

00377  
8



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

"PROPORCION SEXUAL DE CRIAS DE LA TORTUGA  
LAUD (*Dermochelys coriacea*) OBTENIDAS MEDIANTE  
DOS TECNICAS DE INCUBACION  
(VIVERO Y CAJAS DE POLIURETANO)



INCUBACION  
POSGRADO EN CIENCIAS  
BIOLÓGICAS

298378

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
(BIOLOGIA AMBIENTAL)  
P R E S E N T A :  
LETICIA GAMEZ GUADARRAMA

DIRECTORA DE TESIS: DRA. MIRIAM BENABIB NISENBAUM

MEXICO, D.F.

2001



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

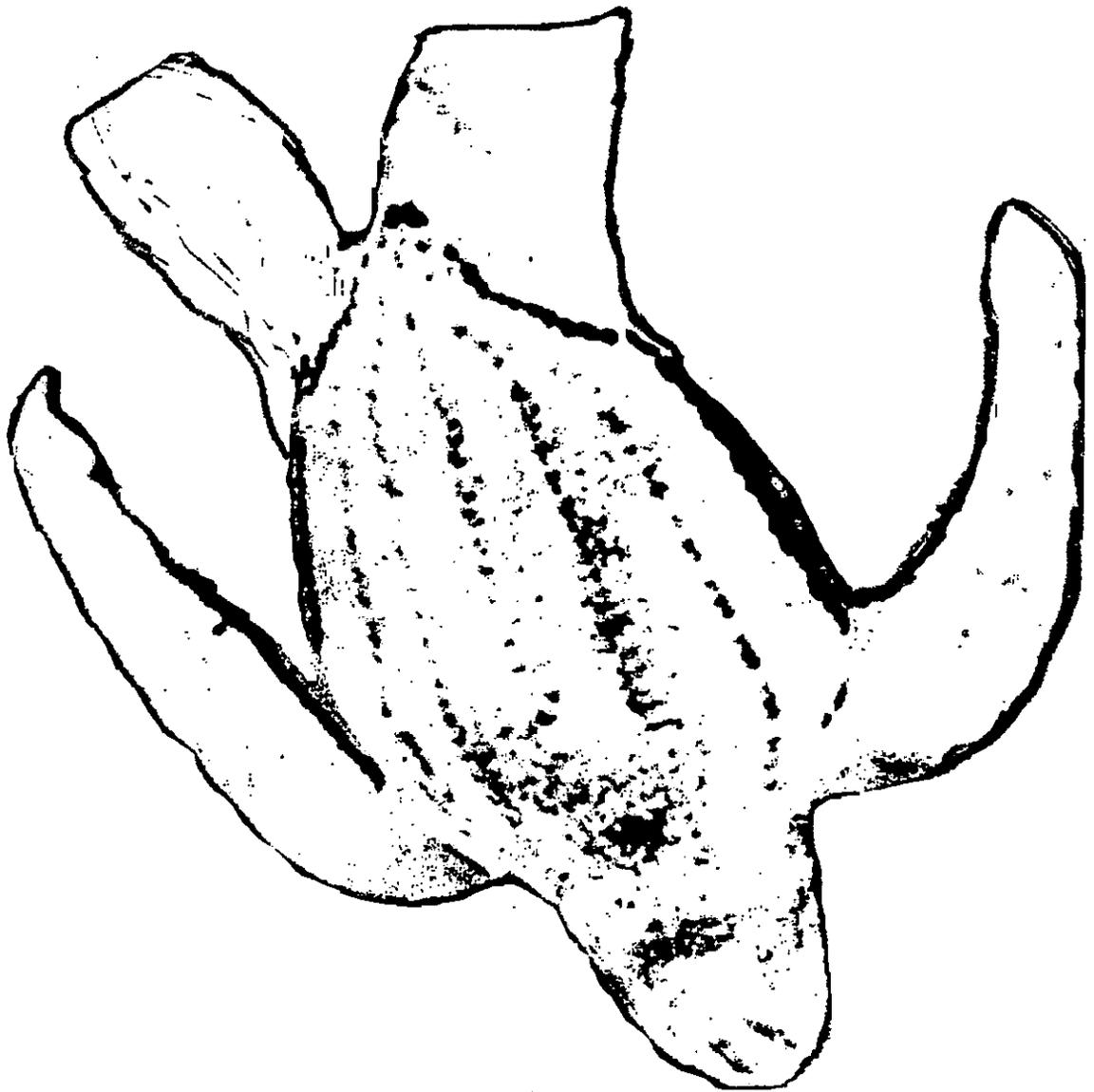
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

*A mis Padres*

*A mis Hermanos*

*A mis Sobrinos*

*A mis Amigos*



*Llega la noche y Te salgo a buscar  
despaciO y rastrera en la arena de la playa  
te veo pasaR  
a dejar tu descendencia sin mirar aTrás  
y no sabes que tU y los tuyos  
en peliGro están  
y te tratare de cuidAr.  
La arena, el mar y la noche  
testigos serAn  
tortUga vete mar adentro  
y aléjate De este infierno.*

*Lety*

## Agradecimientos

Quiero empezar por agradecer a la Dra. Miriam Benabib él haberme asesorado en el presente trabajo, por formar parte importante en mi formación académica y por el gran apoyo y estímulo brindado.

Quisiera expresar mi más profundo agradecimiento a mi comité tutorial, Dra. Miriam Benabib, Dra. M<sup>a</sup>. del Carmen Uribe y Dra. Marisela Villagran, de quienes recibí asesoría de un incalculable valor, durante la realización de la tesis.

A los los miembros del jurado Dr. Horacio Merchant y Dr. Oscar Flores quienes evaluaron el manuscrito y aportaron valiosos comentarios y críticas a la tesis.

Un especial agradecimiento a la Biol. Cristina Ordóñez por todo el apoyo brindado y por ser una gran amiga.

A la Biol. Laura Sarti por permitirme usar las muestras. Así como por su apoyo y estímulo durante el trabajo de campo y por su gran amistad.

A los miembros de base del campamento tortuguero “El Farito” durante la temporada 1992-93 “Ana, Cris O, Cris H, Laura y Pancho”.

A Alejandro Arenas por prestarnos los termo sensores que nos permitieron obtener valiosísima información para enriquecer el presente estudio.

A las biólogas Ninel G y Patricia H., por la colocación y recuperación de los termo sensores durante la temporada 1999-2000.

A Gabino de la Rosa, Adriana García y Arlette Hernaández amigos del Laboratorio de Biología de la Reproducción Animal, por su gran ayuda y amistad.

A los cuates del Instituto de Ecología con los que compartí buenos y malos momentos “Cris, Paco e Ivan”.

A Jorge Moreno y Lourdes Barbosa por su asesoría en el trabajo estadístico.

También quiero agradecer a todas aquellas personas que de manera directa o indirecta han formado parte en el presente trabajo.

## INDICE

	Paginas
RESUMEN	I
INTRODUCCIÓN	
1. <i>Dermochelys coriacea</i>	1
2. Manejo de nidadas	1
3. Determinación del sexo	2
4. Identificación del sexo	4
5. Proporción de sexos	6
6. Temperatura	7
OBJETIVOS	
1. General	8
2. Particulares	8
ÁREA DE ESTUDIO	9
MÉTODOS	
1. Trabajo de campo	10
1.1 Protección	10
1.2 Temperatura	11
1.3 Toma de muestras	12
2. Trabajo de laboratorio	13
2.1 Identificación del sexo	13
2.2 Proporción de sexos	13
2.3 Correlación entre la temperatura de incubación y la proporción de sexos	14
2.4 Proporción de sexos de la producción total de crías	14
RESULTADOS	
1. Protección	15
2. Periodo y Temperatura de incubación durante la temporada 1992-1993	16
2.1 Temperatura en cajas de poliuretano	17
2.2 Temperatura en el vivero	21
2.3 Temperatura media en cada tercio y en cada técnica de incubación	22
3. Temperatura durante la temporada 1983-1984	22
4. Temperatura durante la temporada 1999-2000	24
5. Comparación de la temperatura entre las temporadas 1983-1984, 1992-1993 y 1999-2000	27
6. Toma de muestras	29
7. Identificación del sexo	29
8. Proporción de sexos	32
9. Correlación entre la temperatura de incubación y la proporción de sexos	32
10. Proporción de sexos de la producción total de crías	34
DISCUSIÓN	36
CONCLUSIÓN	47
LITERATURA CITADA	49
ANEXOS	II

## RESUMEN

El Playón de Mexiquillo, Mich. es una de las principales playas de anidación de la tortuga marina *Dermochelys coriacea* (laúd). La reubicación de las nidadas a zonas protegidas (en vivero y cajas) es una estrategia de conservación que se ha utilizado, debido al intenso saqueo al que están sometidas por los lugareños. Aunque la reubicación disminuye el avivamiento en comparación con los nidos *in situ*, constituye la mejor alternativa de conservación, debido al alto riesgo de perder las nidadas. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue determinar el efecto que tienen las prácticas de protección en la proporción de sexos de las crías recién eclosionadas que se producen en el vivero y en cajas de poliuretano en los campamentos de protección, determinar la correlación entre la temperatura de incubación y la proporción sexual de las nidadas y comparar la temperatura de incubación de las temporadas 1983-1984, 1999-2000 con los resultados de la temporada 1992-1993 para inferir la posible proporción de sexos de esa temporada de anidación. Durante la temporada 1992-1993, en el Playón de Mexiquillo, se reubicaron un total de 469 nidadas de la tortuga laúd: 411 fueron sembradas en el vivero, el cual se dividió en dos zonas para su estudio (zona A cerca del mar y zona B lejos del mar) y 68 en cajas de poliuretano, colocadas en una cámara de incubación cubierta con palapa. Algunas de estas cajas fueron trasladadas posteriormente a una tienda de campaña, cubierta con plástico, para acelerar el periodo de incubación. Tres veces al día (0600, 1400, 2200 h) se registró la temperatura de incubación de los huevos sembrados en las cajas y en el vivero. El porcentaje de eclosión del total de los huevos incubados durante la temporada fue de 46%. Se encontraron diferencias significativas entre los porcentajes de eclosión en las técnicas de incubación empleadas (cajas =52.65% vs. vivero =44.56%; Z calculada = -2.35, Z de tablas = 1.96 a -1.96). Después de aproximadamente dos meses de incubación en el vivero y 83 días en promedio en las cajas de poliuretano, se obtuvieron 364 crías, de 23 nidos del vivero y 15 nidos de cajas. Las crías fueron sacrificadas para extraer las gónadas y determinar su sexo por medio de histología. Se sexaron 217 gónadas de crías provenientes del vivero, de las cuales se obtuvieron 3 machos, 206 hembras y 6 ovotestis o sin sexo definido (proporción sexual 2:95:3), observando un claro sesgo hacia la producción de hembras con esta técnica y sin diferencias significativas en la proporción de sexos en ambas zonas del vivero (A=2:96:2 y B=3:93:4). De las cajas de poliuretano se sexaron 147 gónadas, obteniendo 118 machos, 18 hembras y 11 ovotestis (80:12:8), observando un claro sesgo hacia la producción de machos con esta técnica. También se observaron diferencias significativas en la proporción de sexos obtenida en cada uno de los tratamientos (cámara de incubación=98:2:0 y tienda de campaña=29:42:29). La temperatura media obtenida durante el periodo de incubación de las nidadas incubadas en el vivero fue de  $30.1^{\circ}\text{C} \pm 0.2$ , en las cajas colocadas en la cámara de incubación fue de  $26.7^{\circ}\text{C} \pm 0.8$  y en las cajas trasladadas a la tienda de campaña, fue de  $29.5^{\circ}\text{C} \pm 0.8$ . La proporción de sexos fue la esperada de acuerdo con los datos de la temperatura de incubación. La proporción de sexos total global fue de 15:81:4. Extrapolando los resultados de la proporción de sexos obtenida con cada técnica de incubación al total de crías liberadas en la temporada (13,923), obtuvimos que 2,088 crías fueron machos, 11,300 crías fueron hembras y 535 crías sin sexo definido. Debido al drástico declive de las poblaciones anidadoras de esta especie, lo más importante es reclutar el mayor número de crías a la población silvestre, tratando de mantener la proporción sexual registrada en las poblaciones naturales. Respecto a la comparación de la temperatura en las tres temporadas estudiadas se observó que la temporada 1983-1984 fue más calurosa y la 1999-2000 fue más fría con respecto a la temporada 1992-1993, produciéndose quizás casi puras hembras en 1983-1984 y un poco más de machos en 1999-2000 con respecto a lo que se produjo en el presente estudio.

## INTRODUCCIÓN

Las tortugas marinas se clasifican en dos familias con un total de ocho especies (Anexo 1). A los mares mexicanos llegan a anidar siete de las ocho especies (Márquez, 1996). El presente trabajo incluye como modelo de estudio a la tortuga marina *Dermochelys coriacea* (laúd).

### 1. *Dermochelys coriacea*.

Es la única especie viviente de la familia Dermochelyidae. Es la más grande de las tortugas marinas, con una longitud promedio del caparazón de 146.5 cm y un peso promedio de 394 kg (Márquez, 1996). Es la más especializada de las tortugas marinas. En lugar de escudos córneos su cuerpo está cubierto por una gruesa y adiposa piel suave y lisa. El caparazón está formado por numerosas placas óseas de tamaño pequeño que se encuentran embebidas en la piel. El caparazón presenta siete quillas longitudinales en su parte dorsal, generalmente es de color negro, con manchas blancas y rosas en las aletas, el cuello y la cabeza, la parte ventral es de color blanco con manchas rosas y cinco quillas longitudinales. Las aletas anteriores son grandes y están desprovistas de uñas. La cabeza es relativamente pequeña, con el pico córneo, filoso, delgado, con dos cúspides en la parte frontal superior y una en la inferior. Las hembras generalmente presentan una mancha rosa en la parte superior de la cabeza (Márquez, 1990).

Esta especie es de hábitos pelágicos. Se distribuye ampliamente en aguas tropicales y templadas; en el Pacífico se extiende desde Alaska (Mar de Bering) hasta Chile; en el Atlántico desde la península del Labrador hasta Mar del Plata, Argentina. En el Pacífico mexicano las playas más importantes de anidación son: Mexiquillo, Michoacán; Tierra Colorada, Guerrero; Chacahua y Barra de la Cruz, Oaxaca (Márquez, 1990) y Llano Grande, Oaxaca, descubierta recientemente (Sarti *et al.* 1996). La temporada de anidación en el Pacífico, abarca los meses de octubre a marzo.

### 2. MANEJO DE NIDADAS.

Las tortugas marinas están consideradas como amenazadas o en peligro de extinción (CITES, 1975). Sus nidadas generalmente son saqueadas en las playas de anidación por sus depredadores naturales o introducidos o por el mismo hombre. Por ello se han implementado medidas de conservación y protección en su favor, como la vigilancia de las playas de anidación y el transplante de las nidadas a zonas protegidas (corrales o viveros), donde los huevos son incubados. Estas actividades humanas incluyen prácticas de conservación que podrían afectar la proporción sexual de las crías. En algunos campamentos tortugueros se emplea la técnica de

incubación de los huevos en cajas de poliuretano. Mrosovsky (1982) y Dutton *et al.* (1985) realizaron estudios con huevos incubados en cajas de poliuretano, encontrando que disminuía la temperatura, prolongaba el periodo de incubación, y existía un efecto de masculinización en las crías incubadas por medio de esta técnica. La incubación *in situ* no es posible en muchos lugares debido a diversos motivos: exceso de lluvias (que provoca la muerte embrionaria), existencia de altas tasas de depredación natural (por cangrejos, mapaches, tejones, aves, etc.) o por animales introducidos (por perros, cerdos, etc.), existencia de vehículos en las playas, destrucción de los nidos por agentes físicos (oleaje intenso y marea alta que erosionan la zona de anidación) y el intenso saqueo de los huevos.

El Playón de Mexiquillo es una de las principales playas de anidación para *D. coriacea*. El saqueo de los huevos por los lugareños es muy intenso en esta playa, por lo que la reubicación de las nidadas constituye la mejor alternativa de conservación, debido al alto riesgo de perder las nidadas al ser imposible protegerlas en condiciones naturales. Por lo tanto, es importante investigar cuál es la proporción de sexos que se produce en las nidadas que son reubicadas a las zonas de protección en las playas.

### 3. DETERMINACIÓN DEL SEXO.

La determinación del sexo varía entre vertebrados amniotas (mamíferos, aves y reptiles). Los mamíferos y las aves poseen determinación genética del sexo (DGS), en la cual el sexo del individuo se establece al momento de la fertilización mediante del genotipo y no es modificado por el ambiente. En los mamíferos los machos poseen cromosomas sexuales heteromórficos ( $\sigma$  XY y  $\text{♀}$  XX), mientras que en las aves las hembras poseen cromosomas sexuales heteromórficos ( $\sigma$  ZZ y  $\text{♀}$  ZW). Los reptiles muestran una gran variedad de mecanismos de determinación del sexo incluyendo DGS (XY/XX y ZZ/ZW) y determinación del sexo que depende del medio ambiente (DSA; Charnov y Bull, 1977; Bull, 1980), esta forma de determinación del sexo se caracteriza por el establecimiento del sexo, después que el embrión ha estado expuesto a un factor ambiental determinante. Este mecanismo de determinación sexual es llamado "determinación ambiental" o "epigenético" (Merchant *et al.*, 1989). Dentro de este mecanismo se encuentra la determinación del sexo dependiente de la temperatura o DSDT que ocurre en especies en las que no han sido identificados cromosomas sexuales. La DSDT ocurre en los cocodrilos, algunas lagartijas y en la mayoría de las tortugas. En esta forma de determinación del sexo la temperatura de incubación que experimenta el embrión determina el sexo (Bull, 1983).

La diferenciación sexual en tortugas marinas depende de la temperatura ambiente de los nidos durante el periodo de incubación de los huevos, por lo que algunos ambientes en condiciones naturales están asociados con la producción de machos y otros con la producción de hembras. Estudios realizados en tortugas marinas han encontrado que el sexo de la gónada comienza a determinarse por efecto de la temperatura alrededor del segundo tercio del desarrollo embrionario (Yntema y Mrosovsky, 1982), periodo en el cual se da la organogénesis (gonadogénesis), momento crítico en la formación y diferenciación de la gónada. A este intervalo del desarrollo se le denomina periodo sensible a la temperatura.

Se han estudiado mecanismos moleculares que determinan el sexo en organismos con DSDT, los cuales consisten en la expresión genética de algunos genes altamente conservados en vertebrados principalmente en mamíferos y aves como son: SRY (homólogo Sra), ZFY (homólogos Zfc en cocodrilo *A. mississippiensis* (Valleley et al. 1992) y Zft en tortugas *C. serpentina* (Spotila et al. 1994)), sin embargo no hay evidencias que apoyen que estos genes jueguen un papel importante en la determinación del sexo (Wibbels et al. 1994). Otros estudios hechos con el antígeno H-Y también indicaron que no es un factor determinante del sexo en reptiles. En estudios realizados con la tortuga de agua dulce *Trachemys scripta*, se observó que la expresión del gen SOX9 fue favorecida en gónadas que han iniciado la diferenciación hacia testículo (Spotila et al. 1998). En *Lepidochelys olivacea* se encontró que SOX9 se expresó fuertemente en gónadas incubadas a temperatura masculinizante (Moreno-Mendoza et al. 1999).

Se sabe que diferentes especies de tortugas marinas presentan determinación sexual dependiente de la temperatura: *Caretta caretta* (Mrosovsky y Yntema, 1980; Yntema y Mrosovsky, 1980; Mrosovsky, 1982), *Chelonia mydas* (Miller y Limpus, 1981; Morreale et al., 1982), *Lepidochelys olivacea* (Mohanty-Hejmadi y Diamond, 1983; McCoy et al., 1983; Silva, 1986), *Dermochelys coriacea* (Benabib, 1984; Dutton et al., 1985; Rimblot et al., 1985), *Eretmochelys imbricata* (Dalrymple et al., 1985) y *Lepidochelys kempfi* (Aguilar, 1987, Wibbels et al., 1989). Aunque algunos estudios han sido realizados en condiciones naturales, o en el laboratorio con temperaturas fluctuantes, la mayoría se confinan a trabajos de laboratorio con temperatura de incubación constante. Los resultados obtenidos con las distintas especies de tortugas marinas hasta ahora estudiadas son similares: a temperaturas bajas (22 a 27°C) se producen machos, a temperaturas altas (30°C o más) se producen hembras (Bull, 1980). Se pueden obtener ambos sexos en una proporción de 1:1 en un pequeño intervalo de temperatura intermedia (entre los 27 y 30°C); esta temperatura ha sido definida como temperatura umbral (Mrosovsky y Pieau 1991).

#### 4. IDENTIFICACIÓN DEL SEXO.

En crías de tortugas marinas, no es posible identificar el sexo a simple vista, ya que las características sexuales secundarias aún no están desarrolladas, por lo que para conocer el sexo es necesario realizar estudios anatómicos e histológicos de las gónadas. Existen tres técnicas básicas para el sexado de crías que dependen del procesamiento de las gónadas; la histología, el aclaramiento con glicerina y observaciones anatómicas y morfológicas de la gónada.

a) La técnica histológica, consiste en la obtención de cortes de las gónadas y su observación al microscopio. La aplicación de distintas técnicas de tinción permite interpretar las estructuras por medio del análisis de su reacción específica a los diferentes colorantes. Por ejemplo, con la combinación de colorantes básicos y ácidos como la Hematoxilina-Eosina, las estructuras basófilas como el núcleo toman un color azul intenso o púrpura y las estructuras acidófilas como diversas sustancias citoplásmicas e intercelulares se tiñen de color rosa. En la reacción de Schiff, el ácido peryódico produce aldehídos insolubles al oxidar ciertos polisacáridos, que al reaccionar con el reactivo de Schiff, dan un color rosa intenso (por ejemplo, la túnica albugínea se tiñe profusamente de rosa).

En estudios realizados con histología, se han observado características similares en crías de diferentes especies de tortugas marinas, que diferencian las gónadas femeninas de las masculinas: *C. caretta* (Yntema y Mrosovsky, 1980; Mrosovsky y Benabib, 1990), *C. mydas* (Miller y Limpus, 1981; Morreale et al., 1982; Mrosovsky, 1982; Whitmore et al., 1985), *L. olivacea* (Mohanty-Hejmadi y Diamond, 1983 y 1986; McCoy et al., 1983; Merchant et al., 1989; Merchant y Villalpando, 1990; Pérez-Gómez y Montellano, 1990), *D. coriacea* (Rimblot et al., 1985; Dutton et al., 1985; Mrosovsky y Benabib, 1990) y *L. kempfi* (Aguilar, 1987; Wibbels et al., 1989). Estos autores coinciden en que se observa un epitelio germinal conspicuo formando la superficie exterior del ovario, el cual forma pequeñas extensiones dentro de la médula. En la corteza subyacente al epitelio de la gónada se ha observado una túnica albugínea evidente que se tiñe profusamente con la técnica de PAS, y en la médula persisten algunas veces pequeños cordones primarios. En los testículos, el epitelio germinal es más delgado y debajo de éste hay una delgada túnica albugínea.

