos en *P. expansa* malnutridas fueron menores que en los ejemplares control de la misma especie, siendo estos niveles similares a los obtenidos en este estudio.

En cuanto a los eosinófilos el valor hallado en este estudio fue de  $8.3 \pm 5.46 \times 10^3 /\mu\text{L}$  que representa  $3.8 \pm 2.5 \%$  del total de leucocitos; siendo este resultado menor que todos los valores de eosinófilos reportados por Troiano y Silva (1998) para diferentes variables de *C. chilensis chilensis*. Asimismo fue menor que los valores reportados por Hidalgo-Vila *et al.* (2007) para la *M. leprosa*. La misma situación ocurre al comparar con los valores de *C. amboinensis* (Perpiñán *et al.* 2008) y *P. expansa* (Oliveira-Júnior *et al.* 2009) Nuevamente ocurre lo contrario al comparar con *G. gibbonsi* (Perpiñán *et al.* 2008) la cual presenta un total de eosinófilos mayor al de este estudio. En el estudio de Tavares-Dias *et al.* (2009) se halló que en individuos *P. expansa* control los valores de eosinófilos eran menor que los del grupo de individuos malnutridos de la misma especie, los cuales a su vez son mucho mayor que los obtenidos en este estudio.

Analizando el conteo de basófilos resultante de este estudio, que fue de  $1.25 \pm 0.55 \times 10^2 /\mu\text{L}$  lo cual representa el  $5.70 \pm 2.5 \%$  del total de leucocitos; y al confrontarlo por el estudio de Troiano y Silva en *C. chilensis chilensis* se encontró que fue mayor que en todas las situaciones descritas en el estudio. Los valores reportados por Perpiñán *et al.* (2008) para *G. gibbonsi*, y *C. amboinensis*, fueron mucho mayor que el obtenido en este estudio. La misma situación ocurre al compararlo con el estudio de Oliveira-Júnior *et al.* (2009) en *P. expansa* siendo este mayor que el de este estudio; y Tavares-Días *et al.* (2009) en *P. expansa*, donde en ambas condiciones los niveles de basófilos fueron mayores que el presente estudio, sin embargo era más cercano al de aquellos individuos malnutridos.

Al comparar el conteo de linfocitos de esta investigación,  $0.26 \pm 0.12 \times 10^3/\mu\text{L}$ , con los reportados por Troiano y Silva (1998) para diferentes variables de *C. chilensis chilensis*, se aprecia que el valor de este estudio es menor en todas las situaciones. Los valores reportados por Hidalgo-Vila *et al.* (2007) para *M. leprosa* fueron en ambas situaciones de la investigación mayores al valor para *P. unifilis* de este estudio. El mismo escenario ocurre cuando se compara los valores de *G. gibbonsi* y *C. amboinensis* descritos por Perpiñán *et al.* (2008). El valor obtenido por Oliveira-Júnior *et al.* (2009) para *P. expansa* también fue mayor que el hallado en este estudio. Montané *et al.* (2003) menciona que se da una linfocitosis dentro de la leucocitosis fisiológica por estrés. Valores bajos de linfocitos en *P. expansa* pueden evidenciarse en estados de malnutrición (Tavares-Dias *et al.*, 2009), los cuales son cercanos a los niveles de linfocitos obtenidos en este estudio.

El conteo total de monocitos en este estudio fue de  $0.61 \pm 0.55 \times 10^2/\mu\text{L}$ , el cual es menor a todos los conteos en las investigaciones revisadas, por Troiano y Silva (1998) para *C. chilensis chilensis*, por Hidalgo-Vila *et al.* (2007) para *M. leprosa*, y por Perpiñán para *G. gibbonsi* y *C. amboinensis*.

