

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**Relación entre la duración del período de incubación y la proporción de sexos de  
las tortugas marinas *Lepidochelys olivacea* en la Reserva Natural de Usos  
Múltiples Monterrico (RNUMM).**

**Berta Alejandra Morales Mérida**

**BIÓLOGA**

**Guatemala, febrero de 2013**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**Relación entre la duración del período de incubación y la proporción de sexos de las  
tortugas marinas *Lepidochelys olivacea* en la Reserva Natural de Usos Múltiples  
Monterrico (RNUMM).**

**INFORME DE TESIS**

**Presentado por**

**Berta Alejandra Morales Mérida**

**Para optar al título de**

**BIÓLOGA**

**Guatemala, febrero de 2013**

## **Junta Directiva**

### **Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia**

Óscar Cóbar Pinto, Ph.D.

**Decano**

Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.

**Secretario Académico**

Licda. Liliana Vides de Urízar

**Vocal I**

Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares

**Vocal II**

Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli

**Vocal III**

Br. Fayver Manuel de León Mayorga

**Vocal IV**

Br. Maily Graciela Córdova Ardón

**Vocal V**

A...

Mis padres Bárbara y Gustavo, mis mentores y guías, mi ejemplo, mis amigos

Mis hermanas: Bárbara, Gabriela y Ruth, mis amigas y pilares

Mis sobrinitos: Tavito y Tabita, mis más amados pupilitos

Mi compañero de vida, Jose Ricardo Gill Camey

Mis abuelitos, mis segundos padres y ejemplos

Mi familia, apoyo incondicional en mi vida

Mis amigos: Dulce, Elida, Reyna, Chepe

*A mi alma mater*

La amada y gloriosa tricentenaria Universidad de San Carlos de Guatemala

Mi facultad y mi amada escuela, formadoras de vida, esperanza del pueblo

Mi bello y azotado país, a quien amo y espero honrar por el resto de mi vida

# Gracias...

Largas y tendidas, pero necesarias

- A mis padres:  
Sustaro y Bárbara
- Por ser la base que fundamenta mi vida, mis ideales y mi *yo misma*. Porque sin ustedes no estaría donde estoy y no sería quien soy. Por estar allí siempre, por dejarme escoger, por creer y confiar en mí. Por amarme y por dejarse amar. Los amo, agradezco y admiro como a nadie.
- Papi**, por ser el ejemplo a seguir que siempre has sido, por tu apoyo y guía incondicional, por tu sabiduría, por todo tii, gracias.
- Mami**, por tu paciencia y fe en todo y todos, por tu luz, por el apoyo de siempre, por tu amor. Por la sonrisa y la paz que emanas día a día, por todo, gracias.
- A mis hermanas, por dejarse amar y amarme
- Babi**, por enseñarme con ejemplo y amor lo que debo esperar, por cubrir aquellos espacios que nadie más pudo, por confiar en mí y alentarme. Por encender una luz más en mi vida, el Mimo.
- Sabi**, por animarme y enseñarme cosas que erróneamente creía saber, por incentivarme a seguir adelante y ver que las cosas pueden tomar otro rumbo sin ser malas. Por encender una luz más en mi vida, la Bita.
- Ruthi**, por estar allí y molestarme hasta el cansancio, por animarme e incentivarme, por demostrarme que lo que uno se propone lo alcanza, pero que la fuerza de voluntad es indispensable.
- A mis sobrinitos:  
Sustaro Alejandro y  
Tábata Isabella
- Por darle un nuevo sentido a mi vida, por recordarme lo pequeños y grandes que podemos ser en la vida. Por sonreír e iluminar mi vida con un solo respiro. Por existir y ser una parte muy valiosa de mí.
- A Ricardo (Goe,  
peludo, More y otros  
apodos cariñosos)
- Por estar allí, porque en tu ausencia no estaría donde estoy ni hubiese alcanzado este éxito en mi vida de la manera en que lo he hecho. Por tus sacrificios, ayuda y presiones para continuar. Por tu amor, por amarme y dejarte amar. Por las aventuras e historias increíbles, por la travesía, por la vida que compartimos. Por ser mi compañero, amigo y amante incondicional. Pero sobre todo por la paciencia y fe que siempre me has tenido. Por formar parte de mi pasado, presente y futuro.
- A mis abuelitos:  
Enrique y Berta
- Por amarme e incentivarme a más no poder, por confiar en mí todo el tiempo. Por amarme y dejarse amar, por ser quienes son y ayudarme a encontrar quien soy ahora. Por aguantar mis desvelos y llantos, por la paciencia. Por ser mis segundos padres o aún mejor, mis abuelos.
- Abuelita**, por tu guía y ejemplo, por tus consejos y apoyo, por tus chistes y risas, por tu amor. Por ser uno de los pilares de la familia y el pegamento que nos une con amor y gracia. Por creer en mí desde siempre. Por dejarse amar y ejemplificar a una mujer digna de admiración, respeto y orgullo. Por ser única en todo su esplendor, con un corazón gigante y listo para compartirlo con cualquiera. Por ser tii, gracias.
- Abuelito**, por estar allí siempre e incondicionalmente, por guiarme y ayudarme a encontrar soluciones a mis problemas y a las del mundo, por ser uno de los pilares de la familia, por tu sabiduría y ejemplo, gracias.
- A los Morales  
Calderón
- Koki**, por todas las enseñanzas y la paciencia para enseñar a cualquiera que lo desee. Por demostrarme que el mundo es más grande y pueden hacerse cosas más grandes. Por consentirme.
- Magda**, por ser una pieza muy valiosa que llegó a nuestras vidas y ha estado pendiente siempre, aún en los momentos más difíciles. Por tus valiosísimos aportes a la edición de esta tesis, hasta en estos agradecimientos. Por ser tan especial en la vida de los que te conocen. Por ser un ejemplo a seguir.
- Ana Lucía y Andrea**, por estar pendientes y apoyarme siempre en lo que las requería, desde el inicio hasta el final. Por ser únicas, por ser ustedes.
- A mis tías y tíos
- Maquel, Chitía, Martín y Brandy. Por ayudarme a encontrar el camino y apoyarme incondicionalmente, aún cuando no entendían lo que yo hacía. Por compartir conmigo y recorrer juntos este camino llamado vida.
- A mis primos y primas
- Ximena, Ana, Pablo, Daniel, Mariella, Sofía y Krizia. Por compartir conmigo momentos inolvidables e individualmente importantes. Por presionarme y motivarme a continuar. Por las risas y alegrías, por el amar.
- A mi familia y amigos
- A Teta, por demostrar fortaleza y apoyar incondicionalmente cada aspecto de nuestras vidas. A mami Shený y

papi Víctor, por los momentos tan lindos que pasamos juntos, por cimentar la vida de una de las personas más importantes de mi vida y hacerlo de la manera que lo hicieron. A Quiquito y tía Sheny, por mostrarme que el amor todo lo puede, por mantener siempre el contacto y hacerlo con amor. A Kathy y Sofi, por mostrarme nuevas perspectivas a mi vida. A María Alejandra y Carlitos, por ser mis hermanos elegidos y por permitirme recordarlos siempre con amor. A mis amigos de infancia y adolescencia: Mortiner Contreras, Alma Reyes, Bery Quiñónez, María José Ciani, Ana Lucía de León Allan Medina y Quique Estrada; por acompañarme en diferentes partes de mi vida y haber compartido conmigo muchos momentos agradables y divertidos.

A mis amigos y compañeros de la U, por el apoyo siempre recibido, por las ventas de comida, por las giras de campo, por las risas y salidas. Por los recuerdos que siempre vivirán en mí.

A todas mis mascotas, que le han dado un sentido único a mi vida, que me llenaron y siguen llenando de amor la vida, que demostraron que la lealtad es un don digno de agradecerse y aprenderse.

A todos aquellos que no mencioné, por estar allí siempre, gracias.

A mis hermanas por elección: Elida y Reyna

Por estar allí desde el inicio, por tenerme mucha paciencia y apoyarme incondicionalmente en todas mis locuras e ideas. Por haber compartido conmigo momentos de toda clase y permitirme entrar a sus vidas. Por ayudarme a ser quien soy y apoyarme en la vida y en todo aspecto. Por dejarme ser quien soy. Por los recuerdos, por lo compartido y por lo que aún no sabemos.

A mis amigos del alma: Pepito Arzúbillaga y Rosa Pineda

Por estar conmigo en las buenas y en las malas, cada uno en su propia forma. Por enseñarme cosas y escucharme. Por la paciencia y el aguante de mis lloriqueos.

A Liza, amiga incondicional

Por estar allí durante todo este proceso, desde el inicio hasta hace poco, y más allá. Porque sin su ayuda no habría podido completar tantas cosas de este trabajo y algunos otros. Por confiar en mí y motivarme cada vez que quería rendirme. Por toda la ayuda en el laboratorio y con las cosas feas de esta tesis.

A Dulce Bustamante, mi amiga y mentora

Por enseñarme tantas cosas con mucha paciencia. Por creer en mí y empujarme a no tener miedo. Por quererme, aguantarme y motivarme a que nada es como creo y por lo general, todo es mejor; que las cosas valen la pena y no se logran sin esfuerzo. Por defenderme ante todo y protegerme en tu forma (o en la que yo creo). Por el tiempo y la entrega que tuviste con este nuestro trabajo. Por crecer conmigo en un tema tan desolado y complicado. Por dejarse admirar y enseñarme que uno puede entregarse a varias cosas en pro de la diversidad, nuestra alma máter y sobre todo por un mejor país; para que salga adelante. Definitivamente, nada de esto hubiera sido posible sin tu apoyo, confianza y presencia en todos los aspectos de la tesis.

A Marc Sirondot, amigo y guía

Por ese apoyo inimaginable desde el inicio hasta el final: científico, académico, formativo, e incluso material. Por confiar en mí desde el inicio. Por la constancia y amistad, por la paciencia y la entrega a este trabajo. Por defenderme y creer en mí. Por enseñarme tantas cosas y mostrarme que todo se puede con amor por lo que uno hace y por enseñarme que hay un mundo más grande y no es tan difícil de alcanzar, con tenacidad y lucha. Que hay gente fuera que está dispuesta a ayudar si se le encuentra y que entiende el valor humilde de las cosas cuando se desean hacer con convicción y entrega.

A Mis amigos y mentores

Mercedes Barrios, Claudio Méndez, Rebeca Orellana, Fernando Díaz, Julio Morales y Jorge Erwin López. Por apoyarme todo el tiempo incondicionalmente. Por creer en mí y confiar que lo lograría. Por las lecciones, tanto académicas como de vida. Por iniciar este recorrido conmigo, nuestro recorrido (difícil, tedioso, pero que valió la pena). Porque cada uno de ustedes estuvo allí en diferentes fases individualmente importantes y necesarias, sin las cuales esta tesis no sería como es.

A mis amigos y mi gente querida

Pedro Parido, Carlita del Cid, Koki del Cid, Fernando Castillo, Dulce Saldaña, Chepe Vargas, Steph Sánchez, Ana Sibria Morales, Albita Alvarado, Mónica Torres, Raiza Barahona, Lidia. Irving, María Estuardo Guerra, Ana Luisa Torres, Gabes Ardón, José Bocel, Oscar Sacahú y Jose Juan Vega.

Por estar allí siempre y formar parte de mi vida. Por creer en mí. Por aceptarme, con todo lo que ello implica y tenerme mucha paciencia. Por ayudarme en todo momento en sus propias formas y voluntades.

- A la Licenciada Lillian Irving y su esposo Leonel  
Por el apoyo brindado y sin cuya ayuda no hubiese podido llevar a cabo la parte experimental de este trabajo. Por la guía y la amistad, por los momentos agradables, por todo.
- A los Guardarrecursos de la *RUMMM*  
Noé, Mary, Poncho, César, Óscar, Mati, Pablo, Axel, Mundo y Héctor. Por el apoyo y la gran ayuda que me proporcionaron, sin la cual no se hubiera logrado lo que se logró.
- A Don Noé, Misraim y Joel (e hijos)  
Porque sin ustedes definitivamente no lo hubiera podido lograr, estuvieron allí en una de las fases más duras, por las acompañadas y desvelos. Por el apoyo incondicional, voluntario y de corazón. Por las historias, el entusiasmo y confianza que me tuvieron. Pero, sobre todo, por su admirable forma de ser como son.
- A mis amigos y compañeros que me apoyaron en el laboratorio.  
A mis "ayudantes" de laboratorio: Liza, Jacob, Reyna. Definitivamente sin ustedes nada se hubiera logrado como se logró y en el tiempo en que se debía.  
A Carolina, Renato, Yorik, Mafer, Bárbara y demás personas que llegaron, por la ayuda y el intento.  
A don Herman, doña Ruth y personal de laboratorios por el apoyo proporcionado durante esta fase.
- A mis catedráticos  
A todos los que han sido parte de mi formación académica y mi nacimiento profesional. Por ser parte de mi vida, cada uno en su propia forma. Por las enseñanzas y regaños, en sus propias y únicas formas de hacerlo. Gracias por formarme en quien ahora soy o en quien espero ser.
- A otra gente linda de la *USAC*  
Luis Molina, el encargado de importaciones, sin cuyo apoyo no hubiera podido pasar a la fase de campo. Por la entrega y paciencia en su trabajo. A la gente linda de la biblioteca (*CEDOB*). A Don Luis y Don Mingo, por aguantar mis caprichos de no querer dejar la biblioteca y acompañarme hasta cerrar. Al Licenciado Nave, por el apoyo y confianza. A Joyli, Doña Eri, la Licenciada Sandoval, Sandrita, por apoyarme de manera única en todos los trámites. A las autoridades universitarias que me ayudaron y permitieron el éxito de este trabajo. A todas las secretarías y personal administrativo de la Facultad, que me apoyaron y ayudaron siempre con mucho cariño y entrega.
- A demás personal del *CECOM*  
Francisco Castañeda, Manolo García, Vanessa Dávila, Claudia Burgos, Karim Cruz, Davino Chew, Sildiva, Miguel, don Octavito, Eri Virar y Roberto González.  
Porque de una u otra forma estuvieron presentes y me apoyaron, o simplemente porque me guiaron en el camino correcto.
- A toda la gente linda de Monterico  
A doña Vere, a Lupita, a Joel y otras personas me apoyaron en las buenas y en las malas. Al pueblo que me acogió, alegró y enseñó muchas cosas.  
A la familia Belletón por acogerme y permitirme un espacio en esta travesía.
- A las personas de *CONAP*  
A las que creyeron en mí y me permitieron realizar este estudio tan necesario e importante para la conservación de la biodiversidad del país.  
En especial, a Ruthy Sigüenza, quien desde antes y al estar allí, confió en este trabajo.
- A mi amada Universidad de San Carlos de Guatemala, a mi Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia y a mi amada Escuela de Biología. Por acogerme y formarme, por forjar en mí conocimientos invaluable. Por los recuerdos y por todo aquello que me dieron. A todos los que no mencioné, los que han hecho grandes cosas en mi vida y que sin su apoyo no hubiera podido realizar esta tesis. Por aquellos que, en definitiva, han aportado grandes cosas a mi vida y me han hecho quien soy, gracias.

## Gracias a la vida

Por tener lo que tengo, la gente que tengo, amo y me rodea. Aquellos que, tanto en conjunto como individualmente, me han enseñado y forjado para ser quien soy. Gracias por esta vida llena de hermosas travesías y amadas personas. Porque por ello creo en mí y en lo que soy capaz de hacer, por ello creo en la gente y amo intensamente; porque me aman y se dejan amar.

**A la naturaleza**, por permitirme lograr lo que logré y prestarme parte de su esencia para ayudarla.

# ÍNDICE

|   |    |
|---|----|
| Resumen   | 01 |
| 1. Introducción   | 03 |
| 2. Antecedentes   | 06 |
| 2.1 Biología de las Tortugas Marinas  | 06 |
| 2.1.1 Ciclo de Vida   | 06 |
| 2.1.2 Desarrollo embrionario y determinación del sexo   | 10 |
| 2.2 Proporción de sexos y técnicas de sexado de neonatos de tortugas marinas                        | 15 |
| 2.3 <i>Lepidochelys olivacea</i> (Eschscholtz, 1829) en Guatemala                                   | 19 |
| 2.4 Los tortugarios como estrategia de conservación con anotaciones respecto al caso de Guatemala   | 25 |
| 2.5 La Reserva Natural de Usos Múltiples Monterrico y la conservación de las tortugas marinas       | 29 |
| 3. Justificación  | 31 |
| 4. Objetivos  | 33 |
| 5. Hipótesis  | 34 |
| 6. Materiales y Métodos   | 35 |
| 6.1 Materiales  | 35 |
| 6.2 Diseño experimental   | 35 |
| 6.2.1 Determinación del sexo y medición de los neonatos   | 42 |
| 6.2.2 Variables   | 45 |
| 6.3 Análisis estadístico  | 46 |
| 7. Resultados   | 51 |
| 8. Discusión  | 81 |
| 8.1 Efectos de los tratamientos en la temperatura de los nidos y duración del período de incubación | 81 |
| 8.2 Relación entre la duración del período de incubación y la proporción de sexos                   | 88 |



|     |   |     |
|-----|---|-----|
| 8.3 | Relación entre la tasa de crecimiento embrionario y la temperatura                  | 98  |
| 8.4 | Cálculo del período termosensitivo (TSP) para los nidos                             | 101 |
| 8.5 | Relación entre el período termosensitivo y la proporción de sexos                   | 104 |
| 8.6 | Implicaciones para la conservación en función del sesgo de sexos, éxito de eclosión | 105 |
| 8.7 | Manejo de nidos   | 109 |
| 9.  | Conclusiones  | 112 |
| 10. | Recomendaciones   | 114 |
| 11. | Referencias Bibliográficas  | 116 |
| 12. | Anexos  | 132 |

## RESUMEN

Las tortugas marinas, como muchos reptiles, poseen determinación de sexo dependiente de temperatura (TSD). El sexo se determina durante el segundo tercio del desarrollo embrionario; este periodo es llamado período termosensitivo (TSP). El valor adaptativo de este sistema de determinación del sexo y su influencia en la aptitud de las especies con este tipo de mecanismo aún está siendo investigado. La relación entre la proporción de sexos y la incubación de huevos a temperaturas constantes se caracteriza por dos parámetros: la temperatura pivotal y el rango de temperaturas que produce ambos sexos (TRT).

En este estudio se incubaron 1600 huevos de *Lepidochelys olivacea*, distribuidos dentro de 80 nidos (20 huevos/nido): 40 nidos en un recinto experimental diseñado exclusivamente para ellos y 40 nidos en el tortugario de la RNUMM, en sus condiciones cotidianas de manejo. Con el fin de generar variación, los nidos del recinto experimental se sembraron en diferentes condiciones de profundidad y exposición a la luz solar. Todos los nidos evaluados se sembraron y sometieron a 5 tratamientos: (1) bajo sombra a 40 cm de profundidad (experimental), (2) bajo sombra a 60 cm de profundidad (experimental), (3) bajo sol a 40 cm de profundidad (experimental), (4) bajo sol a 40 cm de profundidad (experimental), y (5) bajo las condiciones del tortugario de la RNUMM (tortugario). Se midió la temperatura dentro de cada nido en intervalos de 3 horas (desde la siembra hasta alrededor de 3 días después de la eclosión de las tortugas), la duración del período de incubación (tiempo desde la siembra hasta la emergencia del primer neonato), la proporción de sexos (número de machos/número de hembras) utilizando 10 tortugas por nido; y el éxito de eclosión de los nidos (porcentaje de huevos que eclosionaron).

El diseño experimental utilizado permitió que se generara variación en la temperatura y en la duración del periodo de incubación entre los nidos. Sin embargo, después de la disección de los neonatos se determinó que todos los individuos eran

hembras, imposibilitando el cálculo de una proporción de sexos. Debido a esto, no se pudo establecer experimentalmente una relación entre la duración del periodo de incubación o el periodo termosensitivo y la proporción de sexos. Existen varios factores que pudieron haber influido directa o indirectamente en la proporción de sexos de los neonatos, como el tipo de arena o la humedad, pero dichos factores no se consideraron en el diseño. Otras causas podrían ser diferencias temporales, espaciales o genéticas entre poblaciones de la especie.

Los resultados de este estudio mostraron diferencias de temperaturas entre nidos que se deben más a los efectos de las condiciones de sol y sombra (incluyendo al tortugario). Los análisis estadísticos mostraron que la profundidad no tuvo efecto sobre las 4 variables evaluadas (temperatura promedio, temperatura máxima, temperatura mínima y duración del período de incubación). El éxito de eclosión obtenido en este estudio fue alto (74% o más por tratamiento) y variable entre tratamientos, pero las causas de este éxito no quedaron claramente determinadas. Se obtuvieron modelos del TSP de los nidos que mostraron que éste se encuentra a la mitad del tercio del desarrollo, no a la mitad del tercio de incubación, como se presumía. En estos se observó que las temperaturas eran más altas al inicio del TSP, cuando no se han formado las gónadas, que al final del mismo cuando el sexo ya se encuentra totalmente determinado. Finalmente, se generó el primer modelo que explica la relación entre la temperatura y la tasa de desarrollo embrionario. Este modelo muestra que esta especie continúa su crecimiento aún en temperaturas arriba de los 31°C, como es de esperarse en una especie de distribución tropical.

Este estudio apunta a que en el Pacífico guatemalteco solamente se producen hembras de *Lepidochelys olivacea*. Es necesario generar más evidencia al respecto, mediante la realización de más experimentos en otros tortugarios del país; e impulsando estudios anuales y regionales sobre la proporción de sexos en los neonatos. Si se confirma esta observación, implicaría que los esfuerzos de conservación deben realizarse de forma coordinada a nivel regional.

## 1. INTRODUCCIÓN

La biología de las tortugas marinas está altamente influenciada por la temperatura, la cual afecta cada fase de su historia de vida. Su biología térmica depende de las propiedades de transferencia calórica de su entorno así como de las características físicas y fisiológicas de las mismas (Spotila & Standora, 1985, p. 694). Sin embargo, tienen una amplia variación de temperatura corporal en respuesta al ambiente, la cual son capaces de autorregular (Vitt & Caldwell, 2009, p. 191; Zug, Vitt, & Caldwell, 2001, pp. 177, 180). Por otro lado, los embriones, durante la incubación, poseen la misma temperatura que la arena (Girondot, comunicación personal, agosto 28, 2011).

En las tortugas marinas, así como en otros reptiles, la diferenciación sexual se encuentra determinada por la temperatura de incubación durante el desarrollo embrionario (Bull & Vogt, 1979, p. 1186; Yntema & Mrosovsky, 1982, pp. 1013-1015; Janzen & Paukstis, 1991, p. 150). Este fenómeno es conocido como determinación de sexo dependiente de la temperatura (TSD, por sus siglas en inglés). En estos casos, el sexo del embrión está determinado por la temperatura del desarrollo durante un lapso preciso de la embriogénesis, el período termosensitivo (TSP, por sus siglas en inglés). En general se ha descrito que a mayores temperaturas se producen hembras y, a menores temperaturas, machos (Hulin, Delmas, Girondot, Godfrey, & Guillon, 2009, p. 494; Bull & Vogt, 1979, p. 1186; Yntema & Mrosovsky, 1982, pp. 1012-1013; Mrosovsky & Pieau, 1991, p. 176; Bull, 1980, p. 10). La temperatura también afecta la tasa de desarrollo y duración del periodo de incubación. Basado en el principio Arrhenius, las reacciones bioquímicas y el desarrollo de los embriones tienen una temperatura óptima, que al llegar a ella, alcanza la máxima tasa de desarrollo.

En Guatemala, no existen estudios que permitan conocer cuál es el estado actual de las poblaciones de tortugas marinas en el país, como uno de los aspectos a considerar a la hora de tomar de decisiones para el diseño de programas y estrategias de conservación. Dado que es fundamental adoptar estrategias efectivas de conservación de las tortugas marinas, es indispensable la realización de estudios ecológicos que tomen en cuenta y protejan todas las fases de su ciclo de vida.

Según lo expuesto por CONAP (2009, pp. 9, 30), los programas de conservación en el país se basan, desde hace más de 40 años, casi exclusivamente en el uso de viveros o tortugarios situados en distintas departamentos del país. Muchos aspectos deben ser considerados cuando se habla de conservación de tortugas marinas por medio de los tortugarios; entre éstos están: el éxito de eclosión, la higiene y prevención de infecciones en el tortugario y el conocimiento de la proporción del sexo de las tortugas nacidas en éste. Dado que esta es la principal metodología del país, estudios como este son indispensables para el inicio de la generación de información que permita fundamentar las acciones y medidas a tomar respecto a la conservación de tortugas marinas en el país. Como dijo Ackerman (1980) "el éxito de la conservación de tortugas marinas exige un conocimiento profundo de la biología de incubación" (Maloney, Darian-Smith, Takahashi, & Limpus, 1990, p. 378). Richardson (2000, p. 9) indica que la comprensión de la biología reproductiva y de anidación de las especies es indispensable para la recuperación y el manejo de las poblaciones de tortugas marinas. Ya que de otra manera, "en ausencia de este conocimiento, los esfuerzos de conservación, aunque bien intencionados, podrían inclusive ser perjudiciales para las tortugas marinas".

La presente tesis fue un estudio experimental que presumía que la duración del período de incubación podía utilizarse para predecir la proporción de sexos en las tortugas marinas *Lepidochelys olivacea*. Para ello se planteó evaluar la relación entre la duración del período de incubación y la proporción de sexos de los nidos en cuestión, así como establecer experimentalmente la posible relación entre la duración

del período de incubación y la proporción de sexos; aparte de las relaciones entre temperatura y la tasa de desarrollo embrionario; y la proporción de sexos y el período termosensitivo. Para ello se evaluaron 80 nidos sembrados bajo condiciones experimentales y bajo condiciones regulares de siembra del tortugario de la RNUMM.

Los nidos fueron sometidos a 5 tratamientos (4 experimentales y el del tortugario) que implicaban diferentes condiciones de exposición a la luz solar y profundidad con el fin de generar la mayor variación posible de temperatura y duración del período de incubación. Tal variación fue evaluada mediante el registro de temperaturas de incubación con dispositivos termosensitivos, a lo largo de toda la incubación. Para la proporción de sexos se tomó una muestra de 10 neonatos por nido, los cuales fueron disectados y sexados. Los resultados permitieron modelar las variables evaluadas por cada nido, los cuales mostraron que no existe relación entre la profundidad y la temperatura, señalando la exposición solar como la variable explicatoria. De igual manera, para cada nido se modeló el período termosensitivo y se obtuvo el primer modelo de tasa de desarrollo embrionario para la especie, el cual demostró que ésta posee una gran tolerancia a altas temperaturas de incubación.

Este es el primer estudio de biología experimental en el que se disectan neonatos de esta especie para determinar su sexo; y en donde se miden las temperaturas directamente dentro del nido de forma continua. El único esfuerzo previo para intentar predecir la proporción de sexos en tortugarios de Guatemala se hizo utilizando temperatura pivotal (Morales, Jolón, y Sánchez, 2003, p. 62). Sin embargo, los resultados de este estudio conducen a cuestionar la utilidad de este método, pues ponen en duda la temperatura pivotal para esta especie. Es decir, podría ser que se esté tomando un punto de referencia erróneo para la determinación del sexo. Esto indica que la ecología de poblaciones de esta especie podría ser más compleja de lo creído previamente, ya que en las costas del Pacífico guatemalteco podrían estarse produciendo solamente hembras. De manera, se concluye que la única forma de aclarar estas dudas sería conducir más experimentos.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1 Biología de las tortugas marinas**

#### **2.1.1 Ciclo de vida**

Las tortugas marinas son especies longevas que llevan habitando el planeta por más de 110 millones de años (Meylan y Meylan, 2000, p. 4; CIT, 2006, p. 2; CIT, 2007, p. 1). Es un grupo exitoso que sobrevivió a la extinción de los dinosaurios y se ha distribuido en todos los océanos del planeta, hasta la actualidad (WWF, s.f.). Estas especies permanecen casi toda su vida en el mar y han desarrollado modificaciones anatómicas para su adaptación a la vida acuática (Abreu, 1999, p. 5; Meylan y Meylan, 2000, p. 3). Sin embargo, como vestigios de su origen terrestre, regresan a las playas tropicales para incubar sus huevos (desovar) (Abreu, 1999, p. 5).

Las tortugas son animales ectotérmicos y poiquilotérmicos. Esto significa que su intercambio calórico con el ambiente, como cualquier ectotermo, ocurre vía convección, radiación y conducción (Zug *et al.*, 2001, p. 179). Es decir, dependen de los recursos ambientales para obtener calor corporal; el cual surge del metabolismo celular o mitocondrial (Schmidt-Nielsen, 1976, p. 190; Girondot, comunicación personal, agosto 28, 2011; Vitt & Caldwell, 2009, p. 191; Zug *et al.*, 2001, p. 177). Sin embargo, son individuos capaces de autoregular su temperatura en rangos relativamente cortos, utilizando el sol y las superficies del ambiente que las rodea para la obtención del calor; así como la sombra, el agua, y las superficies frías, para perderlo (Vitt & Caldwell, 2009, p. 191; Zug *et al.*, 2001, p. 177). Es por esto que son poiquilotermos, pues tienen una amplia variación en la temperatura corporal, en respuesta a la temperatura ambiental (Zug *et al.*, 2001, p. 180).

El ciclo de vida de las tortugas marinas es complejo; cada fase del crecimiento tiene características distintivas muy peculiares (CIT, 2007, p. 1; Frazier, 2001, p. 5).

Se pueden organizar según su desarrollo y crecimiento; desde el huevo, embrión, cría, juvenil, hasta adulto (Frazier, 2001, p. 5). Las crías pasan a la fase de juveniles y, aquellas que sobreviven, alcanzan la fase de adultos. La longitud promedio del caparazón en *Lepidochelys olivacea* llega a medir hasta 65 centímetros y pesar hasta 45 kilogramos (CIT, 2008, p. 16; Abreu, 1999, p. 6). La mayoría de sus estadios inmaduros tienen hábitos pelágicos y, conforme maduran, se acercan a las zonas costeras (CIT, 2008, p. 8).

Una vez en la zona oceánica, las crías inician la fase juvenil; y después de varios años, la mayoría de las especies juveniles de tortugas marinas dejan la fase pelágica, en la cual se dirigen del ambiente oceánico a los ambientes costeros (fase bentónica) (Frazier, 2001, p. 9). Las tortugas marinas pueden ser muy selectivas en su tipo de alimentación; la dieta varía entre las especies y también entre las diferentes fases de su crecimiento, localidad, temporada, factores ecológicos y de comportamiento. En el caso de *L. olivacea*, esta selectividad no aplica, ya que aprovechan diversos tipos de organismos tanto en el fondo como en la superficie (Frazier, 2001, p. 10).

La variedad de productos propios para su alimentación se incrementa notablemente en los ambientes costeros, lo que provoca cambios dramáticos en su dieta desarrollando regímenes alimenticios especializados de cada especie (Frazier, 2001, p. 9; Meylan y Meylan, 2000, p. 4). En el caso de *L. olivacea*, se cree que es muy poco probable que existan diferencias marcadas en esta transición (Frazier, 2001, p. 9). Sin embargo, *L. olivacea* posee un pico agudo y fuerte para quebrar las duras cubiertas de los invertebrados de los que se alimenta (Frazier, 2001, p. 10).

Las tortugas marinas son individuos migratorios que después de alcanzar la madurez sexual, migran de áreas de alimentación hacia áreas de reproducción (anidación) que generalmente se localizan cerca del lugar en donde nacieron. La distancia entre sitios de alimentación y de reproducción pueden abarcar hasta miles de kilómetros (Frazier, 2001, p. 10). De manera que una vez finalizada la temporada de



reproducción, los adultos migran para retornar a sus respectivas áreas de alimentación (Frazier, 2001, p. 11). La extensión geográfica del ciclo completo de las tortugas marinas es extremadamente grande, abarca varios cientos o miles de kilómetros y muchas veces se extienden a través de varias naciones (Abreu, 1999, p. 11). Esta característica acarrea importantes implicaciones para su manejo, además de que requiere la cooperación internacional para garantizar su supervivencia (Meylan y Meylan, 2000, p. 5).

En algunos casos, realizan migraciones estacionales entre diferentes áreas de alimentación (Frazier, 2001, p. 11). En cuanto a *L. olivacea*, se dispersa por el Pacífico oriental; aunque se cree que no posee una ruta migratoria definida (Chacón y Araúz, 2001, p. 10; Abreu, 1999, p. 7). Tortugas marcadas en Costa Rica mostraron direcciones diferentes luego de anidar, distribuyéndose independientemente una de la otra. Se dirigieron hacia aguas someras de costas en las áreas de alimentación, con excepción de una que migró mar abierto a cientos de kilómetros de la costa (Chacón y Araúz, 2001, p. 10). Lo anterior sugiere que podría tratarse de una especie nómada que explota múltiples zonas de alimentación, ya que no migra a zonas específicas (Chacón y Araúz, 2001, p. 10). Al regresar a las áreas de alimentación, las tortugas pueden arribar al mismo sitio que ocuparon antes del inicio de la migración reproductora (Frazier, 2001, p. 11).

Los ciclos de reproducción de las tortugas marinas son circadianos, es decir, se repiten en periodos anuales, bianuales, trianuales o en casos especiales se vuelven irregulares; y pueden desovar varias veces por temporada (reanidación) (Pineda, 2003, p. 12; CIT, 2008, p. 11; Martínez y Calderón, 2011, pp. 12, 19). En el caso de *L. olivacea*, el ciclo es lunar generalmente durante los cuartos menguantes, de 28 días; desovando alrededor de 2 a 3 veces en la temporada (Pineda, 2003, p. 12; CIT, 2008, p. 16; Chacón y Araúz, 2001, p. 11). Una vez que se encuentran listos para reproducirse, migran a las áreas de reproducción y se aparean en aguas cercanas a los sitios de anidación; en este punto pueden permanecer durante varios meses, alrededor

de 3, según reportes de *L. olivacea* de Guatemala en el 2011 (Abreu, 1999, p. 5; Meylan y Meylan, 2000, p. 4; Martínez y Calderón, 2011, p. 11).

El apareamiento de las tortugas marinas ocurre en la superficie del agua. Generalmente sucede mar adentro, a unos cuantos metros de las playas de anidación en regiones donde nacieron, y donde permanecerán varios meses (Meylan y Meylan, 2000, p. 4; Ahmad, Zulkifli, Mahyam, Solanhuddin, & Azman, 2004, p. 11; CIT, 2008, p. 11). Las tortugas marinas poseen un mecanismo denominado fertilización tardía. Este se refiere a que luego de la cópula, las hembras almacenan el esperma en unos pliegues de la parte media de los oviductos, donde el esperma se retiene temporalmente o durante largos períodos que al mantener su viabilidad permiten fertilizar óvulos que formarán huevos de la siguiente temporada (Pineda, 2003, pp. 14-15; Ahmad *et al.*, 2004, p. 8). Esta capacidad de almacenaje es la que les permite a las hembras reanidar varias veces en la misma temporada, pues todos los óvulos habrán de utilizarse en la temporada de reproducción (Ahmad *et al.*, 2004, pp. 8, 11; Pineda, 2003, p. 14; CIT, 2008, p. 11).

Todas las especies de tortugas marinas desarrollan la misma rutina durante la anidación (Meylan y Meylan, 2000, pp. 4-5; Pineda, 2003, p. 16). Para que el desove sea exitoso, el nido debe construirse más arriba de marea alta (Pineda, 2003, p. 16). En *L. olivacea*, la hembra deposita alrededor de 95 a 105 huevos, los cuales eclosionan al cabo de alrededor de 50 días (Chacón y Araúz, 2001, p. 11; