



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA**

TEMA:

Prevalencia de Mycoplasma spp en cuatro especies de tortugas gigantes de un centro de crianza en la Isla Santa Cruz, Galápagos, mediante PCR.

AUTOR:

Guilcapi Cunalata, Iván Eric

**Trabajo de Integración Curricular previo a la obtención del
título de MÉDICO VETERINARIO**

TUTOR:

Dr. Echeverría Alcívar, José Alberto MSc.

**Guayaquil, Ecuador
18 de febrero de 2025**



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA**

CERTIFICACIÓN

Certificamos que el presente **Trabajo de Integración Curricular** fue realizado en su totalidad por **Guilcapi Cunalata, Iván Eric**, como requerimiento para la obtención del título de **Médico Veterinario**.

TUTOR

f. _____

Dr. Echeverría Alcívar, José Alberto MSc.

DIRECTORA DE LA CARRERA

f. _____

Dra. Álvarez Castro, Fátima Patricia MSc.

Guayaquil, a los 18 del mes de febrero del año 2025



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA**

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

Yo, **Guilcapi Cunalata, Iván Eric**

DECLARO QUE:

El Trabajo de Integración Curricular, Prevalencia de Mycoplasma spp en cuatro especies de tortugas gigantes de un centro de crianza en la Isla Santa Cruz, Galápagos, mediante PCR, previo a la obtención del título de Médico Veterinario, ha sido desarrollado respetando derechos intelectuales de terceros conforme a las citas que constan en el documento, cuyas fuentes se incorporan en las referencias o bibliografías. Consecuentemente, este trabajo es de mi total autoría.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, la veracidad y el alcance del trabajo de integración curricular referido.

Guayaquil, a los 18 del mes de febrero del año 2025

EL AUTOR

f. _____

Guilcapi Cunalata, Iván Eric



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA**

AUTORIZACIÓN

Yo, **Guilcapi Cunalata, Iván Eric**

Autorizo a la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil a la **publicación** en la biblioteca de la institución el **Trabajo de Integración Curricular Prevalencia de Mycoplasma spp en cuatro especies de tortugas gigantes de un centro de crianza en la Isla Santa Cruz, Galápagos, mediante PCR**, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y total autoría.

Guayaquil, a los 18 del mes de febrero del año 2025

EL AUTOR:

f. _____
Guilcapi Cunalata, Iván Eric



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA**

CERTIFICADO DE COMPILATIO

La Dirección de la Carrera de Medicina Veterinaria revisó el Trabajo de Integración Curricular **Prevalencia de *Mycoplasma* spp. en cuatro especies de tortugas gigantes de un centro de crianza en la Isla Santa Cruz, Galápagos, mediante PCR**, presentado por el estudiante **Guilcapi Cunalata, Iván Eric**, donde obtuvo del programa COMPILATIO el valor de 0 % de coincidencias, considerando ser aprobada por esta dirección.

Fuente: Echeverría Alcívar, 2025

Certifican,

 CERTIFICADO DE ANÁLISIS magíster	Prevalencia de <i>Mycoplasma</i> spp. en cuatro especies de tortugas gigantes de un centro de crianza en la Isla Santa Cruz, Galápagos, mediante PCR	0% Textos sospechosos	0% Similitudes 0% similitudes entre comillas 0% entre las fuentes mencionadas 4% Idiomas no reconocidos (ignorados)
Nombre del documento: Prevalencia de Mycoplasma spp. en cuatro especies de tortugas gigantes de un centro de crianza en la Isla Santa Cruz, Galápagos, mediante PCR.docx ID del documento: 3a7ea2a81c03f0b14b56bd407a0017c0ce60c460 Tamaño del documento original: 2,33 MB Autores: []	Depositante: José Alberto Echeverría Alcívar Fecha de depósito: 16/2/2025 Tipo de carga: interface Fecha de fin de análisis: 16/2/2025	Número de palabras: 14.350 Número de caracteres: 92.215	

Dr. Echeverría Alcívar, José Alberto MSc.

TUTOR

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradezco a Dios por brindarme fortaleza y guía en cada paso de este camino.

A mis padres y hermanos, por su apoyo incondicional, amor y confianza, que han sido mi mayor motivación a lo largo de esta trayectoria.

Extiendo un agradecimiento especial al Parque Nacional Galápagos por abrirme las puertas y permitir el desarrollo de este trabajo, así como a la Agencia de Bioseguridad para Galápagos (ABG) y al Laboratorio Galápagos (LABGAL) por su colaboración y apoyo técnico.

Finalmente, mi gratitud a todas las personas que, de una u otra manera, han sido parte de este recorrido universitario, brindándome su conocimiento, compañía y aliento en cada etapa.

DEDICATORIA

A mis padres, por su amor incondicional, sacrificio y enseñanzas, que han sido la base de mi crecimiento personal y profesional. Gracias por ser mi inspiración y mi mayor apoyo en cada desafío.

A mis hermanos, por su compañía, ánimo y por compartir conmigo este camino. Su apoyo ha sido fundamental en cada etapa de mi formación.

A ustedes, con todo mi cariño y gratitud, dedico este logro.



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA**

TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

f. _____

Dr. Echeverría Alcívar, José Alberto MSc.

TUTOR

f. _____

Dra. Álvarez Castro, Fátima Patricia MSc.

DIRECTORA DE CARRERA

f. _____

Dra. Carvajal Capa, Melissa Joseth MSc.

COORDINADORA DE UTE



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA**

CALIFICACIÓN

f. _____

Dr. Echeverría Alcívar, José Alberto MSc.

TUTOR

ÍNDICE GENERAL

1	INTRODUCCIÓN	2
1.1	Objetivos	3
1.1.1	Objetivo general.	3
1.1.2	Objetivos específicos.	3
1.2	Hipótesis de investigación	3
2	MARCO TEÓRICO	4
2.1	Parque Nacional Galápagos: historia y biodiversidad únicas	4
2.2	Historia y evolución de las tortugas gigantes de Galápagos.	4
2.3	Centro de Crianza Fausto Llerena	6
2.4	Biología y ecología de tortugas gigantes de Galápagos	6
2.4.1	Taxonomía de la tortuga gigante de Galápagos.	7
2.4.2	<i>Chelonoidis donfasutoi</i>	7
2.4.3	<i>Chelonoidis hoodensis</i>	8
2.4.4	<i>Chelonoidis niger</i>	9
2.4.5	<i>Chelonoidis darwini</i>	9
2.5	Papel ecológico de la <i>Chelonoidis spp.</i> en su hábitat	10
2.5.1	Dispersión de semillas.	10
2.5.2	Modificación del hábitat.	11
2.5.3	Control de la vegetación.	11
2.5.4	Interacción con otras especies.	11
2.5.5	Amenazas actuales y esfuerzos de conservación.	11
2.5.5.1	Amenazas actuales.	12
2.5.5.2	Esfuerzos de conservación.	12
2.6	Distribución de las tortugas gigantes en Galápagos	13
2.7	Desarrollo y crecimiento desde la eclosión y la adultez	14
2.8	Tortugas en la repoblación y su vulnerabilidad	14
2.9	Estrés fisiológico en condiciones de cautiverio	15

2.10	Relación entre la edad y la salud en tortugas gigantes.....	15
2.11	Factores de riesgo y alimentación en la salud de fauna.....	16
2.12	<i>Mycoplasma</i> spp.....	16
2.12.1	Definición y etiología de <i>Mycoplasma</i>	16
2.12.2	Taxonomía de la especie.....	17
2.13	Mecanismos de transmisión y ciclo de vida del patógeno. .	18
2.13.1	Factores que predisponen a la infección en centros.....	18
2.13.2	<i>Mycoplasma</i> spp. en tortugas gigantes y otras especies.	19
2.13.3	Prevalencia de enfermedades en fauna silvestre.....	19
2.13.4	Importancia de la salud en la conservación de tortugas .	20
2.13.5	La salud parte integral de progrmas de conservación	20
2.13.6	Riesgos de patógenos en programas de crianza.....	20
2.14	Técnicas moleculares para la detección de micoplasma	21
2.14.1	PCR.....	21
2.14.2	PCR en tiempo real (qPCR).....	22
2.14.3	Secuenciación de ADN.....	22
2.14.4	Hibridación In Situ Fluorescente (FISH).....	22
2.14.5	Ensayo de Inmunoadsorción Ligado a Enzimas (ELISA).22	
2.14.6	Nested-PCR.....	23
2.15	Ventajas y limitaciones de las técnicas moleculares en el estudio de enfermedades infecciosas en fauna silvestre ...	23
2.15.1	Ventajas.....	23
2.15.2	Limitaciones.....	24
2.16	Estudios previos sobre <i>Mycoplasma</i> spp. en reptiles	24
3	MARCO METODOLÓGICO.....	26
3.1	Ubicación de la investigación.....	26
3.1.1	Características climáticas.....	26
3.2	Materiales	27
3.2.1	Materiales de campo.....	27
3.2.2	Materiales de laboratorio.....	28

3.3	Población y muestra de estudio	29
3.4	Tipo de estudio	29
3.4.1	Análisis estadísticos.....	29
3.5	Metodología	29
3.6	Recopilación y selección de la muestra.	30
3.6.1	Preparación de microtubos con reactivo de conservación. 31	
3.6.2	Recopilación de la muestra biológica.....	32
3.6.2.1	Toma de la muestra bucal.....	32
3.7	Extracción de ADN de muestra biológica en el laboratorio..	33
3.8	Nested-PCR.....	34
3.9	Variables	37
3.9.1	Variables dependientes.....	37
3.9.2	Variables independientes.	37
4	RESULTADOS	40
4.1	Identificación de la presencia de Mycoplasma spp	40
4.2	Determinación de la prevalencia de Mycoplasma spp.	42
4.2.1	Prueba chi cuadrado.	43
4.3	Evaluación de correlación entre M. spp. y otras variables..	46
4.3.1	Especie.	46
4.4	Estado del animal.	47
4.4.1	Signos de letargo.	47
4.4.2	Secreciones oculares.....	49
4.4.3	Secreción nasal.....	50
4.4.4	Estornudos frecuentes.	52
4.4.5	Dificultad respiratoria.	52
4.4.6	Edad.....	53
4.4.7	Hacinamiento y desechos sólidos en el corral.	55
4.4.8	Corral	55
4.4.9	Limpieza regular.....	58

4.4.10	Contacto con otras especies: Gatos y gallinas.....	59
4.4.11	Limpieza del alimento.	60
5	DISCUSIÓN	62
6	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	66
6.1	Conclusiones	66
6.2	Recomendaciones	66
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68
	ANEXOS	75

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Tortuga orientales de la Isla Santa Cruz (<i>Chelonoidis donfaustoi</i>)..	8
Figura 2	Tortuga gigante de la Isla Española.....	9
Figura 3	Tortuga gigante <i>Chelonoidis niger</i>	9
Figura 4	Tortuga gigante de Santiago (<i>Chelonoidis darwini</i>).....	10
Figura 5	Distribución de las 15 especies de tortugas de Galápagos incluyendo una imagen de su tipo morfológico en edad adulta endémicas	13
Figura 6	Ubicación geográfica del Centro de Crianza Fausto Llerena	26
Figura 7	Distribución de especies de tortugas en estudio	41
Figura 8	Distribución de la prevalencia de <i>Mycoplasma</i> spp. en tortugas del Centro de Crianza Fausto Llerena, Isla Santa Cruz, Galápagos ..	42
Figura 9	Distribución de resultados (positivo y negativo) de <i>Mycoplasma</i> spp. en tortugas según especie.....	43
Figura 10	Frecuencia de <i>Mycoplasma</i> spp. especies de tortugas en estudio	47
Figura 11	Correlación entre <i>Mycoplasma</i> spp. y signos de letargo en las tortugas.....	49
Figura 12	Correlación entre <i>Mycoplasma</i> spp. y secreciones oculares en las tortugas.....	50
Figura 13	Correlación entre <i>Mycoplasma</i> spp. y secreción nasal en tortugas	51
Figura 14	Prevalencia de <i>Mycoplasma</i> spp. por edad de tortugas gigantes	55
Figura 15	Frecuencia de <i>Mycoplasma</i> spp. según los corrales de estancia de las tortugas	58

Figura 16	Frecuencia de <i>Mycoplasma</i> spp. y el contacto con otras especies (gatos y gallinas).....	60
Figura 17	Prevalencia de <i>Mycoplasma</i> spp. y la limpieza del alimento que reciben las tortugas gigantes	61

INDICE DE TABLAS

Tabla 1	Clasificación taxonómica de la <i>Chelonoidis</i> spp	7
Tabla 2	Clasificación taxonómica de <i>Mycoplasma</i> spp	17
Tabla 3	Determinación del tamaño mínimo de muestra para la detección de infección en tortugas del centro de crianza	30
Tabla 4	Parámetros utilizados para determinar el tamaño de la muestra..	31
Tabla 5	Distribución de <i>Mycoplasma</i> spp. por especie mediante PCR	41
Tabla 6	Tabla de contingencia de resultados positivos y negativos de <i>Mycoplasma</i> spp. por especie.....	44
Tabla 7	Valores esperados bajo la hipótesis nula	44
Tabla 8	Tabla de contingencia para la correlación entre <i>Mycoplasma</i> spp. y la especie de las tortugas	47
Tabla 9	Tabla de contingencia para la correlación entre <i>Mycoplasma</i> spp. y signos de letargo en las tortugas	48
Tabla 10	Tabla de contingencia para la correlación entre <i>Mycoplasma</i> spp. y secreciones oculares en las tortugas	50
Tabla 11	Tabla de contingencia para la correlación entre <i>Mycoplasma</i> spp. y secreción nasal en las tortugas.....	51
Tabla 12	Tabla de contingencia para la correlación entre <i>Mycoplasma</i> spp. y estornudos frecuentes en las tortugas	52
Tabla 13	Tabla de contingencia para la correlación entre <i>Mycoplasma</i> spp. y dificultad respiratoria en las tortugas.....	53
Tabla 14	Tabla de contingencia para la correlación entre <i>Mycoplasma</i> spp. y la edad de las tortugas.....	54

Tabla 15	Tabla de contingencia para la correlación entre <i>Mycoplasma</i> spp. y el corral	56
Tabla 16	Tabla de contingencia para la correlación entre <i>Mycoplasma</i> spp. y el contacto con gatos y gallinas	59
Tabla 17	Tabla de contingencia para la correlación entre <i>Mycoplasma</i> spp. y la limpieza del alimento de las tortugas	61

RESUMEN

El estudio tuvo como objetivo determinar la prevalencia de *Mycoplasma* spp. en cuatro especies de tortugas (*C. donfaustoi*, *C. darwini*, *C. hoodensis* y *C. niger*) ubicadas en el Centro de Crianza Fausto Llerena, en la isla Santa Cruz, Galápagos. Para ello, se utilizaron muestras biológicas de hisopados bucales y se aplicó la técnica de PCR como método diagnóstico. Los resultados revelaron una prevalencia del **77.45 %**, siendo *C. donfaustoi* la especie con mayor prevalencia (86 %) y *C. niger* la de menor prevalencia (80 %). Se identificaron correlaciones significativas entre la prevalencia de *Mycoplasma* spp. y variables como la secreción ocular ($\chi^2=43.35$; $p<0.001$) y la limpieza del alimento ($\chi^2=6.68$; $p=0.0097$), mientras que variables como el contacto con otras especies y limpieza de corrales no mostraron asociaciones relevantes. Los hallazgos resaltan la importancia de las prácticas de bioseguridad en el manejo de las tortugas y sugieren la necesidad de monitorear continuamente su estado de salud, especialmente en cautiverio. Además, se recomienda la implementación de análisis genéticos adicionales para caracterizar las cepas de *Mycoplasma* spp. presentes y evaluar su impacto a largo plazo en las poblaciones que serán repatriadas. Este estudio contribuye al conocimiento epidemiológico del patógeno y al diseño de estrategias de manejo para la conservación de las tortugas gigantes de las Galápagos.

Palabras Clave: *Mycoplasma* spp., *Tortugas gigantes*, PCR, enfermedades, Galápagos

ABSTRACT

The present study was to determine the prevalence of *Mycoplasma* spp. in four species of turtles (*C. donfaustoi*, *C. darwini*, *C. hoodensis* and *C. niger*) located at the Fausto Llerena Breeding Center on Santa Cruz Island, Galapagos. For this purpose, biological samples from buccal swabs were used and the PCR technique was applied as a diagnostic method. The results revealed an overall prevalence of **77.45 %**, with *C. donfaustoi* being the species with the highest prevalence (86%) and *C. niger* the lowest prevalence 80%. Significant correlations were identified between the prevalence of *Mycoplasma* spp. and variables such as ocular discharge ($\chi^2=43.35$; $p<0.001$) and food cleanliness ($\chi^2=6.68$; $p=0.0097$), while variables such as contact with other species and overcrowding did not show relevant associations. The findings highlight the importance of biosecurity practices in the management of tortoises and suggest the need to continuously monitor their health status, especially in captivity. Furthermore, the implementation of additional genetic analyses is recommended to characterize the *Mycoplasma* spp. strains present and evaluate their long-term impact on populations to be repatriated. This study contributes to the epidemiological knowledge of the pathogen and to the design of management strategies for the conservation of Galapagos giant tortoises.

Keywords: *Mycoplasma* spp., *Giant tortoises*, *PCR*, *diseases*, *Galápagos*

1 INTRODUCCIÓN

En las Islas Galápagos se localiza un tesoro natural, es exclusiva ya que consta con una biodiversidad singular que cautivó a cientos de científicos y viajeros durante décadas. Estas islas, ubicadas en el Océano Pacífico, constituyen un área nacional protegida y considerada Patrimonio Natural de la Humanidad. En ese sentido, las Islas Galápagos acogen una diversidad de especies nativas, epidemiales, por lo tanto, estas especies normalmente no se encuentran en ninguna otra parte del mundo; un ejemplo de ello es la tortuga gigante, cuya conservación no solo es crucial para mantener la biodiversidad.

Sin embargo, debido a la introducción de patógenos infecciosos, los animales que se encuentran en cautiverio y en áreas protegidas suelen ser vulnerables a contraer enfermedades. En la actualidad las tortugas enfrentan numerosas amenazas, muchas veces enlazadas a los intercambios antropogénicos que perjudican a sus ecosistemas y a su vez provocando un impacto relativo a su ecología, su fisiología y por último a el estado de salud.

En el caso de la micoplasmosis, esta es una enfermedad bacteriana causada por especies del género *Mycoplasma* spp., que se asocia con otros del tracto respiratorio y a reptiles, incluidas las tortugas gigantes. De esa manera, la identificación y el monitoreo de enfermedades como la micoplasmosis son esenciales para la conservación de estas especies; ante esto, el uso de técnicas como la de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ha demostrado ser una herramienta para la detección y el control de esta enfermedad en poblaciones de tortugas gigantes.

Es así como el Centro de Crianza, un lugar que brinda a todos los visitantes la opción de conocer y aprender sobre cómo se conlleva el trabajo arduo de la conservación de estas especies endémicas de las Islas Galápagos, busca cumplir con el programa de cría en cautividad para posteriormente repoblar zonas afectadas, ya sea por las especies introducidas o los cambios antropogénicos.

