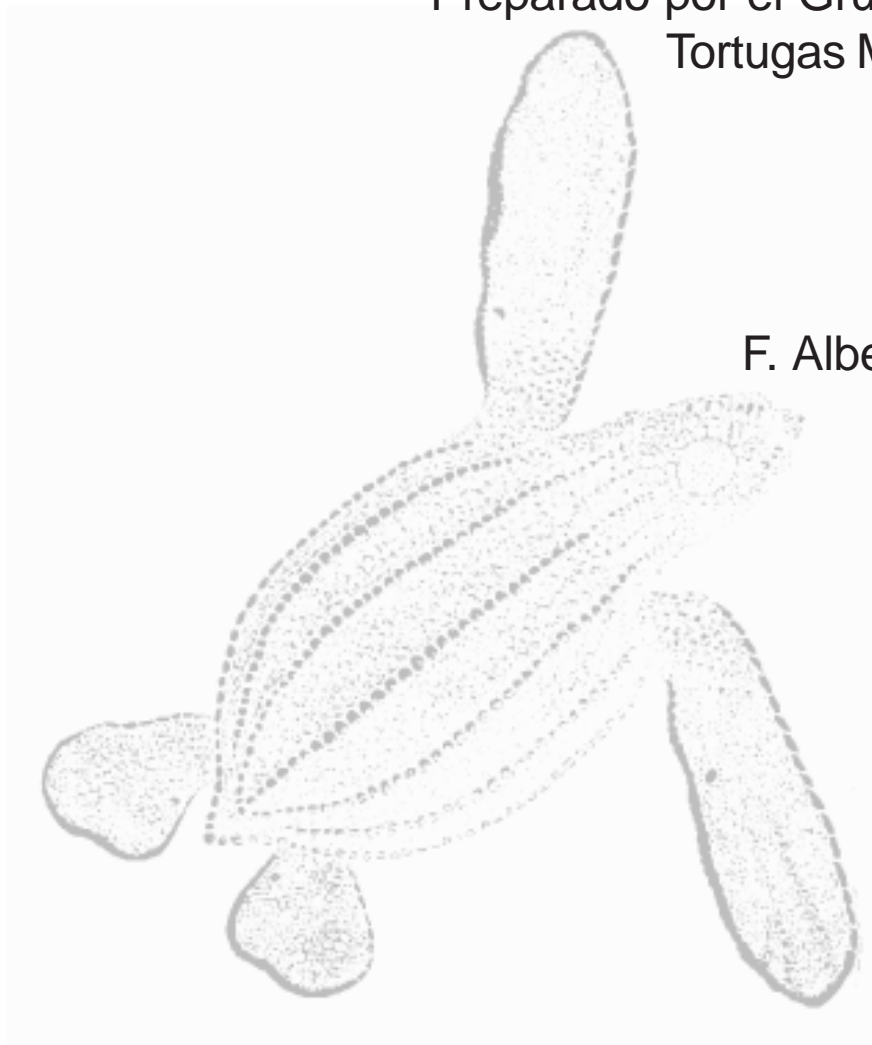


Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas

Preparado por el Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/CSE

Editado por
Karen L. Eckert
Karen A. Bjorndal
F. Alberto Abreu-Grobois
M. Donnelly

Traducido al español por
Raquel Briseño-Dueñas
F. Alberto Abreu-Grobois
con la colaboración de
Laura Sarti Martínez
Ana Barragán Rocha
Juan Carlos Cantú
Ma. del Carmen Jiménez
Jaime Peña



WWF



CMS



SSC



NOAA



MTSG



CMC

El desarrollo y publicación de *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas* fué posible gracias al apoyo generoso de Center for Marine Conservation, Convention on Migratory Species, U.S. National Marine Fisheries Service y el Worldwide Fund for Nature.

©2000 SSC/IUCN Marine Turtle Specialist Group

La reproducción de esta publicación para fines educativos u otros propósitos no comerciales está autorizado sin permiso por el titular del derecho de autor, mientras que la fuente sea citada y que el titular reciba una copia del material reproducido.

La reproducción para fines comerciales está prohibida sin previa autorización del titular del derecho de autor.

ISBN 2-8317-0580-0

Impreso por Consolidated Graphic Communications, Blanchard, Pennsylvania USA

Material artístico para la cubierta, por Tom McFarland- Cría de tortuga laúd, *Dermochelys coriacea*

La cita correcta para esta publicación es la siguiente: Eckert, K. L., K. A. Bjorndal, F. A. Abreu-Grobois y M. Donnelly (Editores). 2000 (Traducción al español). *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas*. Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/CSE Publicación No. 4.