Por último el conteo de azurófilos obtenido de *P. unifilis* en esta investigación es de  $2.8 \pm 1.05 \times 10^2/\mu\text{L}$  el cual fue menor que el valor descrito por Oliveira-Júnior *et al.* (2009) para *P. expansa*. Paralelamente al compararlo con el estudio de Tavares-Días *et al.* (2009) los niveles de azurófilos son menores al obtenido en el grupo de ejemplares control de *P. expansa* y muy similares al de aquellas malnutridas.

Davis *et al.* (2008) menciona que existe una relación entre los perfiles leucocitarios y los niveles de glucocorticoides, donde el último aumenta el número y porcentaje de heterófilos y paralelamente disminuye el número y porcentaje de linfocitos, esto ocurre en los cinco taxones de vertebrados durante la respuesta a factores estresantes. Aguirre *et al.* (1995) encontró que las tortugas verdes (*Chelonia mydas*) clínicamente sanas responden al estrés agudo de la captura con una

heterofilia y linfopenia, similar a lo que ocurre en otros reptiles. Situación que no ocurre en este estudio.

Fachín Teran et al. (1995) luego de estudiar los contenidos estomacales de 351 ejemplares de *P. unifilis* formulan una lista de 51 insumos, de la cual la gran mayoría y el más frecuente es el insumo de origen vegetal. Así mismo, Vogt (2009) y Fachin Teran et al. (1995) describe la alimentación donde los principales componentes vegetales son semillas, frutos y las plantas en sí, y en menor proporción hojas, raíces, brotes y tallos, y algas. Como componentes menores de la dieta, y portadores de proteína se encuentran los insumos de origen animal como son peces, algunos crustáceos y moluscos, e insectos. Oliveira et al. (2009) provee una alimentación, a los ejemplares de su estudio, basada en macrofitos acuáticos (*Pistia stratiotes* y *Azolla filiculoides*) suplementada con pellets para peces con 34% de proteína cruda; la cual es suministrada diariamente. Tavares-Días et al. (2009) proporciona al grupo control, bien nutridas, de su estudio una alimentación diaria basada en macrofitos acuáticos (*Pistia stratiotes* y *Azolla sp.*) y complementada con pellets para peces con 34% de proteína cruda. En el grupo de *P. expansa* mal nutridas, la alimentación se basó en el suministro diario de yuca (*Manihot esculenta*) de la familia *Euphorbiaceae*, y una vez por semana se complementó con pellets para peces con 27% de proteína cruda y restos vegetales.

Comparando la alimentación de los ejemplares de este estudio con la literatura y la alimentación de otros estudios, son claramente notables las diferencias. En este estudio la alimentación es menor en frecuencia que en el estudio de Oliveira et al. (2008) y el del grupo control del estudio de Tavares-Días et al. (2009). En cuanto al porcentaje de proteína cruda dentro de la dieta, los ejemplares de este estudio recibieron diferentes porcentajes de proteína cruda de acuerdo a la disponibilidad de los pellets para peces; lo cual lleva a una inconsistencia en la proporción de proteína en la dieta que en algunos momentos es menor a los estudios de Oliveira et al. (2008) y en ambos casos del estudio de Tavares-Días et al. (2009); en otros momentos el nivel de proteína de este estudio era mayor a los de Oliveira et al. (2008) y Tavares-Días et al (2009) en ambas situaciones. A pesar de que la dieta

proporcionada a los ejemplares de este estudio, a base de insumos vegetales de la zona, era suplementada con alimento comercial aun así no cubría los requerimientos energéticos. Esto debido a que era menor e inconsistente en el porcentaje de proteína, tomando en cuenta los insumos proporcionados por otros autores. Además que, la alimentación en base a estos insumos vegetales es muy pobre, ya que a pesar de proveer cuatro especies vegetales, sólo una coincide con el listado proporcionado por Fachin Teran *et al.* (1995) basado en observaciones de contenido estomacal de ejemplares en vida libre.