Finalmente, el presente estudio busca determinar la prevalencia de *Mycoplasma* spp. en cuatro especies de tortugas gigantes ubicadas en el Centro de Crianza Fausto Llerena; por medio de la técnica de PCR.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo general.

Determinar la prevalencia de *Mycoplasma* spp. en cuatro especies de tortugas gigantes (*Chelonoidis donfaustoi*, *Chelonoidis darwini*, *Chelonoidis hoodensis* y *Chelonoidis niger*) ubicadas en el Centro de Crianza Fausto Llerena, en la Isla Santa Cruz, Galápagos, mediante PCR.

1.1.2 Objetivos específicos.

- Identificar la presencia de *Mycoplasma* spp. mediante la técnica de PCR en muestras biológicas de hisopados bucales de cuatro especies de tortugas gigantes (*Chelonoidis donfaustoi*, *Chelonoidis darwini*, *Chelonoidis hoodensis* y *Chelonoidis niger*) del Centro de Crianza Fausto Llerena en la Isla Santa Cruz, Galápagos.
- Determinar la prevalencia de *Mycoplasma* spp. en la población de tortugas gigantes de las especies *Chelonoidis donfaustoi*, *Chelonoidis darwini*, *Chelonoidis hoodensis* y *Chelonoidis niger*, ubicadas en el Centro de Crianza Fausto Llerena, mediante PCR.
- Evaluar la correlación entre la prevalencia de *Mycoplasma* spp. con otras variables en las poblaciones de *Chelonoidis donfaustoi*, *Chelonoidis darwini*, *Chelonoidis hoodensis* y *Chelonoidis niger*.

1.2 Hipótesis de investigación

- Hipótesis nula (H_0): La prevalencia de *Mycoplasma* spp. no difiere significativamente entre las especies.
- Hipótesis alternativa (H_a): La prevalencia de *Mycoplasma* spp. difiere significativamente entre las especies.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Parque Nacional Galápagos: historia y biodiversidad única.

La biodiversidad de las Islas Galápagos es excepcional, con más de 45 especies de aves endémicas, 42 de reptiles endémicos, 15 de mamíferos que habitan el archipiélago. Esta riqueza biológica, junto con su importancia histórica para el desarrollo de la teoría de la evolución, convierte al Parque Nacional Galápagos en un sitio de relevancia mundial para la ciencia y la conservación (Rivera y Mendoza, 2022).

El Parque Nacional Galápagos, fundado de manera oficial en 1959, este engloba alrededor de 8006 km², esto corresponde al 97 % de superficie terrestre de las islas Galapagos. Este sitio fue creado con la necesidad de preservar el entorno natural característico de la zona, que se dio a cabo por los analizados realizados por Charles Darwin en su histórico viaje a las islas en 1835, esto sentó un precedente para la protección y mantenimiento del medioambiente en el mundo (Cruz, 2019).

El archipiélago, esta está conformado por un conjunto de 19 islas mayores y alrededor de 200 islotes y rocas, por lo que en total hay un área de 8010 km² dispersos en alrededor de 70 000 km² de masa de agua oceánica. Además, se cuenta con una superficie terrestre de 788 220 has; y, de estas, el 96.7 % constituyen el parque nacional y el 3.3 % forman la zona poblada con áreas urbanas y rurales, donde incluso se desarrollan actividades agropecuarias (Rivera y Mendoza, 2022).

2.2 Historia y evolución de las tortugas gigantes de las Galápagos

Las tortugas de las Galápagos son especies emblemáticas del archipiélago, con una historia evolutiva que se remonta a millones de años (Wauters et al., 2018). Originadas de tortugas que fueron arrastradas por corrientes marinas, estas criaturas encontraron en las Galápagos un hábitat ideal para evolucionar, con lo que desarrollaron características adaptadas a las condiciones específicas de cada isla. Por tanto, se estima que estas

tortugas llegaron al archipiélago hace unos 3 o 4 millones de años (Garrick et al., 2012).

Durante mucho tiempo, las tortugas se diversificaron en varias especies, al adaptarse a condiciones ambientales de cada isla. Tales adaptaciones incluyeron cambios en la forma del caparazón, lo que les permitió a algunas tortugas acceder mejor a la vegetación baja, mientras que otras podían alcanzar la vegetación más alta (Wauters et al., 2018). De ese modo, la morfología entre los quelonios de diferentes islas subraya la capacidad de estas tortugas para adaptarse a sus entornos específicos (Hennessy, 2015).

Por otro lado, la llegada de los humanos a las Galápagos tuvo un impacto devastador en las poblaciones de tortugas: la explotación por parte de marineros y colonos, quienes las cazaban por su carne y aceite, además de la introducción de especies invasoras (ratas, gatos y cabras), llevó a un drástico declive en su número (Hennessy, 2020). Se estima que, entre los siglos XVII y XIX, más de 100 000 tortugas fueron capturadas para uso humano (Poulakakis et al., 2015).

A pesar de estos desafíos, los esfuerzos de conservación en las últimas décadas han ayudado a recuperar las poblaciones de tortugas en varias islas. Programas de crianza en cautiverio, junto con la erradicación de especies invasoras, han permitido la reintroducción de cientos de tortugas a sus entornos nativos. Así, desde el inicio del programa en el Centro de crianza de la Isla Santa Cruz en 1965, se han liberado más de 7000 tortugas juveniles en sus hábitats naturales (Watson et al., 2014).

En consecuencia, se puede afirmar que la historia evolutiva de las tortugas gigantes de las Galápagos refleja la resiliencia de esta especie y la importancia de la intervención humana positiva para su preservación. Asimismo, a medida que continúan los estudios genéticos, se descubre más sobre la adaptación y la evolución de las tortugas, lo que proporciona información crucial para su conservación a largo plazo (Pike et al., 2022).

2.3 Centro de Crianza Fausto Llerena, una sociedad importante para la recuperación de las poblaciones amenazadas

El Centro de Crianza Fausto Llerena, encontrado en la Isla Santa Cruz, cumple un rol importante en la restauración de las tortugas en esta zona insular. A partir de su creación en 1965, se han llevado a cabo acciones para conservar y criar a estos animales, posibilitando su reincorporación en los entornos propios de esta especie. Este esfuerzo ha sido clave para restaurar las poblaciones diezmadas por actividades humanas y especies introducidas (Ministerio del Ambiente del Ecuador, 2020).

Al respecto, el proceso de crianza incluye la incubación artificial de huevos, el cuidado de neonatos y juveniles, y la posterior liberación en la naturaleza. Por ese motivo, las tortugas permanecen en el centro hasta una edad y un tamaño que les permitan sobrevivir por sí mismas en su entorno natural, generalmente entre 2 y 3 años. Esto ha demostrado ser efectivo para la recuperación de especies como *Chelonoidis hoodensis* de la Isla Española, cuya población ha aumentado gracias a estos programas de conservación (Ministerio del Ambiente del Ecuador, 2020).

En suma, además de su labor en la reproducción y la crianza, el Centro de Crianza Fausto Llerena sirve como un espacio educativo y de investigación. Allí los visitantes pueden aprender sobre la importancia de las tortugas en el ecosistema de las Galápagos y las amenazas que enfrentan (Gobierno Autónomo Descentralizado del Parque Nacional Galápagos, 2019).

2.4 Biología y ecología de las tortugas gigantes de las Galápagos

Resulta elemental ahondar en la epistemología de esta especie, dado que permite establecer un balance ecosistémico de esta región. Se ha documentado que la tortuga galápagos posee el tamaño más grande con el índice de vida más longevo en el planeta Tierra (Fundación Charles Darwin, 2021).

Entre las particularidades más sobresalientes se encuentra su cráneo con un volumen notable, cuya extensión del hocico cóndilo es de 132 mm;

asimismo, la extensión del caparazón en línea media podría aproximarse a los 960 mm. Cabe resaltar que su caparazón abovedado les proporciona una protección adicional frente a los depredadores, y sus extremidades fuertes están especialmente adaptadas para soportar su peso (Nation et al., 2020).

El patrón de estas tortugas se ve fuertemente influenciado por la calidad del forraje disponible. La productividad de la vegetación en las tierras altas del archipiélago es relativamente constante durante todo el año, lo que les permite a las tortugas aprovechar la abundancia de alimento de calidad (Jacobson et al., 2014).

2.4.1 Taxonomía de la tortuga gigante de las Galápagos.

Tabla 1

Clasificación taxonómica de la Chelonoidis spp

Reino	Animalia
Filo	Chordata
Clase	Reptilia
Orden	Testudines
Suborden	Cryptodira
Familia	Testudinidae
Género	<i>Chelonoidis</i>

Nota. Adaptado de Pillajo (2020)

El género *Chelonoidis* acoge a las tortugas terrestres de las Islas Galápagos y América del Sur. Por otro lado, las distinciones categóricas entre los diversos ejemplares de tortugas gigantes de galápagos se cimentan en particularidades físicas del caparazón. Sobre esto, investigaciones genéticas han sido cruciales para entender la evolución y la diferenciación de estas especies durante miles de décadas. Dicho esto, se detallan brevemente las especies de tortugas bajo estudio (Pillajo, 2020).

2.4.2 *Chelonoidis donfasutoi*.

Las tortugas de la Santa Cruz, las *Chelonoidis donfaustoi*, se encuentran al este, en un lugar conocido como Cerro Fatal, entre 50 y 450 m

de elevación. Ambas especies, *Chelonoidis donfaustoi*, son migrantes estacionales a lo largo de las gradientes de elevación, y la hembra de cada especie utilizan áreas de anidación permanentes situadas en diferentes elevaciones (Galapagos Conservancy, 2023). Además, estas especies son del morfotipo domado, con hembras que pesan hasta 120 kg y machos que ocasionalmente superan los 260 kg (Nieto et al., 2019).

Figura 1

Tortuga orientales de la Isla Santa Cruz (Chelonoidis donfaustoi)



Nota. Adaptado de Revelando los enigmas migratorios de las tortugas gigantes de Galápagos [Fotografía], por Galapagos Conservancy, 2023, (<https://www.galapagos.org/noticias/estudio-historico-tortugas-gigantes/?lang=es>)

2.4.3 *Chelonoidis hoodensis*.

La tortuga de la Isla Española es una especie en peligro crítico, que alguna vez contó con miles de individuos, pero que se redujo a solo 15 individuos en 1960 debido a la explotación de tortugas en todo el archipiélago. Entre 1963 y 1974, todos los sobrevivientes (12 hembras y 3 machos) se llevaron a cautiverio; y, hasta la fecha, >1500 de sus crías en cautiverio se han liberado en la Isla Española (Blake et al., 2014).

Figura 2

Tortuga gigante de la Isla Española



Nota. Adaptado de *Reptiles del Ecuador*, por Pontificia Universidad Católica del Ecuador [Fotografía], 2024, (<https://bioweb.bio/faunaweb/reptiliaweb/>)

2.4.4 *Chelonoidis niger*.

Chelonoidis niger ha estado disminuyendo durante el último millón de años, y las causas de la extinción incluyen su sobreexplotación para la alimentación por parte de marineros. La *C. niger* fue la única especie de tortuga gigante conocida en la Isla Floreana, y esta era reconocible por su caparazón fuertemente ensillado.

Figura 3

Tortuga gigante Chelonoidis niger



Nota. Adaptado de *Reptiles del Ecuador*, por PUCE, [Fotografía] 2024, (<https://bioweb.bio/faunaweb/reptiliaweb/>)

2.4.5 *Chelonoidis darwini*.

Chelonoidis darwini es una especie que habita en diversos ecosistemas de la Isla Santiago, como en bosques y pastizales húmedos. Su dieta consiste

en cactus, hierbas y pastos, y obtiene el agua de su alimento y de pozas temporales, lo que le permite sobrevivir hasta seis meses sin beber. Durante su vida, los juveniles permanecen en tierras bajas cálidas, mientras que los adultos se desplazan a las elevaciones (Arteaga, 2020).

Figura 4

Tortuga gigante de Santiago (Chelonoidis darwini)



Nota. Adaptado de *Reptiles del Ecuador*, por PUCE, [Fotografía], 2024, (<https://bioweb.bio/faunaweb/reptiliaweb/>)

2.5 Papel ecológico de la *Chelonoidis* spp en su hábitat

La *Chelonoidis* spp. también conocida como la tortuga gigante de las Galápagos, desempeña un papel crucial en el ecosistema de las Islas Galápagos. En tal sentido, su incidencia en su entorno natural es polifacética, lo que tiene un impacto en la flora, las condiciones de la tierra y la correspondencia con otros animales (Cano, 2018).

2.5.1 Dispersión de semillas.

Las tortugas aportan a la difusión de semillas mediante el consumo frutas y hierbas, por lo que más tarde las excretan en diferentes zonas. Como resultado, este proceso beneficia la formación y regeneración vegetal, lo que posibilita la proliferación de especies en recorridos extensos (Tapia, 2024).

2.5.2 Modificación del hábitat.

Estos animales condicionan de forma física su entorno natural. Toda vez que se desplazan por la zona, forman caminos que permiten el paso de otros animales. Asimismo, cuando excavan, estos modifican las condiciones de la tierra, beneficiando a la flora y otras especies. Así, se forman nuevos microhábitats, favoreciendo a insectos, entre otros (Zacarías et al., 2016).

2.5.3 Control de la vegetación.

Mediante la ingesta de alimentos, la tortuga gigante posibilita el control de la flora, dado que impide el incremento plantas. Esta intervención crea un balance en el ecosistema e impide el dominio de unas plantas sobre otras. No obstante, la eliminación de vegetación excesiva también reduce el riesgo de incendios forestales, lo que protege tanto a las tortugas. (Emmel et al., 2021).

2.5.4 Interacción con otras especies.

La concurrencia de estos animales en los islotes incide en las formas de interacción. En esa medida, los herbívoros se benefician de las hojas y especies vegetales que las tortugas dejan en el camino. Los pájaros elaboran sus nidos en los lugares que despejan estos quelonios a su paso, resaltan la importancia de esta especie como constructores (Nieto et al., 2019).

2.5.5 Amenazas actuales y esfuerzos de conservación.

La *Chelonoidis* spp. como otras especies de tortugas gigantes de las Galápagos, enfrenta numerosas amenazas que ponen en peligro su supervivencia. Estos elementos tienen actividades humanas que tienen incidencia en sus poblaciones. Empero, se han impulsado trabajos de preservación para disminuir estas amenazas y salvaguardar a estos animales (Galosi et al., 2023).

2.5.5.1 Riesgos actuales.

- **Especies invasoras:** los animales invasivos, como gatos, ratas y perros, afectan notablemente a las tortugas gigantes al devorar sus huevos y crías, lo que disminuye la supervivencia (Cano, 2018).
- **Cambio climático:** las modificaciones en los patrones ambientales malogran la obtención de alimentos y las zonas de gestación. El incremento de las temperaturas puede afectar el ritmo del sexo en las crías de tortuga (Watson et al., 2014).
- **Pérdida de hábitat:** las actividades humanas, como la agricultura y el desarrollo urbano, ha llevado a la destrucción y la fragmentación de los hábitats naturales de las tortugas. Esto limita el espacio disponible para la alimentación y la anidación (Cano, 2018).

2.5.5.2 Esfuerzos de conservación.

- **Programas de crianza en cautiverio:** desde 1965, el Centro de Crianza de tortugas criado y liberado más de 7000 tortugas juveniles en sus hábitats naturales (Wauters et al., 2018).
- **Protección de hábitats:** la ampliación de zonas resguardadas es elementales para la preservación de las tortugas, dado que les proporcionan un hogar confiable para alimentarse (Pike et al., 2022).
- **Erradicación de especies invasoras:** se ejecutan programas de exterminación de roedores, la expulsión de gatos y cabras en distintas islas, con el fin de salvaguardar los moradas y crías de tortugas. (Wauters et al., 2018).
- **Monitoreo e investigación:** crean programas de monitoreo regular con el fin de evaluar los aspectos esenciales de estos animales. El estudio, desde el ámbito ecológico y genético, brinda datos significativos para tratar a estos animales (Pike et al., 2022).

2.6 Distribución de las tortugas gigantes en las Galápagos

Las tortugas distribuidas en todos los continentes, excepto en Australia y la Antártida, antes y durante el Pleistoceno. Ahora, extintas de grandes masas de tierra, las tortugas gigantes han persistido a través de tiempos históricos solo en islas oceánicas remotas: las Islas Galápagos (Pike et al., 2022). Dentro del archipiélago, se han reconocido hasta 15 subespecies de tortugas de Galápagos, aunque solo 11 sobreviven hasta el presente: 6 de ellas se encuentran en islas separadas, y 5 se encuentran en las laderas de los cinco volcanes de la isla más grande, la Isla Isabela (Caccone et al., 1999).

Por otra parte, en la Isla Santa Cruz, las tortugas gigantes *C. porteri* y *C. donfasutoi* migran de las tierras bajas a las altas durante la estación fría y seca (Pike et al., 2022). Sin embargo, en lo que respecta a las tortugas gigantes del oeste de la Isla Santa Cruz en peligro crítico de extinción, se debe señalar que al menos el 88 % del hábitat en las tierras altas ahora se utiliza para la agricultura (Pike et al., 2024).

Figura 5

Distribución de las 15 especies de tortugas de las Galápagos, incluyendo una imagen real de su tipo morfológico en la edad adulta endémicas



Nota. Adaptado de Distribución de las 15 especies de tortugas de las Galápagos, incluyendo una imagen real de su tipo morfológico en la edad adulta [Fotografía] por Galapagos giant tortoises, 2021 (<https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=338061>)

2.7 Desarrollo y crecimiento desde la eclosión hasta la adultez

Este tipo de animales es poseedor de una progresión importante desde su nacimiento hasta su periodo de adultez. Asimismo, su conducta varía de conformidad con los años: las crías se mantienen en zonas seguras con exuberante vegetación; en cambio, los adultos migran de manera estacional para buscar alimentación y espacios para gestar, acoplándose a los recursos y las condiciones climáticas para su supervivencia (Galapagos Conservancy, 2023). Finalmente, entre los 20 y 25 años, las tortugas gigantes de las Galápagos maduran en términos sexuales, donde inicia su etapa reproductiva. Su duración, superando los cien años, les brinda la oportunidad de procrearse por un tiempo prolongado. De esta manera, se cuida el balance de sus grupos (National Geographic, 2022).

2.8 Importancia de los juveniles en la repoblación y su vulnerabilidad a enfermedades

Los más jóvenes cumplen funciones elementales en los programas centrados en repoblar la comunidad. Por ende, son los garantizadores del desarrollo de generaciones futuras en los islotes. De ese modo, su liberación en hábitats naturales, una vez que alcanzan un tamaño que les permite sobrevivir por sí mismos, contribuye significativamente a la restauración de las especies y al equilibrio de los ecosistemas locales (Ministerio del Ambiente, 2023).