En estudios histológicos recientes (Gámez, 1996) realizados en crías recién eclosionadas de tortuga laúd se apreció que la vascularización de las gónadas era una característica que mostraba diferencias entre los sexos: los vasos sanguíneos fueron más numerosos y de mayor calibre en la periferia de las gónadas masculinas, mientras que en las gónadas femeninas se concentraban en la región central.

b) Aclaramiento total de la gónada mediante glicerina. Entre los estudios realizados con esta técnica en crías de tortugas marinas, se encuentran los de Van Der Heiden et al. (1985) con *L. olivacea* y *C. mydas* (juvenil); de Benabib (1984) con *D. coriacea*; de Silva (1986) con *L. olivacea*; de Aguilar (1987) con *L. kempfi*; Mrosovsky y Benabib (1990) con *C. caretta* y *D. coriacea*, los cuales consistieron en la observación de las gónadas transparentadas al microscopio estereoscópico, en las que se observaron las características de la superficie de la gónada (estriada o lisa) y la presencia o ausencia de estructuras internas para clasificarlas como uno u otro sexo (Cuadro 1).

c) Observaciones anatómicas y morfológicas durante la disección de la gónada. Entre estas observaciones descriptivas de la gónada se encuentran las de Yntema y Mrosovsky (1980) con *C. caretta*; de Whitmore et al. (1985) con *C. mydas*; Rimblot et al. (1985) con *D. coriacea* en las cuales hacen observaciones del color de la gónada, la forma (delgada, gruesa, estriadas, lisas) y el tamaño (largo y ancho; Cuadro 1).

**Cuadro 1. CARACTERÍSTICAS DE LAS GÓNADAS ACLARADAS CON GLICERINA Y OBSERVACIONES MACROSCÓPICAS UTILIZADAS POR DISTINTOS AUTORES PARA IDENTIFICAR EL SEXO DE LAS CRÍAS RECIÉN ECLOSIONADAS.**

AUTOR/AÑO/ESPECIE	GÓNADAS FEMENINAS	GÓNADAS MASCULINAS	OVOTESTIS O INTERSEXOS
Yntema y Mrosovky, 1980. <i>C. caretta</i>	Superficie marcada con pliegues.	Superficie lisa y con cordones primarios internos.	
Van Der Heiden <u>et al.</u> , 1983-1984. <i>L. olivacea</i> y <i>C. mydas</i>	Superficie con pliegues y mesovario más claro (hileo).	Superficie lisa y con numerosos túbulos seminíferos internos.	
Benabib, 1984. <i>D. coriacea</i>	Totalmente transparentes sin estructuras internas.	Estructuras tubulares internas coloreadas en café y rojo.	Zonas transparentes y zonas con estructuras tubulares.
Rimblot <u>et al.</u> , 1985. <i>D. coriacea</i>	Delgadas y de superficie lisa de 12-13 mm de largo y 0.6-0.75 mm de ancho.	Gruesas, superficie con estrias transversales, de 10-12 mm de largo y 1.2-1.4 mm de ancho.	
Whitmore <u>et al.</u> , 1985 <i>C. mydas</i>	Amarillas, delgadas y de superficie lisa.	Blancas con un extremo grueso y el otro terminado en punta.	
Briseño. Com. pers. <i>D. coriacea</i>	Superficie lisa.	Superficie estriada.	

Existe una gran discrepancia en los criterios tomados en cuenta por los distintos autores para diferenciar un sexo del otro al usar la técnica de aclaramiento con glicerina y observaciones anatómicas de la gónada tanto en diferentes especies como en una misma especie. En estudios recientes, Gámez (1996), y Gámez et al. (2000), trataron de sexar gónadas de crías de tortuga laúd con cada uno de los diferentes criterios empleados por los diferentes autores con la técnica de

aclaramiento con glicerina y con la observación anatómica de la gónada; esto resultó imposible, ya que muy pocas gónadas presentaron claramente las características utilizadas por cada autor (Cuadro 1).

Gómez (1996) comparó ambas técnicas de sexado de gónadas (histología y aclaramiento con glicerina) utilizando ambas gónadas de individuos de la tortuga laúd, y analizó los diferentes criterios tomados en cuenta en la identificación del sexo de las gónadas. Observó que las gónadas aclaradas no presentaron un patrón común, ni en sus características internas ni externas, que se pudieran relacionar con el sexado resultante de la técnica histológica. Por lo tanto, consideró que la técnica de aclaramiento con glicerina no era confiable para sexar gónadas de crías recién eclosionadas de la tortuga laúd y sí consideró a la técnica histológica como la más apropiada para sexar gónadas de las crías de esa especie.

## 5. PROPORCIÓN DE SEXOS.

Numerosos estudios realizados en las playas de anidación con las diferentes especies de tortugas marinas, han demostrado que la proporción sexual en crías recién eclosionadas es diferente de 1:1 en condiciones naturales. Debido a que las temperaturas de incubación registradas son un poco más elevadas que la temperatura umbral reportada para las diferentes especies, existe un claro sesgo hacia la producción de hembras. Estudios realizados con crías de *C. caretta*, en Florida (Mrosovky y Provanha, 1992) durante varios años, demuestran que existe un sesgo hacia hembras en la proporción de sexos: en 1986 se obtuvo un 96.7% de hembras, en 1987 un 99.9% de hembras, y en 1988 fue de 89% de hembras. En Tortuguero, Costa Rica, Standora y Spotila (1984), obtuvieron una proporción de sexos de alrededor del 71% de hembras de *C. mydas*, y Spotila et al. (1987) obtuvieron 67% de hembras. En Playa Grande, Costa Rica, Binckley et al. (1998) registraron que la proporción de sexos para la tortuga *D. coriacea* fue de 0:100 en la temporada de anidación de 1993-1994; en la temporada 1994-1995 la proporción fue de 6.5:93.5, y en 1995-1996 fue de 25.7:74.3. En otros estudios con tortuga laúd en Michoacán, la proporción de sexos fue de 32% de machos: 54% de hembras: 14% de intersexos u ovotestis (Benabib 1984). Sin embargo, las gónadas fueron sexadas por medio de la técnica de aclaramiento con glicerina y debido a diferentes estudios posteriores realizados con esta técnica, se llegó a la conclusión que no es confiable para el sexado de gónadas de crías de la tortuga laúd (Mrosovky y Benabib, 1990; Gómez, 1996; Gómez et al., 2000).

## 6. TEMPERATURA.

También se observó que existen diferencias en la temperatura umbral en las diversas especies de tortugas marinas, así como en la misma especie, en distintas partes del mundo. Yntema y Mrosovky (1980) reportaron que la temperatura umbral de *C. caretta*, es de 29.0° C en poblaciones anidadoras al sureste de Estados Unidos. En costas australianas, Limpus et al. (1985) encontraron la temperatura umbral de *C. caretta* a 28.6° C. En Africa del Sur, Maxwell et al. (1988) la obtuvieron en 29.7° C para *C. caretta*. En las costas de Surinam, la temperatura umbral que encontraron Mrosovsky et al. (1984) para *C. mydas* fue de 28.7° C, y para *D. coriacea* fue de 29.5° C. Benabib (1984) propuso que la temperatura umbral para la población de la tortuga laúd que anida en el playón de Mexiquillo, Michoacán, se encontraba por debajo de los 29.8° C. Rimblot et al. (1985) encontraron que en la tortuga laúd de Surinam y la Guyana Francesa la temperatura umbral se encontraba entre los 28.75 y 29.75° C. Dutton et al. (1985) la consideraron entre los 28 y 30.5° C, para poblaciones que anidan en Surinam. La temperatura umbral para poblaciones de tortuga laúd que anidan en costas de Malasia se encontró entre los 29.2-30.4° C (Chan y Liew, 1995). En estudios recientes en Playa Grande, Costa Rica, Binckley et al. (1998) encontraron que la temperatura umbral para la tortuga laúd era de 29.4° C.

## OBJETIVOS

### 1. GENERAL

Determinar el efecto que tienen las prácticas de protección sobre la proporción sexual de las crías de la tortuga *Dermochelys coriacea* (laúd), estimando la proporción de sexos de los nidos incubados en el vivero y en cajas de poliuretano, durante la temporada 1992-1993 en el Playón de Mexiquillo, Michoacán.

### 2. PARTICULARES

Identificar el sexo de las crías de la tortuga laúd por medio de la técnica histológica con inclusión en parafina.

Hacer un análisis de la correlación entre las temperaturas del periodo de incubación y la proporción sexual obtenida.

Determinar cuál es la temperatura umbral en la población de la tortuga laúd en Mexiquillo, Michoacán.

Comparar las temperaturas obtenidas durante las temporadas 1983-1984 y 1999-2000 con las temperaturas registradas durante la temporada 1992-1993 e inferir la proporción de sexos en las temporadas 1983-1984 y 1999-2000.

## ÁREA DE ESTUDIO

El trabajo de campo se llevó al cabo en el playón de Mexiquillo, municipio de Aquila, en el estado de Michoacán. El playón se encuentra a 80 km al noroeste de la ciudad de Lázaro Cárdenas y tiene una longitud de 18 km comprendidos entre la saliente rocosa denominada "La Punta" y "La Manzanilla". El área de estudio comprendió aproximadamente 6.6 km desde la zona suroeste denominada "La Punta", hasta el estero de "La Majahua" hacia el noroeste. El campamento base es conocido como "El Farito" (Fig. 1).

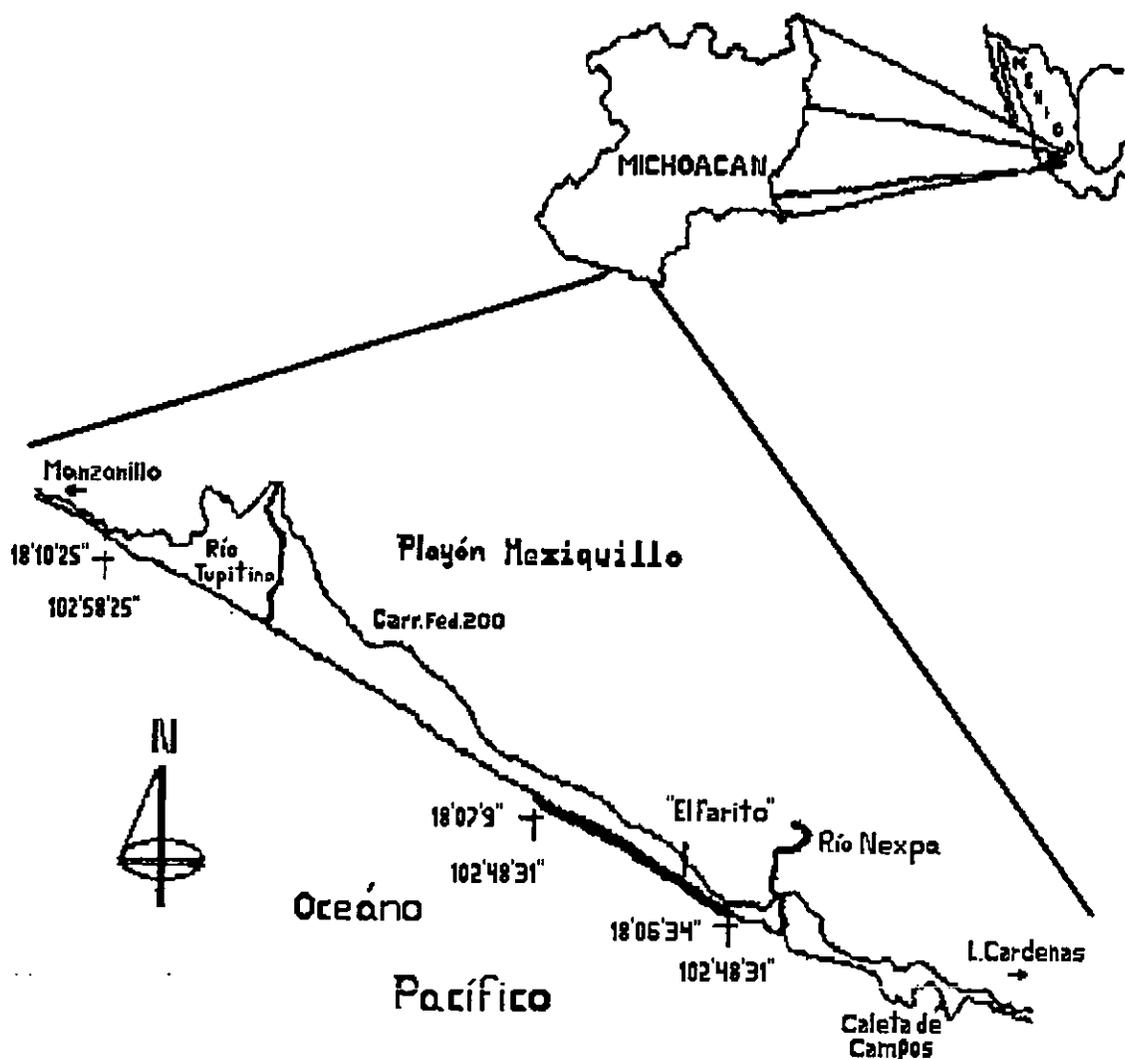


Fig. 1. Área de estudio

## MÉTODOS

El presente trabajo formó parte del proyecto de protección e investigación de la tortuga marina *D. coriacea*, llevado al cabo por el Laboratorio de Tortugas Marinas de la Facultad de Ciencias, de la UNAM. Uno de los objetivos del proyecto fue conocer la proporción de sexos de las crías que se obtuvieron de las nidadas reubicadas a zonas de protección en el campamento (vivero y cajas de poliuretano). La recolecta de las nidadas necesarias para llevar al cabo este estudio, se realizó en la temporada de anidación 1992-1993, de octubre a febrero. El presente trabajo se deriva del estudio presentado como tesis de licenciatura (Gámez, 1996) y se utilizaron muestras recolectadas durante ese trabajo.

### 1. TRABAJO DE CAMPO.

#### 1.1 PROTECCIÓN

Se realizaron recorridos nocturnos a lo largo de la playa para localizar a las hembras anidando. Se recolectaron las nidadas en bolsas de plástico directo de la cloaca de la tortuga para evitar una excesiva manipulación de los huevos. Las nidadas se trasladaron al campamento lo más rápido posible para su posterior siembra e incubación ya fuera en el vivero o en cajas de poliuretano.

Para la incubación en cajas de poliuretano se construyó un cobertizo o cámara de incubación (dimensiones 7 x 3m), con paredes de madera y palapa, con techo de lamina negra, con una estantería de madera en el interior donde se colocaron las cajas (69 nidadas). Para la siembra de los huevos en las cajas de poliuretano se hicieron pequeños orificios en la base, se colocó una capa de arena húmeda (tomada de arena de la playa a una profundidad de 80 cm) y encima los huevos acomodados a manera de pirámide, evitando el contacto de estos con las paredes de la caja, y se cubrieron con arena húmeda compactándola suavemente. La humedad de la arena de las cajas se mantuvo al cambiar constantemente la arena superficial (seca) por arena húmeda. En cada caja se colocó una etiqueta indicando: fecha de siembra, especie, número de huevos y número de nido, para posteriormente relacionarlo con los datos (periodo de incubación, temperatura, número de crías emergidas) necesarios para conocer la proporción de sexos.

Posteriormente algunas cajas fueron trasladadas a una tienda de campaña, la cual fue cubierta con un plástico negro, con el propósito de aumentar la temperatura en su interior para así acelerar el desarrollo embrionario y la eclosión de las crías. De estas caja, 4 se usaron para la obtención de muestras en este estudio.

Se construyó un vivero o corral a aproximadamente a 7m de la berma o cresta de marea alta (dimensiones 50 x 15m), cercado con malla ciclónica y postes de madera. La parte inferior de la malla fue recubierta con tela de mosquitero para evitar que las crías escaparan. En el vivero se sembraron los huevos de las nidadas completas (449 nidadas), en hoyos o cámaras con la forma y dimensiones similares a los que hacen las tortugas, a 80 cm de profundidad aproximadamente. Los nidos se ubicaron en hileras a 1m de distancia uno del otro y de la hilera adjunta. Cada nido se señaló con una estaca que contenía la misma información que los nidos de las cajas.

Después de casi dos meses de incubación cerca de la fecha de emergencia de las crías, se colocaron trampas circulares de tela de alambre en cada nido para evitar que las crías escaparan y poderlas cuantificar. Las trampas se cubrieron con cartones de huevo para proteger a las crías de posibles depredadores y de la muerte por insolación.

Después de la emergencia de las crías a la superficie de la arena de la playa y de las cajas (una vez alcanzado el 50% de emergencia de cada nido o más de tres días del periodo de incubación estimado), se revisaron los nidos para obtener las crías rezagadas y contabilizar el total de la producción. Se realizó una prueba de Z para determinar si existían diferencias significativas en los porcentajes de eclosión entre cada una de las técnicas de protección empleadas.

## 1.2 TEMPERATURA

El vivero fue dividido en dos zonas: zona A, cerca del mar, a 8 m aproximadamente de la berma o cresta de marea alta y zona B, lejos del mar, aproximadamente a 20 m de la berma o cresta de marea alta. Se colocaron sensores de temperatura o termopares entre los huevos de las nidadas incubadas en cajas de poliuretano y en la arena de la playa fuera del vivero a una profundidad de 80 cm tanto en la zona A como en la zona B.

Se registró la temperatura de incubación de los huevos de las cajas y de la arena de la playa en las dos zonas, utilizando un teletermómetro. Las temperaturas se registraron tres veces al día (0600, 1400 y 2200 h). Estos registros de temperatura fueron utilizados como referencia para el resto de las nidadas incubadas en las cajas y para los nidos adyacentes a los sensores de las zonas del vivero. La temperatura de los huevos de las cajas y de la arena de la playa, se registró diariamente desde el mes de octubre de 1992 hasta el mes de abril de 1993, con el fin de estimar la temperatura de incubación de la temporada y de cada nido. Para el análisis de los resultados el periodo de incubación de cada nido se dividió en tres partes.

Se obtuvo la estadística básica (media, desviación estándar, mínimo, máximo) de la temperatura del periodo de incubación de los huevos, durante toda la temporada de anidación, así

como la temperatura de incubación de cada una de las nidadas y de cada uno de los tercios en que se dividió el periodo de incubación, en cada una de las técnicas de incubación empleadas. Para determinar si existían diferencias significativas entre las tres temperaturas registradas todos los días y entre sensores se realizó un análisis de varianza.

Benabib (1984) colocó un termopar entre los huevos de un nido y otro en la arena a 50 cm de distancia, a una misma profundidad, con el fin de verificar la extrapolación de la temperatura de la arena con la temperatura que experimentaron los huevos, encontrando que no existían diferencias significativas entre ambas temperaturas. Así con este dato en el presente estudio se extrapoló la temperatura registrada por los sensores de cada zona, a los nidos sembrados en el vivero.

Con el fin de conocer si existían cambios de temperatura en diferentes temporadas, se analizaron los registros de temperatura en 4 zonas a lo ancho de la playa (10, 15, 20 y 25 m de la berma de marea) y las temperaturas obtenidas en cada uno de los tercios en tres nidos, de la temporada 1983-1984. Durante la temporada 1999-2000 se colocaron 9 termosensores (Stow Away Tidbit) en diferentes nidos del vivero abarcando ambas zonas (A y B) y uno se colocó en la arena fuera del vivero (control). Para ver si existían diferencias significativas entre temperaturas de las diferentes temporadas (1983-1984, 1992-1993 y 1999-2000), se realizó un análisis de varianza y este resultado se usó para estimar la probable proporción de sexos obtenida en las temporadas 1983-1984 y 1999-2000.

### **1.3 TOMA DE MUESTRAS**

Se obtuvieron las muestras de crías recién eclosionadas de las dos zonas de la playa (A y B en el vivero) y de las cajas de poliuretano. El muestreo, tanto de nidos como de crías, se hizo al azar, a lo largo de la temporada. Se tomó una muestra de 4 a 10 crías por nido (un total de 375 crías), de 23 nidos del vivero (12 nidos de la zona A y 11 nidos de la zona B) y 15 nidos de las cajas (total 38 nidos; Anexo 2). Los muestreos de las crías se realizaron del 31 de diciembre de 1992 al 7 de abril de 1993.

Las crías fueron sacrificadas inyectándoles 0.1 ml de pentobarbital sódico (Anestesal) en la médula espinal entre las vértebras de la región cervical. Posteriormente fueron fijadas con formol al 10% en amortiguador fosfato 1 M (formol neutro) y trasladadas al laboratorio, para la disección de las gónadas.

## **2. TRABAJO DE LABORATORIO.**

### **2.1 IDENTIFICACIÓN DEL SEXO**

Para la identificación del sexo, las gónadas disectadas se procesaron por medio de la técnica histológica con inclusión en parafina. Se obtuvieron cortes de 6-7  $\mu$  de grosor y se les aplicaron dos técnicas básicas de tinción: hematoxilina-eosina y ácido peryódico Schiff (PAS; Anexo 3).

Los cortes de las gónadas ya teñidos fueron observados al microscopio de transmisión de luz, para identificar su sexo de acuerdo con los criterios de Yntema y Mrosovsky (1980), Dutton *et al.* (1985), Rimblot *et al.* (1985) y Merchant *et al.*, (1989). Para identificar el sexo de las gónadas procesadas, se utilizaron las características descritas por Gámez (1996) como sigue:

Gónadas masculinas: epitelio formado por una delgada capa de células, médula voluminosa y muy densa, por lo general con una vascularización periférica.

Gónadas femeninas: epitelio conspicuo de tipo cilíndrico pseudoestratificado, en algunas gónadas extendiéndose ligeramente hacia adentro de la médula. Las células del epitelio se apoyaban en la membrana basal, pero no todas llegaban hasta la superficie libre. Las células que alcanzaban la superficie eran de tipo cilíndrico y entre ellas se encontraban células de forma irregular, más bajas y anchas; el núcleo se encontraba en la parte más ancha de ambos tipos celulares. La superficie epitelial contenía células germinales de forma esférica o elíptica, con sus núcleos también esféricos o elípticos. El epitelio estaba separado de la médula por una evidente túnica albugínea compuesta por fibras de colágena. Por lo general con una vascularización central.

Las gónadas menos diferenciadas presentaron características de ambos sexos en diferentes combinaciones: gónadas con regiones con un epitelio pseudoestratificado y en otras porciones un epitelio simple y gónadas con un epitelio conspicuo, con células germinales y evidente túnica albugínea, así como una médula voluminosa con un mayor grado de desarrollo de los cordones medulares o sexuales.

Durante el trabajo de tesis de licenciatura (Gámez 1996, y Ordoñez, 1998), se procesaron 99 gónadas cuyos resultados están incluidos aquí. En el presente trabajo se procesaron por medio de histología 276 muestras de un total de 375 muestras colectadas.

### **2.2 PROPORCIÓN DE SEXOS**

Una vez sexadas las crías se calculó la proporción de sexos de la muestra de cada nido y de cada técnica de incubación empleada. Para ver si existían diferencias significativas entre la proporción de sexos obtenida en cada técnica de incubación empleada, se realizó una prueba de Z de proporciones.

### **2.3 CORRELACIÓN ENTRE LA TEMPERATURA DE INCUBACIÓN Y LA PROPORCIÓN DE SEXOS**

A través de la proporción de sexos obtenida, y las temperaturas de incubación registradas en cada nido, se exploró si existía correlación entre la temperatura y la proporción sexual. Para esta comparación se utilizaron las temperaturas del 2º tercio del desarrollo embrionario, ya que es el periodo crítico en el cual ocurre la determinación sexual (Yntema y Mrosovsky, 1982).

### **2.4 PROPORCIÓN DE SEXOS DE LA PRODUCCIÓN TOTAL DE CRÍAS**

Conociendo la proporción de sexos de la muestra de nidos en cada técnica de incubación empleada, se extrapolaron estos resultados al total de los nidos reubicados y se calculó la proporción de sexos en todos los nidos protegidos durante la temporada y se obtuvo la proporción sexual de las crías liberadas a la población.

