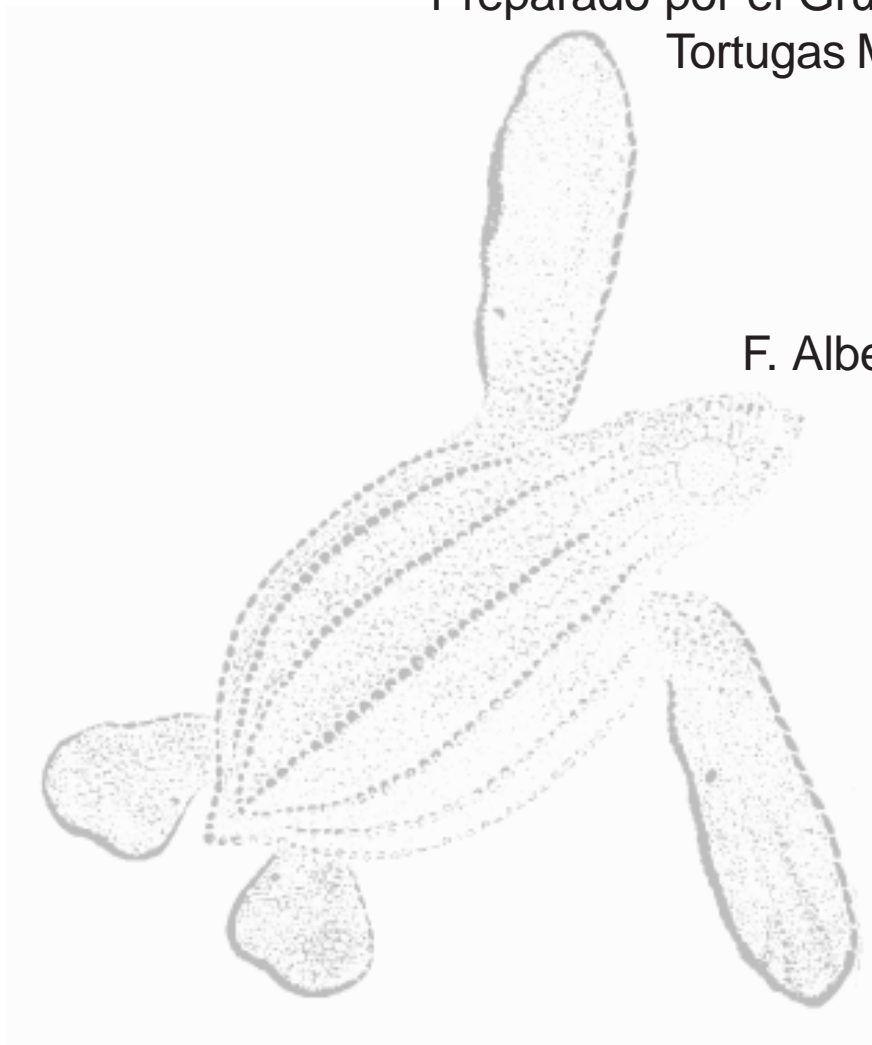


Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas

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 diezariado 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 en Crías

Horacio Merchant Larios

Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), A.P. 70-228, Insurgentes Sur y Circuito Escolar, Ciudad Universitaria 04510 México D.F., México;
Tel: +52 (5) 622-3833; Fax: +52 (5) 622-3897; email: merchant@servidor.unam.mx

Introducción

La diferenciación sexual en mamíferos depende de la transformación de una gónada indiferenciada en un testículo. El gen que controla el inicio de este evento es el SRY y se localiza en el brazo corto del cromosoma Y (Koopman *et al.*, 1990). En el resto de los vertebrados, el SRY se relaciona con los genes de la familia SOX que se encuentra en ambos sexos y son independientes de la presencia de cromosomas sexuales (Tiersh *et al.*, 1991). Aun no se conoce la identidad del gen o genes que controlan la diferenciación sexual en los vertebrados no mamíferos. Sin embargo, como en los mamíferos placentados, la diferenciación sexual morfológica en el embrión parece iniciarse en la gónada del embrión. Es razonable postular que el factor o factores requeridos para la diferenciación sexual actúan principalmente a nivel de este órgano, controlando su transformación en un ovario o en un testículo.