Sin embargo, estos juveniles son particularmente vulnerables a diversas amenazas, y las enfermedades infecciosas están entre las más preocupantes. Investigaciones recientes han identificado la presencia de herpesvirus y adenovirus en tortugas gigantes de las Galápagos, patógenos que pueden causar enfermedades y mortalidad en reptiles a nivel mundial (Fundación Charles Darwin, 2021).

La introducción de estos virus en las poblaciones de tortugas de las Galápagos se atribuye, en parte, a las actividades humanas, como la ganadería y la agricultura, que facilitan la transmisión de patógenos. Además,

se ha detectado la presencia de bacterias resistentes a los antibióticos en las tortugas, lo que complica aún más su manejo sanitario y pone en riesgo su salud y la de los ecosistemas que habitan (Fundación Charles Darwin, 2021).

Con el objeto de disminuir estas amenazas, resulta fundamental aplicar regulaciones de bioseguridad en proyectos de repoblación, lo que incluye intervención y monitoreo veterinario riguroso previo a la liberación de las tortugas jóvenes. Del mismo modo, se debe revisar el estado de salud de forma continua hacia las tortugas que se reincorporaron y estar al tanto de las acciones de las personas que puedan llevar enfermedades a estos entornos (Giant Tortoise Movement Ecology Program, 2020b).

2.9 Estrés fisiológico en condiciones de cautiverio y su influencia en la inmunidad

Esta condición supone un reto para la integridad de estos animales. Este se materializa mediante la propagación de glucocorticoides, como el cortisol, elementales para controlar el estrés en periodo inmediato (Galapagos Conservancy, 2023).

De igual forma, en estos entornos, las enfermedades se propagan más rápidamente, puesto que los individuos comparten espacio y recursos. Bacterias como *Mycoplasma* spp, que afectan el tracto respiratorio, son una amenaza frecuente. (Fournier et al., 2020).

En consecuencia, para mitigar estos efectos adversos del estrés en las tortugas gigantes, es fundamental implementar medidas que reduzcan su estrés. Sin embargo, se deben establecer hábitats en sujeción que mimeticen los elementos concernientes al entorno (Galapagos Conservancy, 2023).

2.10 Relación entre la edad y la salud en tortugas gigantes

Las crías y juveniles tienen una vulnerabilidad mucho más significativa ante los depredadores y las patologías. No obstante, cuando maduran, su fuerza incrementa y migran para encontrar condiciones alimentarias más adecuadas a su fisiología (Galapagos Conservancy, 2023).

Sin embargo, en sus años de vejez, estos animales pueden presentar un detrimento en la salud, por lo que algunos presentan inconvenientes para desplazarse, su caparazón comienza a deteriorarse y su digestión ya no está efectiva. Por ende, es importante llevar un control de estas especies (Giant Tortoise Movement Ecology Program, 2020b).

2.11 Factores de riesgo y alimentación en la salud de fauna en cautiverio

El correcto alimento se considera elemental para los animales en cautiverio, dado que una dieta inapropiada puede provocar patologías. De esa manera, es esencial proporcionar una alimentación equilibrada que satisfaga las necesidades de cada especie (Miñana-Morant y Ponce-Gordo, 2018).

Además de la dieta, otros factores de riesgo incluyen el estrés ambiental, la falta de enriquecimiento y las condiciones de hacinamiento. Asimismo, el estrés crónico puede debilitar el sistema inmunológico. Por ende, se deben aplicar acciones que disminuyan el estrés: brindar entornos eficientes (Salamanca-Vargas, 2022).

En último lugar, correspondencia entre las formas de alimentar a estas especies y otros elementos merece una atención particular. En tal sentido, una mala alimentación puede producir estrés y los entornos en mal estado inciden en la obtención de patrones negativos de alimentación. Así, un enfoque holístico en el manejo de la fauna en cautiverio, que aborde tanto la nutrición como el bienestar general, es esencial para mantener la salud y la longevidad de los animales bajo cuidado humano (Miñana-Morant y Ponce-Gordo, 2018).

2.12 *Mycoplasma* spp.

2.12.1 Definición y etiología de *Mycoplasma*.

Micoplasmosis es una enfermedad infecciosa causada por bacterias del género *Mycoplasma* spp., que afecta principalmente las vías respiratorias de varios reptiles. Esta patología tiene la particularidad de provocar

infecciones respiratorias de considerable gravedad, lo que conduce a la muerte en muchos casos (Luzuriaga-Neira et al., 2021).

La causa de la micoplasmosis supone la introducción de las bacterias en el animal. De esta manera, se incrustan en la estructura celular epitelial del tracto respiratorio, causando una hinchazón y falla tisular (Vandekerckove, 2023).

La infección por *Mycoplasma* spp. en tortugas gigantes puede manifestarse con signos clínicos, que van desde casos subclínicos hasta cuadros graves de enfermedad respiratoria. Entre los signos más comunes se encuentran la descarga nasal, estornudos, letargo y dificultad respiratoria. Además, la inflamación del tracto respiratorio superior puede generar daño en los tejidos y predisponer a infecciones secundarias oportunistas (Vandekerckove, 2023).

Estos signos clínicos pueden variar según la especie, la edad y el estado inmunológico del individuo, lo que resalta la importancia de evaluar y verificar la condición clínica de cada tortuga afectada, llevando un registro para un adecuado manejo y tratamiento de cada quelonio analizado (Vandekerckove, 2023).

2.12.2 Taxonomía de la especie.

Tabla 2

Clasificación taxonómica de Mycoplasma spp.

Reino	Animalia
Phylum	Tenericutes
Clase I	Mollicutes
Orden I	Mycoplasmatales
Familia	Mycoplasmataceae
Género	Mycoplasma
Especies	<i>agassizii - testudineum</i>

Nota. Adaptado de Razin y Barile (2013)

2.13 Mecanismos de transmisión y ciclo de vida del patógeno.

La micoplasmosis se transmite a través del contacto directo entre individuos infectados y no infectados, el cual puede ocurrir durante interacciones sociales, como el apareamiento o el comportamiento territorial, o a través del contacto con superficies contaminadas en el ambiente y el agua compartida. Del mismo modo, la propagación indirecta se puede presentar toda vez que las tortugas sanas se relacionan con las cosas o zonas infectadas por tortugas contagiadas (Vandekerckove, 2023).

Por otro lado, el ciclo de vida de *Mycoplasma spp.* inicia con su adherencia a las células epiteliales del tracto respiratorio a través tejidos especializados. Acto seguido, expulsa enzimas y toxinas que malogran el tejido, lo que facilita la propagación y el avance de la patología. En el huésped, *Mycoplasma spp.* imposibilita la respuesta inmune mediante acciones como la variación antigénica y la generación de proteínas inhibidoras. Además, la bacteria puede formar biofilms, estructuras protectoras que aumentan su resistencia a los antibióticos y la defensa inmunológica (Luzuriaga-Neira et al., 2021).

Finalmente, el ciclo de vida del *Mycoplasma spp.* también incluye una fase de replicación activa y una fase latente. Durante la primera, la bacteria se multiplica rápidamente, al aumentar la carga bacteriana en el huésped y la probabilidad de transmisión a otros individuos. En la fase latente, la bacteria tiene la capacidad de permanecer en el animal de una forma asintomática, posibilitando la propagación subclínica y la diseminación del contagio en la población (Jacobson et al., 2023).

2.13.1 Factores que predisponen a la infección en centros de crianza.

En estos lugares, la ausencia de limpieza, los altos grados de estrés y el abarrotamiento causan daño en el sistema inmunológico, lo que incrementa la infección. Asimismo, la incorporación de animales nuevos sin recibir una

supervisión durante periodos podría inducir a la difusión de virus y bacterias (Martínez y Soler, 2024).

En lo que concierne a la calidad del agua y la alimentación, estas también desempeñan un papel esencial para la salud de los reptiles en cautiverio, pues el agua contaminada y una dieta deficiente pueden predisponer a las tortugas a infecciones bacterianas y parasitarias. Por lo tanto, implementar prácticas de manejo adecuadas, el mantenimiento de condiciones ambientales óptimas y la aplicación de protocolos de bioseguridad para minimizar la incidencia de enfermedades en estos entornos controlados (Divers, 2020).

2.13.2 *Mycoplasma* spp. en tortugas gigantes y otras especies de reptiles.

Los contagios por *Mycoplasma* spp. suponen un inconveniente en la salud de las tortugas gigantes y otros reptiles. Toda vez que carecen de pared celular, se escabullen del sistema inmunológico y son resistentes a distintos antibióticos. En tortugas, se vinculan con patologías respiratorias más graves, provocando síntomas como flujo nasal, estornudos y aletargamiento (Nieto, 2022).

2.13.3 Prevalencia de enfermedades en fauna silvestre.

Cuando se pierde la biodiversidad se pone en riesgo la salud, dado que los animales silvestres son elementales para el balance de los ecosistemas. En esa medida, la difusión de patologías zoonóticas subraya el interés de plantear estrategias para prevenir problemas de salud pública y los entornos ambientales (Ulloa, 2012).

Los reptiles pueden ser almacenadores de parásitos que malogran su salud; por lo tanto, la supervisión de estos resulta elemental para evitar infecciones a otros animales, incluyendo a los seres humanos. Así, los estudios constantes se consideran capitales para contrarrestar estas amenazas (Nieto, 2022).

2.13.4 Importancia de la salud en la conservación de tortugas gigantes.

La salud de las tortugas gigantes es fundamental para su conservación efectiva. Un estado de salud óptimo permite a estos reptiles reproducirse y sobrevivir en su entorno natural, con lo que se contribuye al equilibrio ecológico de las Islas Galápagos. Además, las tortugas actúan como "centinelas" del ecosistema, al proporcionar información sobre la salud general del medioambiente que habitan (Giant Tortoise Movement Ecology Program, 2020b).

Con respecto a los programas de crianza de tortugas, estos conllevan riesgos asociados a la introducción de patógenos en las poblaciones silvestres. Las tortugas criadas en cautiverio están expuestas a enfermedades no presentes en su hábitat natural, lo que constituye una amenaza al ser estas liberadas (Fundación Charles Darwin, 2021).

2.13.5 La salud como parte integral de los programas de conservación.

Tener en cuenta la salud de los animales en estos programas se estima capital en función de su supervivencia. De esta manera, para las tortugas en estudio, estar al tanto de su condición facilita la identificación de amenazas, permitiendo formas de tratamiento adecuado y oportuno (Fundación Charles Darwin, 2021).

De otra parte, la implementación de protocolos de salud en los programas de conservación incluye evaluaciones periódicas, tratamientos preventivos y gestión de factores de estrés. (Galapagos Conservancy, 2023).

2.13.6 Riesgos de patógenos en programas de crianza y liberación.

Estos programas, si bien son elementales para la restauración de poblaciones, también suponen amenazas importantes vinculadas con la inmersión de entes contagiosos en la comunidad silvestre. En ese sentido, las

tortugas que se crían en hábitats intervenidos pueden estar vulnerables a patologías no presentes en su hábitat natural (Blake et al., 2014).

Por ello, para mitigar estos riesgos, es fundamental implementar protocolos de cuarentena antes de la liberación. Estas medidas incluyen pruebas diagnósticas y medidas de bioseguridad para detectar patógenos. (Fournier et al., 2020).

2.14 Técnicas moleculares para la detección de micoplasma: PCR como herramienta

Los métodos moleculares han innovado el diagnóstico microbiológico y, a pesar de su cuantioso costo, este representa una interesante opción ante los métodos convencionales, debido a su presteza y su prominente sensibilidad y especificidad. La PCR reproduce *in vitro* el desarrollo fisiológico de la duplicación del ADN en las células, con lo que se amplifica notablemente una secuencia específica de ADN bacteriano (Muñoz, 2024).

2.14.1 PCR.

La PCR es una técnica ampliamente utilizada para detectar micoplasma en muestras clínicas. Esta metodología amplifica secuencias específicas del ADN del patógeno, lo que permite su identificación incluso en muestras con una baja carga bacteriana. La PCR se caracteriza por su alta sensibilidad y especificidad, lo que la convierte en una herramienta valiosa para el diagnóstico (Urbina et al., 2021).

Adicionalmente, esta técnica es una de las herramientas de biología molecular más innovadoras para el estudio de los ácidos nucleicos; se caracteriza por ser un método de alta sensibilidad y especificidad, que obtiene resultados fiables para posteriores análisis en poco tiempo. Actualmente, la PCR se centra en registrar una serie particular de ADN blanco a través de una catálisis efectuada por una enzima denominada ADN polimerasa (Tamay de Dios et al., 2013).

2.14.2 PCR en tiempo real (qPCR).

La qPCR, una variante de la PCR convencional posibilita medir el ADN en un periodo inmediato y simultáneo. Esto se considera pertinente, dado que posibilita valorar la carga bacteriana en tortugas contagiada y supervisar la patología. La prontitud en los hallazgos permite decisiones oportunas en programas de conservación (Serrato et al., 2014).

2.14.3 Secuenciación de ADN.

La secuenciación de ADN alude a un recurso molecular, el cual posibilita identificar y categorizar el *Mycoplasma spp.* al establecer la serie precisa de nucleótidos. Más allá de precisar el patógeno, posibilita el análisis de su variabilidad genética y progresión (Urbina et al., 2021).

2.14.4 Hibridación In Situ Fluorescente (FISH).

El recurso FISH utiliza sondas de ADN con fluorocromos que se mezclan con series precisas de *Mycoplasma spp.* en muestras clínicas, lo que posibilita su ilustración en células del huésped a través de microscopía de fluorescencia. Por lo tanto, la FISH es especialmente útil para estudiar la distribución y la localización del patógeno en los tejidos infectados (Lavaut et al., 2016).

2.14.5 Ensayo de Inmunoadsorción Ligado a Enzimas (ELISA).

Aunque no es una técnica molecular en el sentido estricto, el ELISA se utiliza comúnmente en combinación con técnicas moleculares para detectar la presencia de anticuerpos específicos contra el *Mycoplasma* en el suero de las tortugas. Este método permite inferir la exposición previa al patógeno y es útil para estudios epidemiológicos y de vigilancia de enfermedades (Organización Mundial de Sanidad Animal [OIE], 2021).

2.14.6 Nested-PCR.

La PCR anidada es un test que supone el empleo de dos series de cebadores en dos realizaciones de PCR seguidas; la segunda se creó para potenciar el resultado del primer test, el cual presenta un nivel de diagnóstico más sensible que la PCR tradicional (Panei et al., 2024).

La PCR anidada optimiza la identificación de ADN, dado que se llevan a cabo dos rondas de amplificación. Esto merma los falsos positivos y eleva la sensibilidad. Esto es crucial para muestras que tienen un nivel de carga bacteriana menor (Murray et al., 2004).

Aunque algunos estudios han utilizado pruebas RT-PCR en el punto de atención en muestras animales, su viabilidad en estudios de población es baja debido a los altos costos. En este contexto, el uso de ensayos de PCR anidados validados facilitará el seguimiento de muestreos de animales a gran escala, reducirá costos y mejorará la sensibilidad de la PCR convencional (Panei et al., 2024).

2.15 Ventajas y limitaciones de las técnicas moleculares en el estudio de enfermedades infecciosas en fauna silvestre

2.15.1 Ventajas.

- Alta sensibilidad y especificidad: la PCR facilita la identificación de grados menores de producto genético del patógeno.
- Rapidez en el diagnóstico: ofrece resultados en un periodo oportuno, brindando datos efectivos en situaciones de riesgo.
- Capacidad de cuantificación: recursos como la PCR identifica *Mycoplasma* spp. y mide su carga, lo cual resulta elemental para supervisar la patología y valorar la efectividad de los tratamientos.
- Detección de patógenos no cultivables: muchas bacterias y virus en la fauna silvestre no pueden cultivarse en el laboratorio. Las técnicas moleculares posibilitan la identificación de estos entes infecciosos mediante muestras clínicas (Martínez y Soler, 2008).

2.15.2 Limitaciones.

- **Costo elevado:** las técnicas moleculares demandan aparatos sofisticados y reactivos caros, lo que podría restringir su empleo en zonas con recursos restringidos (Elías et al., 2020).
- **Necesidad de personal capacitado:** la incorporación de estas técnicas exige un personal con una formación rigurosa en biología molecular, lo que puede ser un reto en zonas aisladas.
- **Contaminación cruzada:** la elevada sensibilidad de estas técnicas podría derivar en falsos positivos, a causa de la contaminación cruzada de muestras, lo cual demanda exigentes controles de calidad.
- **Interpretación de resultados:** la identificación de material genético no todas las veces muestra una infección activa. En ese sentido, se busca la disposición de toda la información molecular disponible para una comprensión idónea.

2.16 Estudios previos sobre *Mycoplasma* spp. en reptiles

Por su parte, Sumithra et al. (2013) examinó la afectación de la micoplasmosis en reptiles, mamíferos y pájaros. La micoplasmosis supone una amenaza inmediata para estos animales.

La investigación se basó en una revisión de literatura, al recopilar datos sobre brotes de micoplasmosis en diferentes especies. Al respecto, los resultados revelaron niveles alarmantes de infección en reptiles y aves, lo que subraya la necesidad de monitoreo continuo y estrategias de cuarentena (Sumithra et al., 2013).

Asimismo, el estudio de Palmer et al. (2016) investigaron la prevalencia y el impacto de infecciones por *Mycoplasma* spp. en tortugas. Esta investigación se centró en la relación entre la presencia del *Mycoplasma* spp. y los síntomas de enfermedad respiratoria superior en estos reptiles. De igual

forma, la metodología incluyó la recolección de muestras biológicas y pruebas moleculares para detectar *Mycoplasma* spp.

Además, los hallazgos mostraron una alta prevalencia de infecciones, con síntomas como descarga nasal y letargo. Este descubrimiento resalta la necesidad un buen manejo de estas infecciones, puesto que ellas representan una amenaza significativa para la salud y la supervivencia a largo plazo de las tortugas en libertad (Palmer et al. 2016).

El estudio de García et al. (2019) se centró en caracterizar la comunidad bacteriana oral de esta especie en peligro de extinción. Así, se recolectaron muestras orales de 10 tortugas adultas sanas y se extrajo ADN para amplificar regiones del gen 16S rARN. Por último, la secuenciación se realizó con la plataforma Illumina, a fin de identificar las bacterias presentes a través de EzBioCloud.

Con ello, los resultados mostraron que los filos predominantes en el microbiota oral eran los de proteobacteria, actinobacteria y firmicutes; y se detectaron micoplasma y *Pasteurella testudinis*, bacterias potencialmente patógenas. En suma, este estudio establece una línea base sobre la diversidad bacteriana oral en *G. flavomarginatus* (García et al., 2019).

Para terminar, el estudio de Jacobson et al. (2014) revisaron el conocimiento sobre la micoplasmosis en tortugas, y se enfocó en las enfermedades respiratorias superiores. Los resultados indicaron que la micoplasmosis representa una amenaza emergente para diversas poblaciones de tortugas silvestres y en cautiverio.

De esa manera, los autores enfatizaron la necesidad de implementar protocolos de vigilancia y manejo preventivo, como la detección temprana y la cuarentena, para mitigar el impacto de esta enfermedad (Jacobson et al. 2014).