Analizando de manera integral los resultados se puede deducir la existencia de una deficiencia alimentaria, que no cumple con los requerimientos nutricionales de los ejemplares del Centro de Rescate Taricaya, siendo esta una de las principales razones por la cual varios valores hematológicos son similares a ejemplares de *P. expansa* en estados de mal nutrición (Tavares-Días *et al.* 2009). Sin embargo, no se descartan otros factores que puedan estar influenciando éstas diferencias tales como el estrés por captura, características del agua y del recinto donde se mantienen estos ejemplares.

## CONCLUSIONES

- Las condiciones de alimentación de la población de *P. unifilis* en cautiverio influyen en los valores de variables hematológicas, entre los que destacan el conteo total de eritrocitos, hematocrito y leucocitos.
- Los parámetros hematológicos de *P. unifilis* y *P. expansa* por lo general son semejantes en condiciones de cautiverio, siendo la alimentación posiblemente un principal factor de variación.
- El género *Podocnemis* no muestra similitud total de valores leucocitarios con otros géneros de quelonios dulce-acuícolas, siendo generalmente menores.
- La falta de uniformidad en la frecuencia, la cantidad y calidad de los insumos usados en la alimentación de ejemplares *P. unifilis* en la RET, afecta el estado de salud de éstos.
- El restablecimiento de valores hematológicos luego de corregir la dieta puede demorar diferentes tiempos según el parámetro hematológico.



## LITERATURA CITADA

1. Aguirre A. A, Balazs G. H, Spraker T. R, Gross T. S. 1995. Adrenal and Hematological Responses to Stress in Juvenile Green Turtles (*Chelonia mydas*) with and without Fibropapillomas. *Physiological Zoology* 68(5):831-854.
2. Álvarez L, Salinas C; Del Águila J. 2005. Plan de manejo para el aprovechamiento de “Taricaya” (*Podocnemis unifilis*) en la cuenca del Yanayacu-Pucate, Reserva Nacional Pacaya-Samiria. [Internet] [Acceso 26 mayo 2011] Disponible en: <http://www.ibcperu.org/doc/isis/7136.pdf>
3. Ballard B, Cheek R. Bounous D.I. 2003. Avian and Reptile Hematology. En *Exotic Animal Medicine for the Veterinarian Technician*. USA: Blackwell Publishing. p. 307-312.
4. Bodnariu A, 2008. Indicators of stress and stress assessment in dogs. *Lucrari Stiintifice Medicina Veterinara Vol. XLI, Timisoara*.
5. Brotóns Campillo N.J. 2001. Patología de Reptiles. *Canis et Felis* 49.
6. Bulté G, Verly C, Blouin-Demers G. 2006. An improved blood sampling technique for hatchling emydid turtles. *Herpetological Review* 37(3):318-319.
7. Campbell T. 1996. Clinical Pathology. Mader D R. En: *Reptile Medicine and Surgery*. USA: W.B. Saunders Company. p. 248-257.
8. Campbell T. 1998. Interpretation of the Reptilian Blood Profile. *J Exot Pet Med* 3(5): 33-37.
9. Campbell T. 2004. Hematology of lower vertebrates. 55th annual meeting of the American College of Veterinary Pathologists (ACPV) & 39th annual meeting of the American Society of Clinical

Pathology (ASVCP), Middleton, USA. [Internet] [Acceso 26 mayo 2011] Disponible en:  
[http://www.avis.org/proceedings/ACVP/2004/Campbell1/chapter\\_frm.asp?LA=1](http://www.avis.org/proceedings/ACVP/2004/Campbell1/chapter_frm.asp?LA=1)