Aunque los mecanismos fisiológicos por los cuales la temperatura y otros factores ambientales influyen en la diferenciación sexual son desconocidos, los vertebrados han sido divididos en dos grupos: (1) Los organismos en los cuales los factores ambientales no tienen influencia en su determinación sexual son clasificados como poseedores de una Determinación Sexual Genotípica (DSG); (2) Los organismos cuya determinación sexual está influenciada por el ambiente, experimentan una Determinación Sexual Ambiental (DSA) (Bull, 1983). En las tortugas marinas, la determinación del sexo por temperatura ha sido encontrada en *Caretta caretta* (Yntema y Mrosovsky, 1980), *Chelonia mydas* (Miller y Limpus, 1981), *Dermochelys coriacea* (Rimblot *et al.*, 1985), *Lepidochelys olivacea* (Morreale *et al.*, 1982), *Lepido-*

chelys kempii (Shaver *et al.*, 1988) y *Eretmochelys imbricata* (Dalrymple *et al.*, 1985).

Identificación del Sexo en Crías

Hay un periodo termosensitivo (PTS) para la determinación sexual durante el desarrollo localizado alrededor del segundo tercio del tiempo total de incubación. El PTS se define como “el lapso de tiempo o el grupo de estadios de desarrollo fuera del cual la manipulación de temperatura no ejerce influencia sobre el fenotipo sexual” (Mrosovsky and Pieau, 1991). Además, en todas las especies de tortugas marinas no hay una característica morfológica externa que pueda ser usada para determinar el sexo de organismos en estado de cría, y solo es posible a través de una disección y la observación directa de las gónadas.

Métodos Invasivos (Disección)

Están disponibles tres procedimientos basados en observaciones morfológicas: (1) observación directa de las gónadas *in situ*; (2) técnica de aclaramiento de las gónadas *in toto*; (3) estudios histológicos de las gónadas.

Los criterios basados en (1) se concentran en los detalles morfológicos gonadales observados inmediatamente después de que las vísceras que las cubrían (p. ej., intestinos, hígado, estómago) son removidas. Las gónadas aparecen como dos bandas claras que se extienden a lo largo de la longitud de los riñones (mesonefros). McCoy *et al.* (1983) intentaron sexar gónadas de *L. olivacea* basados en el hecho de que los ovarios tienden a tener su superficie arrugada y son más grandes que los testículos. Como este criterio es cuestionable, van der Heiden *et al.* (1985) propusieron el método (2) el cual requiere de la

dissección del complejo urogenital (gónadas y riñones) y su fijación en formol al 10%. Posteriormente, la gónada es separada del riñón y sumergida en 100 ml de solución al 4% de formol y 5 ml de glicerol (se pueden agregar algunas gotas de sulfato de cobre para evitar contaminación por hongos). Usando un microscopio de disección, estos autores sexaron crías de *L. olivacea* y *C. mydas*. Además de la morfología externa en su conjunto, en la cual los sexos pueden ser claramente distinguibles cuando el material es procesado mientras permanece fresco (los ovarios tienen una superficie rugosa y son más grandes que los testículos), las gónadas en su interior también muestran claras diferencias. Esto es particularmente cierto en los extremos anterior y posterior (ya que son más estrechas) donde es posible la observación más detallada. De acuerdo con los autores, los testículos son distinguibles por una apariencia granular que posiblemente corresponde con la presencia de túbulos seminíferos.

Pese a la facilidad con la cual los procedimientos previos pueden ser realizados para determinar el sexo en crías, algunos autores han expresado seria preocupación por su validez, proponiendo que un criterio fiable sólo lo provee un estudio histológico de la gónada (Mrosovsky y Benabib, 1990; Mrosovsky y Godfrey, 1995). En este caso, las gónadas necesitan ser fijadas, deshidratadas, incluidas en cera o algún plástico con lo cual se puedan obtener secciones teñidas y observar bajo microscopio. Para este procedimiento, se requiere de un equipo adecuado de laboratorio.

