

221
2er

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia



INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN LA
DETERMINACION DEL SEXO DE LAS TORTUGAS
MARINAS: ESTUDIO RECAPITULATIVO

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
NARCISO ENRIQUE SOLANO NUÑEZ

Asesores: M.V.Z. Georgita Ruiz Michael
M.V.Z. Ma. de los Angeles Roa Riol





UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	1
I. INTRODUCCION.....	3
II. DETERMINACION DEL SEXO EN REPTILES.....	8
III. EFECTOS DE LA TEMPERATURA DE INCUBACION SOBRE LA DETERMINACION DEL SEXO.....	12
IV. METODOS DE SEXADO.....	20
V. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA DETERMINA-- CION DE LA TEMPERATURA.....	27
VI. LITERATURA CITADA.....	36
VII. FIGURAS.....	44
VIII. CUADROS.....	60

RESUMEN

Solano Núñez Narciso Enrique.- Influencia de la temperatura en la determinación del sexo de las Tortugas Marinas: Estudio recapitulativo (bajo la dirección de Georgita Ruiz Michael y María de los Angeles Roa Ricl').

La diferenciación sexual en los reptiles se determina en -- dos formas básicas:

1.- La determinación genética.- Se basa por la presencia de cromosomas sexuales heteromórficos, presentes en diferentes especies de lagartijas, serpientes y en tres géneros de tortugas. Este tipo de diferenciación sexual es común en mamíferos, aves y peces.

2.- La influencia del medio ambiente.- Es básicamente por la temperatura de incubación la cual depende la determinación del sexo en la mayoría de los reptiles como: lagartos, cocodrilos, iguanas y hasta ahora en 16 géneros de tortugas. Estudios realizados en algunas tortugas marinas, muestran que la temperatura de incubación, presenta rangos bien definidos para la producción de ambos sexos.

Para determinar machos la temperatura de incubación se encuentra entre 25 y 29.5°C y para determinar hembras entre 30.2 y 35.5°C.

El desarrollo embrionario no se lleva a cabo cuando existen temperaturas extremas de incubación (menores de 22°C y mayores de 37°C), en las que aumenta la mortalidad.

Durante el periodo de incubación, existe una serie de fenó-

menos que directa e indirectamente pueden influir sobre el sexo embrionario, a saber son: la temperatura umbral, el pe ríodo sensitivo primario, el sitio del nido en las diferentes zonas de la playa, la situación geográfica de la zona de anidación, las distintas condiciones climáticas que prevalecen conforme avanza la temporada reproductiva y la influencia de los factores físicos propios del nido.

Existen diversos métodos de sexado de crías para así establecer patrones diferenciales propios del sexo.

Se citan 66 referencias, de las cuales 42 hablan específicamente sobre tortugas marinas y 29 hablan de tortugas de agua dulce y aspectos generales.

I.- INTRODUCCION

En la actualidad es alarmante la velocidad en cada día, se extinguen irrecuperablemente diversas especies de flora y fauna silvestre en nuestro país. Es necesario asegurar la existencia de estos recursos vivientes, para así mantener -- una relación ecológica en óptimas condiciones y al mismo -- tiempo garantizar su disponibilidad a presentes y futuras generaciones.

La tortuga marina es una de los muchos ejemplos de -- nuestra fauna en peligro de extinción. Su situación actual es alarmante, ya que año con año, decrece el número de individuos reproductivamente activos dentro de las playas de anidación, específicas para cada especie (3) (Fig. 1).

Este reptil durante su época reproductiva habita en mares tropicales, donde se han realizado la mayoría de las investigaciones sobre su ciclo reproductivo, hábitos alimenticios, comportamiento de anidación y duración del periodo de incubación de sus nidos entre otras cosas (26, 27, 28,45).

México por su situación geográfica, se ubica como país único en el mundo, en donde sus playas son un lugar predilecto para la anidación de seis de las siete especies existentes en el mundo.

A continuación se enlistan las seis especies de importancia para el país: (23, 24, 30).

<u>NOMBRE CIENTIFICO</u>	<u>NOMBRE COMUN EN MEXICO</u>
<u>Caretta caretta</u>	Tortuga Caguama
<u>Chelonia mydas</u>	Tortuga Verde o Blanca
<u>Dermochelys coriacea</u>	Tortuga Ladd, machincuepa o siete filos.
<u>Eretmochelys imbricata</u>	Tortuga Carey
<u>Lepidochelys kempi</u>	Tortuga Lora
<u>Lepidochelys olivacea</u>	Tortuga Golfina

Para el territorio nacional, las playas de anidación que se encuentran sobre las costas del Océano Pacífico, tienen una superficie de desove de 340 kms que abarca desde el Estado de Baja California hasta el Estado de Chiapas, donde el mayor número de hembras anidan en los estados de Michoacán, Guerrero y Oaxaca (++) (Fig. 2).

Por las costas del Golfo de México, aunque en menor grado, las playas de anidación abarcan 27 km entre los estados de Tamaulipas, Veracruz y Quintana Roo (29) (++) (Fig. 2).

Actualmente la tortuga marina en México, juega un papel importante en la economía de las poblaciones regionales, en particular en el Estado de Oaxaca, debido a la comercialización del animal adulto en forma legal y organizada (única mente en dicho estado) así como en forma ilegal la comercialización del huevo.

Debido al existente desequilibrio ecológico no cuantificado en las costas de nuestro país, causado entre otras cosas por la sobre explotación intensiva e irracional (++) Márquez, Peñaflores I.N.P 1987 (por imprimir).

de éstas y otras especies, teniendo como consecuencia la -- virtual desaparición de poblaciones enteras de varias de -- ellas; claros ejemplos son los de la Tortuga Lora (Lepidochelys kempii) en Rancho Nuevo, Tamaulipas, en donde se esti ma una población de 550,600 ejemplares totales a nivel mundial. Otro caso es el de la Tortuga Golfina (Lepidochelys olivacea) en Mismaloya, Jalisco y el de la Tortuga Carey (Eretmochelys imbricata) en las playas del Caribe.

Debido a la importancia de estos reptiles como recursos biológicos aprovechables, es evidente la necesidad de un manejo racional que permita su disponibilidad a largo -- plazo (14, 32, 49).

Para asegurar la existencia de la especie se debe hacer énfasis sobre la conservación de crías para repoblación y al mismo tiempo tomar en cuenta la proporción de sexo entre las mismas (19).

Para poder estimar los rangos de sexo en la especie, es necesario saber cómo influye la temperatura de incubación en la diferenciación gonadal y así, establecer rangos diferenciales característicos de ambos sexos.

Pieau (1971-72) y Bull (1980) mencionan que el sexo en los reptiles se determina durante el periodo de embriogénesis, influenciado por la temperatura de incubación de los huevos, donde se producirán machos o hembras dependiendo de la temperatura respectiva para cada uno de los sexos (4,12, 22, 34, 42, 46, 55, 58, 64, 65).

Para certificar que la temperatura de incubación in--

fluye sobre la proporción de sexo, es necesario sexar a las crías, lo cual implica el sacrificio en sus diferentes estadíos de desarrollo embrionario, así como al momento de la eclosión y posteriormente procesar las gónadas extraídas -- por los diversos métodos de laboratorio, para establecer patrones diferenciales propios del sexo (33, 35, 59, 65).

II.- DETERMINACION DEL SEXO EN REPTILES

La biología de la determinación y diferenciación sexual en la gran mayoría de los vertebrados se ha estudiado extensivamente.

Las primeras investigaciones sobre la determinación sexual fueron realizadas en fósiles, en donde se carece de un entendimiento de la fisiología y de las bases moleculares de los mecanismos de la determinación del sexo. Por este medio, no se ha podido llegar a una conclusión sobre los -- orígenes de este sistema (7).

Bull (1980) menciona que para los antiguos vertebrados el sexo se determinaba por hermafroditismo y que por -- origen evolutivo se desarrolló el comportamiento de la de-- terminación sexual por diferenciación gonadal en presencia de cromosomas sexuales (7).

Actualmente se han determinado tres tipos de mecanismos que indican el proceso evolutivo de la diferenciación sexual.

a) Hermafroditismo.- Particularidad de pocas especies de presentar ambos sexos en un solo organismo. Llega a ocurrir en animales inferiores como en nemátodos, en pocas variedades de peces y muy raramente en mamíferos, característica no deseada (17).

b) Determinación del sexo genotípico.- Se basa en la presencia de cromosomas sexuales, que desde la formación -- del cigoto, predispone al sexo de la gónada, independientemente de las condiciones ambientales.

Se presenta en mamíferos, aves, en la mayoría de los peces y en algunos reptiles (7).

c) Determinación del sexo influenciado por la temperatura de incubación.- La diferenciación sexual depende de la temperatura que se establece en el nido, donde la gónada embrionaria presenta la capacidad de desarrollarse hacia cualquiera de ambos sexos. Se presenta en la mayoría de los reptiles (7).

En los reptiles se han determinado dos formas básicas de diferenciación sexual:

1.- La que se caracteriza por la presencia de cromosomas sexuales.

2.- La que se determina por influencia del medio ambiente, específicamente por la temperatura de incubación.