3 MARCO METODOLÓGICO

3.1 Ubicación de la investigación

El presente estudio se llevó a cabo en el Centro de Crianza Fausto Llerena, ubicado en la Isla Santa Cruz, parte del archipiélago de las Galápagos, Ecuador. Este centro es una instalación dedicada a la conservación y la reproducción de tortugas gigantes, y tiene como objetivo proteger a varias especies en peligro de extinción.

Figura 6

Ubicación geográfica del Centro de Crianza Fausto Llerena



Nota. Tomado de Google Maps, 2024.

3.1.1 Características climáticas.

El archipiélago de las Galápagos recibe la influencia de corrientes marinas que producen dos estaciones climáticas en el año. De acuerdo con Civallero (2023), los vientos predominantes y las corrientes frías contribuyen a un clima medianamente fresco a los islotes. En la Isla Santa Cruz, la segunda más grande del archipiélago, las temperaturas durante la estación fría, que va de junio a diciembre, suelen ser inferiores a los 24° C. En

contraste, la estación cálida y seca se extiende de enero a abril, con temperaturas que oscilan entre los 26° C y 28° C (Consejo de Gobierno de Régimen Especial de las Galápagos, 2020).

3.2 Materiales

3.2.1 Materiales de campo.

- Balanza colgante
- Cinta métrica flexible
- Guantes estériles y desechables
- Mascarillas
- Bolsas o recipientes sellables
- Etiquetas
- Marcadores indelebles
- Pinzas y tijeras estériles
- Alcohol al 70 % o gel desinfectante
- Cuaderno de campo
- Hojas de registro
- Tablero
- Cinta scotch
- Pipeta de 1000 ul
- Fundas ziploc
- Cooler
- Puntas de pipeta 1000 ul
- Hisopos estériles (*disposable nasopharyngeal swabs*)
- Trajes de bioseguridad
- Fundas para basura

- Microtubos
- DNA/RNA Shield

3.2.2 Materiales de laboratorio

- Mascarillas
- Guantes
- Mandil
- Marcador Sharpie
- Gradillas
- Tubos Eppendorf de 1.5 y 2 ml
- Micropipeta
- Puntas de micropipeta desechables
- Vortex
- Termo bloque
- Centrífuga
- Kit de extracción DNeasy Blood & Tissue Kit
- Reactivos básicos
- Termociclador
- Puntas de micropipetas estériles
- Tubos de PCR
- Tubos adicionales
- Electroforesis en gel de agarosa
- Sistema de visualización ultravioleta (UV)
- *Primers*

3.3 Población y muestra de estudio

El estudio se compuso por mil seiscientos ocho tortugas gigantes del Centro de Crianza del Parque Nacional Galápagos. A partir del software WinEpi, se estableció una muestra de 275 tortugas, lo que aseguró un 95 % de confianza y una prevalencia mínima deseada del 1 %.

3.4 Tipo de estudio

La investigación, mediante una perspectiva cuantitativa y diseño correlacional-descriptivo, observacional y transversal no experimental, examinó el vínculo entre la predominancia de *Mycoplasma* spp. y los aspectos de amenaza en cuatro tortugas gigantes.

Así, se describió el contexto reciente de estas especies desde el factor salud, identificar conductas recurrentes y potenciales correspondencias entre las variables. Esto ayudó a aportar información relevante para el desarrollo de estrategias de conservación más efectivas y el manejo adecuado de las tortugas.

3.4.1 Análisis estadísticos.

En este estudio se aplicó el método de inferencia estadística para analizar los datos obtenidos de las muestras. Se utilizó la prueba de chi-cuadrado para evaluar la asociación entre la prevalencia del *Mycoplasma* y diferentes variables categóricas como factores de riesgo. Este método permitió inferir si las diferencias observadas en la prevalencia de la enfermedad eran estadísticamente significativas. Además, el análisis se llevó a cabo con un software estadístico especializado, como Statgraphics, con lo que se garantizaron la precisión y la validez de los resultados.

3.5 Metodología

El trabajo de investigación se realizó en dos fases: la primera se llevó a cabo en el Centro de Crianza Fausto Llerena, ubicado en el Parque Nacional Galápagos. Dicho esto, se escogió la muestra de estos animales en cada

cortil, para categorizarlos según su genealogía. Esto se alcanzó a través de hisopados bucales, por lo que se atendieron las formalidades estipuladas para salvaguardar la integridad del recurso biológico y disminuir el estrés en estos quelonios.

La etapa dos se basó en procesar y analizar esta muestra, las cuales se desplazaron en óptimo estado al laboratorio de la Agencia de Regulación y Control de la Bioseguridad y Cuarentena para Galápagos, en el cual se extrajo el ADN. Para ello, se utilizó el kit DNeasy Blood&Tissue de la compañía Qiagen. Posteriormente, se llevaron a cabo pruebas de PCR anidada para identificar la presencia de ADN de *Mycoplasma* spp. y evaluar su prevalencia en las tortugas de cada corral, considerando factores de riesgo.

Finalmente, los datos se organizaron y analizaron estadísticamente con el software Statgraphics. Se calcularon medidas de prevalencia, así como posibles asociaciones entre la presencia de micoplasma y factores de riesgo de los quelonios. Luego, los resultados se interpretaron al considerar el impacto de las infecciones en la salud de las poblaciones de tortugas y el manejo de los programas de conservación. Método de abordaje

3.6 Recopilación y selección de la muestra

Para la selección de la muestra, se utilizó la plataforma WinEpi, al tomar como base el registro de las 1608 tortugas del centro de crianza. El objetivo principal fue determinar el tamaño mínimo de muestra necesario para detectar la presencia de una enfermedad (infección) dentro de la población. A continuación, la Tabla 3 presenta los parámetros utilizados para el cálculo.

Tabla 3

Determinación del tamaño mínimo de muestra para la detección de infección en tortugas del centro de crianza

Parámetro	Valor
Nivel de confianza (%)	95 %
Tamaño de la población	1608
Prevalencia mínima esperada (%)	1.00 %

Nota. Elaboración propia basada en el cálculo al utilizar la plataforma WinEpi

Igualmente, se consideraron varios factores, incluidos el nivel de confianza del 95 %, una prevalencia mínima esperada del 1.00 %, y la necesidad de detectar al menos un individuo infectado. Adicionalmente, se tomaron en cuenta posibles factores de riesgo asociados, para seleccionar tortugas con características relevantes para el estudio. A continuación, la Tabla 4 presenta los parámetros utilizados para el cálculo.

Tabla 4

Parámetros utilizados para determinar el tamaño de la muestra

Parámetro	Valor
Número de individuos infectados por detectar	16
Tamaño de muestra necesario	275
Fracción de muestreo (%)	17.04 %

Nota. Elaboración propia basada en los cálculos realizados

3.6.1 Preparación de microtubos con reactivo de conservación.

Con el objeto de recopilar y almacenar correctamente las muestras biológicas, se realizó una prolija distribución de los recursos. Para ello, se presentan las etapas efectuadas que indican la adecuada detección y la preservación de las muestras.

- Se eligieron microtubos de 2.0 ml, provistos con tapa de rosca independiente y graduación con el objeto de permitir la cuantificación exacta del volumen.
- A cada microtubo se le introdujeron 0.5 ml de DNA/RNA Shield, un reactivo creado particularmente para preservar ácidos nucleicos, con el objeto de salvaguardar la integridad de las muestras en la etapa de almacenaje.
- Cada microtubo se etiquetó cuidadosamente con información crítica: lugar de recolección, número de corral, número de muestra, identificación individual de la tortuga, especie, isla de origen, fecha de recolección.

- Todos los microtubos se organizaron en una gradilla adecuada, para asegurar su estabilidad y facilitar su acceso después del análisis.

3.6.2 Recopilación de la muestra biológica.

Las tortugas de esta investigación pertenecen al centro de crianza; asimismo, eran aptas, en términos clínicos, para la toma de muestras, y no recibir tratamientos recientes que malograrán la identificación de *Mycoplasma spp.* De este modo, se utilizó un muestreo aleatorio simple con el objeto de salvaguardar la representatividad de la muestra.

3.6.2.1 Toma de la muestra bucal.

- Con la colaboración de voluntarios del Parque Nacional Galápagos, se procedió a sostener a la tortuga con sumo cuidado. Se empleó una mano con el fin de asegurar las patas de la tortuga. Con la otra mano se sostuvo la cabeza para disminuir su estrés.
- Se uso una paleta de helado aseada para apartar la boca con cuidado. Esto impidió la generación de estrés.
- Se embutió suavemente el hisopo estéril hasta llegar a la zona de las narinas para la recolección de la muestra. Se evitó todo tipo de contacto brusco.
- Una vez recolectada, la muestra se colocó en el microtubo previamente identificado; esto, para asegurar que se registraran todos los datos pertinentes del individuo, como la identificación, el lugar y la fecha de muestreo.
- Se registraron los datos de cada individuo en la hoja de campo correspondiente, a fin de garantizar un seguimiento adecuado.
- Tras la recolección y el registro, los microtubos con las muestras se almacenaron a temperatura ambiente. Lo anterior equivale a DNA/RMA *Shield*, con la finalidad de garantizar las condiciones estables del ADN hasta el lugar de análisis.

- Las muestras en DNA/RNA se mantuvieron en temperie durante 3 semanas para no malograrlas.

3.7 Extracción de ADN de la muestra biológica en el laboratorio

A continuación, se describen los pasos realizados para la extracción de ADN a partir de la muestra biológica.

- Se preparó el área destinada a la extracción de muestras biológicas, para que esta estuviera debidamente acondicionada, a fin de evitar contaminaciones.
- Se rotularon los tubos Eppendorf con el número de identificación del laboratorio para facilitar la trazabilidad.
- Se seleccionó una micropipeta adecuada y se ajustó a la medida requerida. Se colocó una punta desechable estéril, y se utilizaron nuevas puntas al inicio de cada proceso.
- Se añadieron 200 µl (microlitros) de Buffer AL en el tubo Eppendorf.
- Se añadieron 20 µl (microlitros) de Proteinasa K al tubo, con lo que se facilitó la lisis celular.
- Se añadieron 200 µl (microlitros) de muestra al tubo Eppendorf.
- Se llevó el tubo al vórtex durante 10 segundos para asegurar una mezcla homogénea entre la Proteinasa K y el Buffer AL y la muestra.
- Las muestras se incubaron en un Thermoblock a 56° C durante 10 minutos.
- Posteriormente, se agregaron 200 µl (microlitros) de etanol 100 % y esto se llevó al vórtex por 10 segundos.
- La solución se dispensó en una columna DNeasy colocada en un tubo de recolección de 2 ml y se centrifugó a 8000 rpm durante un minuto.
- Se desechó el tubo de recolección utilizado y se colocó la columna en un nuevo tubo de recolección de 2 ml.
- Se añadieron 500 µl de Buffer AW1 a la columna y se centrifugó nuevamente a 8000 rpm durante un minuto.

- Después de centrifugar, se desechó el tubo de recolección y se utilizó uno nuevo.
- Se añadieron 500 µl de Buffer AW2 y se centrifugó durante tres minutos a 14 000 rpm.
- Tras la centrifugación con Buffer AW2, no se desechó el tubo de recolección; sin embargo, se eliminó la solución resultante y se centrifugó nuevamente la columna en su respectivo tubo a 14 000 rpm durante 1 minuto.
- En una cabina de seguridad biológica, se colocó la columna en un nuevo tubo etiquetado con el número correspondiente a la muestra del laboratorio.
- Se añadieron 50 µl de Buffer AE a la columna y se centrifugó durante un minuto a 8000 rpm para eludir el ADN.
- El tubo que contenía el ADN recolectado se refrigeró, mientras que la columna se desechó, con lo que se completó el protocolo establecido.

3.8 Nested-PCR

Para realizar la detección de *Mycoplasma* spp. en las muestras recolectadas, se implementó la técnica de PCR anidada, la cual permite la amplificación de una región específica del ADN al utilizar dos pares de cebadores, para lo cual se utilizaron los siguientes iniciadores o primeros.

Primera PCR

MOLL1	AGA GTT TGA TCC TGG CTC AGG A
MOLL2	GGT AGG GAT ACC TTG TTA CGA CT

Segunda PCR

MAR (MGSO)	TGC ACC ATC TGT CAC TCT GTT AAC CTC
GPO1	ACT CCT ACG GGA GGC AGC AGT A

Asimismo, se preparó la mezcla maestra para seis reacciones con los siguientes volúmenes:

Primera PCR

- GreenTaq 2X: 12.5 µl por reacción (75 µl en total).
- *Primers* (moll 1 y moll 2):
 - Moll 1: 10 pmol= 1 µl/reacción (6 µl en total).
 - Moll 2: 10 pmol= 1 µl/reacción (6 µl en total).
 - Agua DDH₂O (autoclavada): 8.5 µl por reacción (51 µl en total).
- Se mezcló bien y se distribuyeron 23 µl de la mezcla maestra en cada tubo.
- Se agregaron 2 µl de ADN en cada tubo, por lo que se contempló un volumen final de 25 µl por reacción.
- Posteriormente, se llevaron las muestras al termociclador, el cual acondicionó el programa de la siguiente manera:
 - Desnaturalización inicial: 94° C por cinco minutos.
 - Ciclos: 35 ciclos.
 - Desnaturalización: 94° C, 60 segundos.
 - Alineamiento (*annealing*): 54° C, 60 segundos.
 - Extensión: 72° C, 60 segundos.
 - Extensión final: 72° C por siete minutos.

Segunda PCR

- GreenTaq 2X: 12.5 µl por reacción (75 µl en total).
- *Primers* (MGSO y GPO1):
 - MGSO: 10 pmol= 1 µl/reacción (6 µl en total).
 - GPO1: 10 pmol= 1 µl/reacción (6 µl en total).

- Agua DDH₂O (autoclavada): 8.5 µl por reacción (51 µl en total).
- Se mezcló bien y se distribuyeron 23 µl de la mezcla maestra en cada tubo.
- Se agregaron 2 µl de ADN en cada tubo, por lo que se contempló un volumen final de 25 µl por reacción.
- Posteriormente, se llevaron las muestras al termociclador, el cual acondicionó el programa de la siguiente manera:
 - Desnaturalización inicial: 94° C por cinco minutos.
 - Ciclos: 35 ciclos.
 - Desnaturalización: 94° C, 45 segundos.
 - Alineamiento (Annealing): 55° C, 45 segundos.
 - Extensión 72° C, 45 segundos.
 - Extensión final: 72° C por siete minutos.
- Luego, se preparó un gel de agarosa al 2 %, y se mezcló 1g de agarosa en 50 ml de TAE 1X.
- Esto se llevó al microondas un minuto inicialmente, luego se removió y se volvió a ingresar al microondas por 30 segundos más, hasta que la agarosa estuvo completamente disuelta.
- Después de esto, se dejó enfriar la solución de agarosa y se agregaron 3 µl de SybrSafe. Esto se mezcló suavemente para evitar las burbujas.
- Seguidamente, se colocó el molde de electroforesis y se posicionó el peine en la bandeja para formar los pozos.
- Se vertió la agarosa líquida en el molde para evitar las burbujas.
- Se dejó solidificar el gel sin luz durante 15 minutos aproximadamente.

- Luego de que el gel se solidificó, se retiró cuidadosamente el peine y se colocó la bandeja con el gel en la cámara de electroforesis, con lo que esta quedó completamente sumergida.
- Después se procedió a cargar las muestras con el ADN con 7 µl en cada pocito; con ayuda de una pipeta. Para esto, se cargó un control de extracción negativo al inicio, y al final un control positivo. Se corrió la electroforesis a 50 V por 30 minutos.
- Tras la corrida, se retiró el gel de la bandeja con cuidado para visualizarlo en un transiluminador UV, a fin de observar las bandas de ADN.

3.9 Variables

3.9.1 Variables dependientes.

Presenta *Mycoplasma* spp.

- Positivo (si)
- Negativo (no)

3.9.2 Variables independientes.

- Edad:
 - Jóvenes (desde el nacimiento hasta los 20 o 25 años).
 - Adultos (tortugas gigantes que pueden vivir más de 100 años).
- Especies:
 - *Chelonoidis niger*
 - *Chelonoidis hoodensis*
 - *Chelonoidis darwini*
 - *Chelonoidis donfaustoi*

Factores de riesgo:

- Condición de hacinamiento:
 - Sí
 - No
- Mala higiene del entorno:
 - Desechos sólidos en corral
 - Sí
 - No
- Limpieza regular:
 - Sí
 - No
- Contacto con otras especies:
 - Gallinas
 - Gatos
- Distribución del alimento por corral:
 - Previa limpieza
 - Sí
 - No

Condición clínica:

- Signos de letargo.
- Sí
- No
- Secreción ocular:
 - Sí
 - No
- Secreción nasal:

- Sí
- No
- Estornudos frecuentes:
 - Sí
 - No
- Dificultad respiratoria:
 - Sí
 - No

4 RESULTADOS

El presente proyecto de investigación se desarrolló en función de los objetivos planteados, cuyo propósito general fue determinar la prevalencia de *Mycoplasma* spp. Por tanto, se evidenció *Mycoplasma* spp. en el 77.45 % de cuatro especies de tortugas gigantes del Centro de Crianza Fausto Llerena a través de PCR anidada. De este modo, se identificó la presencia de este ente infeccioso, se determinó su recurrencia y se valoró su vínculo con elementos de riesgo.

Es fundamental resaltar la relevancia de la técnica empleada, la PCR anidada, una metodología de alta sensibilidad y especificidad diseñada para detectar la presencia de *Mycoplasma* spp. en muestras biológicas. De ese modo, los resultados de la PCR anidada permitieron identificar la presencia o la ausencia de *Mycoplasma* spp. en las muestras, así como evaluar su prevalencia en las diferentes especies estudiadas. A continuación, se detallan los resultados obtenidos.

4.1 Identificación de la presencia de *Mycoplasma* spp. mediante PCR

Como se observa en la **Tabla 5**, que del total de 117 tortugas estudiadas de la especie *C. niger*, 94 fueron positivas representando un 80.34 %. Del total de 22 tortugas estudiadas de la especie *C. donfaustoi*, 19 fueron positivas, representando un 86.36 % del total de la muestra; de la especie *C. hoodensis* se analizaron 32 tortugas de las cuales resultaron 25 afectadas, las mismas que representan el 78.12 % del total.

Además, de 23 tortugas estudiadas de la especie decomisadas, 22 resultaron positivas representando un 95.65 %; de 81 tortugas de la especie *C. darwini*, 53 fueron positivas dando como resultado un 65.43 % con el patógeno del total de la muestra.

En general los resultados revelan que la mayoría de las muestras sometidas a análisis, resultaron positivas para *Mycoplasma* spp.,

demonstrando así que existe una alta distribución relativa del patógeno en las tortugas del Centro de Crianza Fausto Llerena y que la especie con más casos positivos fueron la *C. niger* 80 % y la *C. darwini* 65 %.