Con la intención de ejemplificar características claves, se presenta a continuación una interpretación detallada de la histología de gónadas de crías de *L. olivacea* (ver Merchant-Larios *et al.*, 1989):

En machos (Figura 1), el epitelio superficial es plano, nomoestratificado y frecuentemente contiene varias células germinales. Los cordones medulares aparecen separados del epitelio superficial aunque algunos permanecen adjuntos a él. Los cordones medulares, rodeados por una membrana basal, se forman

por un tipo de células epiteliales con abundantes gotas de lípidos. Las células germinales son escasas y no hay lumen en los cordones medulares que pueda justificar el nombre de “túbulos seminíferos”; el término correcto debe de ser “cordones seminíferos”. Entre estas formaciones y bordeando el epitelio superficial está una membrana basal y abundante tejido estromático, formado en gran parte por matriz extracelular, células fibroblásticas y vasos sanguíneos. Los ovarios se distinguen por un engrosamiento conspicuo del epitelio superficial (Figura 2). Éste aparece como un epitelio columnar, con una o más células de espesor. Contiene una membrana basal gruesa que separa el epitelio superficial de la región medular de la gónada. Los cordones medulares son vestigiales y aparecen como pequeños grupos de células epiteliales rodeadas de una membrana basal. El tejido estromático es abundante en la región medular.

En nuestra experiencia es posible combinar los procedimientos (2) y (3) secuencialmente, tomando ventajas de los beneficios prácticos del primero y la precisión del segundo. En las gónadas aclaradas, el

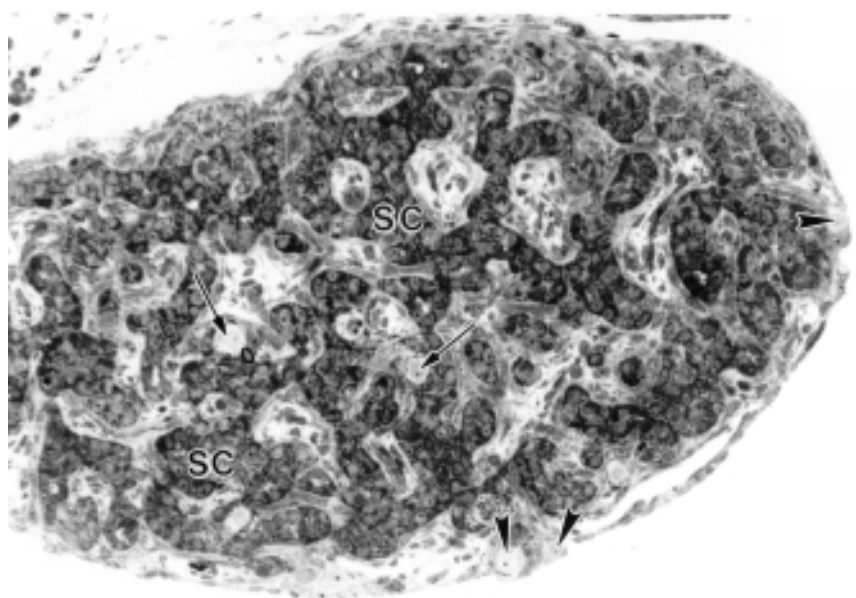


Figura 1. Testículo de *Lepidochelys olivacea* fijado 3 días después de la eclosión. Uno puede apreciar claramente los cordones seminíferos (Cs) formados por células epiteliales con citoplasma denso debido a numerosos gránulos de lípidos. Algunas células germinales están situadas en los cordones (flechas) y otras en el epitelio superficial (cabezas de flecha). Sección semi-delgada (2mm) fijada con paraformaldehido-glutaraldehido (Karnovsky, 1965), post-fijada con OsO4 e incluida en Epon. Magnificación 200X.

sexo puede ser fácilmente identificado pero sólo si están bien diferenciadas y la preservación es satisfactoria. Sin embargo, en los difíciles casos de intersexos (regiones alternadas a lo largo de la gónada con la corteza bien desarrollada y cordones medulares) o gónadas indiferenciadas (cuando tanto los cordones medulares y el epitelio superficial permanecen pobremente desarrollados), las mismas gónadas aclaradas pueden ser deshidratadas en etanol e incluidas en parafina o plástico para un posterior análisis histológico. La preservación es excelente como puede verse en la Figura 3.