1.- La determinación del sexo genotípico, se refiere al sistema genético que presentan los progenitores y que heredan a su descendencia por medio de cromosomas sexuales, -- que definen el sexo del individuo desde la formación del cigoto, fijándose irreversiblemente por códigos genéticos propios de la especie, resultando una proporción de sexo de 1:1 (7, 56).

Como ya se mencionó, este tipo de determinación sexual rige la reproducción en mamíferos, aves y en algunos reptiles como serpientes y lagartijas (7, 9).

Los cromosomas sexuales en las serpientes se presentan en el cuarto cromosoma clasificado como "z" en hembras y "w" para machos y para otras especies en reptiles, se clasifica

"X" para machos y "Y" para hembras.

Los heterogametos masculinos y femeninos que pertenecen a la clasificación genotípica, denotan para la progenie "ZZ" en hembras y "ZW" en machos en donde "ZW" y "XY" se clasifican de acuerdo al genoma que se registra del estudio cariotípico de la especie (7, 12, 50, 52, 55, 58).

Existen tres géneros de tortugas que presentan cromosomas sexuales heteromórficos: Staurotypus, Siebenrockiella y Trionyx (50, 55, 56).

2.- En otras especies de reptiles como cocodrilos, iguanas, lagartos, tortugas marinas y dulceacuícolas, la determinación del sexo se da por influencia ambiental y específicamente por la temperatura que prevalece en el nido durante el período de incubación (4, 12, 58, 65).

Pieau (1971-72) confirmó, que la temperatura de incubación tiene un efecto determinante sobre la proporción de -- sexo en dos especies de tortugas de agua dulce; en Emys orvicularis y Testudo graeca, resultando una variable proporción de sexos (34, 47).

La diferenciación sexual en tortugas marinas es también influenciada por la temperatura de incubación en las diferentes especies: Caretta caretta (Yntema y Mrsosovsky 1980); Chelonia mydas (Morreale y col. 1981, Miller y Limpus 1981); Lepidochelys olivacea (Asis, Silva y col. 1981, Moanty Hermad 1983, McCoy 1983). Lepidochelys kempi (Márquez 1976); Dermochelys coriacea (Benabib Nisembaum 1984); Eretmochelys imbricata (Darlymple y col. 1985) (34).

Estudios de campo y de laboratorio han demostrado que

la determinación del sexo influenciada por la temperatura de incubación se da en 16 géneros de tortugas (4, 22, 55, 58, 64) (cuadro 1).

La temperatura de incubación, ya sea en condiciones naturales o de laboratorio controlará la determinación del sexo donde se producen en ciertas especies, machos a temperaturas entre 22° y 29°C y hembras entre 30° y 35°C (4, 7, 8, 10, 16, 35, 51, 52, 54, 55, 56, 58, 65).

En los cocodrilos, estudios realizados en el género Alligator mississippiensis, demuestran que los rangos sexuales determinados por la temperatura de incubación son para la producción de hembras entre 26 a 29°C y para la producción de machos entre 30.2 a 34°C (8, 28).

Thompson (1983) menciona que en los géneros de tortugas de agua dulce, Emydura y Clemys no poseen cromosomas sexuales heteromórficos y que posiblemente carecen de mecanismo de determinación sexual dependiente de la temperatura de incubación (4, 12, 56).

III.- EFECTOS DE LA TEMPERATURA DE INCUBACION SOBRE LA DETERMINACION DEL SEXO.

La investigación sobre el fenómeno de la termo-determinación fueron realizados en un principio en Tortugas de agua dulce (34, 42) y que posteriormente por métodos de estudio más especializados, se pudo comprobar que dicho fenómeno interviene en la diferenciación sexual en las diferentes especies de tortugas marinas (3, 34, 42).

Para poder determinar los efectos de la temperatura sobre el desarrollo embrionario, específicamente sobre las características diferenciales gonadales propias del sexo, es necesario tomar en cuenta toda una secuencia de eventos que surgen durante el periodo de incubación.

El desarrollo embrionario para su estudio se ha dividido en estadfos, donde se describe el crecimiento gradual del embrión (6, 13). Para la especie Golfina (Lepidochelys olivacea), Cratz (1982) determina 31 estadfos de desarrollo, durante el periodo de incubación de 45 días aproximadamente en condiciones naturales (13). Sin embargo en dicha especie el lapso de incubación puede variar desde 42 hasta 70 días dependiendo de la temperatura ambiental (13, 16).

Es necesario que la temperatura de incubación se encuentre entre 25 a 35°C, rango en el cual aumenta la posibilidad de sobrevivencia embrionaria (3, 6, 11, 35, 40, 62).

Bustard (1972) reporta que para Chelonia mydas temperaturas extremas (más de 35°C y menores de 25°C) aumentan los niveles de mortalidad embrionaria en condiciones naturales. En estas temperaturas el embrión se mantiene vivo, solo

durante el primer tercio de desarrollo y muere posteriormente a causa de la inestabilidad térmica del embrión (1,35,60).

Limpus (1971) reporta que en la especie Dermochelys coriacea a temperaturas mayores de 37.5°C o menores de 22° o 20°C no hay sobrevivencia de embriones (35,60).

Ackerman (1980) menciona que el intercambio de gas que se lleva a cabo en la cámara de incubación, juega un papel importante para mantener la viabilidad del embrión y esto depende de la profundidad del nido, el tipo de arena existente en el mismo y el aumento de capas de arena sobre el nido ocasionado por vientos fuertes o por anidaciones cercanas de otras hembras que pueden provocar la muerte embrionaria (1, 2). Sin embargo Morreale y col. (1981) descartan la posibilidad de mortalidad diferencial en estos casos (1, 2, 37).

Existen rangos de temperatura y tolerancia a la misma, dependiendo de la especie, presentando una temperatura umbral determinada (3,4,6,9,10,11,15,19,36,44,51,63,65).

En Chelonia mydas el registro de temperaturas entre 29° y 31°C da por resultado la producción de individuos de ambos sexos en el mismo nido (54).

Pieau (1972) demuestra que el período sensitivo en el desarrollo gonadal de embriones de Emmys orbicularis y Tes-tudo traeca, se desarrollan gónadas testiculares entre 24° - 27°C y gónadas ováricas entre 29-33°C (47).

La tortuga marina Caretta caretta, presenta el mismo rango de temperatura de diferenciación sexual que las tortugas de agua dulce (56, 64).

En el género de tortuga Chelydra serpentina los huevos

incubados a 20°C y 30°C se desarrollan hembras en 100% y a temperaturas entre 24 a 26°C se producen el 100% machos, los efectos de la temperatura sobre esta especie presentan dos temperaturas umbrales extremas en las cuales se producen hembras, mientras que en las temperaturas intermedias se producen machos (9, 56, 58, 61, 62) (Cuadro 2).

Otro factor que interviene en la diferenciación sexual es el periodo sensitivo primario. Bull y Vogt (1982) lo definen como el intervalo de tiempo durante el desarrollo en el cual los fenómenos de la determinación del sexo son irreversibles ocupando los estadios embrionarios del 16 al 22 en la especie Lepidochelys olivacea (10, 20, 56, 58) (Figs. 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11).

Bull y Vogt (1982) han demostrado que la determinación del sexo ocurre en el segundo tercio del desarrollo por un efecto acumulativo de la temperatura de incubación, es decir, que la determinación del sexo durante el periodo sensitivo primario, depende de las temperaturas que previamente experimentó el embrión al inicio de la incubación (58).

Esta temperatura sensitiva primaria presenta varios factores: rompe la relación entre la temperatura del medio ambiente y la que se encuentra en la cámara de incubación, marcando así la independencia térmica del nido, al mismo tiempo se inicia la diferenciación gonadal y se encarga de mantener la temperatura constante hasta el final del periodo de incubación (10, 19, 56, 58, 61).

Bull y Vogt (1981) reportan que el periodo sensitivo -

primario en dos especies de tortugas de agua dulce, Grampemys ovachitensis y Chrysemys picta se determina a partir del estadio 16 (10).

Elizalde (1988) concluyó que el período sensible a la temperatura para la determinación del sexo bajo condiciones experimentales se localiza entre los 18 y 25 días de incubación correspondiendo a los estadios 14 y 22 del desarrollo embrionario en la especie Lepidochelys olivacea (13, 20) (Figs. 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11).

Durante el inicio de la temperatura umbral (temperatura en la que se produce una proporción de sexos de 1:1) y antes de presentarse el período sensitivo primario, existen muestras de la posible reversión gonadal por un efecto genético moderado que se presenta antes del estadio 16, este evento recibe el nombre de período sensitivo secundario (10, 56, 58).

Standora y Spotila (1985) tratan de encontrar una relación que pueda existir entre los mecanismos de determinación del sexo como son: la existencia de cromosomas sexuales heteromórficos y la influencia de la temperatura de incubación. Estos estudios se realizaron en las especies Chelonia mydas y Lepidochelys olivacea, donde se sugieren tres procesos que pueden relacionarse:

- a) La existencia de un antígeno H-Y como un factor organizado por gónadas heterogaméticas.
- b) La posible reversión del sexo por acción genética.
- c) La existencia de un DNA satélite, que se han repor-

tado algunas serpientes.

a) Para la detección del antígeno H - Y se hacen pruebas serológicas denominadas "Antígeno del macho serológicamente detectable" (SMD), (50).