Tabla 5

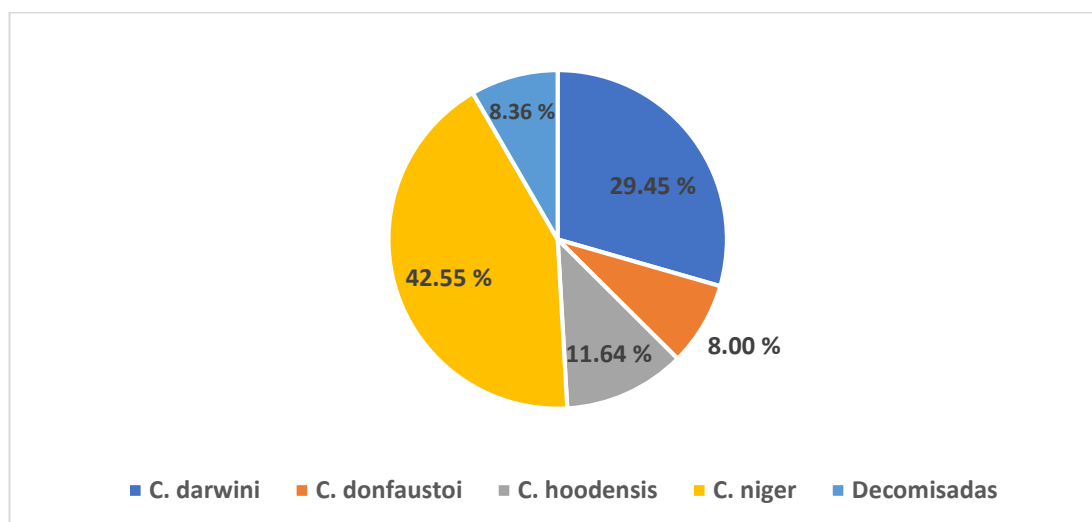
Distribución de Mycoplasma spp. por especie, mediante PCR

Especie	Prevalencia de <i>Mycoplasma</i> spp.		Total por especie	Frecuencia relativa de <i>M. spp.</i> según especie
	no	si		
<i>C. darwini</i>	28	53	81	65.43 %
<i>C. donfaustoi</i>	3	19	22	86.36 %
<i>C. hoodensis</i>	7	25	32	78.12 %
<i>C. niger</i>	23	94	117	80.34 %
Decomisadas	1	22	23	95.65 %
Total general	62	213	275	

Nota. Las tortugas denominadas como “Decomisadas” son especímenes que se recuperaron de actividades ilegales. Las mismas que no se han sometido a análisis genéticos para determinar su especie.

Figura 7

Distribución de especies de tortugas en estudio



Nota. Los porcentajes reflejan la composición de las especies de tortugas en el Centro de Crianza Fausto Llerena durante el período de estudio

4.2 Determinación de la prevalencia de *Mycoplasma* spp

La prevalencia de *Mycoplasma* spp. cómo se puede observar en la **Figura 8**, según los datos recolectados muestran que es alta (**77.45 %**), alcanzando más de las tres cuartas partes del total de las tortugas que se tomaron como muestra. Para determinar la prevalencia en tortugas gigantes del Centro de Crianza, posterior a la muestra seleccionada se empleó la siguiente fórmula:

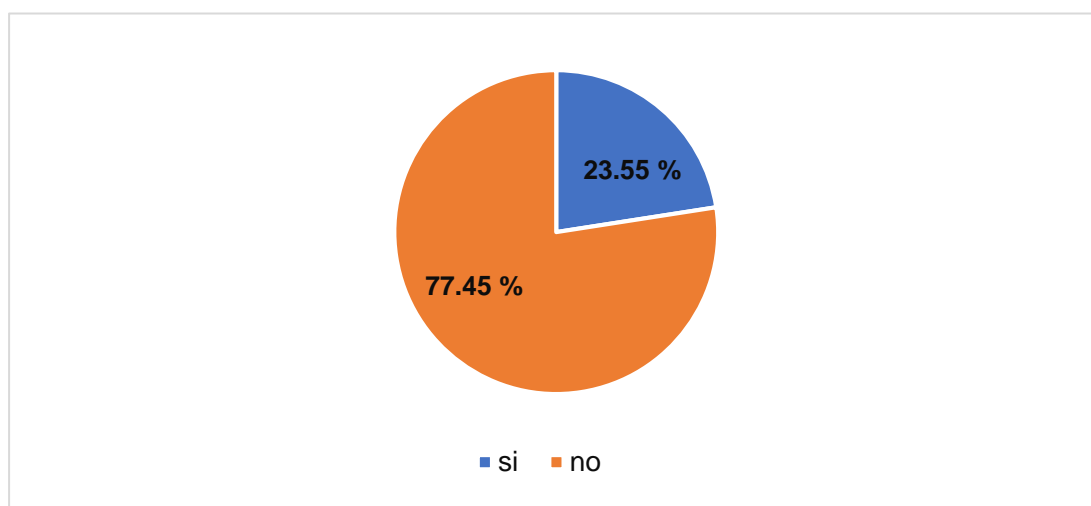
$$\text{Prevalencia (\%)} = \frac{\text{Número de casos positivos}}{\text{Número total de muestras}} \times 100$$

$$\text{Prevalencia (\%)} = \frac{213}{275} \times 100$$

$$\text{Prevalencia (\%)} = 77.45$$

Figura 8

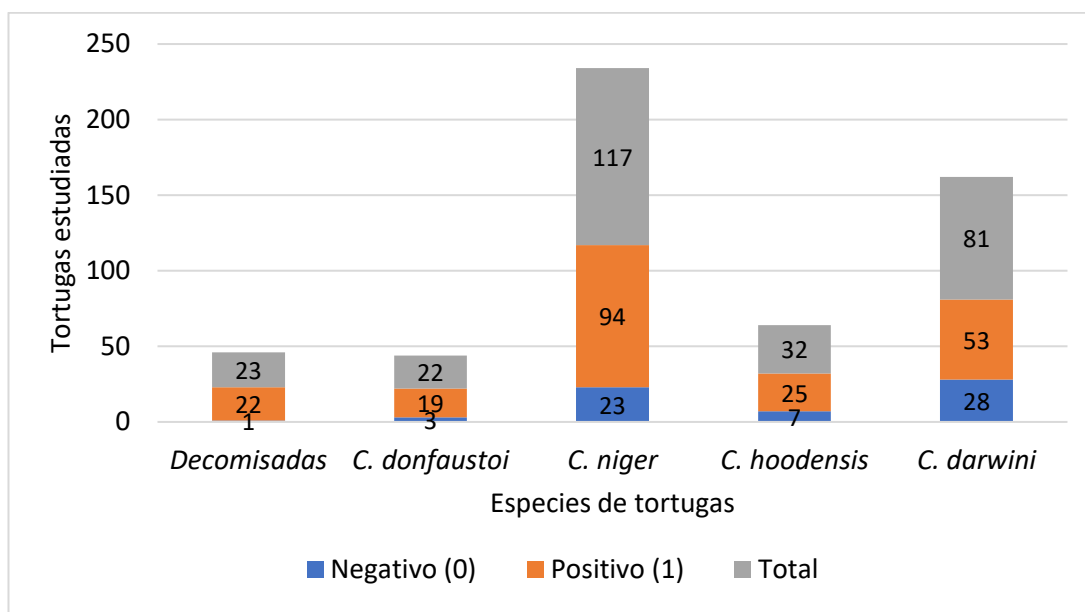
Distribución de la prevalencia de Mycoplasma spp. en tortugas del Centro de Crianza Fausto Llerena, Isla Santa Cruz, Galápagos



Nota. Elaboración con datos obtenidos del análisis de PCR para *M. spp.*

Figura 9

Distribución de resultados (positivo y negativo) de Mycoplasma spp. en tortugas según especie



Nota. Elaboración con datos obtenidos del análisis de PCR, donde se presenta barras que muestran el número de tortugas con resultados positivos, negativos y el total

4.2.1 Prueba chi cuadrado.

Para determinar si existe una diferencia significativa en la prevalencia del patógeno, que es *Mycoplasma* spp. entre las especies de tortugas gigantes ubicadas en el Centro de Crianza Fausto Llerena analizadas, se plantearon las siguientes hipótesis:

- Hipótesis nula (H_0): La prevalencia de *Mycoplasma* spp. no difiere significativamente entre las especies.
- Hipótesis alternativa (H_a): La prevalencia de *Mycoplasma* spp. difiere significativamente entre las especies.

Consecuentemente, y de acuerdo con los datos observados, se construyó la Tabla 7.

Tabla 6

Tabla de contingencia de resultados positivos y negativos de Mycoplasma spp. por especie

Especie	Negativo (0)	Positivo (1)	Total
Decomisadas	1	22	23
<i>C. donfaustoi</i>	3	19	22
<i>C. niger</i>	23	94	117
<i>C. hoodensis</i>	7	25	32
<i>C. darwini</i>	28	53	81
Total	62	213	275

Nota. Elaboración propia con datos obtenidos del análisis de PCR para *M. spp*

Tabla 7

Valores esperados bajo la hipótesis nula

Especie	Negativo (E)	Positivo (E)
Decomisadas	5.18	17.82
<i>C. donfaustoi</i>	4.96	17.04
<i>C. niger</i>	26.36	90.64
<i>C. hoodensis</i>	7.23	24.77
<i>C. darwini</i>	18.27	62.73

Nota. Elaboración con valores esperados bajo la hipótesis nula

Posteriormente, el estadístico de la prueba de Chi cuadrado se determinó para todas las especies de tortugas gigantes mediante la siguiente fórmula:

$$x^2 = \sum \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}}$$

Donde:

O_{ij}: valor observado.

E_{ij}: valor esperado.

A partir del cálculo individual del estadístico para cada especie de tortugas, se obtuvo la siguiente suma:

$$x^2 = 12.63$$

De la misma forma, para obtener los grados de libertad (d_f), se aplicó la siguiente fórmula:

$$d_f = (\text{Número de filas} - 1) * (\text{Número de columnas} - 1)$$

$$d_f = (5 - 1) \times (2 - 1) = 4$$

Por otra parte, el valor de significancia (p) se calculó para determinar si los resultados de las muestras tomadas de las diferentes especies de las tortugas eran significativos o se debían al azar; y, a su vez, para representar la probabilidad de obtener un resultado igual o más extremo que el observado, al asumir que la hipótesis nula (H_0) es verdadera. De esta manera, se obtuvo la siguiente significancia:

$$p = 0.0132$$

Entonces, para la interpretación de p se describe:

$p \leq \alpha$: si el valor p es menor o igual al nivel de significancia (α , típicamente 0.05), se rechaza la hipótesis nula. Esto indica que existe evidencia estadística suficiente para afirmar que hay una diferencia significativa o una asociación entre las variables analizadas.

$p > \alpha$: si el valor p es mayor al nivel de significancia, no se rechaza la hipótesis nula. Esto sugiere que no hay evidencia suficiente para afirmar que existe una diferencia significativa o una asociación.

Se rechazó la hipótesis nula, dado que el valor de significancia fue menor a 0.05, lo que demostró que existe una diferencia significativa en la prevalencia del *Mycoplasma* spp. en las especies que se analizaron en el estudio. Estas diferencias encontradas no se pueden definir como aleatorias, por lo cual puede que existan otros factores que influyan en la susceptibilidad de las especies en su contagio con el patógeno.

4.3 Evaluación de la correlación entre *Mycoplasma* spp. y otras variables

4.3.1 Especie.

Para la variable especie se consideraron las 4 especies analizadas, incluyendo las especies decomisadas en el estudio. Es así como el análisis estadístico buscó determinar la prevalencia del patógeno en relación a las especies de tortugas.

Estadístico de Chi-cuadrado (χ^2): 12.63 Grados de libertad (df): 4

Valor p: 0.0133

Nivel de significancia (α): 0.05

La predominancia de *Mycoplasma* spp. en este tipo de población fue del 77.45 %, con variaciones en función de la especie. De 275 tortugas evaluadas, el análisis estadístico ($p = 0.0133$, $\alpha = 0.05$) mostró una correspondencia notable entre estos animales y la infección. Asimismo, las tortugas que se decomisaron indicaron la mayor predominancia (96 %), lo que puede corresponder al estrés y a las condiciones inadecuadas del tráfico ilegal.

El análisis estadístico mostro una relación significativa entre la especie de tortuga y la prevalencia de *Mycoplasma* spp. ($p=0.0133$). Las tortugas decomisadas presentaron la mayor prevalencia (96 %), posiblemente debido al estrés y manejo inadecuado en el tráfico ilegal. En general, el 77.45 % de las tortugas evaluadas fueron positivas.

Tabla 8

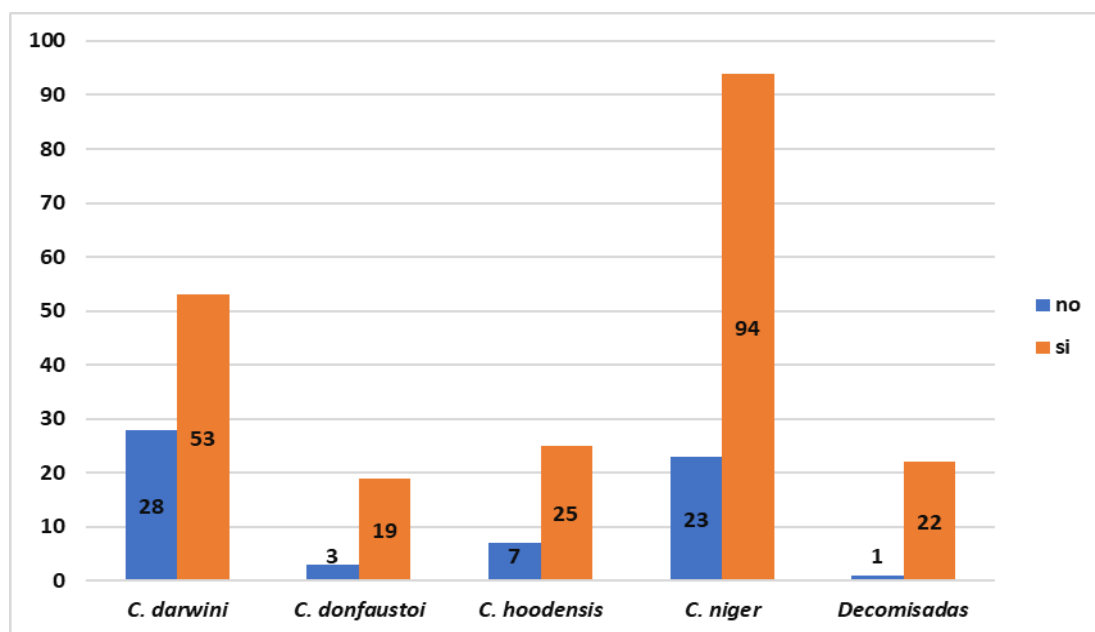
Tabla de contingencia para la correlación entre *Mycoplasma* spp. y la especie de las tortugas

Especies	Presencia de <i>M. spp.</i>		Total general	Frecuencia %	Distribución <i>M. spp.</i> según especie
	no	Si			
<i>C. darwini</i>	28	53	81	65.43	24.88
<i>C. donfaustoi</i>	3	19	22	86.36	8.92
<i>C. hoodensis</i>	7	25	32	78.12	11.74
<i>C. niger</i>	23	94	117	80.34	44.13
Decomisadas	1	22	23	95.65	10.33
Total general	62	213	275		100.00

Nota. Elaborado de los datos obtenidos de los análisis de PCR para *M. spp.*

Figura 10

Frecuencia de *Mycoplasma* spp. por especies de tortugas en estudio



Nota. Elaborado de los datos obtenidos de los análisis de PCR para *M. spp.*

4.4 Estado del animal

4.4.1 Signos de letargo.

El análisis de la variable signos de letargo se llevó a cabo con el objetivo de determinar si existe una relación significativa entre la presencia de

este signo clínico y la infección por *Mycoplasma* spp. en las tortugas. Para ello se comparó la frecuencia de tortugas con y sin signos de letargo en función de su estatus de infección, determinando si la asociación entre ambas variables es estadísticamente significativa.

Estadístico de Chi-cuadrado (χ^2): 0.882 Grados de libertad (df): 1

Valor p: 0.347

Nivel de significancia (α): 0.05

De manera que, de un total de 275 tortugas evaluadas, 272 no presentaron signos de letargo, de las cuales 62 resultaron negativas y 210 positivas para *Mycoplasma* spp. Por otro lado, solo 3 tortugas presentaron signos de letargo, y todas ellas fueron positivas para la infección.

En el análisis estadístico, el valor de p obtenido fue 0.347, superior al nivel de significancia $\alpha=0.05$, por lo que se acepta la hipótesis nula. Esto indica que no existe una relación significativa entre los signos de letargo y la probabilidad de presentar *Mycoplasma* spp.

Tabla 9

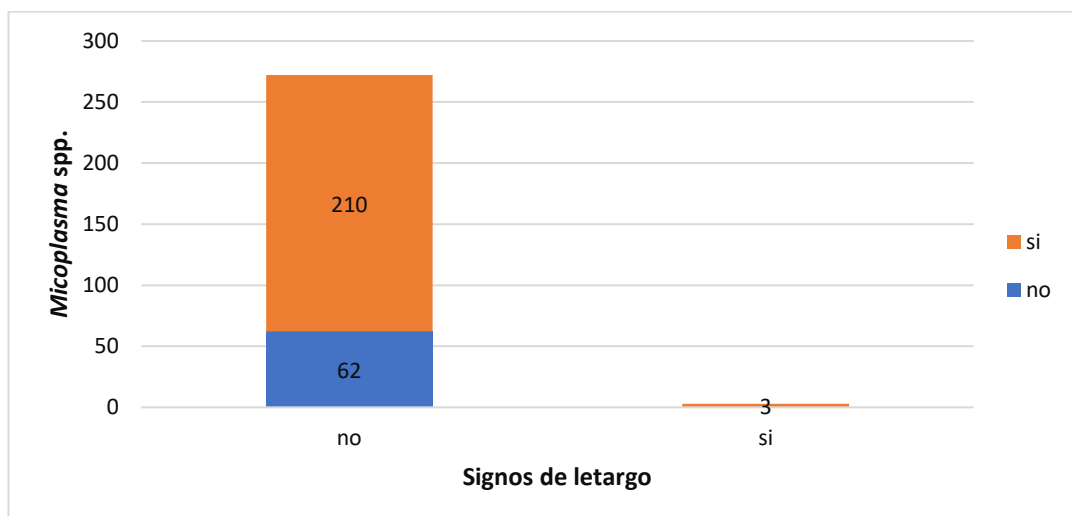
Tabla de contingencia para la correlación entre Mycoplasma spp. y signos de letargo en las tortugas

Signos de letargo	Presencia de <i>Mycoplasma</i> spp.		Total general
	no	si	
No	62	210	272
Si	0	3	3

Nota. La tabla muestra la distribución de tortugas según la presencia de *M.* spp. y la manifestación de signos de letargo

Figura 11

Correlación entre Mycoplasma spp. y signos de letargo en las tortugas



Nota. La presencia de *M. spp.* se determinó mediante PCR, mientras que los signos de letargo se evaluaron a través de observación clínica en el Centro de Crianza

4.4.2 Secreciones oculares.

El análisis de la variable secreciones oculares se llevó a cabo para determinar si existe una relación significativa entre la presencia de este signo clínico y la infección por *Mycoplasma spp.* en las tortugas.