10. Castro N, Revilla J, Neville M. 1975-1976. Carne de monte como una fuente de proteínas en Iquitos, con referencia especial a monos. *Revista Forestal del Perú* 6(1-2):1-15.
11. Conway K. 2004. Human use of two species of river turtles (*Podocnemis* spp.) in lowland eastern Bolivia. [Internet] [Acceso 26 mayo 2011] Disponible en:  
[http://etd.fcla.edu/UF/UFE0001481/conway\\_k.pdf](http://etd.fcla.edu/UF/UFE0001481/conway_k.pdf)
12. Cornell University. 2010. Avian and Reptile White Blood Cell Count. [Internet] [acceso 22 setiembre 2012] Disponible en:  
[http://ahdc.vet.cornell.edu/docs/Avian\\_and\\_Reptile\\_Estimated\\_White\\_Blood\\_Cell\\_Count.pdf](http://ahdc.vet.cornell.edu/docs/Avian_and_Reptile_Estimated_White_Blood_Cell_Count.pdf)
13. Davis A. K, Maney D.L, Maerz J. C. 2008. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Functional Ecology* 22:760-772.
14. Fachin Teran A, Vogt R.C, Soares Gomez M.D.F. 1995. Food Habits of an Assemblage of Five Species of Turtles in the Rio Guapore, Rondonia, Brazil. *Journal of Herpetology*. 29(4):536-547.
15. Fudge A, Murray M. 2000. Reptilian blood sampling & artifact considerations. En *Laboratory Medicine: Avian and Exotic Pets*. [Internet] [Acceso 26 mayo 2011] Disponible en:  
[http://books.google.com/books?id=TGZ8nYBqH9sC&pg=PA185&lpg=PA185&dq=reptilian+blood+sampling+and+artifact+considerations&source=bl&ots=Fq6RgmrJOj&sig=xVvjJvuBeLY2ZVp1P-sA5H0F1b4&hl=en&ei=hxrTTZfxFYjwrQGokqHDDQ&sa=X&oi=book\\_result&ct=result&resnum=1&sqi=2&ved=0CB8Q6AEwAA#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com/books?id=TGZ8nYBqH9sC&pg=PA185&lpg=PA185&dq=reptilian+blood+sampling+and+artifact+considerations&source=bl&ots=Fq6RgmrJOj&sig=xVvjJvuBeLY2ZVp1P-sA5H0F1b4&hl=en&ei=hxrTTZfxFYjwrQGokqHDDQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&sqi=2&ved=0CB8Q6AEwAA#v=onepage&q&f=false)
16. Fudge A, Raskin R. 2000. Reptilian complete blood count. En *Laboratory Medicine: Avian and Exotic Pets*. [Internet] [Acceso 26 mayo 2011] Disponible en:  
[http://books.google.com/books?id=TGZ8nYBqH9sC&pg=PA185&lpg=PA185&dq=reptilian+blood+sampling+and+artifact+considerations&source=bl&ots=Fq6RgmrJOj&sig=xVvjJvuBeLY2ZVp1P-sA5H0F1b4&hl=en&ei=hxrTTZfxFYjwrQGokqHDDQ&sa=X&oi=book\\_result&ct=result&resnum=1&sqi=2&ved=0CB8Q6AEwAA#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com/books?id=TGZ8nYBqH9sC&pg=PA185&lpg=PA185&dq=reptilian+blood+sampling+and+artifact+considerations&source=bl&ots=Fq6RgmrJOj&sig=xVvjJvuBeLY2ZVp1P-sA5H0F1b4&hl=en&ei=hxrTTZfxFYjwrQGokqHDDQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&sqi=2&ved=0CB8Q6AEwAA#v=onepage&q&f=false)

[sA5H0F1b4&hl=en&ei=hxrTTZfxFYjwrQGokqHDDQ&sa=X&oi=book\\_result&ct=result&resnum=1&sqj=2&ved=0CB8Q6AEwAA#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com/books?id=TGZ8nYBqH9sC&pg=PA185&lpg=PA185&dq=reptilian+blood+sampling+and+artifact+considerations&source=bl&ots=Fq6RgmrJOj&sig=xVvjJvuBeLY2ZVp1P-)