Watchel (1975), Koo y Varano (1981) reportan que es detectable el antígeno H - Y serológicamente definido en mamíferos y en tortugas que presentan cromosomas sexuales heteromórficos y es posible su relación con la diferenciación sexual. Esto no indica que el antígeno H - Y sea la primera causa de diferenciación gonadal (50) (cuadro 3).

Bull (1980) demuestra que los modelos de evolución de la determinación sexual para XX/XY genotípicamente, ya sea en uno o en otro (X o Y) se pierde en la transición por efectos de la temperatura sobre la diferenciación sexual. La temperatura es determinante para la modificación y supresión del antígeno H - Y afectando la acción del gen (24, 38, 52).

b) Spotila y Standora (1985) consideran que el embrión puede tener un sistema ZZA o ZWA:

Donde Z: es un código para testículos en desarrollo

W: es un código para el antígeno H - Y en el tejido somático.

A: Es un código para los ovarios en desarrollo.

Esta exposición se determina individualmente para ZW cuando se requiere de temperaturas para la producción de machos, donde el código A es inactivado; cuando la temperatura es requerida para la producción de hembras es activado el código A, quedando ZW para machos y/o ZZA para hembras (52).

c) Cuando el sexo en reptiles se determina por influen

cia genética, se dice que presentan un DNA específico con un satelitismo propio y que es distribuido por todo el macronúcleo de las especies en las que existe este tipo de cromosomas. Este DNA ha sido identificado en lagartijas de la familia Erysc johni y Xenopeltis unicolor (52).

La hipótesis de Standora y Spotila (1985) sobre el sexo específico del DNA, es una secuencia ocurrida en tortugas, - donde el DNA satélite tiene que pasar por la base molecular de la temperatura dependiente del sexo (TSD) seguido y distribuido por una temperatura sensitiva con efecto molecular, envolviendo así al DNA satélite y seguido por códigos que -- determinarían el desarrollo gonadal entre las temperaturas de 29° a 31°C, correspondiendo túbulos seminíferos para machos y ovarios para hembras respectivamente (52) (cuadro 3).

Merchant (1987) menciona que aunque la temperatura, de incubación juega un papel importante en la diferenciación -- sexual, aún no se conoce el proceso de morfogénesis de la -- gónada embrionaria. Una vez iniciada la diferenciación gonadal los cambios en la temperatura de incubación parecen influir en la morfogenética de los procesos diferenciales gonadales, es decir que existe una serie de variaciones con respecto a los estadios de incubación entre las diferentes especies de quelonios (34), también reporta que en la especie Lepidochelys olivacea la diferenciación gonadal al momento de la eclosión es aún indiferenciada, de manera que puede -- existir la posibilidad de una reversión de sexo posterior.

Se sugiere que las células germinales primordiales de

las tortugas marinas, siguen un cambio migratorio semejante al que sucede en las células germinales de los mamíferos -- (24).

Merchant (1987) menciona que la primera indicación de la diferenciación sexual gonadal en embriones incubados a - 32°C y que se encuentran entre los estadios 24-29 aproximadamente a 31 días de incubación, los procesos morfológicos diferenciales radican en el cambio gonadal (34, 35).

Los efectos de la temperatura en la reversión del sexo gonadal, se puede explicar por términos de bisexualidad de la gónada primordial estudiada en la especie Tetrapoda. La influencia genética rige la proporción de sexos antes de que el embrión llegue al período crítico de diferenciación gonadal (en tortugas marinas), donde posteriormente los efectos de la temperatura sensitiva primaria, ya sea masculinizante o feminizante, provoca la reversión del sexo gonadal permanente (34, 35).

Yntema (1978) realizó estudios con Chelydra serpentina, para determinar en qué estadios de desarrollo embrionario -- existe la susceptibilidad a la temperatura para la determinación del sexo de las crías y encontró que en general dicha susceptibilidad se presenta en el segundo tercio del desarrollo embrionario (62).

Otro factor que depende de la temperatura de incubación es el tiempo de la misma y que se define como el intervalo de tiempo entre la ovoposición y la emergencia de las crías a la superficie (33).

La duración del periodo de incubación depende una serie de alteraciones como son: las condiciones climáticas, la -- elección del sitio del nido y el manejo del huevo para incubación artificial como práctica de conservación (18, 39, 50, 55, 57).

Dutton, Whitmore y Mrosovsky (1985) comparan la relación que existe entre la temperatura de incubación de los nidos naturales y los incubados artificialmente en cajas de unicel. El periodo de incubación es considerablemente más largo en las cajas de unicel con un tiempo aproximado de 2-3 días más, donde se reportan temperaturas menores de 30°C (19, 38).

En las tortugas: Lad (Dermochelys coriacea), Verde (Chelonia mydas, Golfina (Lepidochelys olivacea) y Lora (Lepidochelys kemp), la temperatura de incubación reportada en las cajas de unicel es frecuentemente 2°C menor en comparación con los que se incuban en estado natural, corriendo el riesgo de la masculinización de crías nacidas por este método (37, 50, 51).

La incubación artificial es una práctica de conservación para los huevos que se encuentran expuestos a la depredación o que tienen pocas posibilidades de desarrollarse. Esta práctica se lleva a cabo comúnmente en los países de Chipre, Costa Rica, México, Estados Unidos de América y en la mayoría de los países del caribe.

Gutzke y Paukstis (1983) demostraron la existencia de un intercambio hídrico entre el cascarón y la humedad relati

va propia del sustrato, en donde se corre el riesgo de existir una saturación de los niveles de absorción de líquidos, alterando de esta manera el calor metabólico y por consiguiente se alterará la proporción de sexo, alargando así el periodo de incubación y aumentando los niveles de mortalidad embrionaria, esto es para los nidos que tienen contacto directo con los niveles de marea y por las estaciones lluviosas extremadamente fuertes y largas (25, 37).

La fisiología de termo-determinación de sexo se basa en el comportamiento de anidación que la hembra presenta al momento de la elección del sitio del nido (51, 52, 56).

IV METODOS DE SEXADO

Para certificar que la temperatura de incubación influye verdaderamente en la determinación del sexo y poder caracterizar las diferencias propias del mismo, se ha hecho necesario observar las gónadas de crías sacrificadas en sus diferentes estadios de desarrollo embrionario así como las recién eclosionadas.

Existe una gran variedad de métodos de sexado pudiéndolos dividir en:

1.- Métodos para las especies que se rigen por la termo-determinación sexual.

2.- Métodos de sexado para especies en las cuales la diferenciación sexual se hace por medio de estudios cariotípicos.

1.- Método de sexado, en las especies en las cuales la temperatura influye en la determinación del sexo:

1.1.- Miller y Limpus (1981) trabajaron con gónadas obtenidas de embriones sacrificados de la especie Chelonia mydas y que posteriormente son procesadas y teñidas por la técnica histológica Tricrómica de Masson (33, 51, 59).

El diagnóstico distintivo gonadal es: la determinación de machos por la presencia de túbulos testiculares, teniendo diferenciación en la corteza, ya que presenta degeneraciones junto con los ductos de Muller. Se determinan hembras por la formación de la médula, que es consistente y densa y en algunas ocasiones presentan una laguna a lo largo de la matriz de la médula (51, 62) (Figs. 12, 13, 14, 15, 16, 17).

1.2.- Yntema y Mrosovsky (1980) trabajaron gónadas de -

crfas de la especie Caretta caretta y utilizaron el método de fijar las gónadas en formol salino al 10% y teñirlos con Hematoxilina-Eosina con el medio de contraste de Ehrichs (19).

El diagnóstico diferencial de esta técnica es determinar machos por la presencia de túbulos seminíferos, teniendo un diámetro de 2-4 mm de espesor, las gónadas son de mayor tamaño y presentan bordes laterales más cerrados en comparación con las gónadas ováricas. La superficie de la corteza presenta un epitelio escamoso y las estructuras de los cordones primarios se encuentran íntimamente ligados a los túbulos seminíferos (33, 64).

Se determinan hembras al observar que el epitelio de la corteza está compuesto por células cuboides en diversas capas que se separan claramente por la médula.

Las gónadas de las hembras presentan en la superficie ventral un área irregular bien marcada, poco profunda y acanalada, el oviducto corre lateralmente al ovario y el diámetro es aproximadamente 0.05 mm. El epitelio germinal es afilado delineadamente por la túnica albuginea y los cordones primarios persisten en la médula unidos al estroma (19, 36, 55, 60, 64).

1.3.- Spotila, y col., (1983) trabajaron cortes histológicos de las especies Chelonia mydas y Lepidochelys olivacea, basándose en los criterios descritos por Yntema y Mrosovsky (1980) y los de Miller y Limpus (1982) (33).

Las características gonadales diferenciales son:

Para hembras el contorno de la gónada es más enroscado que en el testículo, la zona cortical exterior que forma la superficie del ovario, se conoce como epitelio germinal formado por células cuboides, donde pueden presenciarse células grandes con núcleo aparente que son principalmente folículos, dentro de esta capa se encuentra la zona medular que -- presenta mucho más tejido conjuntivo (51).

Para machos la gónada testicular tiene un margen exterior poco ovalado con una capa gruesa de células, con epitelio escamoso, en la zona medular presenta túbulos seminiferos aparentes (51).

Las gónadas indiferenciadas, llamadas intersexos presentan características de macho y de hembra, presentando médula tubular y epitelio germinal respectivamente, sin poder distinguir sus demás estructuras (33, 51, 60, 63,66) (Figs. 18, 19, 20, 21).

1.4.- Van Der Heiden, Briseño y Dueñas (1983) mencionan que para designar el sexo por medio de técnicas histológicas, se requiere de una serie de procesos laboriosos, como son: la tinción del tejido, contar con un microtomo para -- seccionar las muestras, seleccionar los cortes y tener un microscopio de luz. La utilización de esta técnica requiere de una inversión económica y de tiempo, que son elevados (53).

Como las gónadas son órganos relativamente grandes, es razonable pensar que si las estructuras pudieran hacerse -- transparentes, serían más distinguibles microscópicamente.

Estos investigadores presentan un método para procesar

las gónadas de tortugas marinas utilizando glicerina como medio aclarante.

Esta técnica consiste básicamente en procesar las gónadas enteras o una parte superficial de ellas, fijándolas en formol al 10% y añadiendo glicerina pura, posteriormente la preparación se somete a fuego durante 4-6 hs y reduciendo así el medio por evaporación en glicerina pura. Los líquidos perdidos son recuperados añadiendo glicerina deshidratada cubriendo completamente las gónadas (53).

La diferenciación sexual se hace por examinación directa del tejido, utilizando un microscopio de disección.

Las gónadas de las hembras demuestran en su estructura la típica forma dentellada de los bordes laterales, con la en voltura del epitelio germinal (Figs. 22).

Las gónadas de los machos, la superficie es lisa con un número de repliegues que corresponden a los túbulos seminíferos (Figs.23).

Aparentemente las características externas de las gónadas examinadas, demuestran una marcada diferencia entre ambos sexos.

Este estudio se realizó en gónadas de crías de las especies: Lepidochelys olivacea, Chelonia mydas y Dermodochelys coriacea (4,53,65).

1.5.- Whitmore, Dutton y Mrosovsky (1985) determinaron el método de sexado rápido por observación gonadal en la especie Chelonia mydas. Los tejidos son colectados y puestos en formol salino al 7% durante 12-13 meses, en donde la góna

da ovárica durante este tiempo toma un color amarillento -- que diferencian de las gónadas testiculares al presentar un color blanquecino.

El índice de error de este método es muy alto y varía de 5.0 a 21.7% ya que al observar las gónadas al microscopio de disección el efecto del color es poco confiable (64).

Owen y col., (1987) reporta que el sexo en tortugas marinas inmaduras (de 4-8 años de edad) en la especie Chelonia mydas puede ser diferenciado, por medio de la técnica de radio inmuno-ensayo sensitivo para la testosterona en suero.

Owen (1978) le administró a animales juveniles hormonas gonadotrópicas; folículo estimulante (FSH) y gonadotropina del suero de yegua preñada (PMSG) que estimulan la producción de andrógenos.

La diferencia se da por los niveles detectados de testosterona en suero sanguíneo de machos y en hembras no son detectados los niveles de estrógenos ni antes ni después de la inoculación hormonal.

Esto produce un mayor éxito en la predicción del sexo en animales inmaduros cuyos niveles de testosterona endógena son realmente bajos pero detectables por la técnica de radio inmuno-ensayo, en suero sanguíneo para el macho juvenil (43).

1.7.- Fraizer (1983) menciona que el sexo en animales adultos se puede diferenciar basándose en las características sexuales secundarias.

En el macho la cola es más larga, el caparazón es más aplanado dorso-ventralmente y la uña de las aletas anteriores es más prominente que en las hembras (23, 43) (Figs.24, 25, 26, 27).

2.- Métodos de sexado para especies en las cuales la diferenciación sexual se hace por medio de estudios cariotípicos.

2.1.- Mediante cariotipos, Sites y Bickham (1979) y Vogt y Bull (1982) reportan que en los géneros de tortugas Trionyx, Staurotypus y Siebenrockiella presentan cromosomas sexuales heteromórficos. Este tipo de cromosomas se detectan utilizando la técnica de tinción de plata (Ag-As) y demuestran que el macho presenta el sexo heteromórfico por presentar una cromatina corta, por ser acrocéntrico, tiene una heterocromatina restringida y presenta una constricción secundaria a lo largo del centrómero. El cromosoma sexual heteromórfico en estas especies es el cromosoma "X" (50,55).

2.2.- Makino (1952) reporta que se puede determinar el sexo en embriones de Chelonia mydas japonésica por histomografía directa, basándose en cariotipos, demostrando que -- son hembras las que presentan un par de cromosomas más que los machos; hembras 56 pares machos 55 pares de cromosomas (43).

2.3.- Bickham (1979) reporta que el estudio cariotípico de tres especies de tortugas marinas: Chelonia mydas, Caretta caretta y Eretmochelys imbricata registra 56 pares

de cromosomas. Las bandas cromosomales de los quelonios son comparados con el cariotipo de 6 familias de tortugas del género Cryptodire. Analizando la clasificación de la comparación, indica que el cariotipo de los quelonios pueden ser de un suborden primitivo.

Aunque la determinación del sexo cromosómico no se presenta en tortugas marinas, no se puede descartar la idea de que para estas especies el desarrollo gonadal se de por diferenciación genética, ya que existen microcromosomas que pudieran presentar dimorfismos imposibles de detectar con los actuales métodos de mapeo cromosómico (5).

V.- FACTORES QUE INFLUYEN EN LA DETERMINACION DE LA TEMPERA TURA UMBRAL.

Como ya se mencionó, durante el periodo de incubación - existe la temperatura umbral, que se define como aquella que produce una proporción de sexo macho: hembra de 1:1 (4,52).

En las tortugas marinas su temporada reproductiva tiene una duración aproximada de 5-6 meses dependiendo de la especie, en donde se someterán a una serie de variables, que modificarán la temperatura umbral y por consiguiente alterará la proporción de sexo (4, 26, 27, 44, 56).

Las variaciones que alteran la temperatura umbral en la cámara de incubación pueden ser factores externos y/o internos.

1.- VARIACIONES EXTERNAS

Mrosovsky (1984) menciona que para estimar la relación del sexo se debe tomar en cuenta la época de anidamiento y - de eclosión de los huevos, considerando las diferencias climáticas estacionales.

Es por eso que se debe llevar un registro de anidamiento que contenga los siguientes datos:

- Especie
- Fecha de anidamiento
- Estación climatológica
- Sitio del nido en la playa
- Fecha aproximada de eclosión.

Esto se hace con la finalidad de llevar un control sobre el periodo de anidación y poderlo relacionar con los -- factores ambientales y a su vez con la proporción de sexo en

estado natural (40).

La temporada de anidación para las especies de tortugas Lepidochelys olivacea y Dermochelys coriacea son particularmente largas pudiéndose extender de 5 a 6 meses, por lo que la fecha de ovoposición podría tener influencia sobre la proporción de sexo, debido a los cambios de temperatura durante las condiciones ambientales (4).

Las condiciones climatológicas varían durante las horas de insolación, en época de lluvias y las fluctuaciones anuales de los niveles de mareas (4).

Durante las estaciones lluviosas existe una gran variación de la temperatura umbral, ya que cuando son fuertes y constantes, bajan los niveles del calor metabólico, alterando la proporción de sexo, inclinándose hacia la producción de machos y al mismo tiempo aumenta el período de incubación debido a un aumento en la humedad del sustrato (38).

Se describe la posibilidad de comparar la determinación del sexo influenciado por la temperatura en diferentes áreas geográficas (31).

La variación geográfica fue estudiada por Bull (1982) en tortugas de agua dulce de los géneros Gramtemys, Chrysemys y Pseudogeográfica en las zonas del norte y sur de los Estados Unidos de América, y de esta manera se observa cómo afectan los cambios de zona a la temperatura umbral (11, 30). Se demostró que la temperatura promedio durante el día es de 2 a 4°C más caliente en las localidades del sur en comparación con las del norte, en dichas comparaciones se registró el mis-

mo patrón de temperaturas para la producción de ambos sexos, es decir que temperaturas entre 28 - 30°C producen machos y de 30 a 35° producen hembras. Pero se reportó que el género de tortugas Chrysemys picta en las localidades del sur, presenta una temperatura umbral más baja que las temperaturas de otros nidos de la misma especie incubados sincronizadamente en la misma región. Esto indica que este género de -- tortuga presenta un rango de temperatura umbral poco variable en comparación con las otras especies (4, 7, 11, 56).

Estos estudios demuestran que las temperaturas umbrales no cambian en la misma magnitud que las temperaturas -- climáticas entre las poblaciones estudiadas, ya que las primeras son influenciadas por las temperaturas propias de la región (4, 11).

En las tortugas Golfinas (L. Olivacea) y Ladd (D. coriacea) presentan variación en la temperatura umbral, debido a su comportamiento de migración y distribución geográfica, manteniendo los rangos habituales de la temperatura propia de la región.

La idea de que las hembras anidan en su lugar de nacimiento presenta problemas interesantes sobre la determinación del sexo.

Es claro que no todas las hembras anidan en el lugar -- donde nacen, ya que algunas hacen sus nidos en lugares permanentemente sombreados y en donde se registran temperaturas para la producción de machos. Anidar en el sitio preciso de nacimiento aumentaría los porcentajes de mortalidad,

cuando el nido sea excavado por parientes cercanos o por la misma hembra (4, 56).

La desigualdad de sexo puede ser debido a que una playa en particular presenta distintas características térmicas en sus diversas áreas de anidación (26, 40, 54).

Spotila, et.al., (1981) reportan que para facilitar el estudio de la temperatura en las diferentes zonas de la playa, relacionadas con el comportamiento de anidación, se dividen en tres zonas térmicas designadas como A, B y C, que dependen en parte de los diferentes niveles de humedad, exposición al sol y a los niveles de vegetación respectivamente (4, 11, 17, 51, 56).

A continuación se describen las características de las distintas zonas:

ZONA "A"

Comprende todos los nidos que se encuentran desde el nivel de marea alta hasta los primeros 5 metros después de la cresta de la berma de la playa. Los nidos puestos en esta zona, predisponen a la masculinización de crías, por un efecto enfriador del agua en un intercambio hídrico constante, lo cual, también aumenta los niveles de mortalidad y corre el riesgo de que los nidos queden descubiertos por el deslave continuo de la playa causado por mareas altas. Para estos nidos se llevan a cabo prácticas de conservación como son el trasplante de los mismos a zonas protegidas de la playa o incubarlos artificialmente en cajas de unicel (4, 5f, 52).

(Fig. 28).

ZONA "B"

Comprende desde la cresta de la berma de la playa hasta el inicio de las plantas marinas.

Cuando la hembra selecciona el sitio del nido en esta zona, presenta una exposición mayor hacia los rayos solares, registrándose temperaturas entre 30 - 35°C produciéndose así un mayor número de hembras (52) (Fig. 28).

ZONA "C"

Comprende desde el inicio de la vegetación marina que se extiende hasta la zona de vegetación selvática (característica de playa alta).

Cuando la hembra selecciona el sitio de anidación en esta zona, donde se registran temperaturas bajas en comparación con la Zona "B" ya que las plantas producen zonas sombreadas provocando así alteraciones en la temperatura umbral (4, 51) (Fig. 28).

Benabib (1983) reporta que la tortuga Ladd (Dermochelys coriacea) no presenta hábitos de anidación en esta zona de la playa.

Spitila y col., (1983) determinan una metodología para el estudio de las temperaturas en las diferentes zonas de la playa por medio de perfiles térmicos que se basan en comparar la temperatura de cada nido situado en las diferentes zonas de la playa tomando la temperatura durante 24 hrs cada 2 horas donde se determinan las fluctuaciones más relevantes sucedidas en este lapso de tiempo, a ésto se le da el nombre de variación diurna (51).

La lectura de la temperatura se realiza por medio de -- termopares que presentan sensores bimetalicos. Para tener un control de la temperatura de incubación, se coloca este tipo de sensores en diferentes nidos que se encuentran en las distintas zonas térmicas de la playa, al momento de la ovoposición se coloca un sensor en el centro del nido para determinar las variaciones del calor metabólico (51).

2.- VARIACIONES INTERNAS EN EL NIDO.

Los factores internos dependen de las características físicas propias del nido y que pueden alterar o mantener la temperatura umbral.

El calor metabólico es uno de los factores predisponentes donde se basa la proporción de sexo, ya que de él depende la independencia térmica del nido en relación con el medio ambiente (58).

En el nido se comienza a generar calor metabólico cuando se ha completado el 50 al 64% de desarrollo embrionario, es decir que el periodo de incubación ha llegado a la temperatura sensitiva primaria (56).

Owen (1978) reporta que en Malasia, los nidos naturales de las tortugas Dermochelys coriacea, son transportados a un lugar protegido de la playa, donde se depositan únicamente 50 huevos por nido, disminuyendo de esta manera el calor metabólico, pero esta práctica corre el riesgo de disminuir su temperatura de incubación de 1 a 2°C masculinizando a las -- crías, teniendo un periodo más largo de incubación en comparación con los nidos naturales (4, 38).

Otro factor que altera el calor metabólico es la profundidad del nido. Los nidos de las tortugas marinas por lo general son profundos y por lo tanto con temperaturas relativamente estables dependiendo del número de huevos (4).

La variación que pueda existir en la profundidad del nido, se debe a las capas de arena superficiales que hay sobre el nido. Esta acumulación se debe a que otras hembras anidadoras, al momento de preparar la cama del nido aumentan las capas de arenas a otros nidos que se encuentran cercanos, también por acciones de vientos fuertes o por los niveles de marea alta que ocasionan variaciones en la temperatura de --incubación. De esta forma hay ocasiones que sobre un nido se llegan a acumular más de 50 cms de arena, quedando mucho más profundo de lo que la hembra lo hizo inicialmente, pudiendo suponer una baja en la temperatura de .5° a 1°C, alterando de esta manera la proporción de sexo, inclinándose hacia la producción de machos (43).

En épocas de lluvias la temperatura de incubación se ve afectada, ya que en el nido aumentan los niveles de humedad del sustrato, disminuyendo la temperatura de .5 a 1.5°C, debido a un intercambio hídrico constante, produciendo la masculinización de embriones durante el primer tercio de desarrollo, alterando de esta manera los rangos de la temperatura umbral (25, 38, 58).

Para Chelonia mydas y Lepidochelys olivacea existe un rango de temperatura crítico de determinación sexual entre los 28° y 30°C que pueden atribuirse a variaciones térmicas

en la cámara de incubación produciendo una mezcla de machos y hembras en el mismo nido (50, 51).

La incubación artificial de los huevos de tortugas marinas, es una práctica de conservación que tiene como finalidad de proteger los nidos expuestos a la depredación o que tienen poca probabilidad de sobrevivencia (18, 21, 38, 39, 48, .58).

Para la incubación artificial, es necesario remover los huevos de nidos naturales y colocarlos en cajas de unicel -- que miden 36 cms de largo, 26 cm de ancho y 30 cms de profundidad, posteriormente se le añade en el fondo una primera capa de arena húmeda, se depositan los huevos y éstos son cubiertos por una nueva capa de arena (18, 36, 38, 41).

Las desventajas que presenta este tipo de incubación son:

- El período de incubación es más largo en comparación con los nidos naturales.

- La temperatura de incubación es frecuentemente 2°C más baja que los nidos naturales.

- Provoca la masculinización de crías eclosionadas por este medio.

- Aumentan los porcentajes de intersexos debido quizás a las fluctuaciones térmicas que sufre.

- Los niveles de mortalidad son muy altos (18, 19, 36, 38, 41, 42, 56, 58, 63) (Cuadro 4).

Dutton, Whitmore y Mrosovsky (1985) reportan que el período de incubación artificial de los huevos de Dermochelys

coriacea es más largo presentando una variación de 1.4 a 2.4°C produciendo machos en un 100% (19, 36, 37).

En una comparación de huevos incubados artificialmente de las especies Dermochelys coriacea y Chelonia mydas en la misma temporada, resultó para la tortuga Leúd (D. coriacea) un 100% de machos y para la tortuga verde (C. mydas) el 59% de machos y el 41% de hembras, lo que indica que la temperatura umbral para Chelonia mydas es más fluctuante que la de Dermochelys coriacea que presenta rangos más estrictos (19, 36).

Para la especie Caretta caretta la temperatura en incubación artificial es 1°C más bajo que en los nidos naturales, provocando la masculinización de las crías (35, 39).

El periodo de incubación artificial para la tortuga Carey (Eretmochelys imbricata) es de 63 días promedio con un porcentaje de eclosión del 89.24% (48).

México es el único país donde la incubación artificial se hace en forma masiva de huevos obtenidos in situ de las hembras sacrificadas destinadas a la comercialización. Dicha incubación se lleva a cabo en las instalaciones del Centro Biológico de Mazunte en Puerto Angel, Oaxaca.

El periodo de incubación en este centro varía de 60-80 días con un rango de temperatura de 25 a 29°C donde los niveles de eclosión son muy bajos (+).

(+) Peñaflores (1986) información personal, Director Técnico del Centro Biológico Mazunte Puerto Angel, Oaxaca.

VI. LITERATURA CITADA

- 1.- Ackerman, A.R. and Prange, D.H.: Origen diffusion a cross a sea turtle (C. midas) eggs shell. Comp. Biochem. Physiol., 43a: 905-909 (1972).
- 2.- Ackerman, A.R.: Physiological and ecological aspect of gas exchange by sea turtle eggs. Amer. Zool. 20: 575-583 (1980).
- 3.- Benabib, N.M. y Cruz, W.L.E.: Las tortugas marinas en México. Nature., 3: 157-166 (1981).
- 4.- Benabib, N.M.: Efecto de la temperatura de incubación, la posición del nido y la fecha de anidación en la determinación del sexo de Dermodochelys coriacea. Tesis de maestría. Facultad de Ciencias. U.N.A.M. (1984).
- 5.- Bickham, J.W.: Karyotypes of sea turtles and the karyological relationships of the chelonidae. Amer. Zool., 19 (3) 983 (1979).
- 6.- Blanck, E.C. and Sawyer, H.R.: Hatchery practices in relation to early embryology of the loggerhead sea turtle, Caretta caretta (Liné). Journal experimental marine biology ecology., 49: 163-177 (1981).
- 7.- Bull, J.J.: Sex determination in reptiles. Quart. Rev. Biol., 55: 3-21 (1980).
- 8.- Bull, J.J.: Temperature-Sensitive periods of sex determination in a Lizard: Similarities with turtles and crocodilians. J. Exp. Zool., 241: 143-148 (1987).
- 9.- Bull, J.J. and Vogt, R.C.: Temperatura dependent sex determination in turtles. Science., 206: 1186-1188 (1979).
- 10.- Bull, J.J. and Vogt, R.C.: Temperature sensitive pe--

- riods of sex determination in Emydid turtles. J. Exp. Zool. 218: 434-440 (1981).
- 11.- Bull, J.J., Vogt, R.C. and McCoy.: Sex determining temperature in turtle a geographic comparation. Evolution. 36 (12) 326-332 (1982).
 - 12.- Bull, J.J., Legler, R. and Vogt, R.C.: Non-temperature dependent sex determination in two suborders of turtles. Copeia., 3: 784-786 (1985).
 - 13.- Crastz, F.: Embryological stages of the marine turtle Lepidochelys olivacea (Eschocholtz). Rev. Biol. Trop., 30 (2): 113-120 (1982).
 - 14.- Cruz, W.L.E. y Ruiz, G.: La preservación de las tortugas marinas. Ciencia y Desarrollo., 56: 66-79 (1984).
 - 15.- Charnov, E.L. and Bull, J.J.: When is sex environmentally determined. Nature., 266: 828-830 (1977).
 - 16.- Dalrymple, G.H., Hampp, J.C. and Wellins, D.J.: Male-biased sex ratio in a cold nest of a hawks bill sea -- turtle (Eretmochelys imbricata). J. Herpet., 19 (1): 332-339 (1985).
 - 17.- Dimond, M.T. and Mohanty-Hejmadi, P.: Incubation temperature and sex differentiation in sea turtles. Amer. Zool. 23 (4) (1983).
 - 18.- Dodge, C.H., Dimond, M. and Wunder, C.: Effects the temperature on the incubation time og eggs or the eastern box turtle, Terrapine caroliné, caroliné., Florida Marine Research., 33: 8-11 (1976).
 - 19.- Dutton, P.H., Whitmore, C.D. and Mrosovsky, N: Masculinization of leatherback (Dermodochelys coriacea) hatchi-

- lings from eggs incubation in styrofoam boxes. Biol. Conserv., 31: 249-264 (1985).
- 20.- Elizalde, A.M.C.: Período sensible a la temperatura para la determinación del sexo en la tortuga marina Lepidochelys olivacea. Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología. E.N.E.P. Iztacala. U.N.A.M. (1988).
- 21.- Flower, L.: Hatchig secces and nest prediction in the green sea turtle (C.mydas) at Tortugero Costa Rica. Ecology., 60 (5): 946-955 (1979).
- 22.- Frair, W.: Contribution of serology to sea turtle classification, Amer. Zool., 19 (3) (1979).
- 23.- Fraizer, G.J.: Análisis estadístico de la tortuga golfinina Lepidochelys olivacea (Eschscholtz) de Oaxaca, -- México. Ciencia Pesquera. Inst. Nal. Pesca 4: 49-75 (1983).
- 24.- Gibbons, J.W.: Sex ratio in turtles. Ecology., 12: 252 - 254 (1970).
- 25.- Guuzke, H.N.W. and Paukstis, L.G.: Influence of the hydric of turtles. The Journal of Experimental Zoology., 226: 467-469 (1983).
- 26.- Hirt, T.H.: Some aspect of the nesting behaviour and reproductive biology of sea turtle. Amer. Zool., 20: 507-523 (1980).
- 27.- Lutz, L.P.: The regulatory biology of sea turtle. Copeia., 3: 662-663 (1985).
- 28.- Marck, F. and Ted. J.: Temperature dependent sex determination in Alligator mississippiensis. Journal of Zoology., 200: 143-177 (1983).

- 29.- Márquez, M.R.: Reservas naturales para la conservación de las tortugas marinas de México. Instituto Nacional de Pesca., 183 (1976).
- 30.- Márquez, M.R., Villanueva, O.A. y Peña Flores, S.C.: Anidación de la tortuga Ladd (Dermodochelys coriacea schlegelii) en el Pacífico Mexicano. Ciencia Pesquera. I.N.P. México. 1 (1): 45-52 (1981).
- 31.- Márquez, M.R., Villanueva, O.A. y Peñaflores, S.C.: Sinopsis de datos biológicos de la tortuga golfinia Lepidochelys olivacea (Escholtz, 1829) en México. I.N.P. Sinop. Pesca., (2): 61 (1976).
- 32.- Márquez, M.R., Peñaflores, S.C. y Villanueva, O.A.: Progresos en la investigación de las tortugas marinas en México. Memorias de la reunión sobre los recursos de pesca costera en México, Veracruz, Ver., 89-93 (1976).
- 33.- McCoy, J.C.: Temperature controlled sex determination in sea turtle Lepidochelys olivacea. Journal of Herpetology. 17 (4): 404-406 (1983).
- 34.- Merchant, L.H., Villalpando, F.I., and Centeno, B.: Gonadal morphogenesis under controlled temperature in the sea turtle Lepidochelys olivacea. Departamento de Fisiología del Instituto de Investigaciones Biomédicas. U.N.A.M. (por imprimir) (1987).
- 35.- Merchant, L.H., Villalpando, F.I., Centeno, U.B. y Sallame M.A.: Etapa del desarrollo en que la temperatura controla la diferenciación sexual en Chelonia mydas.

Depto. de Fisiología. Inst. de Inv. Biomédicas. U.N.A.M.
1988.

- 36.- Miller, D.J. and Limpus, J.C.: Incubation period and sexual differentiation in the green turtle (Chelonia mydas). Proceeding of the melbourne herpetological. Symposium zoological board of Victoria. July: 66-72 (1981).
- 37.- Morreale, S.J., Ruiz, G.J., Spotila, J.R. and Standora, E. A.: Temperature dependent sex determination: Current practices threaten conservation of sea turtle. Science., 216: 1245-1247 (1982).
- 38.- Mrosovsky, N.: Thermal biology of sea turtle. Amer. Zool. 20: 531-547 (1980).
- 39.- Mrosovsky, N.: Sex ratio bias in hatchling sea turtle from artificially incubated egg. Biol. Conserv., 23: 309-314 (1982).
- 40.- Mrosovsky, N., Hopkins, M.S. and James, I.: Sex ratio of sea turtle seasonal changes. Science., 25: 739-741 (1984).
- 41.- Mrosovsky, N. and Yntema, C.L.: Temperature dependence of sexual differentiation in sea turtle, implications for conservation practices. Biol. Conserv., 18: 271-280 (1980).
- 42.- Owen, W.D. and Hendrickson, R.J.: Endocrine studies and sex ratio of the green sea turtle (C.mydas). Florida Marine Research., 33 (1976).
- 43.- Owen, W.D., Hendrickson, R.J., Lance, V. and Callard, P.I. A technique for determining sex of immature Chelonia mydas using a radioimmunoassay. Herpetological. 34- (3): 270-273 (1978).

- 44.- Perran, R.J.: Museum of comparative zoology. Adult sex ratio in the green sea turtle (Chelonia mydas). Copeia, 3: 774-776 (1984).
- 45.- Peterl, L. Regulation biological in the sea turtle. Copeia 3: 662-663 (1985).
- 46.- Pieau C. and Vasse J.: The first stages of anterior limb primordium formation in the embryos of the Moorish Turtle (Testudo graeca) Ann. Embryol Morphog., 3 (4): 399-409 (1971).
- 47.- Pieau Claude.: Concerning the sex ratio in embryos of 2 chelonians (Testudo graeca L. and Emya orbicularis L.) taken from artificially incubated eggs. Hebd seances Natur (Paris). 272 (24):3071 - 3074 (1972).
- 48.- Raj, V.: Incubation and hatching success in artificially incubated eggs of the hawksbill turtle, Eretmochelys imbricata (L) J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 22: 91-99 (1976).
- 49.- Ruiz, G.M. y Cruz, W.L.E.: La importancia de la investigación para la conservación de las tortugas marinas en México.: Proyecto de Conservación en Chacahua, Oax. Simposio de Fauna Silvestre. Fac. de Med. Vet. y Zoot. U.N.A.M. México, D.F., 205-219 (1983).
- 50.- Site, J.W., Bickham, J.W. and Haiduk, M.W.: A derived X chromosome in the turtles genus Staurotypus. Science, 206: 1410-1412 (1979).
- 51.- Spotila, R.J., Standora, J.E., Morreale, J.S. and Ruiz, J.G.: Methodology for the study of temperature related

- phenomena affecting sea turtle eggs. U.S. Fish and Wildlife Service, Albuquerque, New México, 1-51 (1983).
- 52.- Standora, E.A. and Spotila, J.R.: Temperature dependent sex determination in sea turtles. Copeia, 3: 711-722 (1985).
- 53.- Van Der Heiden, A.M.R., Briseño, C. and Ríos, D.: Simplified method for determining sex in hatchling sea turtle. Copeia, 3: 779-781 (1985).
- 54.- Villanueva, A.: Hábitos reproductivos de la tortuga -- Prieta (Chelonia agassizii) en las costas de Michoacán. Chelonologica, 2 (2): 66-77 (1981).
- 55.- Vogt, R.C. and Bull, J.J.: Genetic sex determination in the spiny softshell Trionyx spiniferus (Testudines; Trionychidae). Copeia, 3: (699-700 (1982).
- 56.- Vogt, R.C. and Bull, J.J.: Temperature controlled sex determination in turtle: Ecological and behavioral aspects. Herpetology, 38: 156-164 (1982).
- 57.- Vogt, R.C., Bull, J.J., McCoy, and Housead, T.W.: Incubation temperature influences sex determination Kinosternid turtle. Copeia, 2: 480-482 (1982).
- 58.- Vogt, R.C. y Flores, V.O.: Determinación del sexo en tortugas por la temperatura de incubación de los huevos. Ciencia, 37: 21-32 (1986).
- 59.- Whitmore, C., Dutton, P. and Mrosovsky, N.: Sexing of hatchling sea turtle. Gross appearance versus histology. Journal of Herpetology, 19 (3): 430-431 (1985).

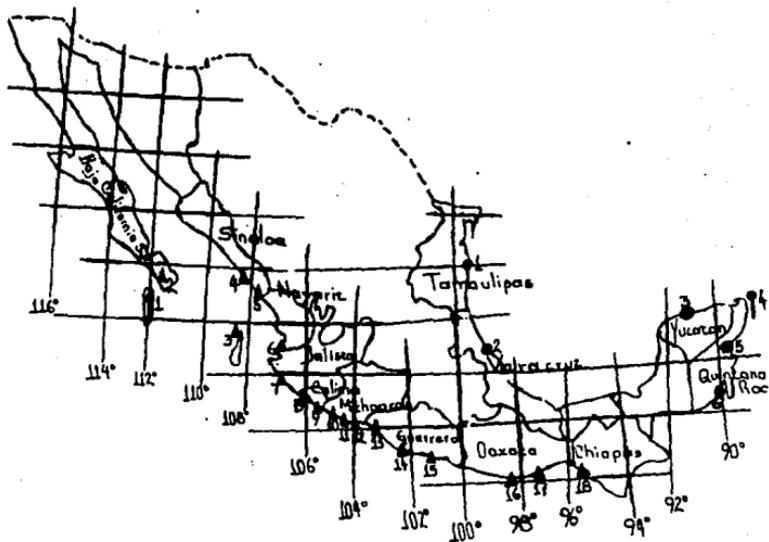
- 60.- Wood, F.E. and Wood, J.R.: Sex ratio in captive reared green turtles *Chelonia mydas*. Copeia, 2: 482-485 (1982).
- 61.- Yntema, C.L.: Effects of incubation temperatures on sexual differentiation in the turtles. Chelydra serpentina. J. Morphol., 150: 453-462 (1976).
- 62.- Yntema, L.C.: Incubation times for eggs of the turtle Chelydra serpentina (testudines: Chelydridae) at various temperatures. Herpetologica 34 (3): 274-277 (1978).
- 63.- Yntema, L.C.: Temperature levels and periods of sex determination during incubation of eggs of Chelydra serpentina. Journal Morphology, 159: 17-28 (1979)'
- 64.- Yntema, L.C. and Mrosovsky, N.: Incubation temperature and sex ratio in hatchling logger head turtles. A preliminary report. Marine Turtle Newsletter, 11: 9-10 (1979).
- 65.- Yntema, C.L. and Mrosovsky, N.: Sexual differentiation in hatchling loggerheads (Caretta caretta) incubated at different controlled temperatures. Herpetologica, 36: 33-36 (1980).
- 66.- Yntema, C.L. and Mrosovsky, N.: Critical periods and pivotal temperatures for sexual differentiation in loggerhead sea turtle. Can. J. Zool. 60 (5): 1012-1016 (1982).



FIGURA 1.- MAPA DE LAS PLAYAS DE ANIDACION PARA LAS 7 ESPECIES DE TORTUGAS MARINAS. (3).

	NOMBRE CIENTIFICO
▲ TORTUGA VERDE	<u>Caretta caretta</u>
* TORTUGA GOLFINA	<u>Lepidochelys olivacea</u>
● TORTUGA LORA	<u>Lepidochelys kemp</u>
+ TORTUGA LAUD	<u>Dermodochelys coriacea</u>
/ TORTUGA CAHUAMA	<u>Chelonia mydas</u>
■ TORTUGA KIKILA	<u>Chelonia depressa</u>
• TORTUGA CAREY	<u>Eretmodochelys imbricata</u>

FIG. 2 PLAYAS DE ANIDACION DE LAS DIFERENTES TORTUGAS EN LA REPUBLICA MEXICANA (31) (Modificado).



Continúa FIG. 2

PLAYAS DEL OCEANO PACIFICO.

1. ISLA REVILLAGIGEDO (Baja California Sur)
2. TODOS LOS SANTOS (Baja California Sur)
3. ISLAS MARIAS (Nayarit)
4. EL QUELITE (Sinaloa)
5. TECPAN (Sinaloa)
6. CHACALACA (Nayarit)
7. MISMALOYA (Jalisco)
8. PLAYA CAMPOS (Colima)
9. BOCA DE APISA (Colima)
10. MARUATA-COLOLA (Michoacán)
11. MEXIQUILLO (Michoacán)
12. PLAYA AZUL (Michoacán)
13. PETÁCALCO (Guerrero)
14. PETATLAN (Guerrero)
15. PIEDRA DE TLACOYUNQUE (Guerrero)
16. CHACAHUA (Oaxaca)
17. ESCOBILLA (Oaxaca)
18. PTO. ARISTA (Chiapas)

PLAYAS DEL ATLANTICO

1. RANCHO NUEVO (Tamaulipas)
2. TECOLUTLA (Veracruz)
3. PTO. ARENAS (Mérida)
4. ISLA CANTOY (Quintana Roo)
5. ONOX (Quintana Roo)
5. BAHIA DE ASCENCION (Quintana Roo)

ESTADIOS 14-25 DEL DESARROLLO EMBRIONARIO DE LA TORTUGA MARINA Lepidochelys olivacea que coinciden con el período crítico de la determinación del sexo (13). (Modificado)



FIG. 3



FIG. 4



FIG. 5

FIG. 3.- Estadío 14. El caparazón primordial presenta prominencias laterales por detrás de las aletas. Existe una opacidad general del embrión.

FIG. 4.- Estadío 15. El borde posterior del caparazón primordial es evidente con una protuberancia en la región vertebral. El tercer surco interdigital es aparente en el antebrazo y el segundo surco interdigital es presente en el miembro posterior.

FIG. 5.- Estadío 16. Son detectables las cinco falanges en cada aleta. Las costillas son evidentes y el proceso mandibular se extiende hasta llegar por debajo de la fisura coroidea.



FIG. 6



FIG. 7



FIG. 8

FIG. 6.- Estadío 17. El proceso mandibular se extiende hasta el borde anterior del ojo. La cabeza es más opaca, son evidentes el diencéfalo y mesencéfalo. El ducto endolinfático es poco aparente.

FIG. 7.- Estadío 18. El embrión presenta una carúncula rostral bien definida con un punto blanco en la punta del maxilar. En las aletas anteriores no es aparente la uña.

FIG. 8.- Estadío 19. Las capas neurales se presentan pigmentadas. Son más evidentes las crestas vertebrales y los bordes laterales del caparazón.



FIG. 9



FIG. 10



FIG. 11

FIG. 9.- Estadfo 22. Las mandíbulas están más desarrolladas en el punto de oclusión. Las uñas de las aletas anteriores son aparentes y pigmentadas.

FIG.10.- Estadfo 24. Hay presencia de placas en cabeza, párpados y aletas. El plastrón presenta escamas. Las carúnculas son densas y abarcan hasta la punta de los maxilares. Las uñas son más prominentes.

FIG.11.- Estadfo 25. La placa mentoniano presenta una aparente despigmentación en forma triangular. Hay una pigmentación oscura en las placas, neural y costal. Presenta una pigmentación marcada en la región del cuello y del plastrón. Hay presencia de escamas en la región pélvica y caudal.

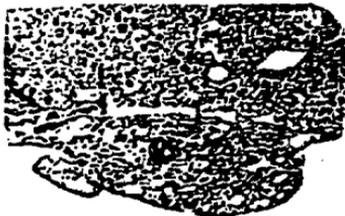


FIG. 12



FIG. 13



FIG. 14

Gonáda fenotípica de machos (Figs. 12, 13, 14) (57).

(Tinción: Tricrómica de Masson) (45x)

- FIG. 12 Presencia del ducto paramesonéfrico (k)
 FIG. 13 Protuberancia gonadal que demuestra los túbulos testiculares
 (tt) y presentación del epitelio escamoso (se)
 FIG. 14 Degeneración del ducto paramesonéfrico (d)



FIG. 15



FIG. 16



FIG. 17

Gonada fenotípica de hembra (Figs. 15,16,17) (57)

Tinción: Tricrómica de Masson (45x)

- Fig. 15 Presencia de ductos paramesonefricos (k) y protuberancia gonadal (g)
- Fig. 16 Presentación del grosor de la corteza (c) y de la médula densa (m)
- Fig. 17 Presentación del lumen del sducto paramesonéfrico (L) y del epitelio columnar (ec).



Fig. 18 Ovario de una cría de Tortuga Lepidochelys olivacea seccionada y teñida con Hematoxilina-Eosina (45x). La superficie exterior del ovario es replegada, el epitelio -- germinal presenta células cuboides (Ec). La flecha señala las células germinales, donde en la capa cortical hay presencia de folículos primarios. El interior del área ovariica es rico en -- tejido conectivo. (T.C) (49)

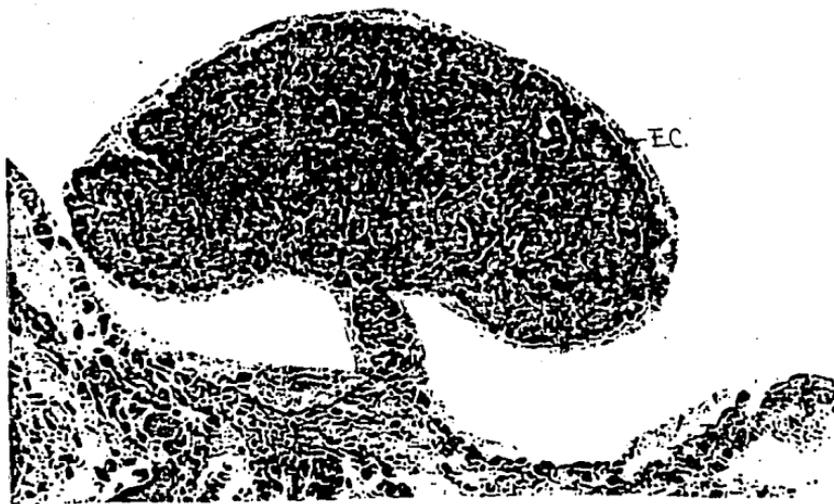


FIG. 19 Ovario de una cría de Tortuga Chelonia mydas seccionada y teñida con Hematoxilina-Eosina (100X).
En el exterior de la zona cortical, se observa el epitelio germinal, formado por células cuboides. (E.C.).
El interior de la zona medular es rico en tejido conectivo -- (T.C.) (49) .



Fig. 20 Testículo de una cría de tortuga de Lepidochelys olivacea - -
 seccionada y teñida con Hematoxilina-Eosina (45x).
 En su parte externa presenta células densas que forman parte
 del epitelio escamos (E.es) En el interior de la zona medu
 lar presenta un claro orden de túbulos seminíferos (T.S.)(49).



FIG. 21 Testículo de una cría de tortuga Chelonia mydas seccionada - y teñida con Hematoxilina-eosina (100x)
En su parte exterior existen células densas que forman parte del epitelio escamos (E.es). En la zona medular se observa un orden de los túbulos seminíferos (T.S.) (49) .

FIGS. 22, 23.- Gónadas diferenciales por el método de aclaramiento con glicerina vistos en el microscopio de disección (20).

FIG. 22



FIG. 23

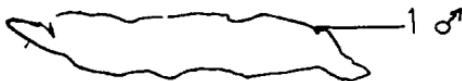


FIG. 22 Gónada femenina con la presencia de rugosidades o invaginaciones en la superficie (r).

FIG. 23 Gónada masculina con la superficie lisa, carente de invaginaciones (l).

FIGS. 24, 25, 26, 27,

Dimorfismo sexual en tortugas adultas (Lepidochelys olivacea) (23).



FIG. 24.- Vista ventral de la cola de un macho de Tortuga Golfina.



FIG. 25.- Vista central de la aleta anterior derecha de un macho de Tortuga Golfina mostrando la garra en forma de garfio.

Dimorfismo sexual en tortugas adultas (*Lepidochelys olivacea*)
(23). (Continda).

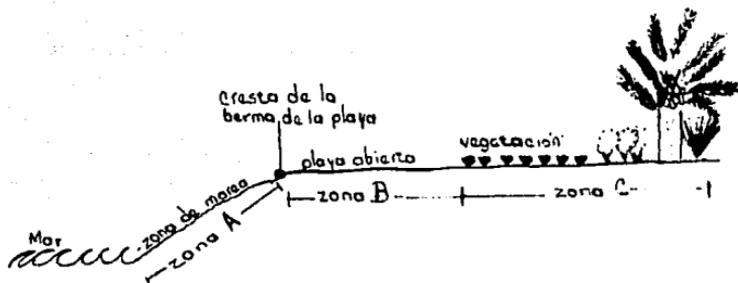


FIG. 26.- Vista ventral de la cola de una hembra de tortuga Golfina.



FIG. 27.- Vista ventral de la aleta anterior derecha de una hembra de Tortuga Golfina mostrando una garra pequeña y recta.

FIG. 28. División de las zonas térmicas de la
playa (4-48).



ZONA A: Zona de mareas hasta 5 m. adelante de la cresta de la berma de la playa.

ZONA B: Zona de la playa abierta hasta el inicio de la vegetación marina.

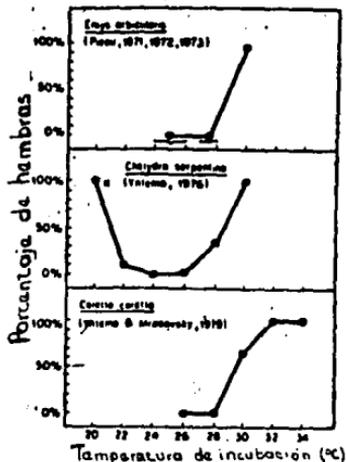
ZONA C: Zona de vegetación que abarca todo tipo de vegetación marina y selvática.

CUADRO No. 1 Géneros de Tortugas en los que se conoce que la temperatura de incubación de los huevos -- afecta el sexo de las crías. (56).

	E S P E C I E	R E F E R E N C I A
Emydidae	Chrysemys	(1) Bull y Vogt, 1979 y 1981 Bull et al. 1982
	Emydoidea	(1) Vogt y Bull, 1982 a
	Emys	(1) Pieau, 1975 y 1978
	Graptenys	(7) Bull y Vogt, 1979 y 1981 Bull et. al. 1982
	Pseudemys	(1) Bull et. al. 1982
	Terrapene	(1) Vogt y Bull, 1982 a
Kinosteridae	Kinosternon	(3) Vogt y Flores-Villela - 1985 y Vogt et al. 1982
	Sternotherus	(2) Vogt et al. 1982
Chelydridae	Chelydra	(1) Yntema 1976, 1979
	Macrocleminys	(1) Vogt y Bull 1982 a
Dermatemydidae	Dermatemys	(1) Vogt y Flores-Villela 1985
Cheloniidae	Chelonia	(1) Morreale et al. 1982
	Caretta	(1) Yntema y Mrosovsky 1980
	Eretmochelys	(1) Darymple et al. 1985
	Lepidochelys	(1) McCoy et al. 1982
Dermochelyidae	Dermochelys	(1) Benabib-Niscnbaum 1984

El número entre paréntesis se refiere al número de especies en las que se ha estudiado el fenómeno.

CUADRO 2. Comparación en la temperatura de incubación entre dos tortugas de agua dulce y una especie de tortuga marina incubadas a diferentes temperaturas (62).



Comparación en la temperatura de incubación entre dos tortugas de agua dulce y una especie de tortuga marina incubadas a diferentes temperaturas.(62).

- A *Emys orbicularis*
 B *Chelydra serpentina*
 C *Caretta caretta*

Tortuga de agua dulce
 Tortugas de agua dulce
 Tortuga marina

CUADRO 3.- ESPECIES DE TORTUGAS QUE PRESENTAN EL ANTIGENO H Y DETECTABLE (50).

FAMILIA	GENERO Y ESPECIE	ORIGEN	ANTIGENO H-Y	
			Macho	Hembra
Pelomedusidae	<u>Pelomedusa subrufa</u>	Africa (Ghana)	-	+
	<u>Pelusios subniger</u>	Africa (Ghana)	-	+
Kinosternidae	<u>Kinosternon subrubrum</u>	America (Pennsylvania)		+
	<u>Sternotherus minor</u>	America (Florida)	-	+
Emydidae	Emydinae			
	<u>Emys orbicularis</u>	Europa (Yugoslavia)	-	+
	<u>Pseudemys scripta elegans</u>	America (Tennessee)		+
	<u>Terrapene ornata</u>	America (Carolina)	-	+
	Batagurinae			
	<u>Chinemys reevesi</u>	Sur de China	+	-
	<u>Cuora amboinensis</u>	Tailandia	-	+
	<u>Siebenrockiella crassicollis</u>	Tailandia	-	+
Testudinidae	<u>Testudo hermanni</u>	Europa (Yugoslavia)	-	+
	<u>Kinixys belliana</u>	Africa (Kenya)	-	+
	<u>Malacochersus tornieri</u>	Africa (Kenya)	-	+
Platysternidae	<u>Platysternon megacephalum</u>	Sur de China	-	+