Para adquirir copias de esta publicación, por favor solicitarlas a:

Marydele Donnelly, MTSG Program Officer
IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group
1725 De Sales Street NW #600
Washington, DC 20036 USA
Tel: +1 (202) 857-1684
Fax: +1 (202) 872-0619
email: mdonnelly@dccmc.org

Presentación

En 1995 el Grupo Especialista en Tortugas Marinas (MTSG por sus siglas en inglés) publicó una *Estrategia Mundial para la Conservación de Tortugas Marinas*. En ella, se definen lineamientos sobre los cuales se deben encauzar los esfuerzos para recuperar y conservar a poblaciones de tortugas marinas reducidas drásticamente o en proceso de declinación, en todo el ámbito de su distribución global. Como elementos singulares en la estructura funcional de ecosistemas complejos, las tortugas marinas sostienen una relación importante con hábitats costeros y oceánicos. Por ejemplo, contribuyen a la salud y el mantenimiento de los arrecifes coralinos, praderas de pastos marinos, estuarios y playas arenosas. La *Estrategia* respalda programas integrales orientados a prevenir la extinción de las especies y promueve la recuperación y el sostenimiento de poblaciones saludables de tortugas marinas que realizan eficientemente sus funciones ecológicas.

Las tortugas marinas y los humanos han estado vinculados desde los tiempos en que el hombre se estableció en las costas e inició sus recorridos por los océanos. Por innumerables generaciones, las comunidades costeras han dependido de las tortugas marinas y sus huevos para la obtención de proteínas y otros productos. En muchas regiones, esta práctica aún continúa. Sin embargo, durante el transcurso del siglo XX, el incremento en la comercialización intensiva de los productos de tortuga marina ha diezmando muchas poblaciones. Debido al complejo ciclo de vida de las tortugas marinas -en este proceso los individuos migran entre varios hábitats que pueden incluir la travesía de toda una cuenca oceánica- para su conservación, se requiere de una planeación del manejo con un enfoque de cooperación internacional, que reconozca la interconexión entre hábitats, de poblaciones de tortugas marinas y de poblaciones humanas, en tanto que se aplique el mejor conocimiento científico disponible.

A la fecha, nuestro éxito para llevar a cabo cualquiera de ambas tareas ha sido mínimo. Las especies de tortugas marinas están catalogadas como “En peligro crítico”, “En peligro” o “Vulnerable” por la Unión Mundial para la Naturaleza (UICN). La mayoría de las poblaciones han disminuido inexorablemente como secuela de las prácticas de extracción no sustentables para el aprovechamiento de su carne, concha, aceite, pieles y huevos. Decenas de miles

de tortugas mueren cada año al ser capturadas accidentalmente en artes de pesca activas o abandonadas. Asimismo, muchas áreas de anidación y alimentación han quedado inhabilitadas o presentan un franco deterioro, por los derrames de petróleo, acumulación de desechos químicos, plásticos no-degradables y otros desechos antropogénicos; aunado a los desarrollos costeros de alto impacto y, al incremento del turismo y la diversificación de estas actividades tanto en la zona costera como en la oceánica.

Para reforzar la supervivencia de las tortugas marinas, es indispensable que en todos los países localizados en las áreas de distribución de estas especies, el personal que realice los trabajos de conservación en el campo, recurra a lineamientos estandarizados y a criterios apropiados. Las técnicas de conservación y manejo estandarizadas promueven la recopilación de datos comparables y hacen posible el compartir los resultados entre los países y regiones.

En tanto que este manual tiene el propósito de cubrir la necesidad de lineamientos y criterios normalizados, reconoce a la vez, que un sector creciente de interesados en el trabajo de campo y tomadores de decisiones requieren orientación sobre las siguientes interrogantes: ¿cuándo y por qué seleccionar una opción de manejo entre las disponibles? y ¿cómo instrumentar efectivamente la opción seleccionada y evaluar los logros obtenidos?

El Grupo Especialista en Tortugas Marinas de la UICN considera que un manejo apropiado no puede realizarse sin el soporte de una investigación de alta calidad enfocada, en la medida de lo posible, hacia temáticas críticas para la conservación. Nuestra intención es que este manual sea de provecho a los interesados en la protección y manejo de las tortugas marinas de todo el mundo. Reconociendo que los programas con mayores logros, combinan las técnicas de censo tradicionales con el manejo de bases de datos electrónicas y el análisis genético con telemetría satelital; tecnologías que apenas podrían ser vislumbradas por los conservacionistas de la generación anterior, dedicamos este manual a los conductores del manejo y conservación de los recursos naturales del siglo XXI, quienes enfrentarán los cada vez más complejos retos de una administración apropiada. Esperamos que encuentren en este manual un entrenamiento y asesoría útiles.

Karen L. Eckert
Karen A. Bjorndal
F. Alberto Abreu Grobois
Marydele Donnelly
Editores

Agradecimientos

Congruente con el espíritu y estructura del Grupo Especialista en Tortugas Marinas de la Unión Mundial para la Naturaleza (MTSG/IUCN, por sus siglas en inglés), este manual es el resultado de los esfuerzos de colaboración de científicos y tomadores de decisiones situados alrededor del mundo. Los Editores estamos profundamente agradecidos por el apoyo y estímulo brindado por nuestros colegas así como por su buena disposición en compartir datos, experiencias y sabiduría. Tenemos una especial deuda con los autores y coautores - más de 60- que hicieron posible este manual, y con todos aquellos especialistas que participaron en el proceso de revisión crítica.