Métodos No Invasivos (Radioinmunoanálisis)

Se ha intentado un método no invasivo para el diagnóstico del sexo en organismos recién eclosionados. Gross *et al.* (1995) reportaron la posibilidad de sexar crías de *C. caretta* usando radioinmunoanálisis (RIA) de los fluidos corio-alantoideo y amniótico (FCAs). Ellos encontraron que en machos la proporción de las concentraciones de estradiol (E) respecto a testosterona (T) es significativamente menor que en hembras, permitiéndoles predecir el sexo con precisión aceptable. Los mismos autores encontraron una proporción E:T similar en el plasma de crías de la misma especie. En tortugas golfinas, nosotros hemos realizado RIA del suero pre y post-eclosión de varios metabolitos esteroides incluyendo E y T (Merchant-Larios y Salame-Méndez, observ. no publ.). Desgraciadamente, no se pudieron encontrar diferencias significativas en ninguno de los metabolitos que pudieran permitir una distinción del sexo en esta especie. Es posible que en *C. caretta*, la actividad endocrina de las gónadas sea más avanzada que en *L. olivacea*. Esto se sugiere por la presencia de conductos de Müller en crías de la última especie, mientras que en *C. caretta* éstos han desaparecido casi totalmente (Yntema y Mrosovsky, 1980). Teniendo en mente estas diferencias significativas en el tiempo de desarrollo de ambas especies, se recomienda establecer los patrones hormonales para cada especie bajo estudio y su correlación con el sexo antes de usar el RIA como método para la identificación sexual.

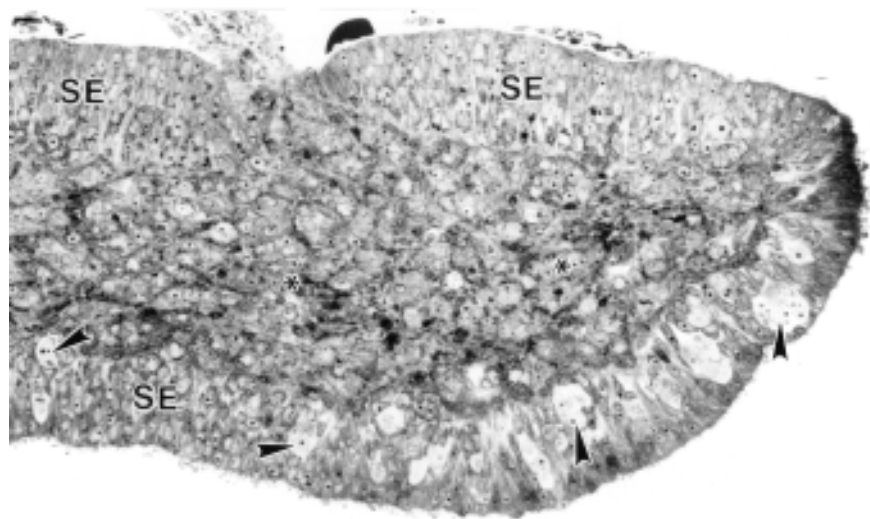


Figura 2. Ovario de *Lepidochelys olivacea* fijado dos días después de la eclosión. El epitelio superficial (ES), formado por un epitelio columnar multiestratificado. Contiene numerosas células germinales (cabezas de flecha). En la región medular, hay remanentes de fragmentos de cordones medulares (*). Muestra procesada como en la Figura 1. 200X

Estimación de la Proporción Sexual en Crías

A fin de hacer una estimación de la proporción de los dos sexos (proporción sexual) presente en una población natural en campo, es conveniente conocer de antemano la temperatura “pivote” o “umbral”. Una vez que ésta es conocida, las temperaturas *in situ* de nidos elegidos de zonas representativas en la playa, pueden ser usadas para extrapolar el intervalo de temperatura global y, a partir de éste, derivar la proporción sexual de la colonia anidadora durante una temporada de anidación en particular.

La temperatura pivote es definida como la temperatura de incubación en la cual la proporción sexual resultante en la nidada es 1:1. Experimentalmente, este valor es obtenido incubando grupos de huevos a varias temperaturas constantes y determinando la proporción resultante de crías hembras y machos. A un intervalo de temperaturas que continúe permitiendo un desarrollo normal (alrededor de 24-34° C), uno puede determinar el intervalo de temperatura masculinizante y feminizante (la cual produce un 100% de machos o hembras, respectivamente) y estimar la temperatura pivote (50% de cada sexo). Valores constantes y precisos, son difíciles de determinar debido a las variaciones genéticas de los especímenes individuales en cada grupo experimental (ver Mrosovsky y Pieau, 1991, para una mayor discusión de este punto). Para las especies

de tortugas marinas que han sido estudiadas, la temperatura pivote reportada es alrededor de 30°C. Estudios con especímenes de *C. caretta* (Mrosovsky, 1988) han mostrado variaciones de la temperatura pivote hasta de un grado centígrado, dependiendo del tamaño de la nidada y factores genéticos.