Estadístico de Chi-cuadrado (χ^2): 43.35 Grados de libertad (df): 1

Valor p: 4.55679×10^{-11}

Nivel de significancia (α): 0.05

De un total de 275 tortugas evaluadas, 261 no presentaron secreciones oculares, de las cuales 60 resultaron negativas y 201 positivas para *Mycoplasma spp.* Adicionalmente, catorce tortugas mostraron mucosidades oculares: dos fueron negativas y doce positivas para la infección.

De conformidad con la valoración estadística, el valor de p 4.55679×10^{-11} alcanzado estuvo por debajo del grado de significancia $\alpha=0.05$; por tal razón, se rechazó la hipótesis nula. Lo anterior muestra que hay un vínculo significativo entre las secreciones oculares y la posibilidad de poseer

Mycoplasma spp. En consecuencia, las tortugas contagiadas tienen una mayor recurrencia de secreciones oculares a diferencia de las no contagiadas.

Tabla 10

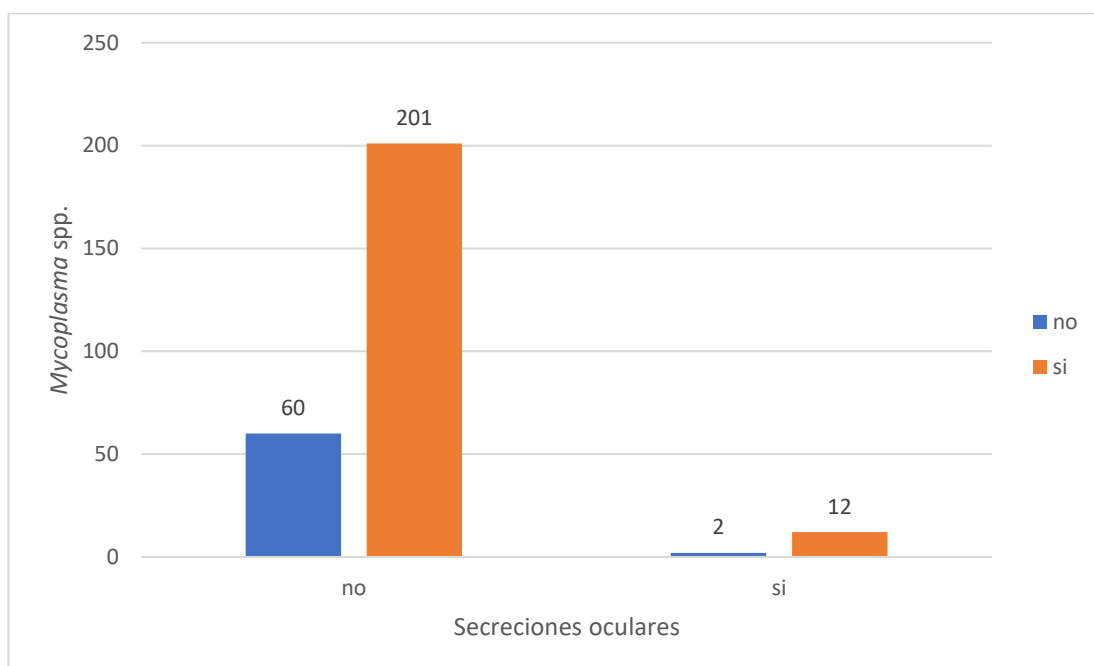
Tabla de contingencia para la correlación entre Mycoplasma spp. y secreciones oculares en las tortugas

Secreción ocular	Presencia de <i>Mycoplasma</i> spp.		Total general
	no	si	
No	60	201	261
Si	2	12	14

Nota. La tabla muestra la distribución de tortugas según la presencia de *M. spp.* y secreciones oculares

Figura 12

Correlación entre Mycoplasma spp. y secreciones oculares en las tortugas



Nota. Figura que representa la correlación de *M. spp.* con secreciones oculares

4.4.3 Secreción nasal.

El análisis de la variable secreción nasal se realizó para determinar si existe una relación significativa entre la presencia de este signo clínico y la infección por *Mycoplasma* spp. en las tortugas.

Estadístico de Chi-cuadrado (χ^2): 1.907 Grados de libertad (df): 1

Valor p: 0.167

Nivel de significancia (α): 0.05

De las 275 tortugas evaluadas, 271 no presentaron secreción nasal, con una prevalencia de *M. spp.* del 77.1 %, mientras que las 4 tortugas con secreción nasal fueron 100 % positivas. Sin embargo, el análisis estadístico mostró un valor de $p= 0.167$, superior al nivel de significancia ($\alpha = 0.05$), por lo que no se rechaza la hipótesis nula.

Tabla 11

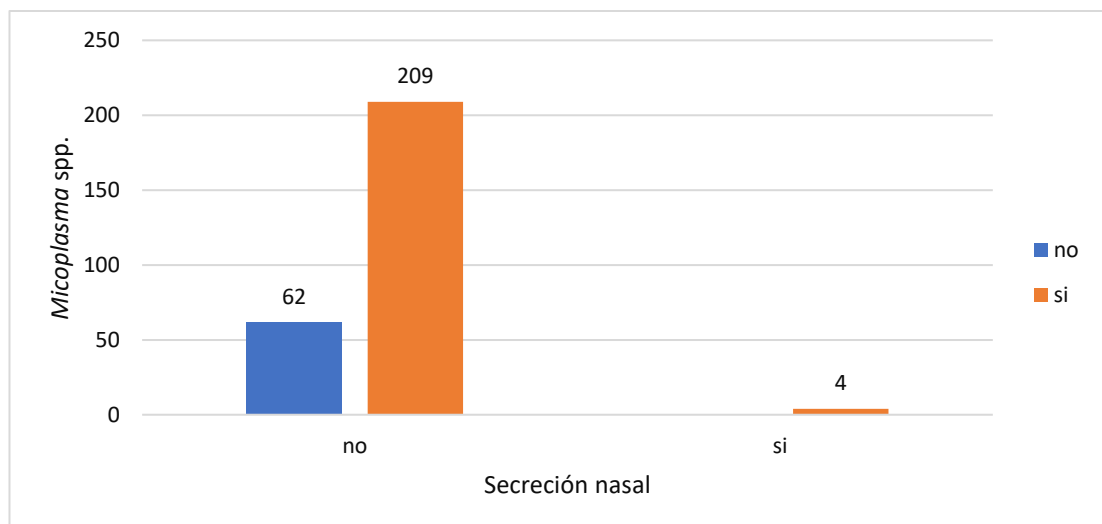
Tabla de contingencia para la correlación entre Mycoplasma spp. y secreción nasal en las tortugas

Secreción nasal	Presencia de <i>Mycoplasma spp.</i>		Total general
	no	si	
No	62	209	271
Si		4	4

Nota. La tabla muestra la distribución de tortugas según la presencia de *M. spp.* y secreciones nasales

Figura 13

Correlación entre Mycoplasma spp. y secreción nasal en las tortugas



Nota. Figura que representa la correlación de *M. spp.* con secreciones nasales

4.4.4 Estornudos frecuentes.

El análisis de la variable estornudos frecuentes se realizó para evaluar si existe una relación entre este signo clínico y la presencia de *Mycoplasma* spp. en las tortugas. No obstante, no se evidenciaron eventos positivos para esta variable en la muestra valorada.

Tampoco se hallaron tortugas que manifestaran estornudos recurrentes. Esto señala que esta sintomatología estuvo ausente en la población valorada, por encima de la presencia de *Mycoplasma* spp. La falta de información positiva restringe el análisis estadístico, dado que no es posible valorar una posible vinculación entre la infección y esta variable.

Tabla 12

Tabla de contingencia para la correlación entre Mycoplasma spp. y estornudos frecuentes en las tortugas

Estornudos frecuentes	Presencia de <i>Mycoplasma</i> spp		Total general
	no	si	
No	62	213	275

Nota. Tabla que muestra la distribución de tortugas según la presencia de *M. spp.* y secreciones nasales

En la población estudiada, de un total de 275 tortugas evaluadas, el 100 % (275 tortugas) no presentó estornudos frecuentes. De estas, el 22.5 % (62 tortugas) resultaron negativas para *Mycoplasma* spp., mientras que el 77.5 % (213 tortugas) fueron positivas para la infección.

4.4.5 Dificultad respiratoria.

El análisis de la variable dificultad respiratoria se llevó a cabo para evaluar su posible relación con la presencia de *Mycoplasma* spp. en las tortugas. No obstante, no se registraron casos positivos para esta variable en la población estudiada.

No se encontraron tortugas que presentaran dificultad respiratoria, lo que indica que este signo clínico estuvo completamente ausente en la población analizada. La ausencia de datos positivos impide realizar un análisis estadístico, ya que no se cuenta con variabilidad suficiente para evaluar una asociación.

Tabla 13

Tabla de contingencia para la correlación entre Mycoplasma spp. y dificultad respiratoria en las tortugas

Dificultad respiratoria	Presencia de <i>M. spp.</i>		Total general
	no	si	
no	62	213	275

Nota. Tabla que muestra la distribución de tortugas según la presencia de *M. spp.* y secreciones nasales

En la población de 275 tortugas analizadas, el 100 % (275 tortugas) no presentó dificultad respiratoria. De estas, el 22.5 % (62 tortugas) fueron negativas para *Mycoplasma spp.*, mientras que el 77.5 % (213 tortugas) resultaron positivas para la infección.

4.4.6 Edad.

Las edades de las tortugas fueron determinadas según los registros que tienen en el Centro de Crianza Fausto Llerena.

Estadístico de Chi-cuadrado (χ^2): 26,93 Grados de libertad (df): 13

Valor p: 0.012 Nivel de significancia (α): 0.05

En el análisis estadístico, nos indica la relación entre la variable edad y la infección por *Mycoplasma spp.* que reveló resultados estadísticamente

significativos el valor de p obtenido fue 0.012, inferior al nivel de significancia $\alpha=0.05$, por lo que se rechaza la hipótesis nula. Esto indica que si existe una relación significativa entre la edad y la probabilidad de presentar *Mycoplasma* spp.

De forma específica, las tortugas más maduras, como las de seis años (88.52 %) y 12 años (86.96 %), y las que no tienen identificación (95.65 %), mostraron una predominancia mayor de contagio, lo que pueda corresponder a una exposición acumulada o por elementos del ambiente. En cambio, la muestra más joven, de uno (57.14 %) y dos años (63.41 %), evidenciaron una predominancia más baja. Esto puede asociarse a un periodo de exposición mayormente restringido, o una menor susceptibilidad en las primeras fases de desarrollo.

Tabla 14

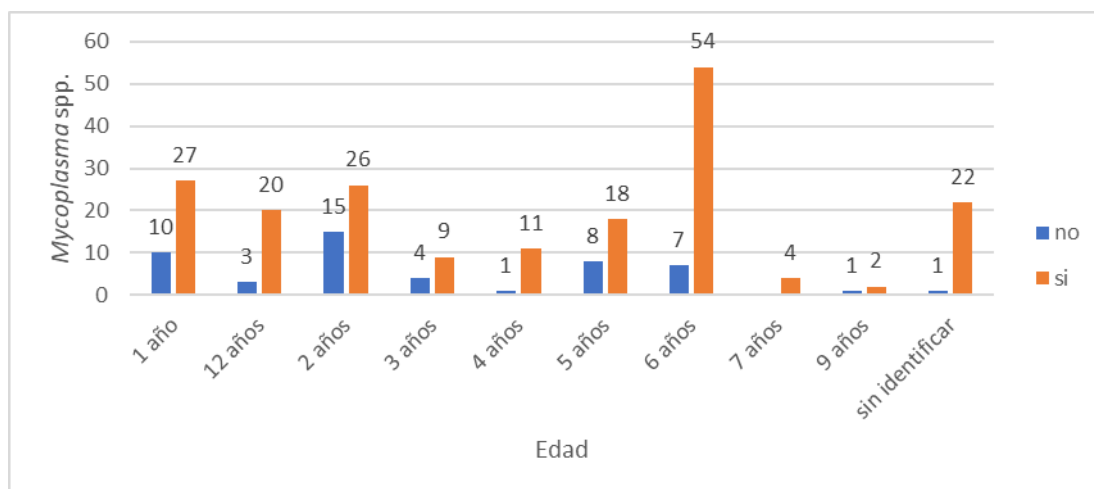
Tabla de contingencia para la correlación entre Mycoplasma spp. y la edad de las tortugas

Edad	Presencia de <i>Mycoplasma</i> spp.		Total general	Prevalencia
	No	si		
1 año	10	27	37	72.97
2 años	15	26	41	63.41
3 años	4	9	13	69.23
4 años	1	11	12	91.67
5 años	8	18	26	69.23
6 años	7	54	61	88.52
7 años		4	4	100.00
9 años	1	2	3	66.67
8 años	4	9	13	69.23
10 años	7	54	61	88.52
12 años	3	20	23	86.96
sin identificar	1	22	23	95.65
Total general	62	213	275	

Nota. La presencia de *M. spp.* fue determinada mediante PCR en muestras de hisopado, de tortugas ubicadas en el Centro de Crianza

Figura 14

Prevalencia de Mycoplasma spp. por edad de las tortugas gigantes



Nota. Figura que representa la correlación de *Mycoplasma spp.* con la edad de los quelonios

4.4.7 Hacinamiento y desechos sólidos en el corral.

De conformidad con la valoración de estas variables, no se hallaron evidencias de hacinamiento, tampoco desechos sólidos en estos sitios, lo cual señala condiciones idóneas de manejo. Esto sugiere que estos factores no representan un riesgo directo o contribuyente a la infección por *Mycoplasma spp.* en esta población de tortugas. Sin embargo, es importante continuar monitoreando estas variables en el futuro, ya que el hacinamiento y la acumulación de desechos podrían favorecer la propagación de enfermedades bajo otras condiciones ambientales o de manejo.

4.4.8 Corral.

Las tortugas se encuentran distribuidas en 47 corrales. Los corrales enumerados del 1 al 31 en ellos se colocan a las tortugas neonatas, es decir desde el momento de la eclosión, hasta aproximadamente dos o tres años de edad. Los corrales definidos como “CU” son tortugas que se someten a un proceso de cuarentena tras ser decomisadas de actividades ilegales y por último los corrales denominados PRE, son corrales en los que se colocan a las tortugas que están próximas hacer repatriadas a su lugar de origen.

Estadístico Chi-cuadrado (χ^2): 64.77

Grados de libertad (df): 46

Valor p: 0.03534973

Nivel de significancia (α): 0.05

En el análisis estadístico, demuestra que la hipótesis nula es rechazada dado que el valor de p obtenido fue 0.035, inferior al nivel de significancia $\alpha=0.05$. Por lo tanto, sí existe una relación significativa entre los corrales en los que se encuentran las tortugas y la presencia de *Mycoplasma* spp., pudiendo influir esto en la probabilidad de propagación del patógeno, pudiendo existir otros factores que influyen como el manejo sanitario.

Tabla 15

Tabla de contingencia para la correlación entre Mycoplasma spp. y el corral

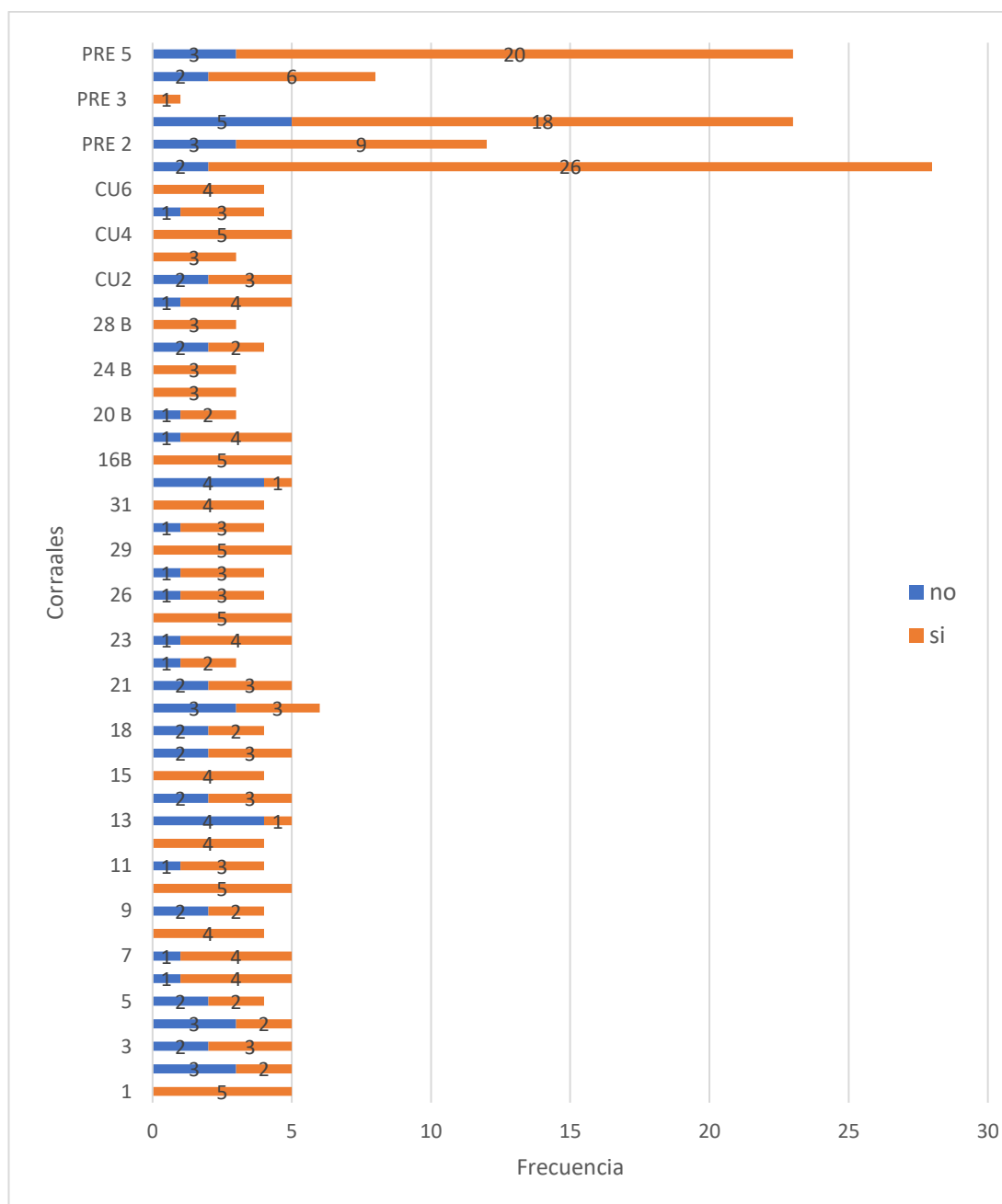
Corrales	Presencia de <i>Mycoplasma</i> spp.		Total por corral	Frecuencia relativa del <i>M. spp.</i> por corral
	no	si		
1		5	5	100.00
2	3	2	5	40.00
3	2	3	5	60.00
4	3	2	5	40.00
5	2	2	4	50.00
6	1	4	5	80.00
7	1	4	5	80.00
8		4	4	100.00
9	2	2	4	50.00
10		5	5	100.00
11	1	3	4	75.00
12		4	4	100.00
13	4	1	5	20.00
14	2	3	5	60.00
15		4	4	100.00
17	2	3	5	60.00
18	2	2	4	50.00

19	3	3	6	50.00
21	2	3	5	60.00
22	1	2	3	66.67
23	1	4	5	80.00
25		5	5	100.00
26	1	3	4	75.00
27	1	3	4	75.00
29		5	5	100.00
30	1	3	4	75.00
31		4	4	100.00
16A	4	1	5	20.00
16B		5	5	100.00
20 A	1	4	5	80.00
20 B	1	2	3	66.67
24 A		3	3	100.00
24 B		3	3	100.00
28 A	2	2	4	50.00
28 B		3	3	100.00
CU1	1	4	5	80.00
CU2	2	3	5	60.00
CU3		3	3	100.00
CU4		5	5	100.00
CU5	1	3	4	100.00
CU6		4	4	100.00
PRE1	2	26	28	92.86
PRE2	3	9	12	75.00
PRE3	5	18	23	78.26
PRE3		1	1	100.00
PRE4	2	6	8	75.00
PRE5	3	20	23	86.96
Total	62	213	275	

Nota. La tabla nos muestra la correlación de entre los corrales y la presencia de *M. spp.*

Figura 15

Frecuencia de *Mycoplasma* spp. según los corrales de estancia de las tortugas



Nota. La figura indica la prevalencia de contagio entre los corrales y la infección por *Mycoplasma* spp.