Las siguientes personas, con su revisión experta, contribuyeron sustancialmente a la obtención de la calidad final del manual: Ana Barragán (Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México); Anna Bass (University of Florida, USA); Miriam Benabib (Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México); Alan Bolten (University of Florida, USA); Annette Broderick (University of Wales Swansea, UK); Deborah Crouse (Fish and Wildlife Service, USA); Andreas Demetropoulos (Ministry of Agriculture and Natural Resources, Cyprus); Peter Dutton (National Marine Fisheries Service, USA); Scott Eckert (Hubbs-Sea World Research Institute, USA); Nat Frazer (University of Florida, USA); Jack Frazier (CINVESTAV, México); Marc Girondot (Université Paris 7-Denis Diderot, France); Brendan Godley (University of Wales Swansea, U.K.); Hedelvy Guada (WIDECAS, Venezuela); Julia Horrocks (University of the West Indies, Barbados); George Hughes (KwaZulu-Natal Nature Conservation Service, South Africa); Naoki Kamezaki (Sea Turtle Association of Japan); Rhema Kerr (Hope Zoological Gardens, Jamaica); Jeffrey Miller (Queensland Department of Environment and Heritage, Australia); Jeanne Mortimer (Conservation and National Parks, Republic of the Seychelles); Wallace J. Nichols (University of Arizona, USA); Joel Palma (World Wildlife

Fund-Philippines); Claude Pieau (Institut Jacques Monod, Paris, France); Henk Reichart (STINASU, Suriname); Rodney Salm (IUCN, Eastern Africa Regional Office); Laura Sarti M. (Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México); Barbara Schroeder (National Marine Fisheries Service, USA); Jeffrey Sybesma (Faculty of Law, University of the Netherlands Antilles); Robert van Dam (Institute for Systematics and Population Biology, The Netherlands); Alessandra Vanzella-Khoury (United Nations Environment Programme, Jamaica); and Jeanette Wyneken (Florida Atlantic University, USA).

También, hacemos extensivo nuestro profundo agradecimiento a Tom McFarland («Tom's Turtles») por su contribución artística. Su esmero por la precisión garantiza a los lectores de este manual un acceso a ilustraciones claras y exactas. Sus preciosos dibujos mejoran también la perspectiva de supervivencia de las tortugas marinas de una manera real, ya que una acción efectiva de conservación depende de datos verídicos, incluyendo una correcta identificación de las especies.

El manual no podría haberse realizado sin el apoyo financiero del Centro para la Conservación Marina (CMC), la Convención para Especies Migratorias (CMS), el Fondo Mundial para la Naturaleza (WWF), el Servicio Nacional de Pesquerías Marinas de EUA (NMFS) y la Unidad de Investigación Cooperativa de Pesquería y Vida Silvestre de Florida (USGS, Department of the Interior, Research Work Order 172).

Deborah White Smith diseñó el estilo del manual y transformó docenas de capítulos individuales a un formato coherente. La traducción al español estuvo a cargo de Raquel Briseño Dueñas y F. Alberto Abreu-Grobois, con la participación de Ana Barragán, Juan Carlos Cantú, María del Carmen Jiménez Quiroz, Jaime Peña y Laura Sarti.

En suma, el proyecto resultó beneficiado con los talentos de más de 100 personas de todo el mundo.

¡A todos, nuestro más sincero agradecimiento!

Karen L. Eckert
Karen A. Bjorndal
F. Alberto Abreu Grobois
Marydele Donnelly
Editores

Tabla de Contenido

1. Generalidades

Introducción a la Evolución, Historias de Vida y Biología de las Tortugas Marinas	3
<i>A. B. Meylan y P. A. Meylan</i>	
Diseño de un Programa de Conservación	6
<i>K. L. Eckert</i>	
Prioridades para los Estudios sobre la Biología de la Reproducción y de la Anidación	9
<i>J. I. Richardson</i>	
Prioridades para la Investigación en Hábitats de Alimentación	13
<i>K. A. Bjorndal</i>	
Conservación Basada en la Comunidad	16
<i>J. G. Frazier</i>	

2. Taxonomía e Identificación de Especies

Taxonomía, Morfología Externa e Identificación de las Especies	23
<i>P. C. H. Pritchard y J.A. Mortimer</i>	

3. Evaluación de Poblaciones y de Hábitats

Estudios de Hábitat	45
<i>C. E. Diez y J. A. Ottenwalder</i>	
Prospecciones Poblacionales (Terrestres y Aéreas) en Playas de Anidación	51
<i>B. Schroeder y S. Murphy</i>	
Estudios de Poblaciones en Playas de Arribadas	64
<i>R. A. Valverde y C. E. Gates</i>	
Estudios en Hábitats de Alimentación: Captura y Manejo de Tortugas	70
<i>L. M. Ehrhart y L. H. Ogren</i>	
Estudios Aéreos en Hábitats de Alimentación	75
<i>T. A. Henwood y S. P. Epperly</i>	
Estimación del Tamaño de la Población	78
<i>T. Gerrodette y B. L. Taylor</i>	
Identificación de Poblaciones	83
<i>N. FitzSimmons, C. Moritz y B. W. Bowen</i>	