Se ha sugerido que la temperatura posiblemente contrarreste el control genético del género. Si esto es cierto, entonces la temperatura pivote podría ser tomada como la condición bajo la cual el sexo genético es expresado sin alteraciones externas (Mrosovsky y Pieau, 1991). Considerando que en un nido o en la población de una playa hay una proporción variable de machos genotípicos con respecto a hembras genotípicas y que la respuesta a la temperatura varía de acuerdo al sexo genético, la temperatura pivote puede variar tanto como un grado centígrado (Mrosovsky, 1988). Por esto es recomendada una estimación de la temperatura pivote entre las diferentes poblaciones de tortugas que anidan en diferentes playas. Un mínimo de 5-6 nidos por playa por temporada, con seguimiento de al menos tres años consecutivos, podría rendir valores muy aproximados al verdadero intervalo de la temperatura pivote de la población estudiada.

Aunque la temperatura pivote es un indicador fidedigno cuando se estiman las proporciones sexuales bajo condiciones naturales, también es conveniente tener conocimiento de la “transición de intervalos de temperatura” (TIT). Este parámetro se refiere a la diferencia de valores entre las bajas temperaturas que producen 100% de machos y las altas que resultan en 100% hembras (Mrosovsky y Pieau, 1991). Como la temperatura pivote, la TIT no tiene un valor fijo. No hay duda que algunas variaciones dependerán del tamaño de la muestra. Por lo tanto, como con la temperatura pivote, la estimación de la desviación estándar en una población particular, será optimizada midiendo temperaturas en tantos nidos como sea posible en diferentes lugares de la playa en cuestión y repitiendo el estudio por varios años.

El equipo necesario para medir la temperatura en las playas ha sido ampliamente discutido por Godfrey y Mrosovsky (1994). Ellos diseñaron un módulo que memoriza las temperaturas máxima y mínima. Aparte de que el equipo es económico y resistente, soporta el

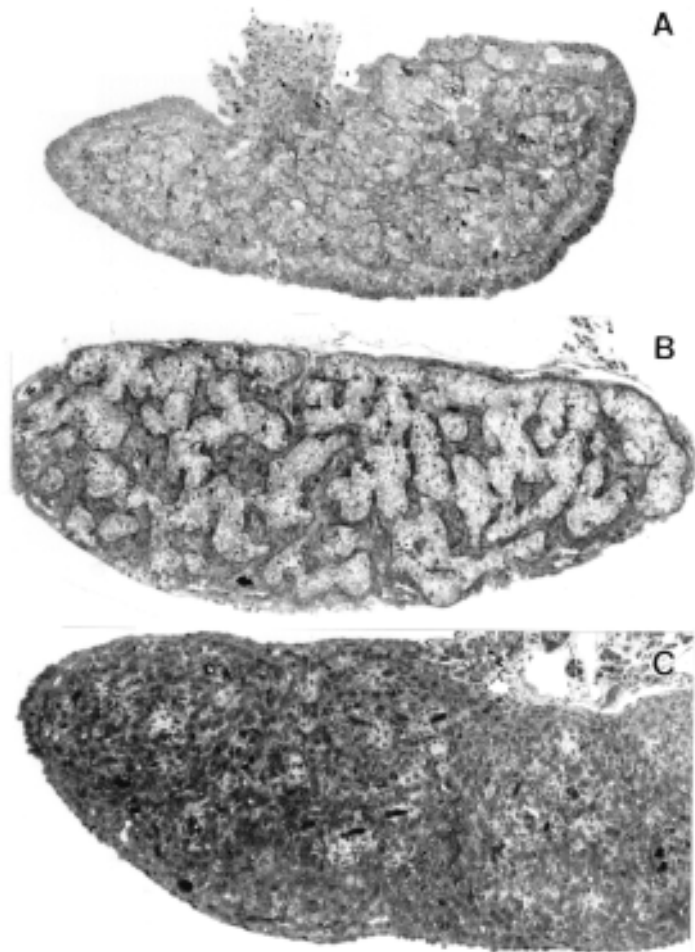


Figura 3. Ovario de *Dermochelys coriacea* (A), testículo (B) y gónada indiferenciada (C) previamente tratadas con la técnica de aclaramiento (ver texto). El glicerol fue eliminado con un buffer de fosfato y las muestras fueron tratadas como el material de las figuras 1 y 2.

entierro reduciendo la posibilidad de robo. El sensor núcleo, es un termómetro comercial de memoria (Radio Shack 277-302 or 630/1020) protegido dentro de una caja de Plexiglas.