4.4.9 Limpieza regular.

En el análisis de las variables limpieza regular y evaluación sanitaria, se observó que en todos los casos evaluados las respuestas fueron positivas,

es decir, todas las tortugas estuvieron en corrales que recibieron limpieza regular.

4.4.10 Contacto con otras especies: Gatos y gallinas.

El análisis de la variable contacto con gatos y gallinas se llevó a cabo para evaluar si existe una relación significativa entre la exposición a estos animales y la infección por *Mycoplasma* spp. en las tortugas.

Estadístico de Chi-cuadrado (χ^2): 0.75 Grados de libertad (df): 1

Valor p: 0.387 Nivel de significancia (α): 0.05

El análisis estadístico mostró un valor $p=0.387$. Dado que el valor p es mayor que el nivel de significancia $\alpha=0.05$, no se rechaza la hipótesis nula. Esto indica que no se encontró una relación estadísticamente significativa entre el contacto con gatos y gallinas y la infección por *Mycoplasma* spp.

De las 275 tortugas analizadas, el 20 % tuvo contacto con gatos y gallinas, y el 80 % no. La prevalencia de *Mycoplasma* spp. fue del 81.82 % en las tortugas con contacto y del 76.36 % en las que no tuvieron contacto, mientras que las tasas de resultados negativos fueron del 18.18 % y 23.64 %, respectivamente.

Tabla 16

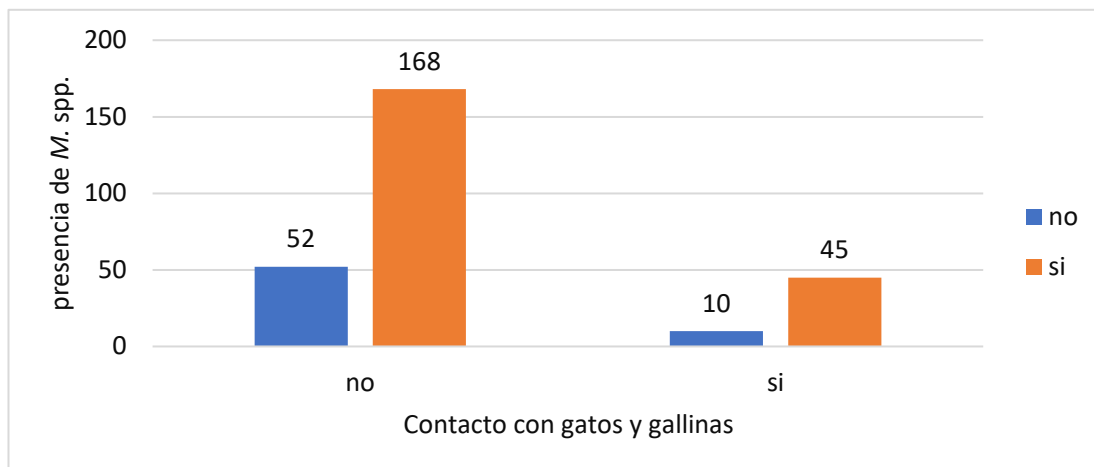
Tabla de contingencia para la correlación entre Mycoplasma spp. y el contacto con gatos y gallinas

Contacto con gatos y gallinas	Presencia de <i>Mycoplasma</i> spp.		Total general	Frecuencia
	no	si		
No	52	168	220	76.36
Si	10	45	55	81.82
Total general	62	213	275	

Nota. La tabla muestra la distribución de la detección de *M. spp.* y el contacto con gatos y gallinas ferales

Figura 16

Frecuencia de Mycoplasma spp. y el contacto con otras especies (gatos y gallinas)



Nota. Elaboración con datos obtenidos de los análisis de la PCR

4.4.11 Limpieza del alimento.

Se llevó a cabo la valoración de esta variable con el fin de observar si hubo una asociación notable entre higiene del alimento brindado al animal y la infección por este patógeno. Por lo tanto, se evidenció la incidencia de este tipo de condiciones en la predominancia del *Mycoplasma spp.*

Estadístico de Chi-cuadrado (χ^2): 6.68

Grados de libertad (df): 1

Valor p : 0.009

Nivel de significancia (α): 0.05

El análisis estadístico mostró un valor $p=0,009$. Dado que el valor p es menor que el nivel de significancia $\alpha=0.05$, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula. Esto indica que se encontró una relación estadísticamente significativa entre la limpieza del alimento y la infección por *Mycoplasma spp.*

Tabla 17

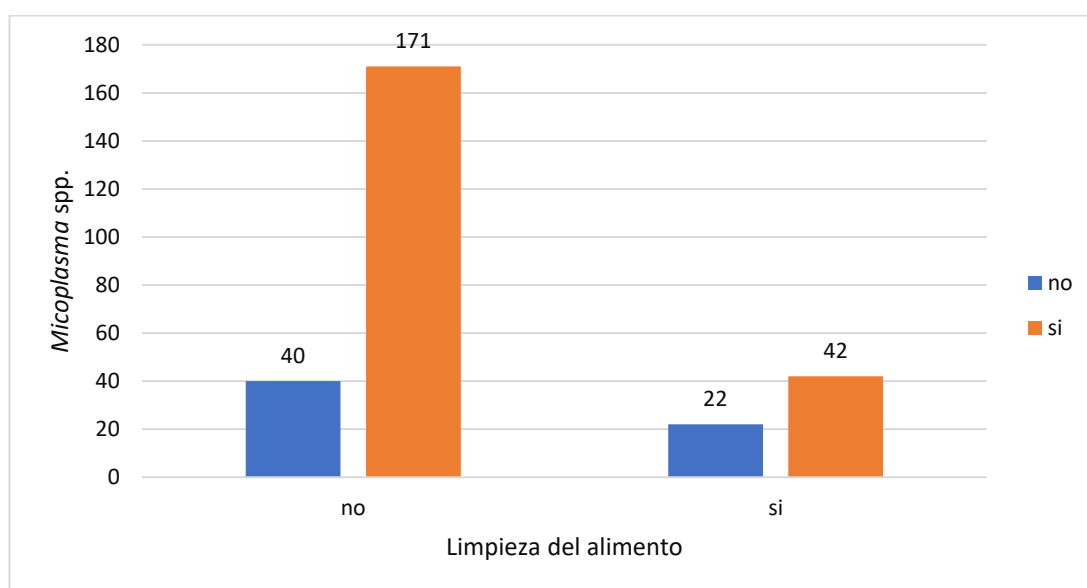
Tabla de contingencia para la correlación entre Mycoplasma spp. y la limpieza del alimento de las tortugas

Limpieza del alimento	Frecuencia de <i>Mycoplasma</i> spp.		Total general	Prevalencia
	no	si		
no	40	171	211	81.04
si	22	42	64	65.63
Total general	62	213	275	

Nota. Se presenta la distribución de *Mycoplasma* spp. en tortugas gigantes según la limpieza del alimento

Figura 17

Prevalencia de Mycoplasma spp. y la limpieza del alimento que reciben las tortugas gigantes



Nota. La figura muestra la prevalencia de *Mycoplasma* spp. en tortugas gigantes en función de la limpieza del alimento que reciben

5 DISCUSIÓN

El presente estudio sobre la prevalencia de *Mycoplasma* spp. en tortugas gigantes del Centro de Crianza Fausto Llerena permitió identificar la presencia del patógeno en un 77.45 % de la muestra analizada mediante PCR. Este hallazgo es consistente con el comportamiento ampliamente conocido de *Mycoplasma* spp. como agente patógeno oportunista en diversas especies animales, donde su prevalencia puede variar según factores ambientales, inmunológicos y de manejo (Ramírez et al., 2023)

Se observó en el presente estudio una prevalencia significativa de *Mycoplasma* spp. en las tortugas gigantes del Centro de Crianza Fausto Llerena, con una clara asociación entre ciertos factores ambientales y clínicos, como la limpieza del alimento y la secreción ocular, con la infección. Por su parte, Luzuriaga et al. (2021) resaltan que *M. agassizii* presenta una baja diversidad genética y que su enfermedad clínica tiende a manifestarse bajo condiciones específicas, como una alta carga bacteriana o un sistema inmune comprometido. Este patrón es consistente con lo observado en este estudio, donde se identificó que variables ambientales, como la limpieza inadecuada del alimento, incrementaron la prevalencia del patógeno.

Luzuriaga et al. (2021) plantearon que *Mycoplasma* spp. se propaga de forma lenta y, para ello, supone el contacto prolongado. Esto podría explicar el vínculo entre hacinamiento y preponderancia evidenciada en esta investigación. Igualmente, estos autores subrayaron que el estrés y la atención no adecuada facilitan la difusión del ente infeccioso, elementos importantes para la preservación de tortugas.

Por su parte, Galosi et al. (2023) comprobaron que *Mycoplasma agassizii* tienen una incidencia en diversas especies. Esto concuerda con la presencia de *Mycoplasma* spp. en distintas tortugas de las Galápagos. En contraposición, los autores recomiendan que la combinación de muestras

conjuntivales, nasales y orales optimiza la sensibilidad diagnóstica, lo cual es significativo para investigaciones futuras.

Del mismo modo, el vínculo entre secreción ocular e infección por *Mycoplasma* spp. reafirma los resultados de Gaeta et al. (2021), al detectar afecciones oculares en cuanto un signo recurrente en tortugas impactadas, lo que sugiere su pertinencia para la detección oportuna.

Por otro lado, la elevada preponderancia de *Mycoplasma* spp. en el Centro de Crianza Fausto Llerena (77.45 %) subraya el interés de valorar aspectos del ambiente y clínicos. Lo anterior concuerda con Ballouard et al. (2022), al documentar una elevada prevalencia en tortugas europeas, asociándola al comercio de mascotas y animales extravagantes. Empero, en esta investigación, el roce con otros animales no fue mostró una incidencia estadísticamente significativa ($\chi^2 = 0.75$, $p = 0.387$) señalando que la atención adecuada es un elemento clave.

La investigación de Stanford et al. (2020) proporciona una visión amplia de los riesgos que tienen las tortugas terrestres y acuáticas, al destacar que las patologías contagiosas, en consonancia con la pérdida de entorno y el comercio internacional, se consideran aspectos importantes que malogran la supervivencia de estos animales. Por lo tanto, este panorama concuerda con los hallazgos alcanzados en esta investigación, en la cual se evidenció que la higiene en la alimentación se asoció significativamente asociada con la infección ($\chi^2 = 6.68$, $p = 0.0097$). Esto subraya la importancia del cuidado sanitario en la alimentación y la atención para contrarrestar la difusión de patógenos en poblaciones cautivas.

Un aspecto importante que no se abordó en los estudios revisados, pero que destaca en esta investigación, es la asociación entre la edad de las tortugas y la prevalencia de infección ($\chi^2 = 13.44$, $p = 0,0093$). Este resultado podría relacionarse con una mayor exposición acumulativa al patógeno en individuos de mayor edad, como también se observó en otras especies de

reptiles en cautiverio. Por otro lado, Stanford et al. (2020) enfatizan la necesidad de monitorear la salud de poblaciones cautivas y naturales mediante técnicas moleculares avanzadas, una práctica que podría implementarse en futuros estudios para caracterizar mejor las cepas locales de *Mycoplasma* spp. en las tortugas gigantes de las Galápagos.

Por otro lado, la secreción ocular se estimó como un marcador importante de infección por *Mycoplasma* spp. ($\chi^2 = 43.35$, $p < 0.001$). En cambio, otro tipo de sintomatología respiratoria no lo fue. Al respecto, Ballouard et al. (2022) destacan la relevancia de estos signos para la detección oportuna. Asimismo, Stanford et al. (2020) indicaron que el cambio climático y la pérdida de hábitat influyen en la propagación del patógeno, lo que merece estudio.

El estudio de Nieto et al. (2022) refuerzan lo encontrado por Stanford et al., que los patógenos emergentes, como *Mycoplasma* spp., están estrechamente relacionados con factores estresantes derivados de actividades humanas y cambios ambientales en las áreas donde habitan las tortugas. Este aspecto resulta especialmente relevante en el contexto del presente estudio, donde se investigó la interacción con animales domésticos, como gatos y gallinas, que podrían actuar como vectores potenciales del patógeno.

Según Nieto et al. (2019) estos factores pueden aumentar el estrés en las tortugas y, en consecuencia, su susceptibilidad a infecciones, lo que subraya la necesidad de manejar cuidadosamente las condiciones ambientales y minimizar las interacciones con especies exóticas o domésticas para reducir el riesgo de propagación de enfermedades infecciosas.

Continuando con la incidencia del contacto entre tortugas y otras especies, como gatos y gallinas, esta variable fue evaluada en este estudio para determinar su posible relación con la infección por *Mycoplasma* spp. A pesar de que no evidenció una vinculación notablemente estadística ($\chi^2=0.75$

y $p=0.387$), Ríos et al. (2023) subrayaron el rol de estos felinos como almacenadores de elementos infecciosos hemotrópicos, incluyendo el *Mycoplasma* spp.

En este contexto, aunque los resultados de esta investigación no identificaron una relación directa entre el contacto con gatos y la infección por *Mycoplasma* spp. en las tortugas, es posible que las dinámicas de transmisión dependan de factores específicos del entorno, como la densidad de individuos, la exposición prolongada y la presencia de vectores intermediarios. Asimismo, las gallinas, aunque menos estudiadas en relación con *Mycoplasma* spp., podrían desempeñar un rol indirecto en la transmisión si comparten hábitats contaminados con las tortugas.

6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

Se evidenció una preponderancia del 77.45 % de *Mycoplasma* spp. en las tortugas gigantes del Centro de Crianza Fausto Llerena mediante PCR, evidenciando su alta presencia en las cuatro especies analizadas. Dicho resulta subraya la relevancia de la supervisión continua, dado que el patógeno es un peligro que podría afectar su integridad, sobre todo en cautiverio.

La prevalencia de *Mycoplasma* spp. mostró variaciones entre las especies analizadas. De esta manera, *Chelonoidis niger* indicó la mayor preponderancia (80 %), y *Chelonoidis darwini* la más baja (65 %). Estas distinciones podrían corresponder a elementos genéticos o de manejo, lo que subraya el interés de acoplar las estrategias de prevención y control.

Se identificaron correlaciones significativas entre la prevalencia de *Mycoplasma* spp. y ciertas variables ambientales y clínicas. La secreción en el ojo y la ausencia de una higiene en la comida incidieron en la predominancia de *Mycoplasma* spp. Por otro lado, el roce con otros animales y la aglomeración no relevaron una afectación notable.

6.2 Recomendaciones

A partir de lo hallado, es pertinente efectuar supervisiones constantes en el centro de estudio para examinar el comportamiento del *Mycoplasma* spp. por medio de PCR. De esta manera, es posible realizar detecciones rápidas y acciones pertinentes que mermen este patógeno. Como resultado, se obtiene un entendimiento completo alrededor de los modos en que se difunden estas bacterias y virus. Por otro lado, es necesario revisar la correspondencia genética de las plantas locales con las de otros lugares.

Por otro lado, se debe robustecer la bioseguridad en las dietas alimenticias y la atención a las tortugas. Para ello, es pertinente brindar

capacitaciones al personal en el empleo de protección e higiene, con el fin de impedir la propagación de entes infecciosos. Aunado a esto, las estrategias de control tienen que acoplarse a cada especie de acuerdo con sus características, susceptibilidad y hábitat.

En último lugar, se sugiere llevar a cabo campañas de sensibilización hacia al personal y a los usuarios del Centro de Crianza, con el fin de estimular la preservación de las tortugas gigantes y la relevancia de las acciones del cuidado higiénico-sanitario. Estas iniciativas contribuirán a crear un entorno que favorezca la sostenibilidad de estas especies icónicas y reduzca los riesgos de propagación de enfermedades infecciosas.