4. Metodologías y Procedimientos para la Colecta de Datos

Definición del Inicio: La Importancia del Diseño Experimental	95
<i>J. D. Congdon y A. E. Dunham</i>	
Sistemas de Adquisición de Datos para el Seguimiento del Comportamiento y la Fisiología de las Tortugas Marinas	101
<i>S. A. Eckert</i>	
Bases de Datos	108
<i>R. Briseño-Dueñas y F. A. Abreu-Grobois</i>	
Factores a Considerar en el Mercado de Tortugas Marinas	116
<i>G. H. Balazs</i>	
Técnicas para la Medición de Tortugas Marinas	126
<i>A. B. Bolten</i>	
Periodicidad en la Anidación y el Comportamiento entre Anidaciones	132
<i>J. Alvarado y T. M. Murphy</i>	
Ciclos Reproductivos y Endocrinología	137
<i>D. Wm. Owens</i>	
Determinación del Tamaño de la Nidada y el Éxito de la Eclosión	143
<i>J. D. Miller</i>	
Determinación del Sexo en Crías	150
<i>H. Merchant Larios</i>	
Estimación de la Proporción Sexual en Playas de Anidación	156
<i>M. Godfrey y N. Mrosovsky</i>	
Determinación del Sexo de Tortugas Marinas en Hábitats de Alimentación	160
<i>T. Wibbels</i>	
Muestreo y Análisis de los Componentes de la Dieta	165
<i>G. A. Forbes</i>	
Medición del Crecimiento en Tortugas Marinas	171
<i>R. P. van Dam</i>	
Redes de Recuperación y Monitoreo de Tortugas Varadas	174
<i>D. J. Shaver and W. G. Teas</i>	
Entrevistas y Encuestas en Mercados	178
<i>C. Tambiah</i>	

5. Reducción de Amenazas

Reducción de las Amenazas a las Tortugas	187
<i>M. A. G. Marcovaldi y C. A. Thomé</i>	
Reducción de las Amenazas a los Huevos y las Crías: Protección <i>In Situ</i>	192
<i>R. H. Boulon, Jr.</i>	

Reducción de las Amenazas a los Huevos y a las Crías: Los Viveros	199
<i>J. A. Mortimer</i>	
Reducción de las Amenazas al Hábitat de Anidación	204
<i>B. E. Witherington</i>	
Reducción de las Amenazas a los Hábitats de Alimentación	211
<i>J. Gibson y G. Smith</i>	
Reducción de la Captura Incidental en Pesquerías	217
<i>C. A. Oravetz</i>	
6. Crianza, Cuidado Veterinario y Necropsia	
La Crianza y Reproducción en Cautiverio de Tortugas Marinas: Una Evaluación de su Uso como Estrategia de Conservación	225
<i>J. P. Ross</i>	
Rehabilitación de Tortugas Marinas	232
<i>M. Walsh</i>	
Enfermedades Infecciosas en Tortugas Marinas	239
<i>L. H. Herbst</i>	
Toma de Muestras de Tejidos y Técnicas para la Necropsia	246
<i>E. R. Jacobson</i>	
7. Legislación e Instrumentación	
Grupos de Interés de las Bases y Legislación Nacional	252
<i>H. A. Reichart</i>	
Colaboración Regional	256
<i>R. B. Trono y R. V. Salm</i>	
Tratados Internacionales de Conservación	260
<i>D. Hykle</i>	
Aspectos Forenses	265
<i>A. A. Colbert, C. M. Woodley, G. T. Seaborn, M. K. Moore and S. B. Galloway</i>	

Determinación del Sexo de Tortugas Marinas en Hábitats de Alimentación

Thane Wibbels

Department of Biology, University of Alabama, 1300 University Boulevard, Birmingham, Alabama 35294-1170 USA; Tel: +1 (205) 934-4419; Fax: +1 (205) 975-6097; email: twibbels@uab.edu

Determinar el sexo de las tortugas en áreas de alimentación es de interés para los biólogos y conservacionistas por una variedad de razones. El hecho de que la determinación del sexo en las tortugas marinas sea fuertemente influenciada por la temperatura a la cual los huevos son incubados (determinación del sexo dependiente de la temperatura o SDT) (ver Merchant, este volumen) crea numerosas preguntas, las cuales son de trascendencia ecológica, evolutiva y/o de conservación. Por ejemplo: ¿Cuáles son las proporciones naturales del sexo en las poblaciones de tortugas marinas?, ¿Varían las proporciones sexuales dentro y entre poblaciones?, ¿Qué efecto tienen las proporciones sexuales en el éxito reproductivo de una población?, ¿Existen ciertas proporciones de sexo óptimas para la supervivencia de una población? Este tipo de preguntas son de particular interés para los conservacionistas, puesto que la información de esta clase es esencial para entender la dinámica reproductiva de la población y de este modo generar estrategias de manejo adecuadas para poblaciones en peligro. Las proporciones sexuales naturales producidas por SDT pueden variar enormemente (revisado por Wibbels *et al.*, 1991, 1993; Mrosovsky, 1994). De este modo, las preguntas de arriba no pueden ser contestadas fácilmente, y puede requerirse una extensa base de datos acerca de la proporción de sexos para producir respuestas confiables.