Convertir la temperatura de la arena en proporción sexual de crías no es tan sencillo como puede parecer. Las temperaturas pivote de las tortugas se derivan generalmente de la incubación de los huevos a temperaturas constantes en el laboratorio, diferentes a las verdaderas condiciones de incubación (Bull, 1985). Los factores microambientales tales como el calor metabólico de los huevos, pueden causar temperaturas del nido diferentes a las temperaturas de la arena (Mrosovsky y Yntema, 1980; Godfrey *et al.*, 1997). Este factor puede ser tomado en cuenta cuando se mide la temperatura en la playa, y los

sensores pueden ser depositados tan cerca como sea posible del nido, o entre los huevos en cada nido con el propósito de derivar la proporción sexual. También, la variación inter-nidada en las temperaturas pivote puede complicar las conversiones de la temperatura de la playa en una proporción sexual; por tanto son importantes tamaños de muestra adecuados (ver arriba). No obstante, los perfiles de la temperatura de la arena son útiles, particularmente en la evaluación del impacto de las técnicas de manejo en la proporción sexual (ver Godfrey y Mrosovsky, este volumen).

Consideraciones Finales

Las gónadas de diferentes especies de tortuga marina revelan variaciones en el grado de diferenciación al eclosionar. Las gónadas más y menos diferenciadas son las de *C. caretta* y *D. coriacea*, respectivamente, mientras que una diferenciación intermedia puede ser observada en *L. olivacea* y *C. mydas*. Sin embargo, las gónadas pueden ser consideradas morfológica y fisiológicamente inmaduras en todas las especies. En vertebrados, los ovarios diferenciados contienen ovocitos rodeados por células foliculares y los testículos diferenciados tienen túbulos seminíferos y células de Leydig. En crías de tortugas marinas como en otras especies, el comienzo de la meiosis es retrasado y no hay formación de folículos en los ovarios. En los testículos, no hay presencia de túbulos seminíferos diferenciados y sólo se encuentran cordones medulares, con pocas células germinales. En la mayoría de las especies, algunas células germinales permanecen en el epitelio superficial y no han sido observadas células de Leydig diferenciadas (Figura 1). Por lo tanto, la diferenciación completa de las gónadas debe ocurrir en algún momento después de la eclosión y no ha sido establecido el momento en que esto pasa.

Las variaciones genéticas entre diferentes poblaciones de tortugas marinas y las variaciones de las condiciones ambientales de las playas localizadas a diferentes latitudes, implican que deben esperarse diferencias en la temperatura pivote de tortugas de la misma especie. Por lo tanto, se recomienda hacer estimaciones de los parámetros para cada playa evitando extrapolar libremente a partir de resultados obtenidos en otras playas.

Finalmente, es importante considerar la relativa frecuencia de gónadas referidas como “intersexos”. En estas muestras, los cordones medulares son

conservados en algunas regiones, como en los testículos, y el epitelio superficial aparece extendido, en otras regiones, como en los ovarios. En otros casos, la gónada permanece “indiferenciada” y aquí no hay un claro desarrollo hacia cualquiera de los sexos. Considerando la vulnerabilidad de las gónadas a la temperatura y la inmadurez en el estado de cría, no es de sorprender encontrar variaciones en su desarrollo, probablemente en respuesta a abruptos cambios en la temperatura durante el periodo sensitivo.

Agradecimientos

Estoy en deuda con M. Cristina Ordoñez por proveerme de sus muestras de gónadas aclaradas. El proyecto tuvo el apoyo de CONACyT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología), 400315-5-4037N. Este capítulo fue mejorado por comentarios de M. Girondot, C. Pieau, y A. Abreu.