REFERENCIAS

- Arteaga A, G. J. (2020). *Chelonoidis darwini*. In B. L. V. J. Arteaga A (Ed.), *Reptiles del Ecuador: La vida en medio del mundo*. Khamai Foundation & Tropical Herping.
- Ballouard, J.-M., Bonnet, X., Jourdan, J., Martinez-Silvestre, A., Gagno, S., Fertard, B., & Caron, S. (2022). First detection of herpesvirus and prevalence of *mycoplasma* infection in free-ranging Hermann's tortoise (*Testudo hermanni*), and in potential pet vectors. *Centre Mersenne*, 2, 5. <https://doi.org/10.24072/pci>
- Blake, S., Yackulic, C. B., Wikelski, M., Gibbs, J. P., Deem, S., & Villamar, F. (2014). *La migración de las tortugas gigantes de las Galápagos requiere de esfuerzos de conservación a escala de paisaje*. <https://n9.cl/uo5yf>
- Civallero, E. (2023). *Estampas de las Galápagos*. <https://www.aacademica.org/edgardo.civallero/429.pdf>
- Cruz, E. (2006). *Análisis de las metodologías de evaluación de la efectividad de manejo (EEM) y propuesta para la EEM del Parque Nacional Galápagos-Ecuador* [Tesis de maestría, Universidad Internacional de Andalucía]. Repositorio Institucional UNIA. <https://dspace.unia.es/handle/10334/30>
- Divers, S. (2020). *Infecciones bacterianas de reptiles*. Manual de MSD. <https://www.msdrvetermanual.com/es/animales-exoticos-y-de-laboratorio/reptiles/infecciones-bacterianas-de-reptilesdownload>
- Elías, R., Berenguel, R., Beraún, Y., Enrique, C., & Vásquez, P. (2020). Gestión y vigilancia sanitaria de la fauna silvestre en el Perú. *Salud y Tecnología Veterinaria*, 8(1). <https://doi.org/10.20453/stv.v8i1.3788>
- Emmel, E. S., Rivera, S., Cabrera, F., Blake, S., & Deem, S. L. (2021). Field anesthesia and gonadal morphology of immature western santa cruz tortoises (*Chelonoidis porteri*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 51(4). <https://doi.org/10.1638/2019-0240>

- Fournier-Gutiérrez, L., Herrero, M. V., Barrantes-Barrantes, R., & Blanco-Peña, K. (2020). Determinación de intervalos básicos de salud en tortugas resbaladoras (*Trachemys scripta emolli*) del Refugio de Vida Silvestre Caño Negro, Costa Rica. *Uniciencia*, 34(2). <https://doi.org/10.15359/ru.34-2.3>
- Fundación Charles Darwin. (2021). *Resistencia a los antibióticos en tortuga gigantes de las Galápagos*. <https://www.darwinfoundation.org/es/noticias/todas-las-noticias/se-evidencian-resistencias-a-los-antibioticos-en-tortugas-gigantes-de-galapagos/>
- Galapagos Conservancy. (2023). *Revelando los Enigmas Migratorios de las Tortugas Gigantes de las Galápagos*. <https://www.galapagos.org/noticias/estudio-historico-tortugas-gigantes/?lang=es>
- Galosi, L., Ridolfi, N., Fellini, G., Pelizzone, I., Curazo, S., Marchetti, G., Canonico, M., & Ghelfi, E. (2023). Detección e identificación de *Mycoplasma agassizii* en tortugas cautivas con diferentes signos clínicos en Italia. *Animals*, 13(4), 588. <https://doi.org/10.3390/ani13040588>
- Garrick, R. C., Benavides, E., Russello, M. A., Gibbs, J. P., Poulakakis, N., Dion, K. B., Hyseni, C., Kajdacs, B., Márquez, Lady, Bahan, S., Ciofi, C., Tapia, W., & Caccone, A. (2012). Genetic rediscovery of an “extinct” Galápagos giant tortoise species. In *Current Biology Vol. 22*, (Issue 1). <https://doi.org/10.1016/j.cub.2011.12.004>
- Giant Tortoise Movement Ecology Program. (2020a). *Movimiento de la tortuga gigante de las Galápagos*. <https://gianttortoise.org/es/movement>
- Giant Tortoise Movement Ecology Program. (2020b). *Salud de la tortuga gigante de las Galápagos*. <https://gianttortoise.org/es/health>
- Gobierno Autónomo Descentralizado del Parque Nacional Galápagos. (2019). *Centros de crianza: una herramienta de conservación*.

<https://galapagos.gob.ec/centros-de-crianza-una-herramienta-de-conservacion/>

- Hennessy, E. (2015). The Molecular Turn in Conservation: Genetics, Pristine Nature, and the Rediscovery of an Extinct Species of Galápagos Giant Tortoise. *Annals of the Association of American Geographers*, 105(1). <https://doi.org/10.1080/00045608.2014.960042>
- Hennessy, E. (2020). Saving Species: The Co-Evolution of Tortoise Taxonomy and Conservation in the Galápagos Islands. *Environmental History*, 25(2). <https://doi.org/10.1093/envhis/emz104>
- Jacobson, E. R., Berry, K. H., Brooks, D. E., & Roberts, J. F. (2023). Bilateral palpebral reduction and concurrent mycoplasmosis in a wild Agassiz's desert tortoise (*Gopherus agassizii*). *Veterinary Ophthalmology*, 26(4). <https://doi.org/10.1111/vop.13089>
- Jacobson, E., Brown, M., Wendland, L., Brown, D., Klein, P., Christopher, M., & Berry, K. (2014). Micoplasmosis y enfermedades del tracto respiratorio superior de las tortugas: una revisión y actualización. *Revista Veterinaria*, 201(3), 257264. 10.1016/j.tvjl.2014.05.039
- Lavaut, K., Hernández, N., & Ruiz, V. (2016). Hibridación in situ fluorescente: Herramienta en el diagnóstico de las hemopatías malignas. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 32(1). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892016000100009
- Luzuriaga-Neira, A., Sandmeier, F. C., Weitzman, C. L., Tracy, C. R., Bauschlicher, S. N., Tillett, R. L., & Alvarez-Ponce, D. (2021). *Mycoplasma agassizii*, an opportunistic pathogen of tortoises, shows very little genetic variation across the Mojave and Sonoran Deserts. *PLoS ONE*, 16(2 February). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245895>
- Martínez, S., & Soler, M. (2024). Enfermedades infecciosas y parasitarias en tortugas. *Revista Veterinaria y App Para Veterinarios*, 150, 43-54.

https://www.amasquefa.com/uploads/32._Enfermedades_infecciosas_y_parasitarias_en_tortugas231.

Martínez-Silvestre, A., & Soler, J. (2008). Enfermedades infecciosas y parasitarias en tortugas. *Consulta de Difusión Veterinaria*, 150(mayo). https://www.researchgate.net/publication/260435197_Enfermedades_infecciosas_y_parasitarias_en_tortugas

Ministerio del Ambiente del Ecuador. (2020). *Centros de crianza, una herramienta de conservación*. El Nuevo Ecuador. <https://galapagos.gob.ec/centros-de-crianza-una-herramienta-de-conservacion/>

Ministerio del Ambiente. (2023). *563 tortugas gigantes fueron repatriadas a su hábitat natural en cuatro islas del Archipiélago de las Galápagos durante 2023*. <https://www.ambiente.gob.ec/563-tortugas-gigantes-fueron-repatriadas-a-su-habitat-natural-en-cuatro-islas-del-archipelago-de-galapagos-durante-2023/>

Miñana-Morant, O., & Ponce-Gordo, F. (2018). 1167328976. *Clínica Veterinaria de Pequeños Animales*. <https://www.clinvetpeqanim.com/img/pdf/1167328976.pdf>

Muñoz, A. (2024). *TG_14201177_2024* [Tesis de grado, Universidad de La Salle]. Repositorio Institucional de la Universidad de La Salle. <https://ciencia.lasalle.edu.co/server/api/core/bitstreams/95424e10-2bcf-447d-9cff-71d9935fe8d0/content>

Murray, J., Lappin, D. F., & McHugh, T. (2020). Nested PCR: A powerful tool for detecting low-copy DNA in biological samples. *Journal of Clinical Microbiology*, 58(4), e02024-19. <https://doi.org/10.1128/JCM.02024-19>

Nation, C., Cadena, E., & Link, A. (2020). *Descripción y morfología de dos cráneos de tortugas terrestres del género Chelonoidis del Mioceno de La Venta, Huila, Colombia* [Tesis de maestría, Universidad de Los Andes, Colombia]. Repositorio Institucional de la Universidad de Los Andes.

<https://repositorio.uniandes.edu.co/entities/publication/0f472bbf-fb03-49e6-994d-365991a82b52>

National Geographic. (2022). *Tortuga de los galápagos*.
<https://www.nationalgeographic.es/animales/tortuga-de-las-galapagos>

Nieto, A. (2022). *Evaluación del estado sanitario de las tortugas gigantes de las Islas Galápagos desde una perspectiva de One Health* [Tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid]. Repositorio Institucional de la Universidad Complutense de Madrid.
<https://docta.ucm.es/bitstreams/ef837ae8-d23c-44b0-81be-dc1568a6e8b8>

Nieto-Claudin, A., Esperón, F., Blake, S., & Deem, S. L. (2019). Antimicrobial resistance genes present in the faecal microbiota of free-living Galapagos tortoises (*Chelonoidis porteri*). *Zoonoses and Public Health*, 66(8). <https://doi.org/10.1111/zph.12639>

Organización Mundial de Sanidad Animal [OIE]. (2021). Lengua azul (infección por el virus de la lengua azul). *Manual Terrestre de la OIE*, 3(1.3).

Panei, C. J., Fuentealba, N. A., Bravi, M. E., Moré, G., & Brasso, N. (2024). *Nested PCR effective to detect low viral loads of SARS-CoV-2 in animal samples*. *Preventive Veterinary Medicine*, 231, 106303.
<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2024.106303>

Pike, K. N., Blake, S., Cabrera, F., Gordon, I. J., & Schwarzkopf, L. (2022). Body size, sex and high philopatry influence the use of agricultural land by Galapagos giant tortoises. *ORYX*, 56(1).
<https://doi.org/10.1017/S0030605320001167>

Pillajo, P. (2020). Descripción inicial de la dieta de la tortuga gigante de la Isla Santiago (*Chelonoidis darwini*), Galápagos, Ecuador. *Pontificia Universidad Católica del Ecuador-Facultad de Ciencias Exactas y Naturales -Escuela De Ciencias Biológicas*, 21(1).
<https://repositorio.puce.edu.ec/server/api/core/bitstreams/e7f4bf11-06f2-43ee-be39-23a31992f176/>

- Pontificia Universidad Católica del Ecuador [PUCE]. (2024). *Reptiles del Ecuador*. <https://bioweb.bio/faunaweb/reptiliaweb/>
- Poulakakis, N., Edwards, D. L., Chiari, Y., Garrick, R. C., Russello, M. A., Benavides, E., Watkins-Colwell, G. J., Glaberman, S., Tapia, W., Gibbs, J. P., Cayot, L. J., & Caccone, A. (2015). Description of a New Galapagos giant tortoise species (*Chelonoidis*; *Testudines: Testudinidae*) from Cerro Fatal on Santa Cruz Island. *PLoS ONE*, *10*(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138779>
- Ramírez, N., Rodrigo, L., Lobo, E., & Parcedo, M. (2023). Etiology of Cattle Mastitis in Zamora-Chinchipec, Ecuador. *Revista Producción Animal*, *2*(35). <http://scielo.sld.cu/pdf/rpa/v35n2/2224-7920-rpa-35-02-59.pdf>
- Rivera, M., & Mendoza, I. (2022). Visitors' perception of sustainable tourism management in nature destinations. case study in the galapagos national park (Ecuador). *Cuadernos de Turismo*, *50*, 461-465. <https://doi.org/10.6018/turismo.542011>
- Salamanca-Vargas, M. V. (2022). *Guía de identificación y cuidados iniciales de animales silvestres que ingresan al Centro de Atención y Valoración (CAV) de fauna silvestre de la Corporación Autónoma y Regional para la Defensa de la Meseta de Bucaramanga* [Publicación académica]. Universidad de Santander. <https://repositorio.udes.edu.co/entities/publication/160ebad1-20b0-4a24-9ec9-9629d2af79d1>
- Serrato, A., Flores, L., Aportela, J., & Sierra, E. (2014). PCR: reacción en cadena de la polimerasa. *Herramientas Moleculares Aplicadas En Ecología: Aspectos Teóricos y Prácticos*. https://researchgate.net/publication/266856169_PCR_reaccion_en_cadena_de_la_polimerasa
- Sumithra, T. G., Chaturvedi, V. K., Susan, C., Siju, S. J., Rai, A. K., Harish, C., & Sunita, S. C. (2013). Mycoplasmosis in wildlife: A review. In *European Journal of Wildlife Research*, *59*(6). <https://doi.org/10.1007/s10344-013-0769-9>

- Tamay de Dios, L., Ibarra, C., & Velasquillo, C. (2013). *Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real*. Academia.edu. https://www.academia.edu/16639841/Fundamentos_de_la_reacci%C3%B3n_en_cadena_de_la_polimerasa_PCR_
- Tapia, W. (2024). Análisis del papel funcional de las tortugas gigantes e iguanas terrestres. ¿Son especies clave e ingenieras de los ecosistemas áridos de las Islas Galápagos? [Tesis doctoral, Universidad de Málaga]. Dialnet. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=338061>
- Ulloa G., J. A. (2012). ¿Por qué debemos conservar la fauna silvestre? *Revista de Salud Pública*, 14(1), 98-112. <https://revistas.ucc.edu.co/index.php/sp/article/view/98>
- Urbina, A., Morales, J. A., Vargas, D., Méndez, M., Argüello, M., Acevedo, S., Corrales, L. R., & Alfaro, A. (2021). Diagnóstico post mortem de Tripanosomiasis canina usando la Reacción en Cadena de la Polimerasa. *Ciencias Veterinarias*, 39(2). <https://doi.org/10.15359/rcv.39-2.4>
- Vandekerckove, J. (2023). Management of *Mycoplasma agassizii* infection in a Horsfield tortoise (*Testudo horsfieldii*). *Companion Animal*, 28(4). <https://doi.org/10.12968/coan.2023.0002>
- Watson, J. E. M., Dudley, N., Segan, D. B., & Hockings, M. (2014). The performance and potential of protected areas. *Nature*, 515(7525). <https://doi.org/10.1038/nature13947>
- Wauters, N., Dekoninck, W., Nagy, Z. T., & Fournier, D. (2018). Impact of laying date and fire ants on hatchlings of *Chelonoidis porteron* Santa Cruz Island, Galápagos, Ecuador. *Herpetological Conservation and Biology*, 13(2), 479-487. https://www.antwiki.org/wiki/images/8/8c/Wauters_etal_2018.pdf
- Zacarías, G. G., Díaz Gómez, J. M., de la Fuente, M. S., & Moreno, M. (2016). Pequeño pariente de las tortugas terrestres gigantes de las Islas Galápagos. *Temas de Biología y Geología del NOA*, 6(1), 8-21.

0https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/62109/CONICET_Digital_Nro.eccd2719-93df-4617-9061-399648f2a97e_A.pdf?sequence=2

Anexos

Anexo 1 Identificando corrales e individuos que serán muestreados



Anexo 2 Corrales del 1 al 31



Anexo 3 Corrales de cuarentena



Anexo 4 Recolectando la muestra bucal



Anexo 5 Forma de sujetar a la tortuga



Anexo 6 Preparación de microtubos con el reactivo de preservación de ácidos nucleicos



Anexo 7 Toma de la muestra bucal.



Anexo 8 Muestras bucales en el laboratorio.



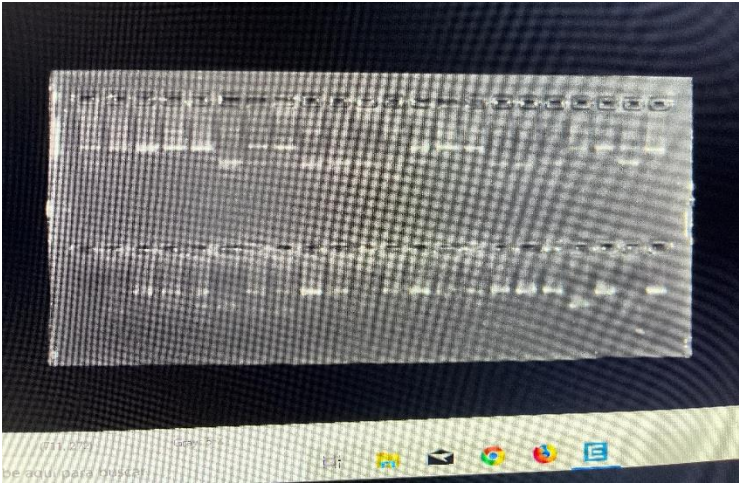
Anexo 9 Preparación para extracción de ADN.



Anexo 10 Preparación de un gel de agarosa.



Anexo 11 Resultados de la Nested-PCR





Declaración y autorización

Yo, **Guilcapi Cunalata, Iván Eric** con C.C: # **2000133765**, autor del trabajo de integración curricular **Prevalencia de Mycoplasma spp en cuatro especies de tortugas gigantes de un centro de crianza en la Isla Santa Cruz, Galápagos, mediante PCR**, previo a la obtención del título de **Médico Veterinario** en la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil:

1. Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tienen las instituciones de educación superior, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de titulación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública, respetando los derechos de autor.
2. Autorizo a la SENESCYT a tener una copia del referido trabajo de integración curricular, con el propósito de generar un repositorio que democratice la información, respetando las políticas de propiedad intelectual vigentes.

Guayaquil, 18 de febrero de 2025.

f. _____

Nombre: Guilcapi Cunalata, Iván Eric

C.C. 2000133765



Repositorio Nacional en Ciencia y Tecnología

Ficha de registro de tesis/trabajo de titulación

Tema y subtema	Prevalencia de <i>Mycoplasma</i> spp en cuatro especies de tortugas gigantes de un centro de crianza en la isla Santa Cruz, Galápagos, mediante PCR		
Autor(es)	Guilcapi Cunalata, Iván Eric		
Revisor(es)/tutor(es)	Echeverría Alcívar, José Alberto MSc.		
Institución	Universidad Católica de Santiago de Guayaquil		
Facultad	Facultad de Educación Técnica para el Desarrollo		
Carrera	Medicina Veterinaria		
Título obtenido	Médico Veterinario		
Fecha de publicación	18 de febrero de 2025	Nº de páginas	79 p.
Áreas temáticas	Fauna silvestre, Micoplasmosis, Chelonoidis, Bancos de Muestras Biológicas.		
Palabras clave / Keywords	Micoplasmosis, PCR, enfermedades, Galápagos		

Resumen/Abstract

Las islas Galápagos acoge especies endémicas, entre ellas la tortuga gigante, por ello la importancia de evaluar la prevalencia de *Mycoplasma* spp. en cuatro especies de tortugas (*C. donfaustoi*, *C. darwini*, *C. hoodensis* y *C. niger*) ubicadas en el Centro de Crianza Fausto Llerena, en la isla Santa Cruz, Galápagos. Para ello, se utilizaron muestras biológicas de hisopados bucales y se aplicó la técnica de PCR como método diagnóstico. Los resultados revelaron una prevalencia general del 77.45 %, siendo *C. donfaustoi* la especie con mayor prevalencia (86 % y *C. niger* la de menor prevalencia 80 %. Se identificaron correlaciones significativas entre la prevalencia de *Mycoplasma* spp. y variables como la secreción ocular ($\chi^2=43,35$; $p<0,001$) y la limpieza del alimento ($\chi^2=6,68$; $p=0,0097$), mientras que variables como el contacto con otras especies y limpieza de corrales no mostraron asociaciones relevantes.

Adjunto PDF:	<input checked="" type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No
Contacto con autor/es	Teléfono: +593 967948382	E-mail: ivan.guilcapi@cu.ucsg.edu.ec
Contacto con la institución (coordinador del proceso UTE)	Nombre: Carvajal Capa, Melissa Joseth	
	Teléfono: +593-958726999	
	E-mail: melissa.carvajal01@cu.ucsg.edu.ec	

Sección para uso de biblioteca

Nº de registro (con base en los datos)	
Nº de clasificación	
Dirección URL (tesis en la web)	