El concepto de examinar las proporciones sexuales en las poblaciones de tortugas marinas parece ser sencillo. Sin embargo, para completar dichos estudios con éxito, uno debe tomar varias decisiones con respecto al diseño experimental, y luego superar un número de dificultades logísticas presentadas por la

biología y la historia de vida de las tortugas marinas. Primero, uno debe decidir qué porción de la población va a examinar (embriones, crías, jóvenes, adultos). Pueden presentarse diferencias de supervivencia relativas al sexo en las tortugas marinas, y de este modo las proporciones sexuales pueden variar entre varias clases de edades dentro de la población. Por ejemplo, las crías que emergen en un periodo temprano de la temporada de anidación pueden experimentar diferentes condiciones de agua y disposición de alimento en comparación con las crías que salen en un periodo tardío, y las proporciones de sexo en las crías pueden cambiar significativamente durante la temporada de anidación (Mrosovsky *et al.*, 1984). Por lo tanto, estudios óptimos de la proporción sexual deben de incluir las variadas clases de edad existentes dentro de una población. Este capítulo revisa métodos no letales para la identificación del sexo en las tortugas marinas de áreas de alimentación (p. ej., tortugas jóvenes y adultas) y el análisis de los datos de proporción sexual.

Identificación del Sexo de Tortugas Marinas Adultas

Una de las necesidades fundamentales en los estudios de la proporción de sexo en las tortugas marinas es un medio válido de identificación del sexo de tortugas individuales. Esto normalmente no es un problema con las tortugas marinas adultas ya que los machos desarrollan características sexuales secundarias (p. ej., el largo de la cola, la morfología del caparazón, morfología de las uñas en las aletas frontales) durante la pubertad. La característica sexual secundaria más obvia es la larga y musculosa cola prensil que se extiende fuera del caparazón en ma-

chos adultos (Figura 1). Aunque las longitudes reales de la cola varían con las especies y posiblemente poblaciones, la cola de las tortugas marinas hembras es corta y a lo más se extiende sólo un poco más allá de los escudos marginales. Sin embargo, uno deberá de ser cuidadoso cuando se usa la longitud de la cola para indicar el sexo de la tortuga marina que está cerca del tamaño adulto mínimo para una población dada; algunos juveniles grandes o machos en estado de pubertad no han desarrollado todavía colas largas y por lo tanto pueden ser confundidos con hembras adultas pequeñas (Limpus, 1985; Limpus y Reed, 1985).

Técnicas de Sexado para Tortugas Juveniles

En contraste a los adultos, sexar tortugas juveniles y crías representa un significativo obstáculo logístico. La longitud de la cola no es una técnica precisa de sexado para tortugas marinas inmaduras (Limpus, 1985; Wibbels, 1988). Sin embargo, el largo de la cola puede ser indicativo del sexo en algunos machos a medida que están cerca de la madurez sexual (Limpus, 1985).

Se ha propuesto y/o desarrollado una variedad de métodos no letales para determinar el sexo en tortugas marinas juveniles. El método más definitivo es la observación directa de las gónadas por una examinación laparoscópica. Además, varias técnicas han sido demostradas como aptas para una identificación fisiológica o molecular del sexo. Estas incluyen cariología (Bickham *et al.*, 1980), prueba de antígenos H-Y en las células sanguíneas (Wellins, 1987), prueba de hibridación en ADN con la sonda Bkm (ADN repetitivo asociado a los cromosomas del sexo; Demas *et al.*, 1980) y análisis de los niveles de testosterona en sangre (Owens *et al.*, 1987; Wibbels *et al.*, 1987; Wibbels, 1988). Los cariotipos deben aún revelar diferencias específicas del sexo, mientras que la prueba de antígenos H-Y en las células sanguíneas y la hibridación con ADN Bkm han sido propuestas como técnicas potenciales de sexado pero no han sido suficientemente validadas. Además, la logística y los costos de estos tres métodos pueden impedir su uso extendido para la examinación de

grandes números de tortugas; por lo tanto, no serán tratados en detalle en este capítulo. La laparoscopia y el radioinmunoensayo (RIE) de la testosterona son métodos también caracterizados por dificultades logísticas y equipo caro, pero han probado ser prácticos para sexar con éxito grandes números de tortugas juveniles. Para que una técnica de sexado sea útil debe ser precisa, práctica logísticamente, y de costo efectivo.

Laparoscopia

La examinación laparoscópica ha mostrado ser un método efectivo de sexado de tortugas marinas juveniles (Wood *et al.*, 1983; Limpus y Reed, 1985; Limpus, 1985) ya que las gónadas pueden ser vistas directamente a través del laparoscopio (Figura 2). Una descripción detallada de gónadas inmaduras y maduras se encuentra en Limpus y Reed (1985) y Wibbels (1988), y varias fotografías de gónadas inmaduras son mostradas por Rainey (1981). Una descripción detallada de los procedimientos laparoscópicos es proporcionada por Wood *et al.* (1983). Owens (este volumen) proporciona una revisión técnica. La principal desventaja es que el procedimiento es invasivo y potencialmente peligroso para la tortuga. Por otra parte, es logísticamente difícil y no debe ser intentado sin un apropiado entrenamiento veterinario. A pesar de los inconvenientes, la laparoscopia ha sido usada exitosamente por un número de investigadores y ha sido usada para sexar cientos de tortugas marinas (C. Limpus, com. pers.). Además, el uso de la laparoscopia es actualmente una necesidad para evaluar la



Figura 1. Macho de tortuga verde adulta exhibiendo cola muscular, que se extiende más allá del margen del carapacho.

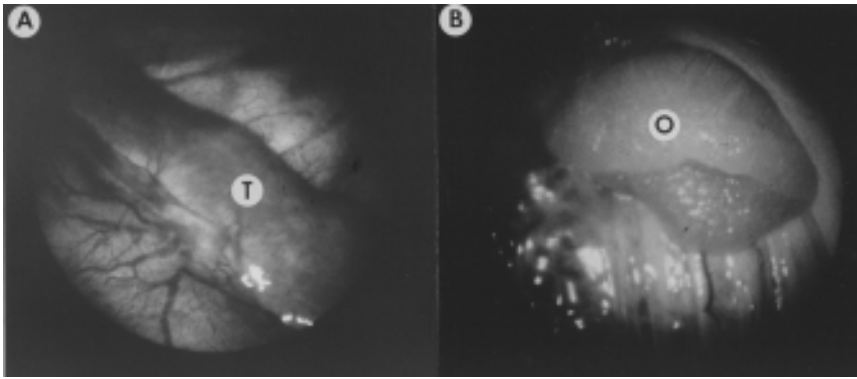


Figura 2. La apariencia de un testis y un ovario inmaduro a través de un laparoscopia. 2A) El testis inmaduro (T) se muestra en la diagonal de la fotografía. 2B) Se muestra un ovario inmaduro (O).

efectividad de otras técnicas no letales de sexado para tortugas marinas juveniles.

Ensayo Radioinmunológico de Testosterona (RIE)

El nivel de testosterona en suero puede ser usado como un indicador preciso del sexo de una tortuga marina juvenil (Owens *et al.*, 1978; Morris, 1982; Wibbels *et al.*, 1987; Wibbels, 1988). Por ejemplo, en un estudio de tortugas marinas en Heron Atoll, se examinó la testosterona en suero sanguíneo en juveniles de tortuga verde (n=197), caguama (n=61) y Carey (n=25) en las cuales el sexo fue verificado por medio de laparoscopia (Wibbels, 1988). En las tres especies, los machos presentaron niveles más altos de testosterona que las hembras. En todas las tortugas Carey y caguama, así como el 98 % de las tortugas verdes, los niveles de testosterona fueron un indicador preciso del sexo (los intervalos del nivel de testosterona de machos y hembras no se superpusieron). Un estudio de caguamas juveniles capturadas en el canal de Cabo Cañaveral (Florida, EUA) proporcionó resultados similares, sin superposición de los intervalos del nivel de testosterona en machos y hembras (Wibbels *et al.*, 1987).

Más recientemente, se han usado los niveles de testosterona en estudios para sexar un número relativamente grande de tortugas verdes y caguamas juveniles, capturadas en el mar (Wibbels *et al.*, 1991, 1993; Bolten *et al.*, 1992). El límite de tamaño mínimo para que las tortugas marinas puedan ser sexadas por RIE de testosterona no ha sido bien documentado. Sin embargo, un estudio no publicado (A. Meylan, com. pers.) sugiere que puede ser usado para sexar tortugas verdes de un largo recto de caparazón tan pequeño como 25 cm aproximadamente.

Existen numerosas ventajas en el uso de los RIE de testosterona para sexar tortugas marinas. El RIE es realizado en el laboratorio, de manera que el componente de campo se limita a la captura y muestreo de sangre de las tortugas. La testosterona es una hormona bastante estable, así que las muestras de suero de tortugas pueden ser almacenadas por periodos prolongados de tiempo (al menos varios años) a -20° C o menos, con poca o ninguna degradación.

Un solo RIE de testosterona puede incluir fácilmente de 50 a 100 muestras o más, de modo que se provee un medio práctico y de costo efectivo para el sexado de números relativamente grandes de tortugas marinas.

Existen también limitaciones en el uso del RIE para sexar tortugas marinas. Primero, como con cualquier técnica de sexado para tortugas marinas, un RIE deberá ser adecuadamente validado. Por ejemplo, resultados de los RIE pueden variar dentro y entre laboratorios. Adicionalmente, los niveles de testosterona pueden variar ligeramente entre especies de tortugas marinas, y posiblemente entre poblaciones (Wibbels, 1988). Por lo tanto, cuando sea posible, un RIE particular deberá ser validado usando muestras de suero de tortugas de sexo conocido (p. ej., sexo verificado laparoscópicamente) de la especie y/o población a ser analizada. En esos análisis, se deberán examinar varias clases de tamaño de tortugas para validar el intervalo de tallas de tortugas que pueden

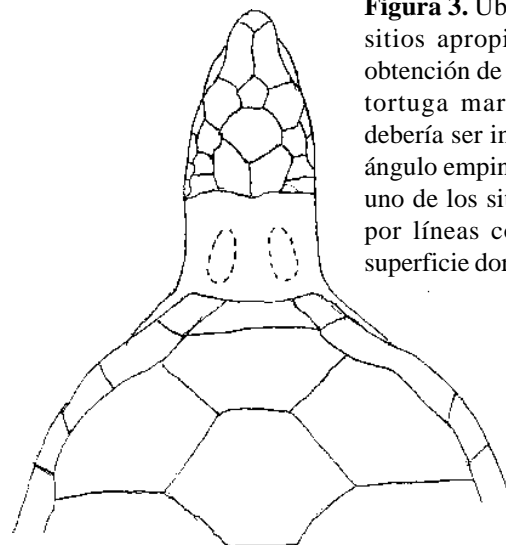


Figura 3. Ubicación de los sitios apropiados para la obtención de sangre de una tortuga marina. La guja debería ser insertada en un ángulo empinado dentro de uno de los sitios indicados por líneas cortadas en la superficie dorsal del cuello.

ser sexadas con precisión. Segundo, los resultados descritos arriba para tortugas verdes (Wibbels, 1988) muestran que en algunas poblaciones los niveles de testosterona de un pequeño porcentaje de machos y hembras pueden superponerse. Esto de nuevo muestra la necesidad para una validación acertada del RIE. Deberán ser determinados los intervalos de sólo hembras y de sólo machos. Solamente las tortugas que caigan dentro de esos intervalos pueden ser sexadas con precisión como machos o hembras. Finalmente, una vez validado, el RIE deberá incluir controles entre ensayos para verificar la veracidad del ensayo con el tiempo.

Muestreo de Sangre

Se pueden obtener muestras de sangre para análisis de RIE (o para otras técnicas de determinación de sexo) de vasos sanguíneos localizados paralelamente a la columna vertebral en la porción dorsal del cuello de las tortugas marinas (Owens y Ruiz, 1980). La tortuga puede ser colocada en una posición inclinada con la cabeza abajo para resultados óptimos, pero en muchos casos las muestras de sangre pueden ser fácilmente obtenidas de tortugas que están en posición horizontal. El largo y tamaño óptimo de la aguja requerida para el muestreo sanguíneo puede variar dependiendo del tamaño de la tortuga y la especie, pero una aguja de 3.8 cm calibre 21 funciona bien para la mayoría de las tortugas juveniles. Para obtener una muestra, la aguja es conectada a un tubo de vacío (Vacutainer, p. ej.) o a una jeringa y después se inserta en el cuello en un ángulo pronunciado, en el sitio aproximado mostrado en la Figura 3. La sangre deberá ser colectada en vacutainers estériles si el suero va a ser usado en el ensayo o en tubos estériles tratados (p. ej., tubos con heparina o citrato de sodio) si el plasma va a ser usado en el ensayo. Se deberá obtener un mínimo de varios mililitros de sangre, para contar con suficiente suero para correr las muestras por duplicado. Los tubos de muestra deben ser colocados en hielo hasta que puedan ser centrifugados. El suero o plasma es separado de las células sanguíneas por centrifugación y luego transferidos a un contenedor separado para su congelación.

Análisis de los Resultados de la Proporción Sexual

Una vez que los datos de proporción de sexo han sido colectados de las áreas de alimentación, deberán de elegirse métodos apropiados para su análisis. Para

poder realizar análisis significativos, se deberán formular preguntas específicas relacionadas con los datos de proporción de sexo. Por ejemplo, podría ser de utilidad examinar si una proporción sexual difiere de una proporción 1:1, o si las proporciones de sexo de diferentes áreas de alimentación varían. Asimismo, además de examinar datos agrupados de una población, podría ser ventajoso subdividir los datos con base en factores tales como las clases de talla de las tortugas, época del año cuando fue realizado el muestreo y la localidad de muestreo.

Ya que se han generado preguntas específicas, se pueden realizar análisis estadísticos apropiados. El sexo de una tortuga marina representa una variable cualitativa más que cuantitativa, y la proporción de sexo es una variable derivada. Por lo tanto, cuando se examina una sola proporción de sexo de una población, muchas de las pruebas estadísticas conocidas y sus parámetros descriptivos (p. ej., media, variación, intervalos de confianza) no aplican (Siegel, 1956; Sokal y Rohlf, 1969; Zolman, 1993). Sin embargo, hay pruebas estadísticas que son apropiadas para datos de proporción de sexo. Para comparar las frecuencias observadas de machos y hembras en una población con valores pronosticados (1:1 p. ej.), la prueba de bondad de ajuste de χ^2 es apropiada cuando se trabaja con tamaños de muestras de moderado a grande (todas las frecuencias de celdas esperadas deben ser 5 o mayores). Adicionalmente, la prueba exacta de Fisher puede usarse para estos análisis y deberá ser usada en lugar de la prueba χ^2 cuando se trabaja con tamaños pequeños de muestra (Siegel, 1956; Sokal y Rohlf, 1969; Zolman, 1993). Estas pruebas de bondad de ajuste permiten a los investigadores examinar si la proporción de sexo observada en una población dada difiere significativamente de una proporción 1:1. Estas pruebas pueden también ser usadas para comparar datos de proporción de sexos. Por ejemplo, puede ser útil comparar datos de proporción de sexo colectados en diferentes épocas del año de un área de alimentación en particular, para comparar las proporciones sexuales de diferentes áreas de alimentación, o para comparar proporciones de sexo de diferentes clases de talla de tortugas marinas dentro de una población. Tales análisis pueden ser también verificados con pruebas de bondad de ajuste replicadas (Sokal y Rohlf, 1969). Estas pruebas generan estadísticos "G", los cuales indicarán si las proporciones sexuales son homogéneas y si las

frecuencias agrupadas de machos y hembras difieren significativamente de los valores pronosticados.

Agradecimientos

La realización de este manuscrito fue posible gracias al fondo por la Administración Nacional Oceánica y Atmosférica (NOAA, por sus siglas en inglés), Departamento de Comercio E.U. bajo Beca #NA56RG0129, a través de la Beca Consorcio Marino Mississippi- Alabama. (M-ASGC, por sus siglas en inglés)

Literatura Citada

- Bickham, J. W., K. A. Bjorndal, M. W. Haiduk y W. E. Rainey. 1980. The karyotype and chromosomal banding patterns of the green turtle (*Chelonia mydas*). *Copeia* 1980:540-543.
- Bolten, A. B., K. A. Bjorndal, J. S. Grumbles y D. W. Owens. 1992. Sex ratio and sex-specific growth rates of immature green turtles, *Chelonia mydas*, in the southern Bahamas. *Copeia* 1992:1098-1103.
- Demas, S., M. Duronslet, S. Wachtel, C. Caillouet, y D. Nakamura. 1990. Sex-specific DNA in reptiles with temperature sex determination. *Journal of Experimental Zoology* 253:319-324.
- Limpus, C. J. 1985. A study of the loggerhead sea turtle, *Caretta caretta*, in eastern Australia. Tesis Doctoral. Univ. Queensland, Brisbane, Australia.
- Limpus, C. J. y P. C. Reed. 1985. The green turtle, *Chelonia mydas*, in Queensland: a preliminary description of the population structure in a coral reef feeding ground, p.47-52. *In*: G. Grigg, R. Shine y H. Ehmann (Editores), *Biology of Australasian Frogs and Reptiles*. Surrey Beatty and Sons, Chipping Norton, Australia.
- Morris, Y. A. 1982. Steroid dynamics in immature sea turtles. Tesis de Maestría, Texas A&M University, College Station, Texas.
- Mrosovsky, N. 1994. Sex ratio of sea turtles. *Journal of Experimental Zoology* 270:16-27.
- Mrosovsky, N., S. R. Hopkins-Murphy y J. I. Richardson. 1984. Sex ratios in sea turtles: seasonal changes. *Science* 225:739-741.
- Owens, D. W., J. R. Hendrickson, V. Lance y I. P. Callard. 1978. A technique for determining sex of immature *Chelonia mydas* using radioimmunoassay. *Herpetologica* 34:270-273.
- Owens, D. W. y G. J. Ruiz. 1980. New method for obtaining blood and cerebrospinal fluid from marine turtles. *Herpetologica* 36:17-20.
- Rainey, W. E. 1981. Guide to sea turtle visceral anatomy. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFC-82. U.S. Department of Commerce.
- Siegel, S. 1956. *Nonparametric Statistics*. McGraw-Hill Book Company, Inc., New York.
- Sokal, R. R. y F. J. Rohlf. 1969. *Biometry*. W. H. Freeman and Company, San Francisco.
- Wellins, D. J. 1987. Use of H-Y antigen assay for sex determination in sea turtles. *Copeia* 1987:46-52.
- Wibbels, T. 1988. Gonadal steroid endocrinology of sea turtle reproduction. Tesis Doctoral, Texas A&M University, College Station, Texas.
- Wibbels, T., G. H. Balazs, D. W. Owens y M. S. Amoss, Jr. 1993. Sex ratio of immature green turtles inhabiting the Hawaiian archipelago. *Journal of Herpetology* 27:327-329.
- Wibbels, T., R. E. Martin, D. W. Owens y M. Amoss, Jr. 1991. Female-biased sex ratio of immature loggerhead sea turtles inhabiting the Atlantic coastal waters of Florida. *Canadian Journal of Zoology* 69:2973-2977.
- Wibbels, T., D. W. Owens, Y. Morris y M. Amoss, Jr. 1987. Sexing techniques and sex ratios for immature loggerhead sea turtles captured along the Atlantic coast of the U.S., p.59-64. *In*: W. N. Witzell (Editor), *Ecology of East Florida Sea Turtles*. NOAA Technical Report NMFS 53. U.S. Dept. Commerce.
- Wood, J. R., F. E. Wood, K. H. Critchley, D. E. Wildt y M. Bush. 1983. Laparoscopy of the green sea turtle. *British Journal of Herpetology* 6:323-327.
- Zolman, J. F. 1993. *Biostatistics*. Oxford University Press, New York.