17. Fudge A, Rosskopf W. 2000. Disorders of reptilian leukocytes and erythrocytes. En Laboratory Medicine: Avian and Exotic Pets. [Internet] [Acceso 26 mayo 2011] Disponible en: <http://books.google.com/books?id=TGZ8nYBqH9sC&pg=PA185&lpg=PA185&dq=reptilian+blood+sampling+and+artifact+considerations&source=bl&ots=Fq6RgmrJOj&sig=xVvjJvuBeLY2ZVp1P->  
[sA5H0F1b4&hl=en&ei=hxrTTZfxFYjwrQGokqHDDQ&sa=X&oi=book\\_result&ct=result&resnum=1&sqj=2&ved=0CB8Q6AEwAA#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com/books?id=TGZ8nYBqH9sC&pg=PA185&lpg=PA185&dq=reptilian+blood+sampling+and+artifact+considerations&source=bl&ots=Fq6RgmrJOj&sig=xVvjJvuBeLY2ZVp1P-)
18. Frye F.L. 1986. Hematology of Captive Reptiles. En Zoo and Wild Animal Medicine. Ed. M.E. Fowler, 2da ed. Philadelphia: W.B. Saunders. p. 181-184.
19. Giriswold W. 2005. Basic reptilian clinical pathology. 77th annual western veterinary conference, Las Vegas, Nevada, USA. [Internet] [Acceso 26 mayo 2011] Disponible en: [http://wvc.omnibooksonline.com/data/papers/2005\\_V429.pdf](http://wvc.omnibooksonline.com/data/papers/2005_V429.pdf)
20. Hernández-Divers SM, Hernández SJ, Wyneken J. 2002. Angiographic, anatomic and clinical technique descriptions of a subcarapacial venipuncture site for chelonians. Journal of Herpetological Medicine and Surgery 12(2):32-37.
21. Hidalgo-Vila J, Díaz-Paniagua C, Pérez-Santigosa N, Plaza A, Camacho I, Recio F. 2007. Hematologic and Biochemical Reference Intervals of Free-Living Mediterranean Pond Turtles (*Mauremys leprosa*). J. Wildl. Dis. 43(4): 798-801.
22. Irizarry A. 2010. Hematology of Reptiles. En: Douglas J. Weiss & K. Jane Wardrop Editores. Schalm's Veterinary Hematology. 6ta Ed. USA:Wiley-Blackwell Publishing, p. 1004-1012.
23. Jacobson E R. 2005. Collecting Biological Samples for Clinical Evaluation. Diplomate, American College of Zoological Medicine, College of Veterinary Medicine, University of Florida. [Internet] [acceso 6 octubre 2012] Disponible en: [iacuc.ufl.edu/animaluseguides/biolsampcoll.doc](http://iacuc.ufl.edu/animaluseguides/biolsampcoll.doc)
24. Jacobson E. 2007. How to make the most of diagnostic sampling. Proceedings of the North American Veterinary Conference. En Orlando, Florida, p. 1557-1559.

25. Johnson A. 2009. Avian and Reptile Hematology. En: FVMA'S 80th annual conference scientific proceedings. [Internet] [Acceso 26 mayo 2011] Disponible en: <http://www.fvmaconvention.com/data/papers/Johnson.%20Amy/Johnson.%20Amy/Notes/Avian%20and%20Reptile%20Hematology.pdf>
26. Laboklin aktuell. Take a look at these Wild Slides – Haematology of Reptiles. [Internet] [acceso 22 setiembre 2012] Disponible en: [http://www.laboklin.de/pdf/en/aktuell/lab\\_akt\\_1204\\_en.pdf](http://www.laboklin.de/pdf/en/aktuell/lab_akt_1204_en.pdf)
27. Martínez-Silvestre A, Perpiñán D, Marco I, Lavin S. 2002. Venipuncture Technique of the Occipital Venous Sinus in Freshwater Aquatic Turtles. *J Herpetol Med Surg* 12(4): 31-32
28. Martínez E, Hernández O, Boede E, Peñaloza C, Rodríguez A. 2007. Inventario de la tortuga Arrau, *Podocnemis expansa* (Schweigger, 1812) en zoológicos de Venezuela valores referenciales del hemograma y la bioquímica sérica. *Revista científica FCV-LUZ* 17(5):433-440.
29. Maya García O, Alfonso Mendez M A, Pérez Gutierrez R A, Ortiz Najera R M C, Sierra Castillo C. 2007. Análisis de las Células Sanguíneas de Aves y Reptiles por Microscopía de luz. [Internet] [acceso 6 octubre 2012] Disponible en: <http://www.amemi.org/congreso/BIOLOGIA/BCC3.pdf>
30. McArthur S, Wilkinson R, Meyer J. 2004. Capítulo 6: Diagnosis. En *Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles*. Reino Unido: Blackwell Publishing. p 109-140.
31. McArthur S, Wilkinson R, Meyer J. 2004. Capítulo 7: Clinical Pathology. En *Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles*. Reino Unido: Blackwell Publishing. p 141-186.
32. Mitchell M. 2011. Clinical Pathology for Reptiles. Abaxis University. [Internet] [Acceso 25 mayo 2011] Disponible en: [http://www.abaxisuniversity.com/pdf/Clinical\\_Pathology\\_for\\_Reptiles.pdf](http://www.abaxisuniversity.com/pdf/Clinical_Pathology_for_Reptiles.pdf)
33. Molina López R. Hematología y Bio química Sanguínea. [Internet] [acceso 26 mayo 2012] Disponible en: [http://encontroiberico.no.sapo.pt/docs/Hematologia\\_RMolina.pdf](http://encontroiberico.no.sapo.pt/docs/Hematologia_RMolina.pdf)
34. Montané J, *et al.* 2003. Effects of acepromazine on capture stress in roe deer (*Capreolus capreolus*). *Journal of Wildlife Diseases* 39(2):375-386.
35. Mosley C. 2006. Intravascular Access options in reptiles: what's reasonable? En: *Proceedings of the NAVC* 20:1654-1655.
36. Muñoz Tenería F A. 2001. Inmunología de los Reptiles. *AMMVEPE* 12(2): 57-60.

37. Nevarez J G. 2010. I got blood – Now what? En Proceedings of the NAVC 2010. p. 1680-1682.
38. Oliveira-Júnior A. A, Tavares-Dias M, Marcon J I. 2009. Biochemical and hematological reference ranges for Amazon Freshwater Turtle, *Podocnemis expansa* (Reptilia: Pelomedusidae), with morphologic assessment of blood cells. *Research in Veterinary Science* 86:146-151.
39. Paré J. 2006. Reptile basics: Clinical anatomy. En Proceedings of the NAVC 20:1657-1660.
40. Perpiñán D, *et al.* 2008. Hematology of the Pascagoula Map Turtle (*Graptemys gibbonsi*) and the South East Asian Box Turtle (*Cuora amboinensis*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 39(3):460-463.
41. Reaville D. 1994. Selected topics in reptile clinical pathology. Avian and exotic animal symposium. [Internet] [Acceso 26 mayo 2011] Disponible en: <http://www.zooexotic.com/Reptileclinpath1994.pdf>
42. Rohilla M, Tiwari P. 2008. Simple method of blood sampling from Indian Freshwater Turtles for genetic studies. *Acta Herpetológica* 3(1):65-69.
43. Saggesse M. 2009. Clinical Approach to the anemic reptile, in Topics in Medicine Surgery, *Journal of Exotic Pet Medicine*. 18(2):98-111.
44. Salakij C, Salakij J, Chanhome L. 2002. Comparative Hematology, Morphology and Ultrastructure of Blood Cells in Monocellate Cobra (*Naja kaouthia*), Siamese Spitting Cobra (*Naja siamensis*) and Golden Spitting Cobra (*Naja sumatrana*). *Kasetsart J Nat Sci* 36: 291-300.
45. Salakij C, Salakij J, Suthunmapinunta P, Chanhome L. 2002. Hematology Morphology and Ultrastructure of Blood Cells and Blood Parasites from Puff-faced Watersnakes (*Homalopsis buccata*). *Kasetsart J Nat Sci* 36: 35-43.
46. Saldaña J, Rojas T. 2004. Consumo de carne de monte y su importancia en la alimentación del poblador de Jenaro Herrera, Loreto-Perú. [Internet] [Acceso 26 mayo 2011] Disponible en: <http://www.revistafauna.com.pe/memo/602-609.pdf>
47. Santos A, *et al.* 2005. Variação dos constituintes bioquímicos sanguíneos de tartarugas da amazônia (*P. expansa*) (Testudinata) mantidas em criatório comercial. *Archives of Veterinary Science* 10(3):1-8.

48. Soini P. 1998. Un manual para el manejo de quelonios acuáticos en la Amazonía peruana. IIAP. [Internet] [Acceso 26 mayo 2011] Disponible en: <http://www.iiap.org.pe/publicaciones/literatura%20gris/MANUALO.pdf>
49. Stacy N, Alleman R, Saylor K. 2011. Diagnostic Hematology of the Reptiles. Clin Lab Med 31:87-108.
50. Stahl S. 2006. Reptile Hematology and Serum Chemistry. En: Proceedings of the NAVC 20:1673-1676.
51. Strik N I, Alleman A R, Harr K E. 2007. Circulating Inflammatory Cells. Jacobson E R. En Infectious Diseases and Pathology of Reptiles. Boca Raton: Taylor & Francis. p. 167-186.
52. Sykes J, Klaphake E. 2008. Reptile Hematology. Vet Clin Exot Anim 11:481-500.
53. Tavares-Dias M, Oliveira-Júnior A A, Marcon J L. 2008. Methodological limitations of counting total leukocytes and thrombocytes in reptiles (Amazon turtle *Podocnemis expansa*): an analysis and discussion. Acta Amazónica 38(2): 351-356.
54. Tavares-Dias M, Oliveira-Júnior A A, Silva M G, Marcon J L, Barcellos J F M. 2009. Comparative Hematological and biochemical analysis of giant turtles from the Amazon farmed in poor conditions and normal nutrient conditions. Vet archive 79(6): 601-610.
55. Troiano J C, Silva M C. 1998. Valores Hematológicos de Referencia en Tortuga Terrestre Argentina (*Chelonoidis chilensis chilensis*). Analecta Veterinaria 18(1/2): 47-51.
56. Tortoise and Freshwater Turtle Specialist Group. 1991. Tortoises and Freshwater turtles: An Action Plan for their Conservation. IUCN/SSC/TFTG. Broadview, Illinois: International Union for the Conservation of Nature, Gland, Suiza.
57. Vap L. 2010. Avian and Reptilian hematology: Scratching the surface. CVC in Baltimore Proceedings. [Internet] [acceso 26 mayo 2012] Disponible en: <http://veterinarycalendar.dvm360.com/avhc/Medicine/Avian-and-reptilian-hematology-Scratching-the-surf/ArticleStandard/Article/detail/722784>

58. Varela N. 2002. Evaluación Clínica de Reptiles. Boletín GEAS 3(1). [Internet] [Acceso 26 mayo 2011] Disponible en: [http://www.produccion-animal.com.ar/produccion\\_yacares/50-evaluacion\\_clinica.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_yacares/50-evaluacion_clinica.pdf)
59. Vogt R C. 2008. Capítulo 2: Taricaya. En Tortugas Amazónicas. Perú: Gráfica Biblos. p. 24-37.
60. Zhang F, Gu H, Li P. 2011. A review of chelonian hematology. Asian Herpetological Research 2(1):12-20.