Literatura Citada

- Bull, J. J. 1983. Evolution of Sex Determining Mechanisms. Benjamin/Cummings, Menlo Park, California.
- Bull, J. J. 1985. Sex ratio and nest temperature in turtles: comparing field and laboratory data. *Ecology* 66:1115-1122.
- Dalrymple, J. H., J. C. Hampp y D. J. Wellins. 1985. Male-biased sex ratio in a cold nest of a hawksbill sea turtle *Eretmochelys imbricata*. *Journal of Herpetology* 19:158-159.
- Godfrey, M. H. y N. Mrosovsky. 1994. Simple method of estimating mean incubation temperatures on sea turtle beaches. *Copeia* 1994:808-811.
- Godfrey, M.H., R. Barreto, y N. Mrosovsky. 1997. Metabolically-generated heat in sea turtles nests and its potential effect on the sex ratio of hatchlings. *Journal of Herpetology* 31: 616-619.
- Gross, T. S., D. A. Crain, K. A. Bjorndal, A. B. Bolten, y R. R. Carthy. 1995. Identification of sex in hatchling loggerhead turtles (*Caretta caretta*) by analysis of steroid concentration in chorioallantoic/amniotic fluid. *General and Comparative Endocrinology* 99:104-210.
- Karnosvsky, M. J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology* 27:137.
- Koopman, P., J. Gubbay, N. Vivian, P. Goodfellow y

- R. Lovell-Badge. 1991. Male development of chromosomally female mice transgenic for SRY. *Nature* 351:117-121.
- McCoy, C. J., R. C. Vogt y E. J. Censky. 1983. Temperature-controlled sex determination in the sea turtle *Lepidochelys olivacea*. *Journal of Herpetology* 17:404-406.
- Merchant-Larios, H., I. Villalpando-Fierro y B. Centeno-Urruiza. 1989. Gonadal morpho-genesis under controlled temperature in the sea turtle. *Herpetological Monographs* 3:43-61.
- Miller, J. D. y C. J. Limpus. 1981. Incubation period and sexual differentiation in the green turtle, *Chelonia mydas* L., p.66-73. *In*: C. B. Banks y A. A. Martin (Editores). *Proceedings of the Melbourne Herpetological Symposium*, Parkville Zoological Board of Victoria.
- Morreale, S. J., G. J. Ruiz, J. R. Spotila y E. A. Standora. 1982. Temperature dependent sex determination: current practices threaten conservation of sea turtles. *Science* 216:1245-1247.
- Mrosofsky, N. 1988. Pivotal temperatures for loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from northern and southern nesting beaches. *Canadian Journal of Zoology* 66: 661-669.
- Mrosofsky, N. y M. H. Godfrey. 1995. Manipulating sex ratios: Turtle speed ahead! *Chelonian Conservation and Biology* 1:238-240.
- Mrosofsky, N. y M. Benabib. 1990. An assessment of two methods of sexing hatchling sea turtles. *Copeia* 1990:589-581.
- Mrosofsky, N. y C. Pieau. 1991. Transitional range of temperature, pivotal temperatures and thermo-sensitive stages for sex determination in reptiles. *Amphibia-Reptilia* 12:169-179.
- Mrosofsky, N. y C. L. Yntema. 1980. Temperature dependence of sexual differentiation in sea turtles: Implications for conservation practices. *Biological Conservation* 18:59-65.
- Rimblot, F., J. Fretey, N. Mrosofsky, J. Lescure y C. Pieau. 1985. Sexual differentiation as function of the incubation temperature of eggs in the sea-turtle *Dermochelys coriacea* (Vandelli, 1761). *Amphibia-Reptilia* 6:83-92.
- Shaver, D. J., D. W. Owens, A. H. Chaney, C.W. Caillouet, P. Burchfield Jr., y R. Marquez. 1988. Styrofoam box and beach temperatures in relation to incubation and sex ratios of Kemp's ridley sea turtles, p.103-108. *In*: B. A. Schroeder (Editor), *Proceedings of the Eighth Annual Workshop on Sea Turtle Conservation and Biology*. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFC-214.
- Tiersch, T. R., J. M. Mitchell y S. S. Wachtel. 1991. Studies on the phylogenetic conservation of the SRY gene. *Human Genetics* 87:571-573.
- van der Heiden, A. M., R. Briseño y D. Rios-Olmeda. 1985. A simplified method for determining sex in hatchling sea turtles. *Copeia* 1985:779-782.
- Yntema, C. L. y N. Mrosofsky. 1980. Sexual differentiation in hatchling loggerhead (*Caretta caretta*) incubated at different controlled temperatures. *Herpetologica* 36:33-36.