## RESULTADOS

### 1. PROTECCIÓN

Durante la temporada 1992-1993 se protegieron 518 nidadas de la tortuga laúd, las cuales fueron reubicadas e incubados sus huevos en las cajas de poliuretano y el vivero. Del total de nidadas protegidas sólo se revisaron 479 (39 nidadas se perdieron por diferentes causas, entre las que se encontraron el saqueo, la depredación por perros, o los huevos se pudrieron) con un total de 30,503 huevos sembrados, de los cuales eclosionaron 13,923 crías (46% del total de los huevos sembrados). Se calculó como porcentaje de eclosión el total de crías que rompieron y salieron completamente del cascarón (porcentaje de eclosión = (cascarones / # de huevos sembrados)100). En total eclosionaron 2,321 crías de 4,408 huevos sembrados en cajas de poliuretano (porcentaje de eclosión = 52.65%; 68 nidadas revisadas) y 11,602 crías eclosionaron en el vivero de 26,095 huevos (porcentaje de eclosión = 44.46%; 411 nidadas revisadas; Cuadro 2). Se encontraron diferencias significativas en los porcentajes de eclosión entre las técnicas de incubación empleadas (cajas vs. vivero, Z calculada = 2.35, Z de tablas = 1.96 a -1.96).

**Cuadro 2. RESULTADOS DE PROTECCIÓN.**

TÉCNICA DE INCUBACIÓN	NIDADAS REVISADAS	HUEVOS SEMBRADOS	% DE ECLOSIÓN
CAJAS	68	4,408	52.65
VIVERO	411	26,095	44.46
TOTAL	479	30,503	46.00

## 2. PERIODO Y TEMPERATURA DE INCUBACIÓN

El periodo de incubación en las cajas de poliuretano (83 días promedio, con un mínimo de 71 y un máximo de 90) fue mucho más prolongado que en el vivero (59 días promedio, con un mínimo de 57 y un máximo de 65). Es claro que en cajas de poliuretano la temperatura de incubación de los huevos disminuyó y prolongó el periodo de incubación.

El cuadro 3 presenta las temperaturas medias obtenidas durante la temporada 1992-1993, de los registros hechos tres veces al día (0600, 1400 y 2200 h), tanto de las nidadas incubadas en cajas de poliuretano como en las dos zonas del vivero (zona A = sensor 1, zona B = sensor 2). La temperatura que se registro en las cajas de la cámara de incubación así como en las cajas de la tienda de campaña fue más fría con respecto a la temperatura registrada en el vivero, la temperatura más fría se presentó por la mañana (0600 h; cuadro 3), con diferencias significativas entre las temperaturas registradas en los diferentes horarios establecidos con fluctuaciones de más de 2°C (Cuadro 4). También se observó que las cajas en la cámara de incubación experimentaron una temperatura más fría, a diferencia de las cajas en la tienda de campaña en donde hubo un claro aumento de la temperatura. La temperatura de los sensores del vivero se mantuvo relativamente constante, no observando diferencias significativas entre los tres horarios establecidos (las diferencias registradas contrastando los tres horarios fueron pequeñas mínima de 0.01°C y máxima de 0.12°C), lo que indicó la homogeneidad de la temperatura a lo largo del día (Cuadro 4).

**Cuadro 3. TEMPERATURA MEDIA DURANTE EL PERIODO DE INCUBACIÓN EN CAJAS Y VIVERO A LO LARGO DE LA TEMPORADA.**

HORA	TRATAMIENTO	TEMPERATURA °C		
		MEDIA	MÍNIMA	MÁXIMA
0600	CÁMARA	25.8±1.5	23.0	33.6
	TIENDA	28.2±1.8	25.4	31.9
	SENSOR 1	30.4±0.6	29.1	31.8
	SENSOR 2	30.6±0.7	29.0	31.9
1400	CÁMARA	27.3±1.4	24.6	31.3
	TIENDA	29.8±1.7	26.9	32.9
	SENSOR 1	30.3±0.6	29.1	31.7
	SENSOR 2	30.5±0.7	29.3	31.9
2200	CÁMARA	27.3±1.4	24.6	31.3
	TIENDA	30.4±1.6	27.3	33.5
	SENSOR 1	30.3±0.6	29.0	31.7
	SENSOR 2	30.5±0.7	29.0	31.9

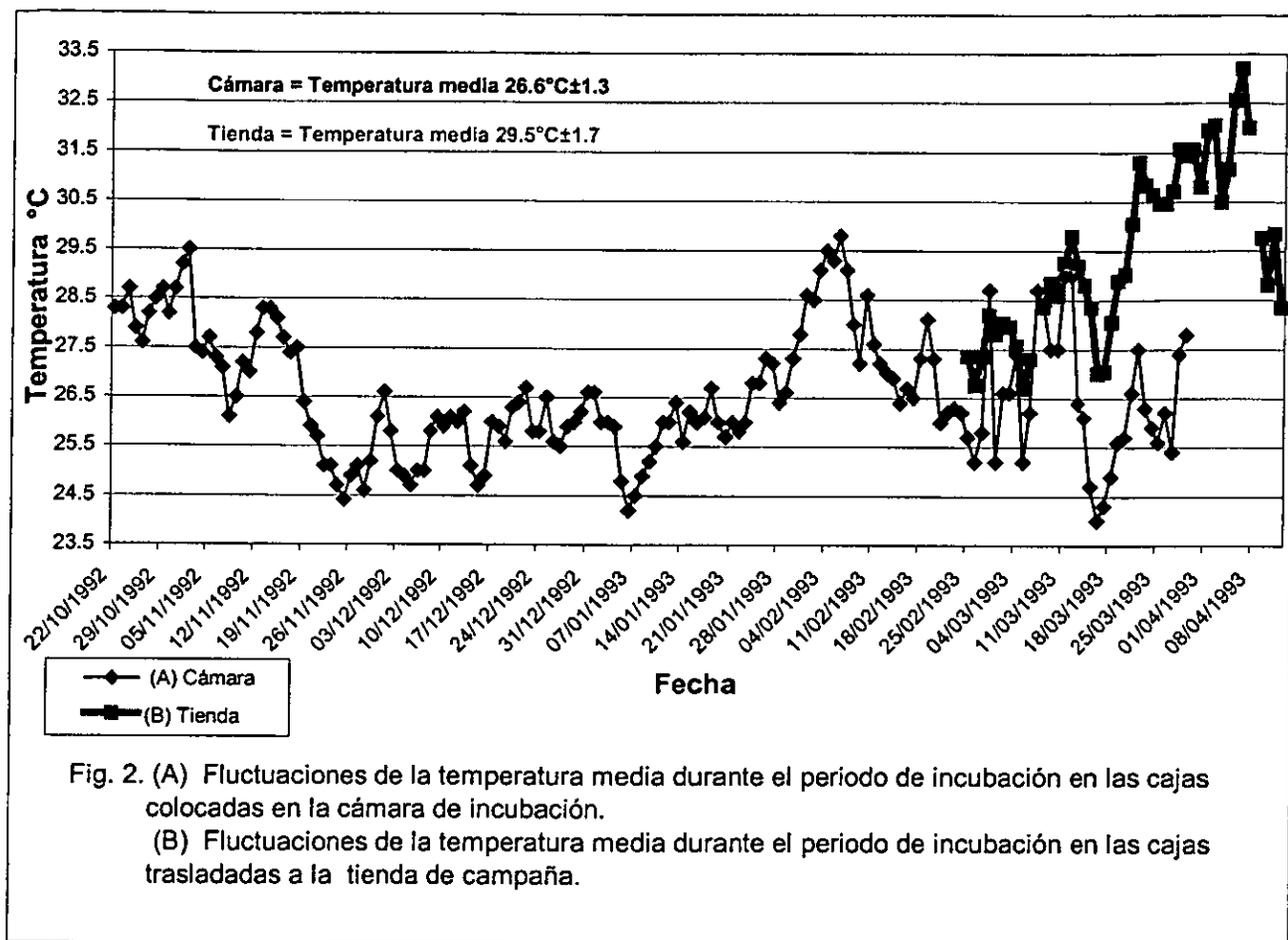
**Cuadro 4. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA DE LAS TEMPERATURAS TOMADAS EN LOS HORARIOS ESTABLECIDOS DE LOS SENSORES COLOCADOS EN CAJAS Y EN VIVERO.**

HORA SENSOR CÁMARA	TEMPERATURA (°C) PROMEDIO POR MES				
	NOVIEMBRE	DICIEMBRE	ENERO	FEBRERO	MARZO
0600	25.72±0.27	25.22±0.11	25.68±0.15	26.88±0.30	25.20±0.26
1400	27.03±0.27	25.33±0.11	25.65±0.15	27.22±0.30	26.93±0.26
2200	27.27±0.27	26.50±0.11	26.77±0.15	28.16±0.30	27.57±0.26
TEMP. MEDIA	26.67±0.15	25.68±0.07	26.03±0.09	27.42±0.17	26.56±0.15
F, $\alpha \leq 0.05$	*F <sub>(2-87)</sub> =9.712	*F <sub>(2-90)</sub> =38.4	*F <sub>(2-90)</sub> =17.95	*F <sub>(2-81)</sub> =4.99	*F <sub>(2-84)</sub> =21.53
<b>SENSOR 1 VIVERO</b>					
0600	31.34±0.07	30.00±0.09	29.86±0.04	30.10±0.46	30.76±0.005
1400	31.35±0.07	29.96±0.09	29.82±0.04	30.07±0.46	30.70±0.005
2200	31.35±0.07	29.96±0.09	29.77±0.04	30.06±0.46	30.64±0.05
TEMP. MEDIA	31.35±0.4	29.98±0.05	29.82±0.02	30.07±0.26	30.70±0.3
F, $\alpha \leq 0.05$	F <sub>(2-87)</sub> =0.011	F <sub>(2-90)</sub> =0.72	F <sub>(2-90)</sub> =1.221	F <sub>(2-81)</sub> =0.243	F <sub>(2-84)</sub> =1.352
<b>SENSOR 2 VIVERO</b>					
0600	31.48±0.08	30.04±0.09	29.88±0.04	30.23±0.05	31.11±0.07
1400	31.50±0.08	31.16±0.09	29.91±0.04	30.29±0.05	31.22±0.07
2200	31.53±0.08	30.14±0.09	29.92±0.04	30.33±0.05	31.10±0.07
TEMP. MEDIA	31.50±0.05	30.11±0.5	29.91±0.02	30.29±0.03	31.14±0.05
F, $\alpha \leq 0.05$	F <sub>(2-87)</sub> =0.111	F <sub>(2-90)</sub> =0.597	F <sub>(2-90)</sub> =0.245	F <sub>(2-81)</sub> =0.923	F <sub>(2-87)</sub> =0.776

\* diferencias significativas

## 2.1 TEMPERATURA EN CAJAS DE POLIURETANO

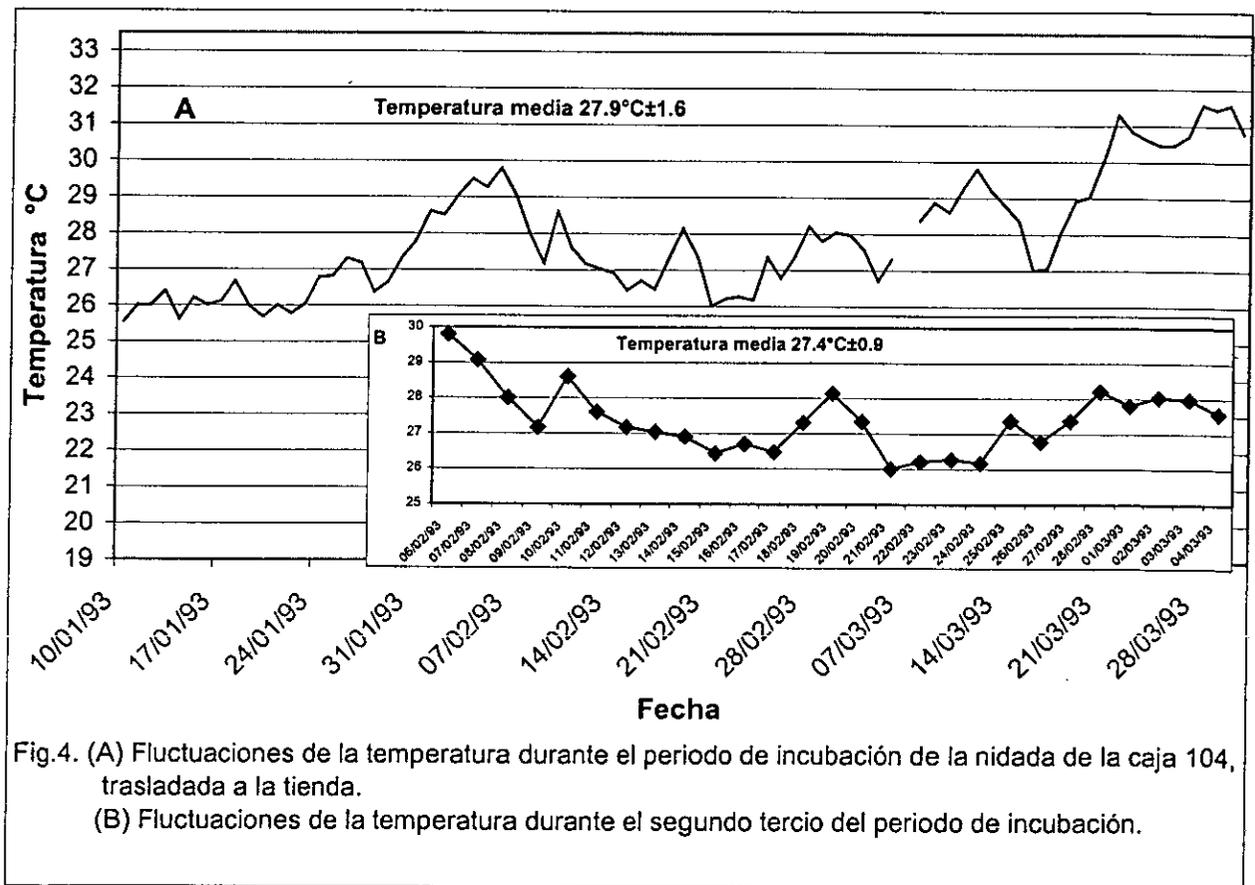
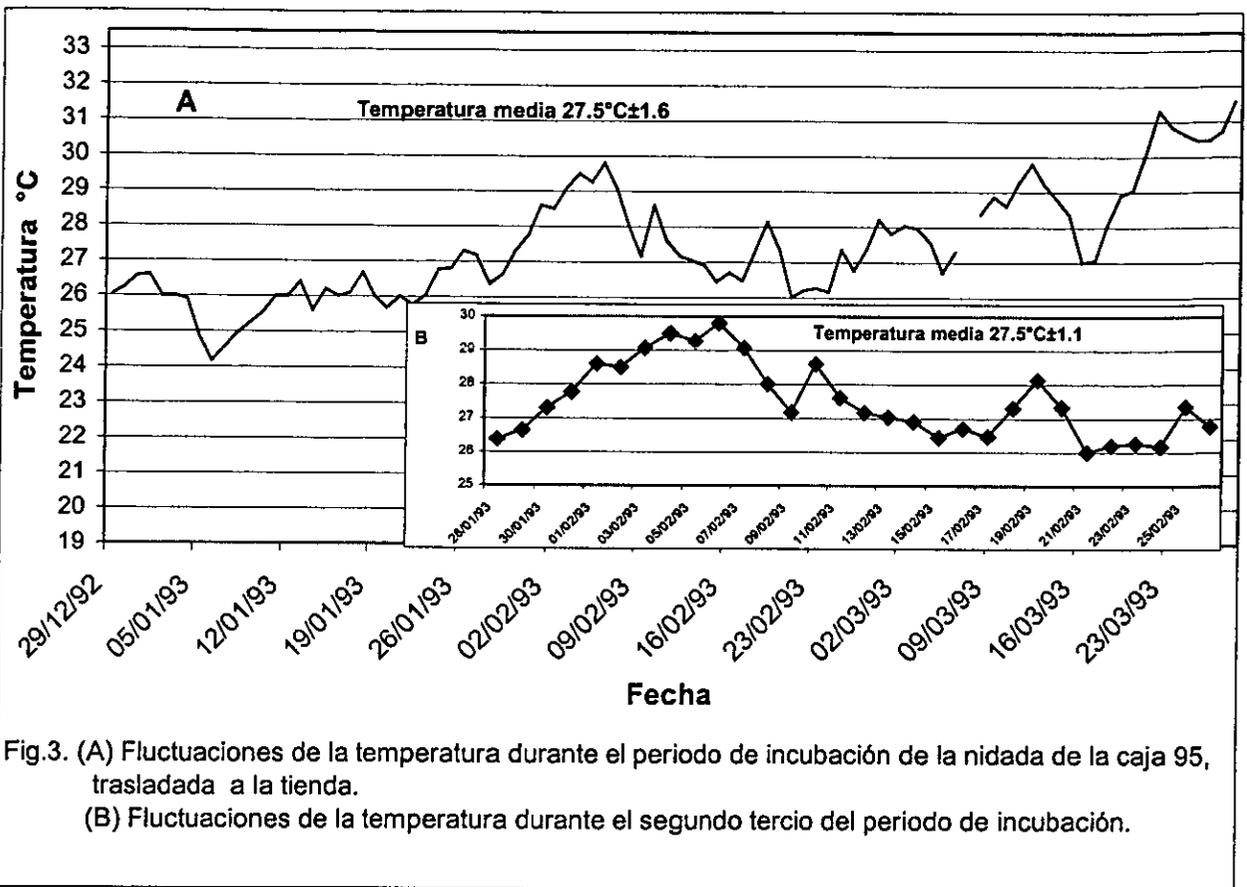
La figura 2 muestra el comportamiento de la temperatura media durante todo el periodo de incubación en las cajas de poliuretano colocadas en la cámara de incubación (A) y en la tienda de campaña (B). La temperatura media obtenida durante el periodo de incubación en la temporada en las cajas colocadas en la cámara de incubación fue de 26.6°C±1.3, con una mínima de 23°C y una máxima de 33.6°C registrada, con fluctuaciones durante el día de hasta 4°C. En las cajas trasladadas a la tienda de campaña, aproximadamente después del primer tercio del periodo de incubación, la temperatura media obtenida durante la temporada fue de 29.5°C±1.7, con una mínima de 25.4°C y una máxima de 33.5°C registradas, con fluctuaciones durante el día de hasta 4°C.



A partir de que las cajas fueron trasladadas a la tienda de campaña (25 de febrero), las nidadas experimentaron un claro aumento de la temperatura (Cuadro 5 y Figs. 3, 4, 5 y 6). También se observó que las cajas trasladadas a la tienda fueron más sensible a los cambios ambientales del medio. Las fluctuaciones de la temperatura se reflejan en cada uno de los tercios en que se dividió el periodo de incubación.

**Cuadro 5. TEMPERATURA MEDIA DURANTE EL PERIODO DE INCUBACIÓN EN 4 CAJAS TRASLADADAS A LA TIENDA DE CAMPAÑA.**

CAJAS TIENDA	TEMPERATURA °C			1 <sup>er</sup> TERCIO	TEMPERATURA °C 2 <sup>do</sup> TERCIO			3 <sup>er</sup> TERCIO
	MEDIA	MÍNIMA	MÁXIMA		MEDIA	MÍNIMA	MÁXIMA	
C-95	27.5±1.6	24.2	31.6	26.0±0.7	27.5±1.1	26.0	29.8	28.9±1.4
C-104	27.9±1.6	25.5	31.6	26.9±1.2	27.4±0.9	26.0	29.8	29.4±1.5
C-111	28.3±1.8	25.7	32.6	27.4±1.3	27.3±0.8	26.0	28.9	30.1±1.5
C-115	28.7±1.8	26.0	33.2	27.8±1.1	27.8±1.1	26.0	29.8	30.6±1.6



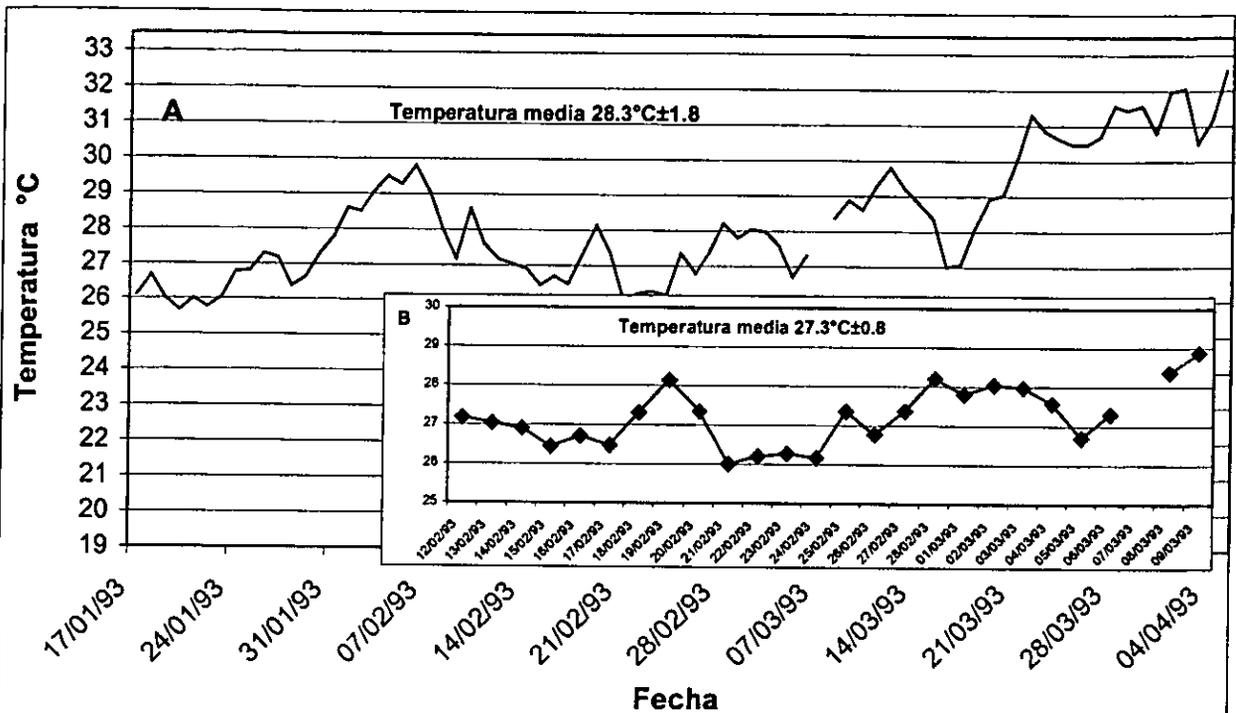


Fig.5. (A) Fluctuaciones de la temperatura durante el periodo de incubación de la nidada de la caja 111, trasladada a la tienda.  
 (B) Fluctuaciones de la temperatura durante el segundo tercio del periodo de incubación.

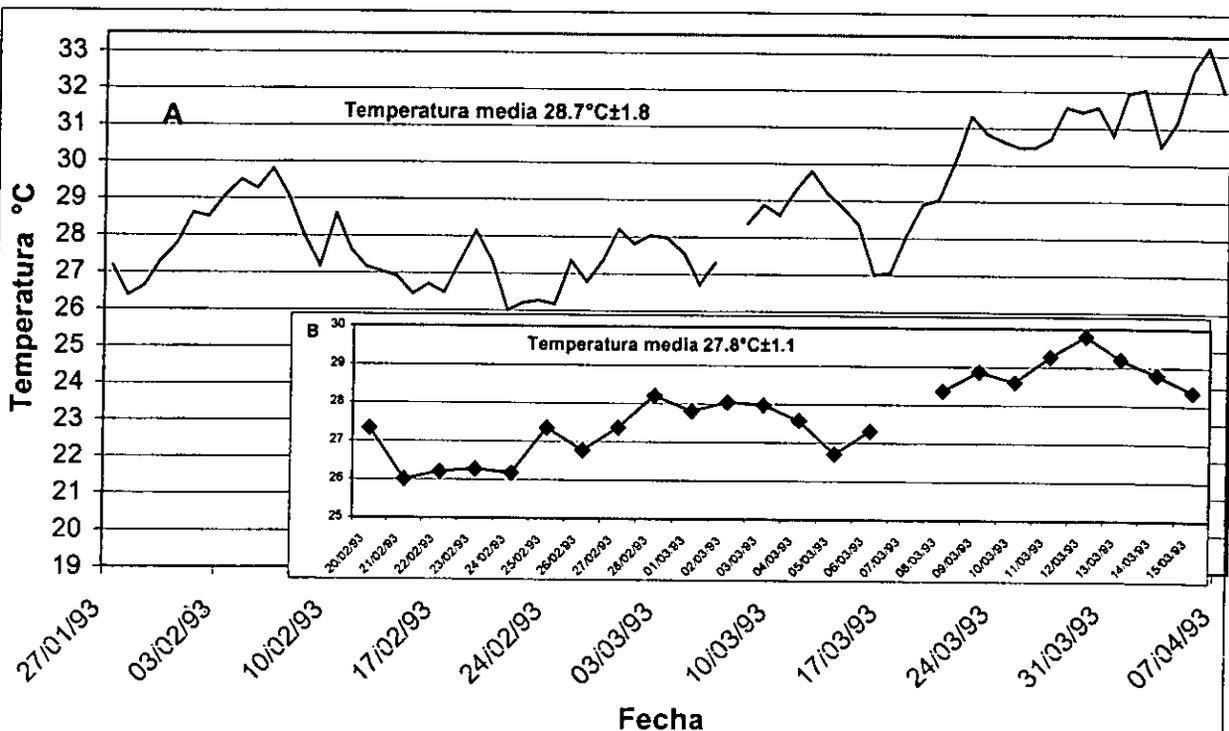


Fig.6. (A) Fluctuaciones de la temperatura durante el periodo de incubación de la nidada de la caja 115, trasladada a la tienda.  
 (B) Fluctuaciones de la temperatura durante el segundo tercio del periodo de incubación.

## 2.2 TEMPERATURA EN EL VIVERO

La temperatura media de incubación obtenida en la zona A (sensor 1) fue de  $30.4^{\circ}\text{C} \pm 0.7$ , con una mínima de  $29^{\circ}\text{C}$  y una máxima de  $31.9^{\circ}\text{C}$ ; en la zona B (sensor 2) la temperatura media de incubación fue de  $30.6^{\circ}\text{C} \pm 0.7$ , con una mínima de  $29^{\circ}\text{C}$  y una máxima de  $32.1^{\circ}\text{C}$ . La figura 7 muestra el comportamiento de las fluctuaciones de la temperatura media en ambas zonas a lo largo del periodo de incubación de los nidos sembrados en el vivero, observando diferencias entre las dos zonas al final de la temporada.

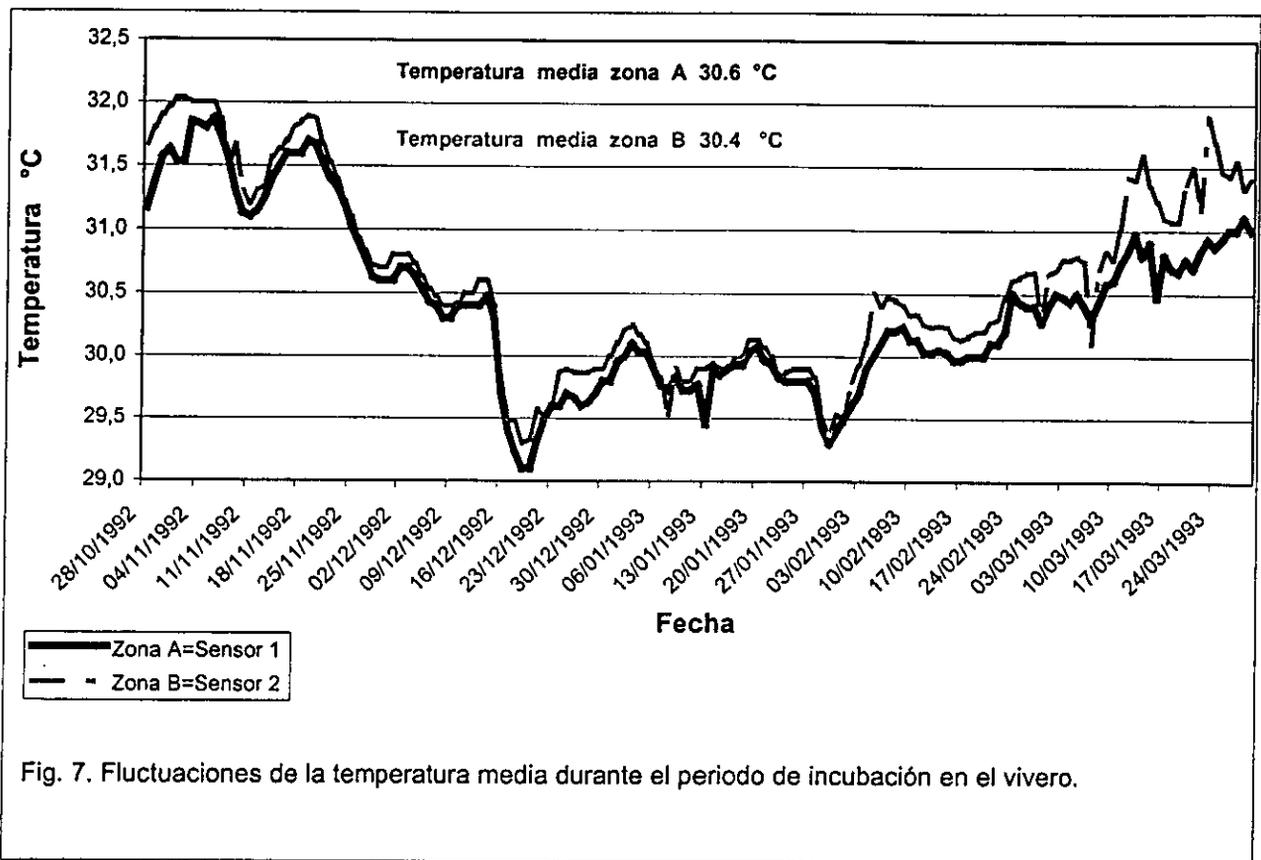


Fig. 7. Fluctuaciones de la temperatura media durante el periodo de incubación en el vivero.

El análisis de varianza realizado, indicó diferencias significativas en la temperatura al contrastar los dos sensores colocados fuera del vivero. Las diferencias encontradas en la temperatura entre los sensores fueron pequeñas (mínima de  $0.08^{\circ}\text{C}$  y máxima de  $0.4^{\circ}\text{C}$  en el mes de marzo). Se observó que los datos de temperatura fueron muy similares entre los sensores, por lo que la más mínima diferencia es significativa (sensor 1 y 2; Cuadro 6).

**Cuadro 6. ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS DATOS DE LOS DOS SENSORES COLOCADOS EN EL VIVERO.**

SENSOR	TEMPERATURA (°C) PROMEDIO POR MES				
	NOVIEMBRE	DICIEMBRE	ENERO	FEBRERO	MARZO
1 (zona A)	31.35±0.04	29.98±0.04	29.82±0.02	30.08±0.03	30.70±0.04
2 (zona B)	31.50±0.04	30.11±0.04	29.90±0.02	30.29±0.03	31.14±0.04
TEMP. MEDIA	31.42±0.03	30.05±0.04	29.86±0.02	30.18±0.02	30.92±0.03
F, P ≤ 0.05	F <sub>1-178</sub> =6.53	F <sub>1-184</sub> =3.76	F <sub>1-184</sub> =7.54	F <sub>1-166</sub> =27.22	F <sub>1-172</sub> =66.56

### 2.3 TEMPERATURA MEDIA EN CADA TERCIO Y EN CADA TÉCNICA DE INCUBACIÓN

Se observó que la temperatura media del periodo de incubación y de cada uno de los tercios en los que se dividió el periodo de incubación, de las nidadas colocadas en la cámara de incubación se encontró por debajo de los 27° C; no así en las nidadas incubadas en la tienda de campaña, las cuales experimentaron un aumento en la temperatura media por arriba de los 27° C a partir del segundo tercio del periodo de incubación (Cuadro 7 y Fig. 2). Las nidadas incubadas en el vivero experimentaron cambios significativos muy pequeños, y se mantuvieron con una temperatura alrededor de los 30° C en cada uno de los tercios del periodo de incubación (Cuadro 7 y Fig. 7).

**Cuadro 7. TEMPERATURA MEDIA TOTAL Y DE CADA UNO DE LOS TERCIOS DEL PERIODO DE INCUBACIÓN DE LA MUESTRA DE NIDOS EN CADA TÉCNICA.**

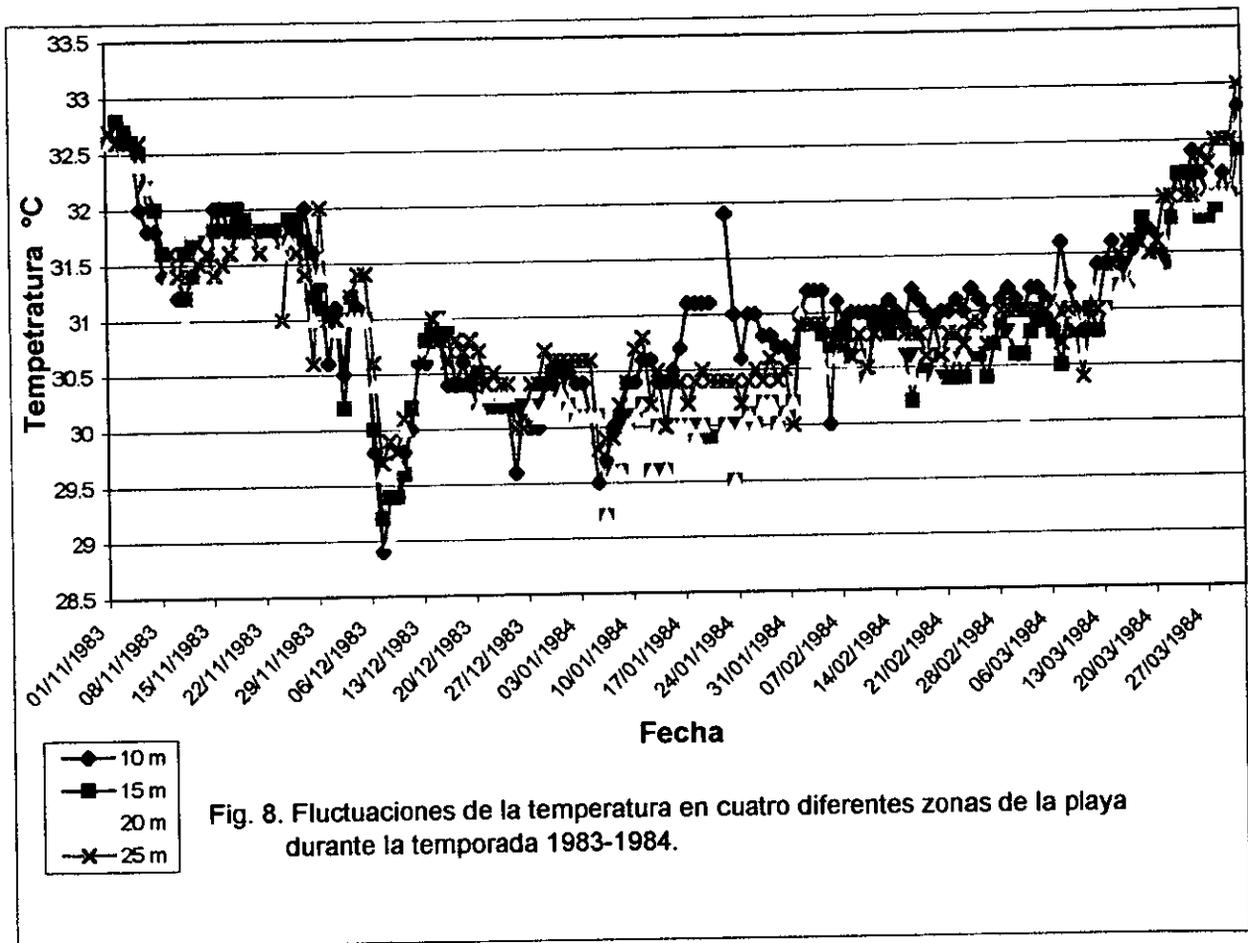
CAJAS		TEMPERATURA °C			
		MEDIA	1 <sup>er</sup> TERCIO	2 <sup>do</sup> TERCIO	3 <sup>er</sup> TERCIO
CAJAS	CAMARA	26.3±0.3	26.2±0.7	26.2±0.7	26.7±0.7
	TIENDA	28.1±0.5	27±0.8	27.5±0.2	29.8±0.7
VIVERO	ZONA A	30±0.2	30.1±0.5	29.9±0.2	30±0.3
	ZONA B	30.2±0.2	30.2±0.5	30±0.2	30.2±0.4

### 3. TEMPERATURA DURANTE LA TEMPORADA 1983-1984.

La temperatura media obtenida durante la temporada 1983-1984 (noviembre a abril) en las cuatro zonas de la playa, se encontró por arriba de los 30° C (Cuadro 8). La figura 8 presenta las fluctuaciones de la temperatura en las cuatro zonas de la playa a lo largo de la temporada, observándose entre éstas un comportamiento similar.

**Cuadro 8. TEMPERATURA MEDIA EN CUATRO ZONAS DE LA PLAYA DURANTE LA TEMPORADA 1983-1984.**

SENSOR	TEMPERATURA °C		
	MEDIA	MÍNIMA	MÁXIMA
Sensor a 10 m	31.04±0.7	28.9	32.8
Sensor a 15 m	30.83±0.8	29.2	32.6
Sensor a 20 m	30.82±0.8	29.0	32.6
Sensor a 25 m	30.99±0.7	29.7	33.0



El análisis de varianza (Cuadro 9) mostró que el comportamiento de la temperatura a lo ancho de la playa fue homogéneo, salvo en los meses de enero y febrero, cuando presentaron diferencias significativas (de entre 0.2° y 0.7° C) entre las zonas de 10 y 25 m de la berma y las otras dos zonas de la playa (15 m y 20 m de la berma). Durante esta temporada también se monitorearon tres nidos en los cuales la temperatura estuvo por arriba de los 30° C durante los tres tercios del periodo de incubación (Cuadro 10).

**Cuadro 9. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA TEMPERATURA TOMADA EN CUATRO ZONAS A LO ANCHO DE LA PLAYA.**

SENSOR	TEMPERATURA (°C) PROMEDIO POR MES				
	NOVIEMBRE	DICIEMBRE	ENERO	FEBRERO	MARZO
Sensor a 10 m	31.80±0.09	30.28±0.09	30.61±0.06	31.02±0.04	31.57±0.01
Sensor a 15 m	31.89±0.09	30.34±0.09	29.95±0.06	30.62±0.04	31.37±0.01
Sensor a 20 m	31.72±0.09	30.42±0.09	29.94±0.06	30.62±0.04	31.40±0.01
Sensor a 25 m	31.70±0.09	30.55±0.09	30.36±0.06	30.80±0.04	31.57±0.01
MEDIA	31.78±0.04	30.39±0.04	30.22±0.03	30.76±0.02	31.48±0.05
F, $\alpha \leq 0.05$	$F_{3-118} = 0.919$	$F_{3-116} = 1.63$	$*F_{3-117} = 31.5$	$*F_{3-108} = 27.34$	$F_{3-120} = 1.089$

\* Denota diferencias significativas

**Cuadro 10. TEMPERATURA MEDIA DE TRES NIDOS MONITOREADOS DURANTE EL PERIODO DE INCUBACIÓN EN LA TEMPORADA 1983-1984.**

NIDO	TEMPERATURA (°C) DE CADA UNO DE LOS TERCIOS		
	1 <sup>ER</sup> TERCIO	2 <sup>DO</sup> TERCIO	3 <sup>ER</sup> TERCIO
1	30.3	31.1	33.1
2	30.2	31.1	33.4
3	30.7	31.8	33.3

#### 4. TEMPERATURA DURANTE LA TEMPORADA 1999-2000.

Las medias de las temperaturas registradas por los termosensores colocados en diferentes nidos del vivero durante la temporada 1999-2000 (noviembre a abril), se encontraron por arriba de los 30° C tanto en los termosensores colocados en los nidos como en el termosensor (control) colocado en la arena de la playa fuera del vivero (Cuadro 11).

**Cuadro 11. TEMPERATURA MEDIA DURANTE EL PERIODO DE INCUBACIÓN DE CADA NIDO (TEMPORADA 1999-2000).**

# NIDO	TEMPERATURA °C		
	MEDIA	MÍNIMA	MÁXIMA
180	30.97±0.7	30.02	32.12
340	31.06±2.0	28.78	35.39
585	31.72±2.5	27.95	35.87
619	31.54±2.5	28.79	33.97
160	30.37±0.8	29.01	32.41
384	30.70±1.8	28.53	34.07
516	31.68±2.2	28.38	36.58
674	31.40±1.7	28.47	34.42
703	31.34±1.5	28.81	34.18
Control	30.12±0.6	28.96	31.20

La temperatura de los nidos se incremento de 1.5 a 4° C durante el tercer tercio del periodo de incubación, con respecto a la temperatura del termosensor control (Fig. 9 y Cuadro 12).

Se analizaron las temperaturas medias de cada uno de los tercios en que se dividió el periodo de incubación de los nidos (Cuadro 12). Las temperaturas del primer tercio se encontraron por arriba de los 29° C, las temperaturas medias del segundo tercio del periodo de incubación de cada nido se encontraron cerca o arriba de los 30° C. En la mayoría de los nidos la temperatura aumentó durante el último tercio del periodo de incubación.

**Cuadro 12. COMPARACIÓN DE LA TEMPERATURA MEDIA DE CADA UNO DE LOS TERCIOS DEL PERIODO DE INCUBACIÓN DE LOS NIDOS DEL VIVERO Y LA TEMPERATURA DE LA ARENA (CONTROL) EN LAS FECHAS CORRESPONDIENTES, DURANTE LA TEMPORADA 1999-2000.**

TEMPERATURA MEDIA (°C) DE CADA TERCIO DEL PERIODO DE INCUBACIÓN					
ZONA A y # DE NIDO					
	180	340	585	619	
CONTROL	30.56±0.16	29.42±0.06	29.63±0.06	29.71±0.06	
1 <sup>ER</sup> TERCIO	31.03±0.16	29.38±0.06	29.23±0.06	29.77±0.06	
F,α≤0.05	F <sub>1-38</sub> =4.071	F <sub>1-38</sub> =0.246	F <sub>1-38</sub> =15.58	F <sub>1-38</sub> =0.635	
CONTROL	29.45±0.06	29.39±0.09	30.24±0.1	31.34±0.1	
2 <sup>DO</sup> TERCIO	30.32±0.06	30.05±0.09	30.91±0.1	30.42±0.1	
F,α≤0.05	F <sub>1-38</sub> =88.4	F <sub>1-38</sub> =28.18	F <sub>1-38</sub> =11.64	F <sub>1-38</sub> =29.68	
CONTROL	29.39±0.07	29.67±0.02	30.79±0.1	30.77±0.06	
3 <sup>ER</sup> TERCIO	31.64±0.07	33.62±0.02	34.92±0.1	33.53±0.06	
F,α≤0.05	F <sub>1-38</sub> =534.24	F <sub>1-40</sub> =296.72	F <sub>1-38</sub> =457.87	F <sub>1-36</sub> =1072.3	
ZONA B y # DE NIDO					
	160	384	516	674	703
CONTROL	30.83±0.2	29.31±0.06	29.45±0.06	29.86±0.09	29.93±0.08
1 <sup>ER</sup> TERCIO	30.82±0.2	29.15±0.06	29.65±0.06	29.55±0.09	29.61±0.08
F,α≤0.05	F <sub>1-40</sub> =0.003	F <sub>1-38</sub> =4.11	F <sub>1-40</sub> =3.630	F <sub>1-38</sub> =5.830	F <sub>1-40</sub> =8.275
CONTROL	29.47±0.07	29.48±0.1	29.96±0.1	30.57±0.1	30.65±0.1
2 <sup>DO</sup> TERCIO	29.59±0.07	29.9±0.1	30.87±0.1	31.14±0.1	31.14±0.1
F,α≤0.05	F <sub>1-40</sub> =1.81	F <sub>1-38</sub> =8.37	F <sub>1-40</sub> =25.36	F <sub>1-38</sub> =11.45	F <sub>1-40</sub> =11.78
CONTROL	29.38±0.07	29.92±0.1	30.67±0.1	30.75±0.08	30.81±0.05
3 <sup>ER</sup> TERCIO	30.74±0.07	33.01±0.1	30.65±0.1	33.57±0.08	33.17±0.05
F,α≤0.05	F <sub>1-40</sub> =197.42	F <sub>1-38</sub> =267.37	F <sub>1-38</sub> =391.43	F <sub>1-36</sub> =564.08	F <sub>1-40</sub> =945.68

El análisis de varianza realizado contrastando las temperaturas de cada uno de los tercios del periodo de incubación de cada nido con el control, mostró que con respecto al primer tercio por lo general no hay diferencias significativas y en los casos que existen diferencias significativas la variación es muy pequeña (0.2 a 0.4° C). En el segundo tercio la temperatura de cada nido fue

significativamente mayor que la del control (diferencias de 0.1 a 0.9° C). El análisis de las temperaturas del tercer tercio también mostró temperaturas significativamente mayores en los nidos que en el control con diferencias de hasta 4° C (Cuadro 12).

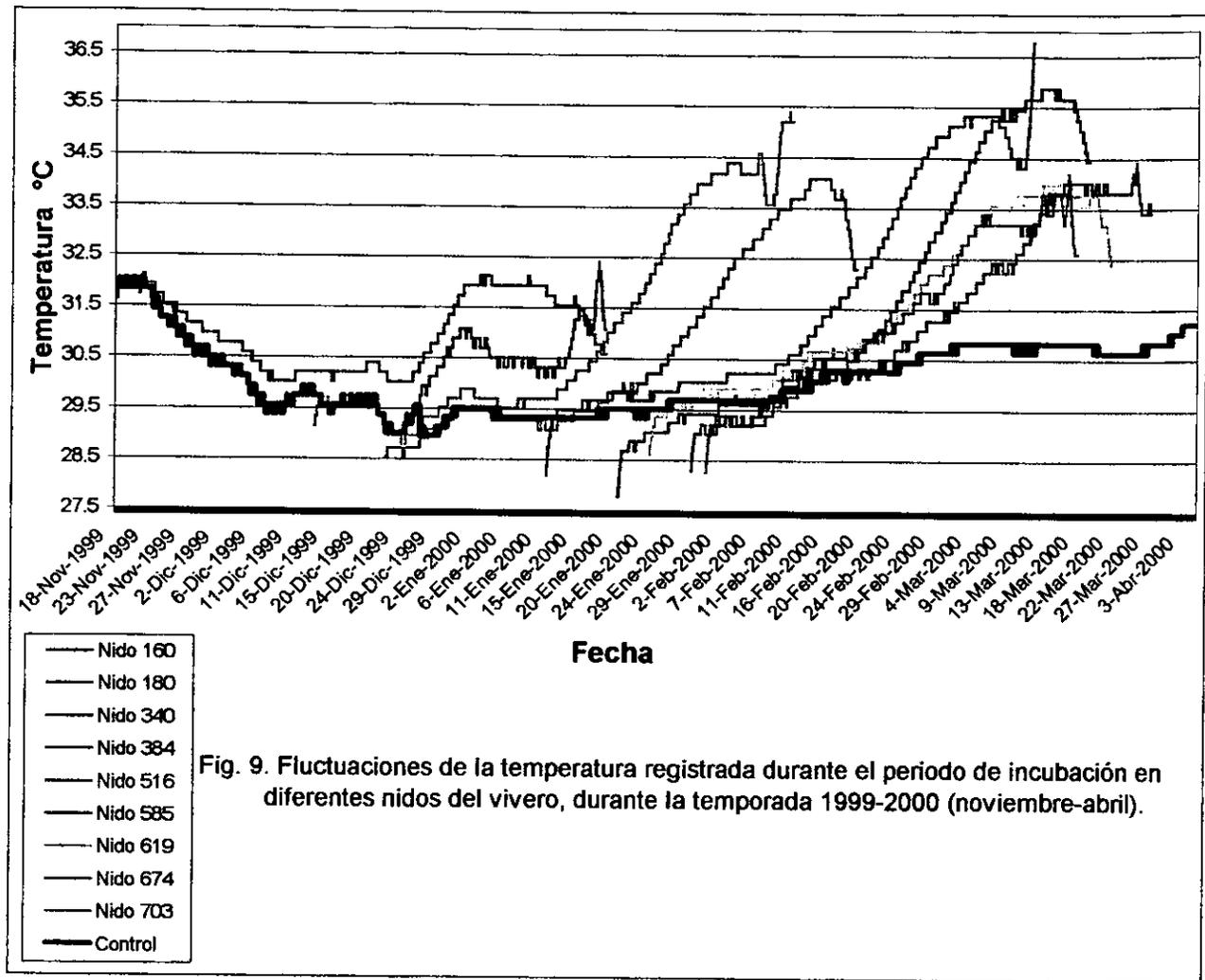


Fig. 9. Fluctuaciones de la temperatura registrada durante el periodo de incubación en diferentes nidos del vivero, durante la temporada 1999-2000 (noviembre-abril).

Durante la temporada 1999-2000 el sensor colocado fuera del vivero (control) también presentó homogeneidad en la temperatura a lo largo del día (Cuadro 13), sin diferencias significativas entre horarios (0600, 1400 y 2200 h). La diferencia máxima entre los horarios fue de 0.1° C, similar a la temporada 1992-1993 (Cuadros 4, 13, 14, 15).

**Cuadro 13. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA DE LAS TEMPERATURAS TOMADAS EN LOS HORARIOS ESTABLECIDOS DEL SENSOR CONTROL DURANTE LA TEMPORADA 1999-2000.**

HORA SENSOR CONTROL	TEMPERATURA (°C) PROMEDIO POR MES				
	NOVIEMBRE	DICIEMBRE	ENERO	FEBRERO	MARZO
0600	31.23±0.2	29.62±0.07	29.46±0.02	30.06±0.06	30.75±0.02
1400	31.32±0.2	29.61±0.07	29.46±0.02	30.08±0.06	30.78±0.02
2200	31.20±0.2	29.49±0.07	29.45±0.02	30.09±0.06	30.78±0.02
TEM.P MEDIA	31.25±0.1	29.56±0.04	29.46±0.01	30.07±0.04	30.77±0.01
F, $\alpha \leq 0.05$	F <sub>2,36</sub> =0.106	F <sub>2,90</sub> =0.980	F <sub>2,90</sub> =0.080	F <sub>2,84</sub> =0.080	F <sub>2,90</sub> =1.165

**5. COMPARACIÓN DE LA TEMPERATURA ENTRE LAS TEMPORADAS 1983-1984, 1992-1993 Y 1999-2000.**

Se encontraron diferencias significativas de entre 0.5 y 1.0° C entre las temperaturas registradas por los sensores en las diferentes temporadas, siendo 1983-1984 la temporada con temperaturas más altas y la 1999-2000 la más fría ( Cuadro 14, 15 y Fig. 10).

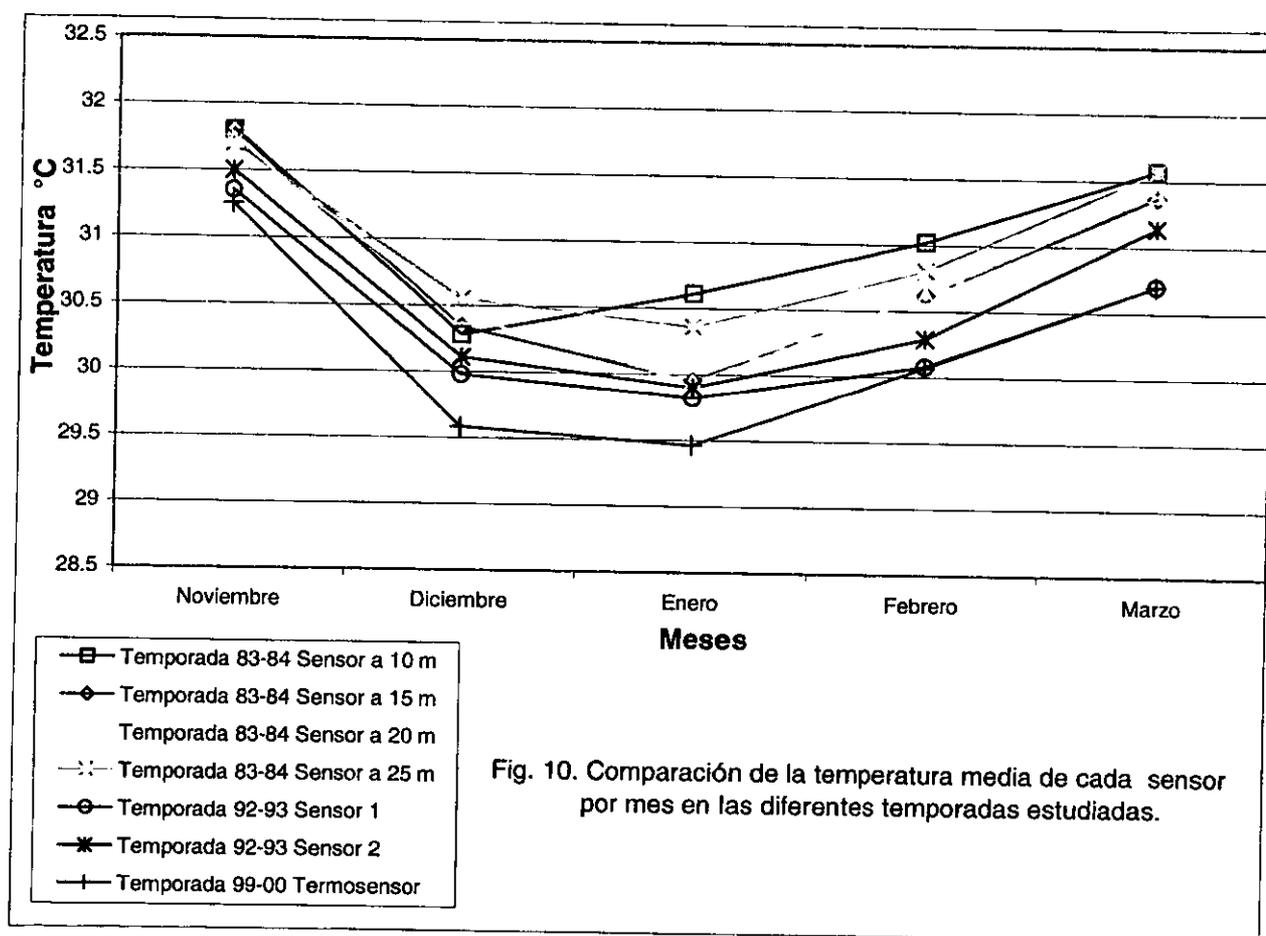
**Cuadro 14. ANALISIS DE VARIANZA DE LAS TEMPERATURAS DE LOS SENSORES COLOCADOS EN LA ARENA DE LA PLAYA FUERA DEL VIVERO DURANTE LAS TEMPORADAS 1983-1984, 1992-1993 Y 1999-2000.**

SENSOR TEMPORADA	TEMPERATURA (°C) PROMEDIO POR MES				
	NOVIEMBRE	DICIEMBRE	ENERO	FEBRERO	MARZO
Sensor a 10 m (83-84)	31.80±0.08	30.28±0.09	30.61±0.05	31.02±0.04	31.57±0.08
Sensor a 15 m (83-84)	31.89±0.08	30.34±0.09	29.95±0.05	30.62±0.04	31.37±0.08
Sensor a 20 m (83-84)	31.72±0.08	30.42±0.09	29.94±0.05	30.62±0.04	31.40±0.08
Sensor a 25 m (83-84)	31.70±0.08	30.55±0.09	30.36±0.05	30.80±0.04	31.57±0.08
1 (zona A; 92-93)	31.36±0.08	29.98±0.09	29.82±0.05	30.08±0.04	30.70±0.08
2 (zona B; 92-93)	31.51±0.08	30.12±0.09	29.90±0.05	30.28±0.04	31.14±0.08
Control 1999-2000	31.20±0.08	29.60±0.09	29.46±0.05	30.10±0.04	30.77±0.08
F, $\alpha \leq 0.05$	F <sub>6,173</sub> =6.4	F <sub>6,206</sub> =13.345	F <sub>6,207</sub> =59.5	F <sub>6,190</sub> =68.704	F <sub>6,197</sub> =15.758

La temperatura media obtenida en cada sensor durante las temporadas 1983-1984, 1992-1993 y 1999-2000 fue alrededor o por arriba de los 30° C (Cuadro 15). En general se observó un comportamiento similar de la temperatura en las tres temporadas siendo los meses más fríos diciembre y enero (Fig. 10).

**Cuadro 15. COMPARACIÓN DE LA TEMPERATURA MEDIA DE LA ARENA DE LA PLAYA FUERA DEL VIVERO.**

SENSOR	TEMPORADA	TEMPERATURA °C		
		MEDIA	MÍNIMA	MÁXIMA
SENSOR a 10 m	1983-1984	31.04±0.7	28.9	32.8
SENSOR a 15 m	1983-1984	30.83±0.8	29.2	32.6
SENSOR a 20 m	1983-1984	30.82±0.8	29.0	32.6
SENSOR a 25 m	1983-1984	30.99±0.7	29.7	33.0
SENSOR 1	1992-1993	30.3±0.6	29.1	31.7
SENSOR 2	1992-1993	30.5±0.7	29.3	31.9
TERMOSENSOR	1999-2000	30.12±0.6	28.96	31.2



## 6. TOMA DE MUESTRAS

En total se procesaron 364 gónadas (Fig. 11), de las 375 crías de la tortuga laúd colectadas, ya que 11 muestras se perdieron durante alguna parte del proceso. De las gónadas procesadas, 147 fueron obtenidas de las crías que eclosionaron de los huevos incubados en las cajas de poliuretano, y 217 de crías que eclosionaron en el vivero (Anexo. 4).

## 7. IDENTIFICACIÓN DEL SEXO

De las gónadas procesadas se obtuvieron: 123 gónadas determinadas como masculinas, 224 gónadas determinadas como femeninas y 17 ovotestis, intersexos o gónadas con sexo no definido (Cuadro 16).

**Cuadro 16. RESULTADOS DEL SEXADO DE GÓNADAS DE CRÍAS DE LA TORTUGA *Dermochelys coriacea*.**

TÉCNICA DE INCUBACION	CRÍAS SEXADAS	GÓNADAS MASCULINAS	GÓNADAS FEMENINAS	OVOTESTIS	PROPORCION SEXUAL
CAJAS	147	118	18	11	80:12:8
CÁMARA	109	107	2	0	98:2:0
TIENDA	38	11	16	11	29:42:29
VIVERO	217	5	206	6	2:95:3
ZONA A	112	2	108	2	2:96:2
ZONA B	105	3	98	4	3:93:4
TOTAL	364	123	224	17	

De acuerdo con los estudios histológicos realizados con esta especie, es importante mencionar que de las gónadas procesadas y clasificadas como masculinas, una mostró un mayor grado de desarrollo y un arreglo particular de los cordones medulares o sexuales, que se podría suponer son los esbozos de futuros túbulos seminíferos (Fig. 12). De las gónadas clasificadas como femeninas, la gran mayoría presentó cordones medulares en fragmentación, así como la presencia del conducto paramesonérfico (Müller) bien formado (Fig. 13).

Las 17 gónadas que no fue posible determinar el sexo, fueron básicamente de tres tipos y dos de estos tipos de gónadas llamaron la atención: aquellas que presentaron un epitelio pseudoestratificado, así como un arreglo particular de los cordones medulares (Fig. 14a), y una gónada con un epitelio pseudoestratificado, con una evidente túnica albugínea y la presencia de cordones medulares o sexuales con evidentes núcleos de células de Sertoli, lo cual mostró un grado de desarrollo muy avanzado hacia testículo (Fig. 14b). Es importante notar que la mayoría de estas

gónadas con un sexo no definido provinieron de las crías que eclosionaron de los huevos incubados en las cajas que fueron trasladadas a la tienda de campaña.



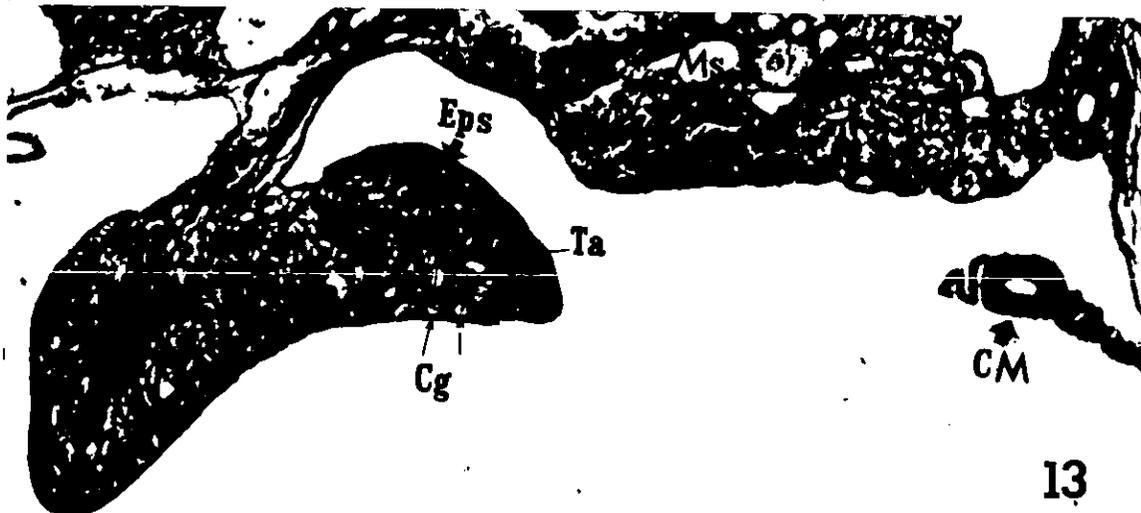
Fig. 11. Gónadas de cría de tortuga laúd. Gónada (G), mesonefros (Ms).

Fig. 12. Corte transversal de una gónada masculina. Epitelio simple (Es), cordones medulares (Cm), médula (M), mesonefros (Ms). Técnica de tinción Pas. 200 X.

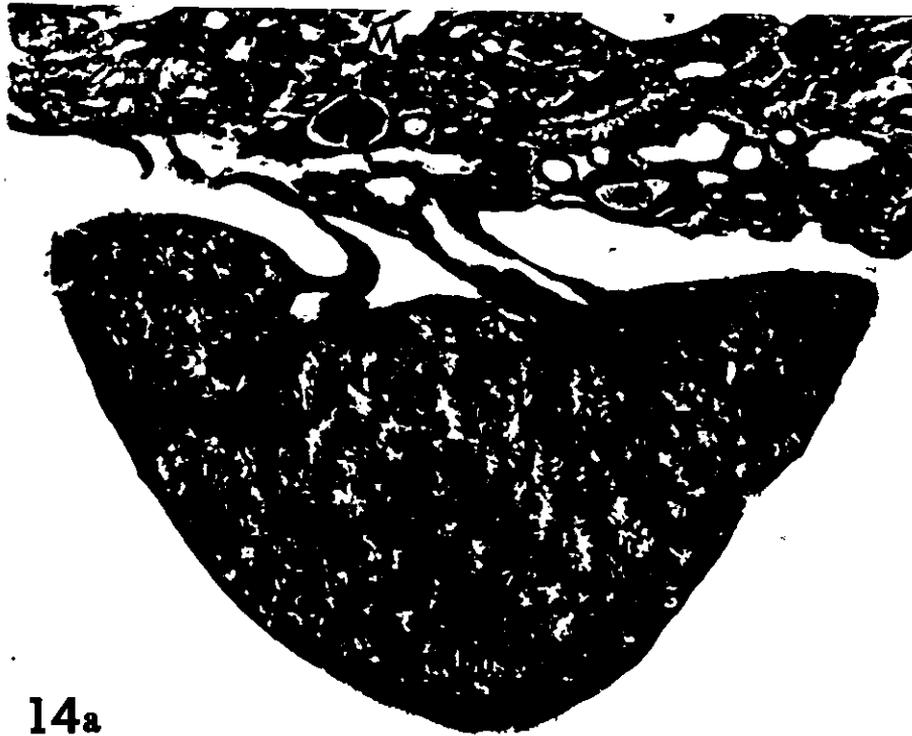
Fig. 13. Corte transversal de una gónada femenina. Epitelio pseudoestratificado (Eps), células germinales (Cg), túnica albugínea (Ta), vasos sanguíneos (V), médula (M), conducto de Müller (CM). Técnica de tinción. Pas. 200 X.



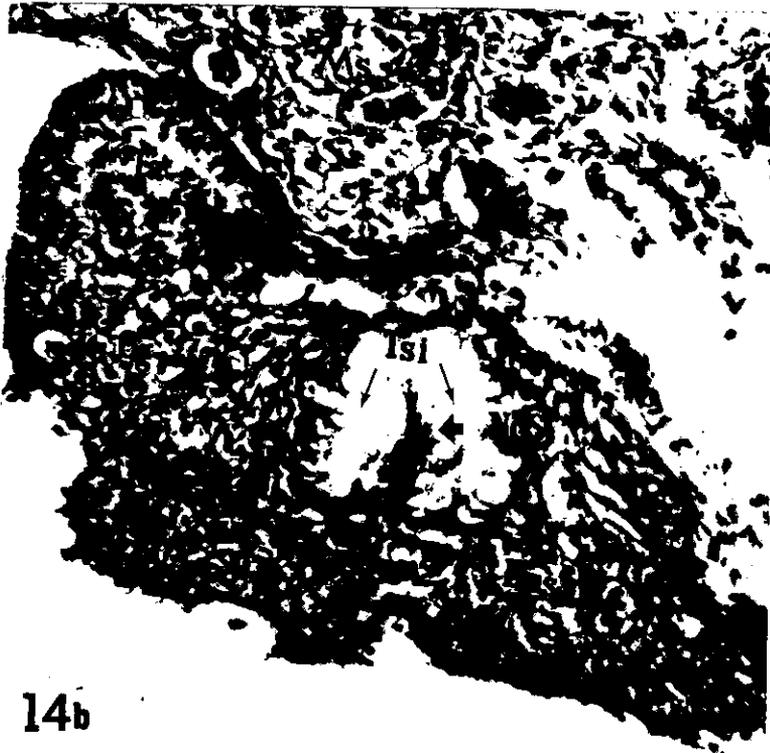
12



13



**14a**



**14b**

Fig. 14 a. Corte transversal de un ovotestis o intersexo. Epitelio pseudoestratificado (Eps), epitelio simple (Es), cordones medulares (Cm), células germinales (Cg), médula (M), túnica albugínea (Ta), mesonefros (Ms). Técnica de tinción Pas. 200 X.

Fig. 14 b. Corte transversal de un ovotestis o intersexo. Epitelio pseudoestratificado (Eps), túnica albugínea (Ta), túbulos seminíferos inmaduros (Tsi), núcleos de células de Sertoli (NcS), médula (M), mesonefros (Ms). Técnica de tinción Hematoxilina-Eosina. 200 X.

## 8. PROPORCIÓN DE SEXOS

La técnica de incubación en cajas de poliuretano, presentó un claro sesgo en la producción de crías hacia los machos (80:12:8, machos:hembras:sexo no definido) nueve de 11 nidos de la muestra de cajas en la cámara de incubación produjeron 100% de machos y 2 produjeron un 90%, mientras que las crías que se produjeron en el vivero el sesgo fue hacia las hembras (2:95:3), 18 de los 23 nidos produjeron un 100% de hembras en ambas zonas (Anexo 4). Las diferencias en la proporción de sexos, producidas en cada una de las técnicas de incubación empleadas fueron significativas (Z de tablas de 1.96 a -1.96 con un  $\alpha = 0.05$ ; Z calculada = 22.7 para machos y Z = -27 para hembras).

La figura 15 muestra la proporción de sexos obtenida en cada tratamiento. Las cajas que permanecieron en la cámara de incubación, produjeron casi la totalidad de los machos (98:2:0), no así las cajas que fueron trasladadas después del primer tercio del periodo de incubación a la tienda de campaña, en las cuales la proporción de hembras y crías sin sexo definido aumentó (29:42:29), observándose diferencias significativas entre estos dos tratamientos (Z de proporciones calculada = 9.22, Z de tablas de 1.96 a -1.96 con un  $\alpha = 0.05$ ). En el vivero los resultados obtenidos no mostraron diferencias significativas (Z de proporciones calculada = 0.23, Z de tablas de 1.96 a -1.96 con un  $\alpha = 0.05$ ) entre cada una de las zonas (zona A 2:96:2 y zona B 3:93:4).

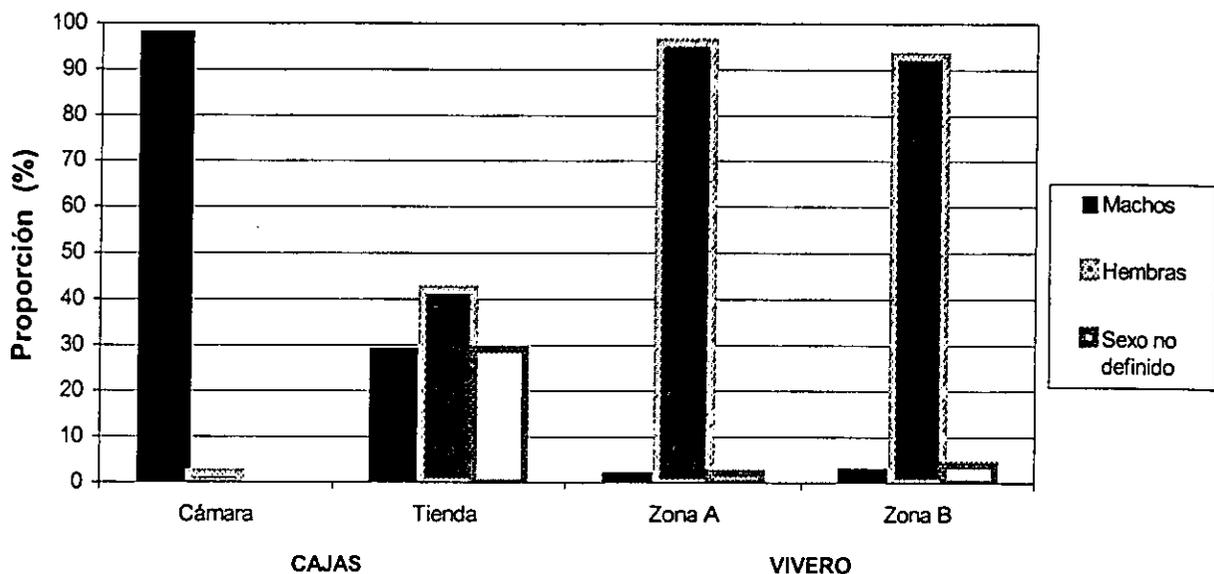


Fig. 15. Proporción de sexos obtenida por tratamiento en ambas técnicas de incubación.

## 9. CORRELACIÓN ENTRE LA TEMPERATURA DE INCUBACIÓN Y LA PROPORCIÓN DE SEXOS

Al comparar los datos de la temperatura media del segundo tercio del periodo de incubación con la proporción sexual obtenida en la muestra de cada nido, cada técnica de incubación y cada tratamiento (Anexo 4). Se encontró que existe una correlación positiva ( $r = 0.915$ ,  $P \leq 0.01$ ) entre el aumento de la temperatura y el aumento de la proporción de hembras (Fig. 16 A), y una correlación negativa ( $r = -0.92$ ,  $P \leq 0.01$ ), entre el aumento de la temperatura y la proporción de machos (Fig. 16 B).

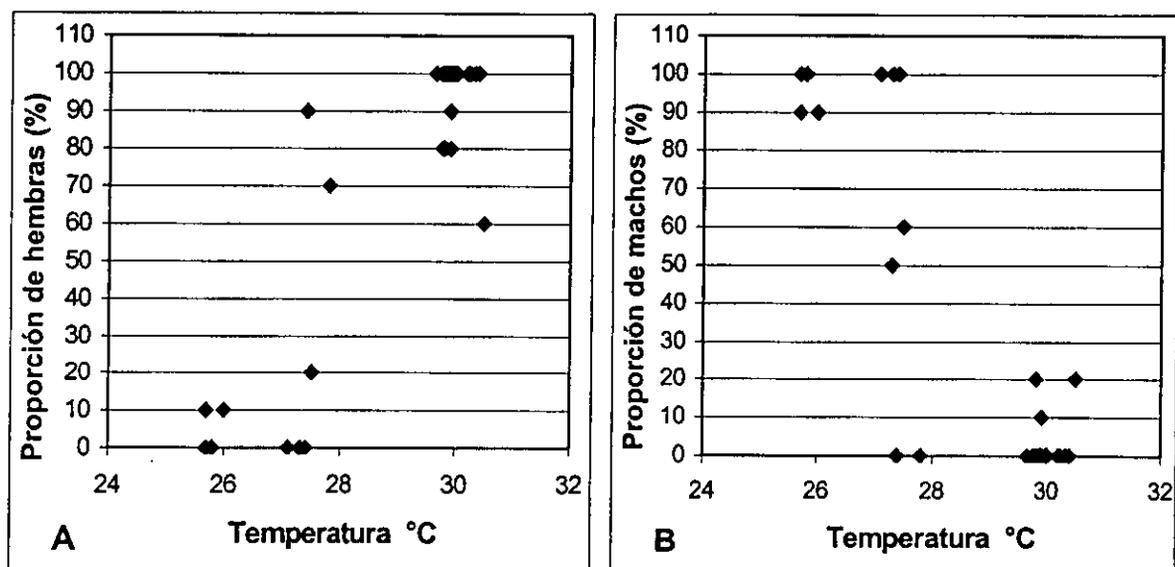


Fig. 16. (A) Correlación positiva entre la temperatura media del segundo tercio del periodo de incubación con la proporción de hembras.

(B) Correlación negativa entre la temperatura media del segundo tercio del periodo de incubación con la proporción de machos.

Las nidadas que fueron incubadas en las cajas de poliuretano colocadas en la cámara de incubación experimentaron, durante el segundo tercio del periodo de incubación, una temperatura media por debajo de los 27° C y la proporción sexual obtenida en esta técnica fue de 98% de machos (Cuadros 16 y 17). Las nidadas de las cajas que fueron trasladadas a la tienda de campaña experimentaron una temperatura media de 27.5° C durante el segundo tercio, con fluctuaciones que fueron desde los 26° C hasta los 29.8° C (Cuadros 5, 7, Figs. 2b, 3, 4, 5 y 6) la proporción sexual obtenida en esta técnica presentó un sesgo hacia la producción de hembras y un aumento considerable

en la producción de individuos con sexo no definido (Fig. 15). Esto nos hace suponer que la temperatura a la cual se produce una proporción sexual de 1:1 se encuentra por arriba de los 27.5° C y por abajo de los 29.8° C. Las temperaturas que experimentaron las nidadas incubadas en el vivero (en ambas zonas), estuvieron alrededor de los 30° C y la proporción sexual estuvo sesgada hacia las hembras (Cuadros 16 y 17, Fig. 15 y Anexo 4).

**Cuadro 17. COMPARACIÓN DE LA TEMPERATURA MEDIA DURANTE EL SEGUNDO TERCIO DEL PERIODO DE INCUBACIÓN Y LA PROPORCIÓN DE SEXOS DE LA MUESTRA DE CRÍAS.**

TÉCNICA DE INCUBACIÓN	TRATAMIENTO	TEMPERATURA 2 <sup>do</sup> TERCIO	PROPORCIÓN DE SEXOS
CAJAS	CÁMARA	26.2±0.7	98:2:0
	TIENDA	27.5±0.2	29:42:29
VIVERO	ZONA A	29.9±0.2	2:96:2
	ZONA B	30±0.2	3:93:4

#### 10. PROPORCIÓN DE SEXOS DE LA PRODUCCIÓN TOTAL DE CRIAS

Una vez conocido el porcentaje de eclosión (Cuadro 2) y la proporción de sexos de la muestra obtenida de cada nido y en cada técnica de incubación (Cuadro 16, Fig. 15), se calculó la proporción de sexos que se produjo en todas las nidadas reubicadas, extrapolando los resultados de la muestra al número total de crías, obteniendo los siguientes resultados: 2,088 crías obtenidas en la temporada fueron machos, 11,300 crías fueron hembras y 535 crías sin sexo definido. Claramente se puede apreciar que la producción de crías estuvo sesgada hacia hembras (Cuadro 18) en las nidadas reubicadas para su protección.

**Cuadro 18. PROPORCIÓN DE SEXOS EXTRAPOLADA AL TOTAL DE LA PRODUCCIÓN DE CRÍAS RECIÉN ECLOSIONADAS**

TÉCNICA DE INCUBACIÓN	PROPORCIÓN DE SEXOS	CRÍAS RECIÉN ECLOSIONADAS			TOTAL
		MACHOS	HEMBRAS	SEXO NO DEFINIDO	
CAJAS	80:12:8	1,857	278	186	2,321
VIVERO	2:95:3	231	11,022	349	11,602
TOTAL	15:81:4	2,088	11,300	535	13,923

Después de eclosionar, las crías inician su recorrido hacia la superficie de la playa, pero no todas lo logran: algunas mueren en el intento, otras al llegar a la superficie son depredadas, algunas

más llegan a morir de insolación, por lo que no todas las crías que eclosionan viven para ser liberadas (Cuadro 19). Por lo tanto, el número de crías que eclosionan es diferente y mayor al número de crías que se liberan. De un total de 11,886 crías liberadas alrededor de 8 de cada 10 fueron hembras.

**Cuadro 19. PROPORCIÓN DE SEXOS EXTRAPOLADA AL TOTAL DE CRÍAS LIBERADAS**

TÉCNICA DE INCUBACIÓN	PROPORCIÓN DE SEXOS	CRIAS LIBERADAS			TOTAL
		MACHOS	HEMBRAS	SEXO NO DEFINIDO	
CAJAS	80:12:8	1,697	254	170	2,121
VIVERO	2:95:3	195	9,277	293	9,765
<b>TOTAL</b>	15:81:4	1,892	9,531	463	11,886

## DISCUSIÓN

Debido a la drástica disminución en el número de individuos de la población anidadora de la tortuga marinas *D. coriacea* (Cuadro 20 y Fig. 17), uno de los aspectos más importantes para su conservación es liberar el mayor número posible de crías a la población silvestre. La protección de huevos en Mexiquillo es una actividad prioritaria, ya que dadas las condiciones socio-económicas de los habitantes de la zona, existe un alto porcentaje de saqueo de las nidadas, lo cual conduce a un decremento de las poblaciones de estos organismos (López *et al.* 1987). Las medidas ampliamente utilizadas para la protección de los huevos, ha consistido en la reubicación e incubación de las nidadas en zonas de protección, donde sus huevos son incubados en viveros o cajas de poliuretano.

**Cuadro 20. ESTIMACIÓN DEL NÚMERO DE HEMBRAS ANIDADORAS DE LA TORTUGA MARINA *Dermochelys coriacea* EN EL PLAYÓN DE MEXIQUILLO, MICH. DESDE LA TEMPORADA 1982 A LA 1999.**

TEMPORADA	TIEMPO DE COBERTURA	HEMBRAS ANIDADORAS	Km. DE PLAYA	AUTOR/ AÑO
1981-1982	50 días (oct-mar)	666	3.5 km.	Benabib y Cruz, 1982
1982-1983	Oct-nov-dic	1692-2256	3.5 km	Benabib, 1983
1983-1984	179 días (oct-abr)	514-686	3.5 km.	Benabib, 1984
1984-1985	131 días	888	3.5 km.	Cruz, 1985
1985-1986	229 días (jul-mar)	546	4.5 km.	Sarti <i>et al.</i> , 1986
1986-1987	Noviembre-Marzo	881	4.5 km.	Sarti <i>et al.</i> , 1987
1987-1988	Julio-Marzo	771	4.5 km.	Sarti <i>et al.</i> , 1988
1988-1989	Julio-Marzo	499	4.5 km.	Sarti <i>et al.</i> , 1989
1989-1990	Julio-Marzo	386	6.6 km.	López <i>et al.</i> , 1990
1990-1991	Julio-Marzo	270	6.6 km.	López <i>et al.</i> , 1991
1991-1992	Julio-Marzo	287	6.6 km	Lopez <i>et al.</i> , 1992
1992-1993	Octubre-Abril	236	6.6 km	Sarti <i>et al.</i> , 1993
1993-1994	Octubre-Marzo	14	6.6 km.	López <i>et al.</i> , 1994
1994-1995	Noviembre-Marzo	133	6.6 km	Sarti <i>et al.</i> , 1995
1995-1996	Noviembre-Abril	148	6.6 km	Huerta <i>et al.</i> , 1996
1996-1997	Noviembre-Marzo	17	12 km.	García <i>et al.</i> , 1997
1997-1998	Noviembre-Marzo	23	12 km.	García y Ordóñez, 1998
1998-1999	Noviembre-Marzo	8	18 km.	García <i>et al.</i> , 1999

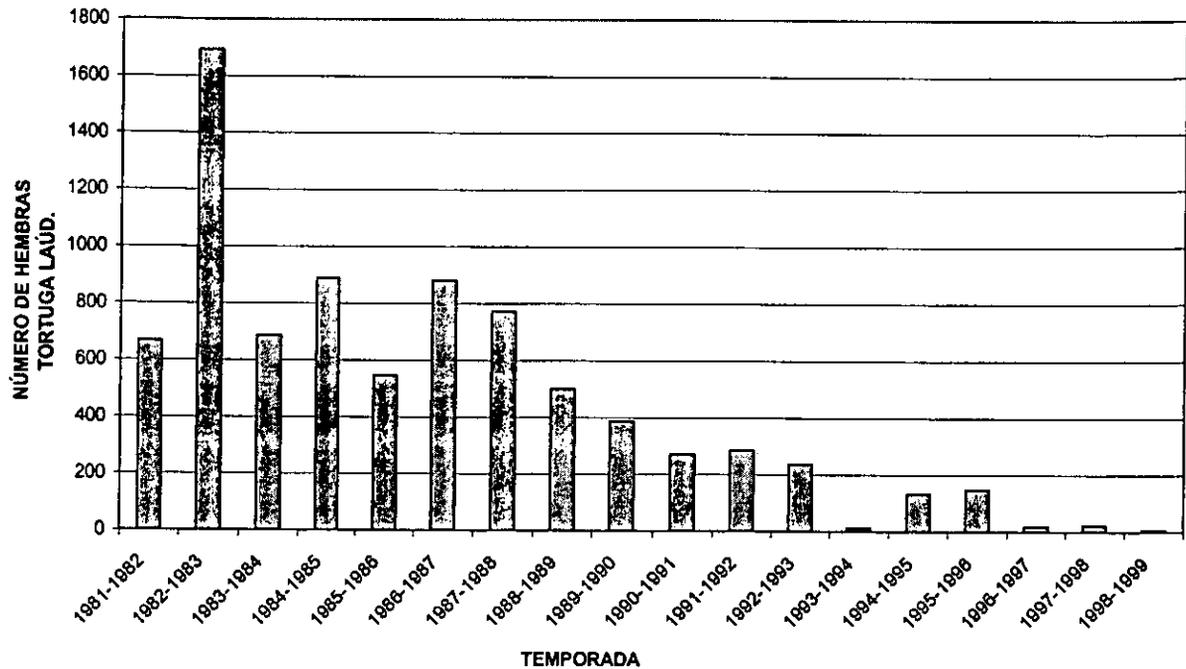


Fig. 17. Estimación del número de hembras anidadoras de la tortuga marina *Dermochelys coriacea* en el Playón de Mexiquillo, Mich. de 1982 a 1999.

Analizando los resultados de las técnicas de protección empleadas durante la temporada de anidación 1992-1993, en la incubación de los huevos, se observó que existen diferencias significativas entre los porcentajes de eclosión obtenidos en cada técnica de incubación empleada (Cuadro 2), observando que la incubación en cajas de poliuretano fue mejor (52.65% de eclosión) con respecto al vivero (44.46%).

Aunque la incubación de las nidadas en cajas de poliuretano dio un mejor porcentaje de eclosión, también fue más costosa debido a la infraestructura que se requiere, e implicó muchos cuidados, como: mantener las condiciones adecuadas para la incubación (temperatura y humedad), hay que cambiar periódicamente la arena superficial (arena seca) por arena húmeda, evitar la infestación de los huevos por termitas y la depredación de huevos y crías por ratas (Sarti *et al.*, 1993). Además disminuyó la temperatura y prolongó el periodo de incubación y masculinizó las crías (Dutton *et al.*, 1985). Por lo tanto la incubación por medio de esta técnica no es muy recomendable para usarla como técnica de protección en todas las nidadas.

La construcción de la cámara de incubación con palapa hizo que ésta fuera más fresca y la temperatura más baja (temperatura promedio durante la temporada = 26.6° C), ocasionaron que el desarrollo embrionario de las nidadas en las cajas fuera más lento, prolongando el periodo de

incubación (83 días promedio) de acuerdo a lo reportado por Mrosovsky (1982) y Dutton *et al.* (1985), a diferencia de lo que ocurrió en el vivero (59 días promedio). En las cajas de la tienda el claro aumento de la temperatura (temperatura promedio durante la temporada = 29.5° C) fue debido básicamente a la cubierta de plástico negro, la cual absorbió más el calor durante el día y por lo tanto la temperatura fue más alta, aunque es claro el aumento de temperatura este no disminuyó el periodo de incubación, que fue similar al de las cajas incubadas en la cámara. Los registros de temperatura hechos durante el día presentaron diferencias significativas (cuadro 4), debido a que la temperatura ganada durante el día se pierde durante la noche, ya que no recibían los rayos directos del sol y por otro lado tienen una menor superficie de contacto con la temperatura ambiente, lo cual hizo que estuvieran más expuestas a las fluctuaciones de la temperatura del medio ambiente. Observando que las nidadas incubadas en las cajas de poliuretano fueron más sensibles a los cambios de temperatura ambiente que ocurrieron durante el día y la noche por lo que estas estuvieron más expuestas a las fluctuaciones del medio ambiente (con fluctuaciones de hasta más de 2° C al día, entre los horarios establecidos) durante la temporada.

Analizando las temperaturas de cada mes y del segundo tercio (Cuadros 4 y 7) obtenidas en la cámara de incubación se observó que éstas estuvieron por debajo de los 27° C y en la tienda de campaña la temperatura estuvo alrededor de los 27.5° C (Cuadros 5 y 7), de acuerdo a lo esperado esta técnica produciría un sesgo hacia machos.

Benabib (1984) colocó un termopar entre los huevos de un nido y otro en la arena a 50 cm de distancia, a una misma profundidad, con el fin de verificar la extrapolación de la temperatura de la arena con la temperatura que experimentaron los huevos, encontrando que no existían diferencias significativas entre la temperatura de los huevos del nido y la arena de la playa, salvo en los últimos 10 días del periodo de incubación y considerando que la temperatura de incubación afecta básicamente el segundo tercio del desarrollo embrionario, este aumento de la temperatura en los últimos días de incubación no afectará la determinación sexual. Así con este dato se extrapoló la temperatura registrada por los sensores de cada zona, a los nidos sembrados en el vivero.

Las temperaturas registradas en el vivero durante el día no presentaron diferencias significativas (Cuadro 4). Esto se debió a que la arena de la playa no perdió tan rápido la temperatura ganada durante el día, a diferencia de la arena de las cajas (dentro de la cámara y la tienda).

Las temperaturas registradas por los dos sensores (zona A y B) colocados fuera del vivero, presentaron diferencias significativas entre ellos (Cuadro 6), pero éstas son debido básicamente a lo cerrado de los datos, por lo que la más mínima variación fue significativa (diferencias mínimas

entre sensores de  $0.08^{\circ}\text{C}$ , máxima de  $0.4^{\circ}\text{C}$ ), la variación máxima entre sensores ocurrió en el mes de marzo al final de la temporada (Fig. 7), esta diferencia fue por arriba de los  $30^{\circ}\text{C}$  y al final del periodo de incubación, por lo tanto ya no afectaría la determinación del sexo. Por otro lado los datos de temperatura en general se encuentran por arriba o cerca de los  $30^{\circ}\text{C}$ , en cada mes durante la temporada. Las temperaturas del segundo tercio del periodo de incubación en cada nido estuvo alrededor o por arriba de los  $29.8^{\circ}\text{C}$  (Anexo 4), de acuerdo a lo esperado por el comportamiento de la temperatura en cada mes y durante la temporada (Cuadros 6, 7 y Fig. 7), lo cual nos indicó que la producción de crías estaría sesgada hacia hembras.

De acuerdo con los resultados de temperatura obtenidos en las 4 zonas de la playa y en los tres nidos monitoreados (que estuvieron por arriba de los  $30^{\circ}\text{C}$  durante cada uno de los tercios del periodo de incubación) durante la temporada 1983-1984 se puede suponer que durante esa temporada se produjeron casi puras hembras. En la temporada 1999-2000 existieron diferencias significativas (Fig. 9) en cada uno de los tercios en los que se dividió el periodo de incubación de cada nido. Al contrastar las temperaturas del termosensor control con las de cada nido se observó que existieron diferencias significativas en cada uno de los tercios del periodo de incubación. Durante el segundo tercio las diferencias fueron de  $0.1$  a  $0.9^{\circ}\text{C}$  y en el tercero de  $2$  a  $4^{\circ}\text{C}$ , siendo las temperaturas de los nidos más altas con respecto al control, debido al calor metabólico generado por los embriones. Esto contrasta con lo encontrado por Benabib (1984) en donde no obtuvo diferencias significativas entre la temperatura de los huevos del nido y la arena de la playa, salvo en los últimos 10 días del periodo de incubación. Considerando estos resultados de la temporada 1999-2000, se podría suponer que las nidadas del vivero incubadas durante la temporada 1992-1993, tal vez experimentaron un incremento en la temperatura de  $0.1$  a  $0.9^{\circ}\text{C}$  durante el segundo tercio y durante el tercer tercio el incremento tal vez fue de  $2$  a  $4^{\circ}\text{C}$ , que las registradas por los sensores en ambas zonas, no afectando en este caso la proporción de sexos obtenida, ya que la temperatura estaría alrededor o por arriba de los  $30^{\circ}\text{C}$ .

En cuanto a la comparación de las temperaturas de los sensores de las tres temporadas (Cuadro 13), se encontro que la temporada 1983-1984 fue la más caliente y la temporada 1999-2000 la más fría en comparación con la temporada 1992-1993. El comportamiento de la temperatura de la arena de la playa fue similar en las tres temporadas (Fig. 10), observando que los meses más fríos fueron diciembre y enero. Por lo tanto se esperaría que temporada tras temporada hubiera un comportamiento similar pero para comprobarlo se tendría que hacer un estudio a largo plazo.

La proporción de sexos obtenida en las crías de *D. coriacea* durante la temporada estudiada, mostró marcadas diferencias entre las dos diferentes técnicas de incubación empleadas, siendo claro que la incubación en cajas de poliuretano produjo un sesgo en la proporción de sexos hacia machos, a diferencia de la incubación en el vivero, en el cual la proporción de sexos estuvo sesgada hacia hembras. Los resultados del sexado de las gónadas de las crías fueron los esperados en las dos diferentes técnicas de incubación.

Parece interesante que entre las gónadas masculinas, sólo una de estas presentó un grado de desarrollo más avanzado en su diferenciación hacia testículo. También es importante el hecho de que esta gónada provino de una cría que eclosionó en el vivero en la Zona A (nido A-49), la cual experimentó temperaturas de 29.3° C a 30.2° C durante el segundo tercio del periodo de incubación. Podría pensarse que las temperaturas “bajas” (29.3° C) ocasionaron que se desarrollaran las características masculinas. Una gónada clasificada como ovotestis, presentó un grado de desarrollo muy avanzado hacia testículo, con túbulos seminíferos inmaduros con evidentes núcleos de células de Sertoli y por otro lado con un epitelio pseudoestratificado con células germinales y evidente túnica albugínea características de ovario, la cual fue obtenida de una cría del vivero en la zona B (nido B-33), con fluctuaciones en las temperaturas registradas durante el segundo tercio del periodo de incubación que fueron de 29.5° C a 31.9° C. Estas fluctuaciones en la temperatura y alrededor de la temperatura umbral permitieron que se desarrollaran ambos componentes celulares. Lo interesante de esto es que estas características masculinas (células de Sertoli) son un estado de desarrollo muy avanzado en la diferenciación de un testículo, característica que no se ha registrado en organismos recién eclosionados de tortuga laúd.

Estos resultados de la determinación del sexo y de temperatura nos hacen suponer que la ventana del periodo sensible a la temperatura en la gónada puede ser muy corto y que otros factores aparte de la temperatura estén involucrados en la determinación del sexo o que la temperatura active o regule estos factores. Merchant-Larios y Villalpando (1990), en estudios hechos con *Lepidochelys olivacea*, sugirieron que un factor o factores externos están involucrados en el desarrollo del tejido gonadal, durante el periodo sensible a la temperatura. Merchant-Larios et al. (1997) encontraron que la temperatura promotora de machos y la temperatura promotora de hembras en *L. olivacea*, en la cual la determinación sexual es irreversible, ocurrió en el estadio 23-24 en gónadas masculinas y 26-27 en gónadas femeninas. Spotila et al. (1998) encontraron en la tortuga de agua dulce *Trachemys scripta*, que la transcripción de SOX9 estuvo fuertemente expresada en ambas gónadas (masculinas y femeninas) y que cuando la diferenciación hacia

testículo ha iniciado, la expresión de SOX9 es favorecida. Moreno-Mendoza *et al.* (1999), en estudios recientes con *L. olivacea*, sugirieron una correlación de la determinación sexual con la detección inmunocitoquímica de SOX9 en el desarrollo de la gónada. En tortuga golfina, SOX9 se expresó por primera vez en la cresta genital en ambos sexos en estadios tempranos del desarrollo, en las gónadas masculinas la proteína SOX9 permaneció en las células de los cordones medulares, precursoras de las células de Sertoli; en las gónadas femeninas la regulación de SOX9 inició la fragmentación de los cordones medulares y el engrosamiento de la superficie epitelial y la gónada estuvo determinada para formar un ovario.

De acuerdo con todos estos estudios se puede suponer que este es uno de los factores que es activado o regulado por la temperatura y que están íntimamente correlacionados con la determinación del sexo en los organismos con determinación sexual dependiente de la temperatura. Se podría suponer que lo mismo sucede con *D. coriacea*, aunque para corroborar esto es necesario hacer estudios para conocer tanto el estadio del desarrollo embrionario como la temperatura a la cual la gónada es sensible o responde de manera definitiva a estos cambios.

Las nidadas sembradas en las cajas de poliuretano presentaron marcadas diferencias entre cada uno de los tratamientos empleados, observando que las nidadas de las cajas que permanecieron durante todo su periodo de incubación en la cámara cubierta con palapa, produjeron un 98 % de machos (Fig. 15), con una temperatura media  $26.6^{\circ} \text{C} \pm 1.3$  durante el periodo de incubación, con fluctuaciones registradas a lo largo de la temporada que fueron desde los  $23$  hasta los  $33.6^{\circ} \text{C}$  (Fig. 2, y Cuadros 3 y 4), lo cual era de esperarse debido a las bajas temperaturas.

A diferencia de las nidadas de las cajas que fueron trasladadas a la tienda de campaña cubierta con un plástico negro, donde hubo un claro aumento de la temperatura, una notable disminución en la proporción de machos (29%) y un significativo aumento de hembras y tortugas con sexo no definido (42:29). Se considera que este aumento de tortugas con sexo no definido y las fluctuaciones en la temperatura tuvieron efecto sobre la proporción sexual obtenida, afectando la diferenciación de los componentes celulares de la gónada, activando o desactivando la diferenciación. La temperatura media obtenida durante el periodo de incubación fue de  $29.5^{\circ} \text{C} \pm 1.7$ , con fluctuaciones registradas a lo largo de la temporada que fueron desde los  $25.4$  hasta los  $33.5^{\circ} \text{C}$  y durante el día de hasta  $4^{\circ} \text{C}$  (Figs. 2, 3, 4, 5, 6, 15 y Cuadro 5).

En la cámara de incubación la tendencia es a producir casi puros machos, siempre y cuando se mantenga a las cajas dentro de un cobertizo hecho con palapa. Trasladar o incubar las nidadas en una tienda de campaña, con el fin de acelerar el periodo de incubación no es recomendable, ya que

lo único que se ocasionó fue aumentar la proporción de organismos en los cuales el sexo no pudo ser definido y el periodo de incubación no varió mucho respecto a la incubación de las cajas en la cámara.

En las dos zonas (A y B) trabajadas en el vivero no se observaron diferencias significativas en la proporción de sexos obtenida (96 y 93% de hembras), así como en la temperatura media calculada ( $30.3^{\circ}\text{C} \pm 0.6$  y  $30.5^{\circ}\text{C} \pm 0.7$ ). De acuerdo con los resultados de temperatura obtenidos en el vivero, era de esperarse que la proporción de sexos estuviera sesgada hacia hembras, lo cual sucedió, con una poca producción de machos (2 y 3%) y ovotestis (3 y 4%), .

Tomando en cuenta que la temperatura de incubación afecta la diferenciación sexual en las tortugas marinas durante el segundo tercio del desarrollo embrionario (Yntema y Mrosovsky, 1982). Sabiendo que a bajas temperaturas de incubación ( $22-27^{\circ}\text{C}$ ) se producen machos y que a altas temperaturas ( $30^{\circ}\text{C}$  y más) se producen hembras (Bull, 1980). De acuerdo con el análisis de los resultados de la comparación de la temperatura con la proporción de sexos, los cuales fueron los esperados, suponemos que sí se conoce la temperatura de las nidadas durante el segundo tercio del desarrollo embrionario, entonces se puede predecir la proporción de sexos para cada nido. Por lo tanto se puede estimar la proporción de sexos que se produce en cada temporada. Los datos confirmaron la correlación que existe entre la temperatura y la proporción de sexos, es decir conforme aumenta la temperatura aumenta la proporción de hembras y por otro lado conforme aumenta la temperatura disminuye la proporción de machos.

Se puede suponer que la temperatura a la cual se obtiene una proporción de sexos de 1:1, se encuentra por arriba de los  $27.5^{\circ}\text{C}$  y por debajo de los  $29.8^{\circ}\text{C}$ . Para poder confirmar esto y poder encontrar la temperatura umbral para esta especie es necesario hacer un experimento con temperaturas controladas y así poder conocer a qué temperatura y en que estadio del desarrollo embrionario la gónada es sensible a la temperatura. Existen diferencias en la temperatura umbral en las diversas especies de tortugas marinas, así como en la misma especie, en diferentes partes del mundo (Cuadro 21). Las variaciones interespecificas e intraspecificas de la temperatura umbral podrían darse para evitar sesgos extremos en la proporción de sexos y estas diferencias están atribuidas a factores que influyen en la temperatura del nido, tales como el clima y la temporada de anidación (Ewert *et al.*, 1994).

**Cuadro 21. TEMPERATURA UMBRAL DE DIFERENTES ESPECIES DE TORTUGAS MARINAS**

AUTOR/AÑO	ESPECIE	TEMPERATURA UMBRAL	LUGAR
Yntema y Mrosovky, 1980	<i>C. caretta</i>	29°C	Sureste de Estados Unidos
Limpus <u>et al.</u> 1985	<i>C. caretta</i>	28.6°C	Australia
Maxwel <u>et al.</u> 1988	<i>C. caretta</i>	29.7°C	Africa del Sur
Mrosovsky <u>et al.</u> 1984	<i>C. mydas</i>	28.7°C	Surinam
Mrosovsky <u>et al.</u> 1984	<i>D. coriacea</i>	29.5°C	Surinam
Benabib, 1984	<i>D. coriacea</i>	Por abajo 29.8°C*	Michoacán, México
Rimblot <u>el al.</u> 1985	<i>D. coriacea</i>	28.75-29.75°C	Surinam y Guyana Francesa
Dutton <u>el al.</u> 1985	<i>D. coriacea</i>	28-30.5°C	Surinam
Chan y Liew, 1995	<i>D. coriacea</i>	29.2-30.4°C	Malasia
Binckler <u>el al.</u> 1998	<i>D. coriacea</i>	29.4°C	Playa Grande Costa Rica

\*Los datos de determinación sexual obtenidos por Benabib (1984) no son confiables ya que identificó los sexos por medio de aclaramiento con glicerina; es posible que en el dato de temperatura umbral obtenido tampoco sea confiable.

Por otro lado existen gónadas (4%) en las cuales no fue posible determinar el sexo, ya que presentaron características tanto de testículo como de ovario (Fig. 14 a y b). Al analizar los resultados del estudio de proporción de sexos de Benabib (1984) en el cual las gónadas fueron sexadas por medio de la técnica de aclaramiento con glicerina y debido a diferentes estudios realizados con esta técnica se llegó a la conclusión que no es confiable para el sexado de gónadas de crías de la tortuga *D. coriacea* (Mrosovky y Benabib, 1990; Gámez, 1996; Gámez et al., 2000). y compararlos con los obtenidos en el presente estudio. Tomando en cuenta que la temperatura registrada por Benbib (1984) es medio grado más elevada en comparación con el presente estudio se podría suponer que este dato tan grande es mucho menor y similar a lo obtenido en el vivero en el presente estudio (Cuadro 22). Aunque sigue siendo una incógnita cuál es el destino de estos organismos y por qué se presentan en mayor proporción en esta especie que en las demás tortugas marinas, quizás es debido a que esta especie es la menos diferenciada sexualmente al momento de la eclosión.

## Cuadro 22. PORCENTAJE DE INTERSEXOS EN DIFERENTES ESPECIES DE TORTUGAS MARINAS.

AUTOR/AÑO	ESPECIE	TEMPORADA	LUGAR	INTERSEXOS
Mrosovsky et al.1984	<i>C. mydas</i>	1982	Surinam	1.1%
Godfrey et al . 199?	<i>C. mydas</i>	1993	Surinam	0.3%
Benabib, 1984	<i>D. coriacea</i>	1984	Michoacán, México	*14%
Godfrey et al . 199?	<i>D. coriacea</i>	1993	Surinam	2.3%
Mrosovsky y Provancha 1989, 1992	<i>C. caretta</i>	1986-1988	Florida, USA	0.2%
Presente trabajo **	<i>D. coriacea</i>	1992-1993	Michoacán, México	4%
Presente trabajo solo vivero***	<i>D. coriacea</i>	1992-1993	Michoacán, México	3%

\*Resultado no confiable. \*\*Proporción de sexos obtenida en ambas técnicas de incubación.

\*\*\*Proporción de sexos obtenida solo en el vivero

La reubicación de nidadas y la incubación de éstas en cajas de poliuretano alteró la proporción de sexos sesgando la producción de crías hacia machos. Sin embargo la proporción de sexos (15:81:4) obtenida en el presente estudio en ambas técnicas de incubación (cajas de poliuretano y vivero), no difiere mucho de lo registrado en *D. coriacea* de manera natural en otras playas (Binckley et al., 1998) y con otras especies. Numerosos estudios realizados en playas de anidación con diferentes especies de tortugas marinas, han demostrado que la proporción de sexos en crías recién eclosionadas fue diferente de 1:1 en condiciones naturales, con un sesgo hacia la producción de hembras (Cuadro 23) debido a que la temperatura de incubación fue un poco más elevada a la temperatura umbral registrada para las diferentes especies.

## Cuadro 23. PROPORCIÓN DE SEXOS DE TORTUGAS MARINAS.

AUTOR/AÑO	ESPECIE	PROPORCIÓN DE SEXOS	TEMPORADA	LUGAR
Mrosovsky y Provancha, 1992	<i>C. caretta</i>	3:97	1986	Florida, USA
Mrosovsky y Provancha, 1992	<i>C. caretta</i>	0.1:99.1	1987	Florida, USA
Mrosovsky y Provancha, 1992	<i>C. caretta</i>	11:89	1988	Florida, USA
Standora y Spotila, 1984	<i>C. mydas</i>	29:71	1984	Tortuguero, Costa Rica
Spotila et al. 1987	<i>C. mydas</i>	33:67	1987	Tortuguero, Costa Rica
Binckley et al. 1998	<i>D. coriacea</i>	0:100	1993-94	Playa Grande, Costa Rica
Binckley et al. 1998	<i>D. coriacea</i>	6.5:93.5	1994-95	Playa Grande, Costa Rica
Binckley et al. 1998	<i>D. coriacea</i>	25.7:74.3	1995-96	Playa Grande, Costa Rica
Benabib, 1984	<i>D. coriacea</i>	32.54:14*	1984	Mexiquillo, Mich, México
Presente trabajo**	<i>D. coriacea</i>	15:81:4	1992-1993	Mexiquillo, Mich, México
Presente trabajo solo vivero***	<i>D. coriacea</i>	2:95:3	1992-1993	Mexiquillo, Mich, México

\*Las gónadas fueron sexadas por medio de la técnica de aclaramiento con glicerina y debido a diferentes estudios realizados con esta técnica se llegó a la conclusión, que no es confiable para el sexado de gónadas de crías de la tortuga *Dermochelys coriacea* (Mrosovsky y Benabib, 1990; Gámez, 1996; Gámez et al., 1998).

\*\*Proporción de sexos obtenida en ambas técnicas de incubación. \*\*\*Proporción de sexos obtenida solo en el vivero.

La proporción natural de sexos que se da en las diferentes playas de anidación y en las diferentes especies es debida básicamente a las condiciones ambientales que se presentan durante el año. Así como a la zona geográfica de anidación y temporada de anidación de cada especie. Existiendo temporadas en las que se prolonga la época de lluvias o la época de seca, lo que provocaría que la temperatura de la arena de las playas de anidación este más fría o más caliente lo cual se refleja en la proporción de sexos.

Puede haber temporadas en las cuales la proporción de machos aumente y la de hembras disminuya. Se podría suponer que las nidadas reubicadas al vivero experimentaron de manera similar estos cambios. Si sólo se hubieran reubicado las nidadas del vivero, la producción de machos en esta temporada hubiera sido de 231, de los cuales sólo lograron liberarse 195 crías (2%), por lo que se considera que una pequeña parte de las nidadas que se reubican sea incubada en cajas de poliuretano, con el fin de mantener la proporción de machos dentro de lo registrado. Siempre y cuando se cuente con la infraestructura requerida para mantener las cajas en un cobertizo hecho con palapa. Por otro lado quizás sea suficiente con la proporción obtenida en el vivero, si consideramos que de acuerdo con las condiciones ambientales que se presentan temporada tras temporada la proporción aumenta o disminuye hacia uno u otro sexo. Para comprobar esto, se tendría que hacer un estudio a largo plazo para determinar la proporción natural de sexos. Sin embargo, debido a la situación actual de la población no es posible.

Sobre estudios de proporción de sexos para tortuga laúd en México, sólo se tienen datos del trabajo de Benabib (1984). Aunque los resultados de proporción de sexos (machos = 36.6%, hembras = 50.6% e intersexos = 13.2%) obtenidos en esa temporada no son confiables (Mrosovky y Benabib, 1990; Gámez, 1996; Gámez *et al.*, 2000), las temperaturas registradas presentaron un comportamiento similar al del presente estudio. La temperatura registrada por los sensores durante esa temporada (1983-1984) fue medio grado más alta en comparación con las dos diferentes técnicas de incubación empleadas la temporada 1992-1993. Por esto se podría suponer que la proporción de sexos de esa temporada fue de casi puras hembras (muy diferente a lo obtenido por Benabib, 1984). En la temporada 1999-2000 la temperatura promedio obtenida durante los meses de diciembre y enero fue alrededor de 0.5° C más baja que la de la temporada 1992-1993. Se podría suponer que las nidadas que experimentaron estas temperaturas durante el segundo tercio del desarrollo embrionario aumentaron la proporción de machos, tal vez obteniendo en esta temporada una proporción de machos un poco mayor al 2% obtenido en la temporada 1992-1993 en el vivero. Esto confirmaría el resultado del análisis de temperatura y proporción de sexos reportadas en otros trabajos donde hay fluctuaciones de la temperatura ambiente cambian

temporada tras temporada ocasionando que la proporción de machos y hembras aumente o disminuya. Serían necesarios más estudios de temperaturas tanto de la arena en el área del vivero como del periodo de incubación de las nidadas por más temporadas, para poder ver como se comporta la temperatura y así poder estimar la proporción de sexos a través de las temporadas.

Aunque fue bajo el porcentaje de eclosión (44.46%) en las nidadas reubicadas al vivero, ésta sigue siendo la mejor alternativa de incubación empleada, cuando es imposible dejarlas en la playa de manera natural, ya que si estas nidadas no fueran transplantadas, se perderían principalmente por el saqueo de los lugareños. Con esta técnica la producción de crías estuvo sesgada hacia hembras (2:95:3), pero aún así los resultados obtenidos con esta técnica estuvieron dentro del intervalo que se produce de manera natural en otras playas y con otras especies (Cuadro 22).

Al parecer la reubicación de las nidadas a viveros no afecta la proporción de sexos, ya que por ejemplo en estudios realizados con *C. caretta* en Brasil, durante la temporada 1994-1995, Naro-Maciel et al. (1999) no encontraron diferencias significativas al comparar temperaturas registradas en la arena de áreas naturales de anidación con áreas de construcción de viveros, sugiriendo que la proporción de sexos no se ve afectada con el trasplante de nidadas.

En general se pudo apreciar que la proporción de sexos de las crías que eclosionaron y de las que se liberaron, estuvo sesgada hacia hembras, obteniendo que de cada 10 crías que se liberaron 8 fueron hembras. Este resultado fue debido a que la temperatura de incubación de los huevos en el vivero, estuvo cerca o por encima de los 30° C y era de esperarse que la producción estuviera inclinada hacia las hembras.

## CONCLUSIÓN

Durante la temporada 1992-1993 en el Playón de Mexiquillo, Michoacán, se reubicaron e incubaron, tanto en cajas de poliuretano como en el vivero, 518 nidadas de la tortuga marina *Dermochelys coriacea*. Se lograron revisar 479 nidadas de las cuales eclosionaron 13,923 crías (46% del total de huevos). La proporción de sexos que se produjo del total de crías que eclosionaron en ambas técnicas de incubación fue de 15:81:4, es decir 2,088 crías fueron machos, 11,300 fueron hembras y 535 crías con sexo no definido. Claramente se pudo observar que la proporción de sexos total estuvo sesgada hacia la producción de hembras.

Se observaron diferencias significativas tanto en las técnicas de incubación, en la temperatura, en la proporción de sexos y así como en el porcentaje de eclosión. En cajas de poliuretano la proporción de sexos obtenida estuvo sesgada hacia machos (80:12:8). En las nidadas de las cajas que permanecieron en la cámara de incubación, la temperatura media durante el periodo de incubación fue más fría 26.3° C y la proporción de sexos estuvo sesgada hacia casi puros machos (98%); mientras que las nidadas de las cajas que fueron trasladadas a la tienda de campaña, experimentaron un aumento en la temperatura media obtenida durante el periodo de incubación de 28.1° C, la proporción de sexos de machos disminuyó (29%) y la de hembras y crías con sexo no definido aumentó (42:29). De acuerdo con los resultados de proporción sexual obtenidos en las nidadas de las cajas que fueron trasladadas a la tienda de campaña, no se recomienda el uso de esta técnica en los campamentos tortugeros, ya que lo único que ocasionó fue aumentar el porcentaje de individuos en el cual el sexo no puede ser definido.

En el vivero, tanto en la temperatura (zona A 29.9° C y zona B 30° C) como en la proporción de sexos (zona A 2:96:2 y zona B 3:93:4), no se observaron diferencias significativas entre las dos zonas estudiadas. Claramente se observó un sesgo en la proporción de sexos obtenida en esta técnica (2:95:3) hacia hembras.

De acuerdo con los resultados de la temperatura y la proporción de sexos obtenidos se observó una clara correlación, obteniendo que a temperaturas bajas se producen machos y a temperaturas altas se producen hembras. Respecto a los resultados de temperatura y proporción de sexos obtenidos de las nidadas que fueron trasladadas a la tienda de campaña, se podría suponer que la temperatura umbral para esta especie en el Playón de Mexiquillo se encuentra por arriba de los 27.5° C y por debajo de los 29.8° C.

La proporción de sexos obtenida tanto total (15:81:4) como sólo la del vivero (2:95:3), se encuentran dentro de los intervalos registrados de manera natural para laúd y otras especies. Aunque el

porcentaje de eclosión es mejor en cajas, sólo se recomienda el uso de esta técnica en una pequeña parte de las nidadas siempre y cuando se cuente con la infraestructura para mantenerlas en un cobertizo hecho con palapa, con el fin de mantener la proporción sexual dentro de lo que podría estar ocurriendo de manera natural. Por otro lado, aunque el porcentaje de eclosión es bajo en el vivero sigue siendo la mejor alternativa para asegurar un reclutamiento de crías a la población donde el saqueo es intenso.

La proporción de sexos general estuvo sesgada hacia hembras, obteniendo que de cada 10 crías que se liberaron 8 fueron hembras.

Es importante hacer estudios para encontrar el periodo y la temperatura en la cual la gónada es sensible a la temperatura, y se determina el sexo. También es importante saber si la temperatura activa o regula otros factores que pueden ser genéticos y que estén interviniendo en la determinación sexual definitiva en esta especie. Por otro lado sigue siendo una incógnita qué sucede con las crías en las que no se pudo definir el sexo.

Debido al drástico declive de las poblaciones anidadoras de esta especie, lo más importante es reclutar el mayor número de crías a la población silvestre, tratando de mantener la proporción de sexos dentro de los intervalos registrados de manera natural es decir con un sesgo hacia la producción de hembras.

En cuanto a la comparación de la temperatura de las tres temporadas se observó que la temporada 1983-1984 fue la más calurosa y la temporada 1999-2000 fue la más fría en comparación con la temporada 1992-1993. Produciendo quizá casi puras hembras en 1983-1984 y un poco más de machos en 1999-2000 con respecto a lo que se produjo en el presente estudio.

## LITERATURA CITADA

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA

- Aguilar, R.H.M. 1987. Influencia de la temperatura en la determinación del sexo y la duración del periodo de incubación de la tortuga lora (*Lepidochelys kempii*). Tesis de Licenciatura (Biología). Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. I.P.N. México.
- Benabib Nisenbaum., M y L, Cruz W. 1982. Establecimiento de un campamento tortuguero en Caleta de Campos Mich. Estudio de algunos aspectos de la biología de la tortuga marina. Biología de Campo. Facultad de Ciencias, UNAM.
- Benabib Nisenbaum. M. 1983. Algunos aspectos de la biología de *Dermochelys coriacea* en el Pacífico Mexicano. Tesis de Licenciatura (Biología). Facultad de Ciencias. UNAM.
- Benabib Nisenbaum. M. 1984. Efecto de la temperatura de incubación, la posición del nido y la fecha de anidación en la determinación del sexo de *Dermochelys coriacea*. Tesis de Maestría (Biología). Facultad de Ciencias, UNAM.
- Binckley, A.C., J.R. Spotila., K.S. Wilson and F.V. Paladino. 1998. Sex determination and sex ratios of Pacific leatherback turtle. *Copeia* 1998:291-300.
- Bull, J.J. 1980. Sex determination in reptiles. *Quart. Rev.Biol.* 55:3-21.
- Bull, J.J.1983. Evolution of sex determining mechanisms. The Benjamin/Cummings Publishing Co., Inc. Advanced Book Program, Menlo Park, CA.
- Chan, E. H., and H. C. Liew. 1995. Incubation temperatures and sex ratios in the Malasya leatherback turtle *Dermochelys coriacea*. *Biol. Conserv*:169-174.
- Charnov, E. L. and, J, J, Bull. 1977. When is sex environmentally determined? *Nature* 266:828-830.
- CITES. 1975. Convención sobre el comercio internacional de especies amenazadas de flora y fauna silvestre. Llevada al cabo en 1973.
- Cruz Wilson, L. 1985. Informe de trabajo de investigación y conservación de la tortuga laúd (*Dermochelys coriacea*) en Mexiquillo Mich, (temporada de anidación 1984-1985). SEDUE, Subdelegación de Ecología, Mich.
- Dalrymple, G.H., J.C. Hampp and D.J. Wellins. 1985. Male-biased sex ratio in a cold nest of a hawksbill sea turtle *Eretmochelys imbricata*. *J. Herpetology* 19:158-159.
- Dutton, P.H., C.P. Whitmore and N. Mrosovsky. 1985. Masculinization of leatherback turtle *Dermochelys coriacea* hatchlings from eggs incubated in styrofoam boxes. *Biol. Conserv.* 31:249-264.
- Ewert, M.A., D.A.Jackson, and C.E.Nelson.1994. Paterns of temperature-dependent sex determinarion in turtles. *J. Exp. Zool.* 270:3-15.
- Gámez G., L. 1996. Descripción histológica para la determinación sexual de las gónadas de crías recién eclosionadas de la tortuga marina *Dermochelys coriacea*. Tesis de Licenciatura (Biología). Facultad de Ciencias. UNAM.
- Gámez. L., C. Ordoñez and M. Benabib. 2000. Comparison of techniques used to sex leatherback hatchlings. In Abreu-Grobois, A., R. Briseño, R. Márquez, and L. Sarti (Compiladores). *Proceedings of the 18<sup>th</sup> International Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation.* Mazatlán, Sinaloa.
- García. T. N., M. Rodríguez B y M. C. Ordóñez E. 1997. Programa de protección y conservación de tortugas marinas. Informe Final (temporada 1996-1997). SEMARNAP. INE, Mich.
- García. T. N. y M. C. Ordóñez E. 1998. Informe Final de actividades Campamento Mexiquillo, 1997-1998. SEMARNAP. INE, Mich.
- García. T. N., M. C. Ordóñez E., M. E. García M. y P. Huerta R. 1998. Informe Final de actividades campamento Mexiquillo, 1997-1998. SEMARNAP. INE, Mich.
- Huerta. R. P., M.C. Ordoñez E., M. Rodríguez B., A.L. Sarti M., A. R. Barragán R., N. García T., C. López S. y H. Pineda V.1996. Resultados de protección de las tortugas marinas

- Dermochelys coriacea* y *Lepidochelys olicacea* en el Playón de Mexiquillo, Michoacán, temporada 1995-1996. Facultad de Ciencias. UNAM.
- Limpus, C. J., P. Reed, and J. D. Miller. 1985. Temperature dependent sex determination in Queensland sea turtles: intraspecific variation in *Caretta caretta*. P. 342-351. In: Biology of Australian frogs and reptiles. G. Grigg, R. Shine, and H. Ehmman (eds.). Surrey Beatty and Sons, Chipping Norton, New South Wales, Australia.
- López, S. C., A. L. Sarti M y A. I Bádiz M. 1987. Aspectos pesqueros y conservación de la tortuga marina en Mexiquillo, Michoacán. Informe de biología de campo. Facultad de Ciencias. UNAM.
- López. S. C., A. L. Sarti. M y N. García T. 1990. Situación actual de las pesquerías de las poblaciones de tortuga golfinia *Lepidochelys olicacea* y laúd *Dermochelys coriacea* en la zona sur del estado de Michoacán (temporada 1989-1990). Biología de Campo. Facultad de Ciencias. UNAM.
- López. S. C., A. L. Sarti. M y N. García T. 1991. Tortugas marinas de la costa sur del estado de Michoacán (temporada 1990-1991). Biología de Campo. Facultad de Ciencias. UNAM.
- López. S. C., A. L. Sarti. M y N. García T. 1992. Estudio de las poblaciones de tortugas marinas *Lepidochelys olicacea* (golfinia) y *Dermochelys coriacea* (laúd) con énfasis en aspectos conductuales y reproductivos en el Playón de Mexiquillo Mich, (temporada 1991-1992). Biología de Campo. Facultad de Ciencias. UNAM.
- López. S. C., N. García T y S. Karma M. 1994. Estrategias reproductivas de *Dermochelys coriacea* en el Playón de Mexiquillo Mich, (temporada 1993-1994). Biología de Campo. Facultad de Ciencias. UNAM.
- Márquez. R. 1996. Las tortugas marinas y nuestro tiempo. La ciencia desde México. 144. Fondo de Cultura Económica. México.
- Maxwell., J. A., M. A. Motara, and G. H. Frank. 1988. A micro-emvioromental study of the effect of temperature on the sex ratios of loggerhead turtle, *Caretta caretta*, from Tongaland, Natal. S. Afr. J. Zool. 23:342-350.
- McCoy, C.J., R.C. Vogt and E.J. Censky. 1983. Temperature controlled sex determination in the sea turtle *Lepidochelys olivacea*. J. Herpetology. 17:404-406.
- Merchant-Larios, H. and I. Villalpando. 1990. Effect of temperature on gonadal sex differentiation in the sea turtle *Lepidochelys olivacea*: An organ culture study. J. Exp. Zool. 254:327-331.
- Merchant, H., I. Villalpando and B. Centeno. 1989. Gonadal morphogenesis under controlled temperature in the sea turtle *Lepidochelys olivacea*. Herpetological Monographs 3:43-61.
- Merchant-Larios H., S. Ruiz-Ramírez, N. Moreno-Mendoza and A. Marmolejo-Valencia. 1997. Correlation among thermosensitive period, estradiol response, and gonad differentiation in the sea turtle *Lepidochelys olivacea*. Gen. Comp. Endocrinol. 107:373-385.
- Miller, J.D. and C.J. Limpus. 1981. Incubation period and sexual differentiation in the green turtle *Chelonia mydas*. L. In: Banks, C.B. and A.A. Martin. (Eds.) Proc. Melbourne. Herpetol. Symp.
- Mohanty-Hejmadi, P. and M.T. Diamond. 1983. Incubation temperature and sex determination in sea turtles. Amer. Zool. 23:1017.
- Mohanty-Hejmadi, P. and M.T. Diamond. 1986. Temperature dependent sex determination in the olive ridley turtle. Progress in Developmental Biology, part A. p. 159-162.
- Moreno-Mendoza N, V. R. Harley and H. Merchant-Larios. 1999. Differential expression of XOS9 in gonads of the sea turtle *Lepidochelys olivacea* at male- or female-promoting temperature. J. Exp. Zool. 284:705-710.
- Morreale, S.J., G.J. Ruíz, J.R. Spotila and E.A Standora. 1982. Temperature-dependent sex determination: Current practices threaten conservation of the sea turtles. Science. 216:1245-1247.

- Mrosovsky, N. 1982. Sex ratio bias in hatchling sea turtles from artificially incubated eggs. *Biol. Conserv.* 23:309-314.
- Mrosovsky, N. and C.L. Yntema. 1980. Temperature dependence of sexual differentiation in sea turtles: Implication for conservation practices. *Biol. Conserv.* 18:271-280.
- Mrosovsky, N. and M. Benabib. 1990. An assessment of two methods of sexing hatchling sea turtles. *Copeia* 1990:589-591.
- Mrosovsky, N. and C. Pieau. 1991. Transitional range of temperature, pivotal temperatures and thermosensitive stages for sex determination in reptiles. *Amphibia-Reptilia.* 12:169-179.
- Mrosovsky, N. and J. Provancha. 1992. Sex ratio of hatchling loggerhead sea turtle: date and estimate from a 5-year study. *Can J. Zool.* 70:530-538.
- Mrosovsky, N., P. H. Dutton, and C. P. Whitmore. 1984a. Sex ratios of two species of sea turtles nesting in Suriname. *Can. J. Zool.* 62:2227-2239.
- Mrosovsky, N., S. R. Hopkins, and J.I. Richardson. 1984b. Sex ratio of sea turtles: seasonal changes. *Science.* 225:739-741.
- Ordoñez E. M. C. 1998. Análisis histológico para la identificación del sexo de crías de las tortugas marinas *Dermochelys coriacea* y *Lepidochelys olivacea*. Tesis de Licenciatura (Biología). Facultad de Ciencias. UNAM. 50 p.
- Naro-Maciel, N. Mrosovsky, and M. A. Marcovaldi. 1999. Thermal profiles of sea turtle hatcheries and nesting areas at Praia do Forte; Brazil. *Chelonian Conservation and Biology* 3:407-413.
- Pérez-Gómez, B.M. y R.H. Montellano. 1990. Aspecto histológico de las gónadas de embriones de *Lepidochelys olivacea* incubados a 32°C. En: Memorias del V encuentro interuniversitario de tortugas marinas en México. Morelia, Mich.
- Rimblot, F., J. Fretey, N. Mrosovsky, J. Lescure and C. Pieau. 1985. Sexual differentiation as a function of the incubation temperature of eggs in the sea-turtle *Dermochelys coriacea*. *Amphibia-Reptilia* 6:83-92.
- Sarti M. A.L., A.E. Villaseñor.G., B. Jiménez.A., M. Robles. D y T de J. Ruíz. M. 1986. Investigación y conservación de la tortuga laúd (*Dermochelys coriacea*) y golfina (*Lepidochelys olicacea*) en Mexiquillo Mich, (Temporada 1985-1986). II informe de trabajo. SEDUE, Subdelegación de Ecología, Mich.
- Sarti M. A.L., A.E. Villaseñor.G., B. Jiménez.A., M. Robles. D y J. Carranza S. 1987. Investigación y conservación de la tortuga laúd (*Dermochelys coriacea*) y golfina (*Lepidochelys olicacea*) en Mexiquillo Mich, (Temporada 1986-1987). III informe de trabajo. SEDUE, Subdelegación de Ecología Mich.
- Sarti M. A.L., A.E. Villaseñor.G., B. Jiménez.A., M. Robles. D y J. Carranza S. 1988. Investigación y conservación de las tortugas marinas laúd (*Dermochelys coriacea*) y golfina (*Lepidochelys olicacea*) en Mexiquillo Mich, (Temporada 1987-1988). IV informe de trabajo. SEDUE, Subdelegación de Ecología Mich.
- Sarti M. A.L., A.E. Villaseñor.G., B. Jiménez.A., M. Robles. D y J. Carranza S. 1989. Investigación y conservación de las tortugas marinas laúd (*Dermochelys coriacea*) y golfina (*Lepidochelys olicacea*) en Mexiquillo Mich, (Temporada 1988-1989). V informe de trabajo. SEDUE, Subdelegación de Ecología Mich.
- Sarti M. A. L., C. López S., N. García T., L. Gámez G., M. C. Hernández., M. C. Ordoñez E., A. R. Barragán R y F. Vargas S. 1993. Protección e investigación de algunos aspectos biológicos y reproductivos de las tortugas marinas en la zona sur de la Costa Michoacana. Temporada de anidación 1992-1993. Informe final. Facultad de Ciencias. UNAM.
- Sarti M. A. L., C. López S., N. García T., P. Huerta y H. Pineda. 1995. Protección de la tortuga laúd *Dermochelys coriacea* en el Playón de Mexiquillo Mich, durante la temporada 1994-1995. Facultad de Ciencias. UNAM.

- Sarti M. A. L., N. García T y A. R. Barragán. 1996. Variabilidad genética y estimación del tamaño de la población anidadora de tortuga laúd *Dermochelys coriacea* y su distribución en el Pacífico mexicano. Temporada de anidación 1995-1996. Informe técnico. Laboratorio de tortugas marinas. Facultad de Ciencias. UNAM.
- Silva B., F. de A. 1986. La temperatura como factor determinante de la diferenciación sexual en *Lepidochelys olivacea*. *Tiempos de Ciencia (México)* 2:17-20.
- Spotila J. R., E. A. Standora, S. J. Morreale. and G.J. Ruiz. 1987. Temperature dependent sex determination in the green turtle (*Chelonia mydas*): effects on the sex ratio on a natural nesting beach. *Herpetologica*. 43: 74-81.
- Spotila, J.R., L.D. Spotila, and N. Kaufer. 1994. Molecular mechanisms of TSD in reptiles: A search for the magic bullet. *J. Exp. Zool.* 270:117-127.
- Spotila L. D., J. R. Spotila and S. E. Hall. 1998. Secuence and expression analysis of WT1 and SOX9 in the red-eared slider turtle, *Trachemys scripta*. *J. Exp. Zool.* 281:417-427.
- Standora, E. A., and J. R. Spotila. 1984. Temperature dependent sex determination in sea turtles. *Copeia*. 3:711-722.
- Valleley, E.M.A., U. Muller, W.J. Ferguson, and P.T. Sharp. 1992. Cloning and expression analysis of two ZFY-related finger genes from *Alligator mississippiensis*, a species with temperature-dependent sex determination. *Gene*. 119: 221-228.
- Van Der Heiden, A.M., R. Briseño-Dueñas and D. Ríos-Olmeda. 1985. A simplified method for determining sex in hatchling sea turtles. *Copeia* 1985:779-782.
- Yntema, C. L. and N. Mrosovsky. 1980. Sexual differentiation in hatchling loggerheads (*Caretta caretta*) incubated at different controlled temperatures. *Herpetologica*. 36:33-36.
- Yntema, C.L. and N. Mrosovsky. 1982. Critical periods and pivotal temperatures for sexual differentiation in loggerhead sea turtles. *Can. J. Zool.* 60:1012-1016.
- Whitmore, C., P. Dutton and N. Mrosovsky. 1985. Sexing of hatchling sea turtles: gross appearance versus histology. *J. Herpetology* 19:430-431.
- Wibbels, T., Y. Morris, D. Owens, G. Dienberg, J. Noell, J. Leong, R. King and R. Márquez. 1989. Predicted sex ratios from the international Kemp's ridley sea turtle head start research project. In: Caillouet, Jr, C.W. y A.M. Landry, Jr. (Eds) *Proceedings of the first International Symposium on Kemp's Ridley Sea Turtle Biology, Conservation and Management*. Texas.
- Wibbels, T., J.J. Bull, and D. Crews. 1994. Temperature-dependent sex determination: A mechanistic approach. *J. Exp. Zool.* 270:71-78.

## ANEXO 1

### UBICACIÓN TAXONÓMICA DE LAS TORTUGAS MARINAS Y SU DISTRIBUCIÓN EN MÉXICO.

Clase: Reptilia  
 Subclase: Anapsida  
 Orden: Testudines  
 Suborden: Cryptodira  
 Superfamilia: Cheloniodea  
 Familia: Cheloniidae

Género	Especie	Subespecie	Nombre común	Distribución en México
<i>Caretta</i>	<i>caretta</i>	<i>caretta</i>	cahuama	Golfo de México y Caribe
	<i>caretta</i>	<i>gigas</i>	perica	Pacífico
<i>Chelonia</i>	<i>mydas</i>		blanca o verde	Golfo de México y Caribe
	<i>agassizii</i>		prieta	Pacífico
<i>Eretmochelys</i>	<i>imbricata</i>	<i>imbricata</i>	carey	Golfo de México y Caribe
	<i>imbricata</i>	<i>bissa</i>	carey	Pacífico
<i>Lepidochelys</i>	<i>Kempi</i>		lora	Golfo de México y Caribe
	<i>olivacea</i>		golfinas	Pacífico
<i>Natator</i>	<i>depressus</i>		kikila	No hay, sólo en Australia

Familia: Dermochelyidae

Género	Especie	Subespecie	Nombre común	Distribución en México
<i>Dermochelys</i>	<i>coriacea</i>	<i>coriacea</i>	Laúd	Golfo de México y Caribe
	<i>coriacea</i>	<i>schlegelii</i>	laúd, machincupo, garapacho, tinglada y otros	Pacífico

## ANEXO 2

## NIDOS QUE FORMARON LA MUESTRA ESTUDIADA

# DE NIDO	# DE MARCA DE LA MADRE	FECHA DE SIEMBRA	FECHA DE EMERGENCIA	# DE CRIAS PROCESADAS
A-10	Y-4640	10-11-92	07-01-93	4
A-16	Y-4655	17-11-92	13-01-93	10
A-22	A-3291	26-11-92	26-01-93	10
A-26	SIN MARCA	02-12-92	31-01-93	10
A-27	SIN MARCA	02-12-92	30-01-93	10
A-29	Y-4661	07-12-92	04-02-93	10
A-34	-----7	13-12-92	12-02-93	10
A-46	Y-4744	29-12-92	23-02-93	10
A-47	SIN MARCA	29-12-92	26-02-93	11
A-49	Y-4805	03-01-93	03-03-93	10
A-60	Y-4803	10-01-93	15-03-93	10
A-63	SIN MARCA	25-01-93	23-03-93	10
B-33	A-3289	08-11-92	05-01-93	10
B-50	A-4686	25-11-92	23-01-93	10
B-51	A-4684	30-11-92	26-01-93	10
B-54	Y-4705	01-12-92	30-01-93	10
B-59	SIN MARCA	07-12-92	03-02-93	10
B-66	SIN MARCA	20-12-92	15-02-93	10
B-67	Y-4683	20-12-92	18-02-93	10
B-71	SIN MARCA	30-12-92	27-02-93	10
B-78	Y-4782	04-01-93	05-03-93	10
B-100	Y-4787	18-01-93	18-03-93	10
B-110	Y-4824	25-01-93	22-03-93	10
C-38	A-3123	22-10-92	31-12-92	10
C-50	SIN MARCA	31-10-92	22-01-93	10
C-53	A-3291	05-11-92	28-01-93	10
C-56	SIN MARCA	07-11-92	27-01-93	10
C-64	A-3290	14-11-92	08-02-93	10
C-68	Y-4682	23-11-92	14-02-93	10
C-71	A-3299	25-11-92	19-02-93	10
C-77	Y-4714	06-12-92	26-02-93	10
C-84	Y-4635	13-12-92	09-03-93	10
C-87	Y-4674	21-12-92	15-03-93	10
C-95	SIN MARCA	29-12-92	28-03-93	10
C-98	SIN MARCA	04-01-93	31-03-93	10
C-104	A-3149	10-01-93	31-03-93	10
C-111	Y-4818	17-01-93	05-04-93	10
C-115	Y-4668	27-01-93	08-04-93	10
total				375

## ANEXO 3

### TÉCNICA HISTOLÓGICA

Los tejidos se sometieron al siguiente proceso histológico.

- 1.- Fijar en formol al 10% en amortiguador fosfato 1 M.
- 2.- Lavar el tejido al chorro de agua, durante 1:30 h.
- 3.- Deshidratar gradualmente en alcoholes de 50, 70, 80, 96 y 100%, alcohol/xilol y xilol durante 1:30 h en cada solución.
- 4.- Inclusión en paraplast/Xilol, paraplast I y paraplast II, durante 15 min en cada paso, en una estufa a una temperatura de 55-58°C. Colocar los tejidos en un molde de papel con paraplast y dejar a temperatura ambiente hasta su endurecimiento.
- 5.- Obtener cortes seriados de cada bloque, de aproximadamente 6-7  $\mu\text{m}$  de grosor.
- 6.- Teñir.

#### HEMATOXILINA-EOSINA

- 1.- Desparafinar los cortes en xilol durante 10 min.
- 2.- Hidratar de manera gradual en alcoholes del 100, 96, 70 y 50% y agua destilada, durante 10 min en cada uno.
- 3.- Teñir con Hematoxilina durante 45 s aproximadamente.
- 4.- Lavar en agua corriente y en agua destilada.
- 5.- Deshidratar en alcoholes 50 y 70%, durante 10 min.
- 6.- Teñir con Eosina 30 s. aproximadamente.
- 7.- Deshidratar de forma gradual con alcoholes de 70, 96, 100%, xilol/alcohol y xilol, durante 10 min en cada uno.
- 8.- Montar con Bálsamo de Canadá.

#### PAS

- 1.- Desparafinar los cortes en xilol durante 10 min.
- 2.- Hidratar de manera gradual en alcoholes del 100, 96, 70 y 50% y agua destilada, durante 10 min en cada uno.
- 3.- Acido peryódico al 5%, durante 8 min.
- 4.- Lavar en agua destilada.
- 5.- Teñir en reactivo de Schiff, durante 20 min.\*
- 6.- Tres baños con mezcla sulfurosa, durante 5 min.
- 7.- Dos baños con agua corriente, durante 5 min (observar viraje a rosa)
- 8.- Teñir con picro índigo y carmín, durante 1 min aproximadamente.
- 9.- Deshidratar de forma gradual con alcoholes de 70, 96, 100%, xilol/alcohol y xilol, durante 10 min en cada uno.
- 10.- Montar con Bálsamo de Canadá.

\* El reactivo no debe estar expuesto a la luz.

ANEXO 4

PERIODO DE INCUBACIÓN, TEMPERATURAS PROMEDIO Y PROPORCIÓN SEXUAL DE LAS NIDADAS ESTUDIADAS DURANTE LA TEMPORADA 1992-1993.

TEMPERATURA PROMEDIO DURANTE EL PERIODO DE INCUBACIÓN

# de Nido	Periodo de Incubación	Temperatura Promedio	Tem.prom 1 <sup>er</sup> tercio	Tem.prom 2 <sup>do</sup> tercio	Tem.prom 3 <sup>er</sup> tercio	Machos	Hembras	Ovotestis	Prop. Sexual
	Zona A								
A-10	59	30.4±0.7	31.25±0.3	30.25±0.5	29.73±0.3		4		0:100:0
A-16	58	30.24±0.7	30.04±0.4	29.9±0.5	29.8±0.2		10		0:100:0
A-22	62	29.99±0.4	30.48±0.2	29.66±0.3	29.8±0.1		10		0:100:0
A-26	61	29.88±0.4	30.11±0.6	29.78±0.2	29.78±0.2		10		0:100:0
A-27	60	29.89±0.4	30.11±0.6	29.78±0.2	29.79±0.2		10		0:100:0
A-29	60	29.81±0.3	29.86±0.5	29.82±0.2	29.77±0.2		10		0:100:0
A-34	62	29.80±0.3	29.69±0.4	29.87±0.2	29.83±0.3		9		0:100:0
A-46	57	29.89±0.2	29.84±0.2	29.76±0.2	30.08±0.1		10		0:100:0
A-47	60	29.92±0.2	29.84±0.2	29.78±0.2	30.14±0.2		9	2	0:80:20
A-49	60	29.96±0.3	29.88±0.2	29.82±0.3	30.19±0.2	2	8		20:80:0
A-60	65	30.09±0.4	29.77±0.2	29.99±0.2	30.52±0.2		10		0:100:0
A-63	58	30.24±0.4	29.84±0.3	30.21±0.2	30.68±0.2		8		0:100:0
	60.17	30.02±0.2	30.14±0.5	29.88±0.2	30.01±0.3	2	108	2	2:96:2
	Zona B								
B-33	59	30.6±0.7	31.45±0.3	30.5±0.3	29.83±0.3	2	6	2	20:60:20
B-50	60	30.13±0.4	30.66±0.2	29.81±0.3	29.94±0.2		9		0:100:0
B-51	58	30.06±0.4	30.42±0.4	29.85±0.3	29.91±0.1		10		0:100:0
B-54	60	30.02±0.4	30.29±0.5	29.88±0.2	29.88±0.2		9		0:100:0
B-59	59	29.93±0.3	29.99±0.5	29.94±0.2	29.84±0.2		10		0:100:0
B-66	58	29.95±0.3	29.88±0.2	29.91±0.1	30.07±0.4	1	9		10:90:0
B-67	61	29.96±0.3	29.86±0.3	29.91±0.1	30.13±0.3		8	2	0:80:20
B-71	57	30.07±0.3	29.95±0.2	29.93±0.3	30.35±0.2		8		0:100:0
B-78	59	30.13±0.4	29.94±0.2	30.02±0.4	30.45±0.2		10		0:100:0
B-100	59	30.38±0.5	29.91±0.3	30.34±0.2	30.90±0.4		9		0:100:0
B-110	57	30.49±0.5	30.02±0.4	30.4±0.2	31.05±0.4		10		0:100:0
	59.45	30.16±0.2	30.2±0.5	30.05±0.2	30.2±0.4	3	98	4	3:93:4

Continuación.  
ANEXO 4

PERIODO DE INCUBACIÓN, TEMPERATURAS PROMEDIO Y PROPORCIÓN  
SEXUAL DE LAS NIDADAS ESTUDIADAS  
DURANTE LA TEMPORADA 1992-1993.

TEMPERATURA PROMEDIO DURANTE  
EL PERIODO DE INCUBACIÓN

# de Nido	Periodo de Incubación	Temperatura Promedio	Tem.prom 1 <sup>er</sup> tercio	Tem.prom 2 <sup>do</sup> tercio	Tem.prom 3 <sup>er</sup> tercio	Machos	Hembras	Ovotestis	Prop. Sexual
	Cajas Cámara								
C-38	71	26.5±1.3	27.9±0.8	25.7±1.1	25.9±0.5	9	1		90:10:0
C-50	84	26.1±1.1	26.9±1.4	25.7±0.6	25.8±0.6	10			100:0:0
C-53	85	26±0.9	26.4±1.2	25.7±0.6	26±0.7	10			100:0:0
C-56	82	26±0.9	26.3±1.2	25.7±0.6	25.9±0.7	10			100:0:0
C-64	87	26.2±1.2	25.8±1.1	25.7±0.7	27.1±1.3	10			100:0:0
C-68	84	26.2±1.2	25.4±0.6	25.8±0.6	27.4±1.2	10			100:0:0
C-71	87	26.3±1.2	25.5±0.7	25.8±0.6	27.6±1.1	10			100:0:0
C-77	83	26.4±1.2	25.9±0.5	26±0.8	27.5±1.3	8	1		90:10:0
C-84	87	26.6±1.2	25.7±0.7	27.1±1.3	26.9±1	10			100:0:0
C-87	85	26.7±1.2	25.8±0.6	27.4±1.2	26.8±1.2	10			100:0:0
C-98	87	26.8±1.5	26.2±1	27.3±1.3	26.8±1.8	10			100:0:0
	83.82	26.3±0.3	26.2±0.7	26.2±0.7	26.7±0.7	107	2	0	98:2:0
	Cajas Tienda								
C-95	90	27.5±1.6	26±0.7	27.5±1.1	28.9±1.4	6	2	2	60:20:20
C-104	81	27.9±1.6	26.9±1.2	27.4±0.9	29.4±1.5		7	1	0:90:10
C-111	79	28.3±1.8	27.4±1.3	27.3±0.8	30.1±1.5	5		5	50:0:50
C-115	72	28.7±1.8	27.8±1.1	27.8±1.1	30.6±1.6		7	3	0:70:30
	80.5	28.1±0.3	27±0.8	27.5±0.2	29.8±0.7	11	16	11	29:42:29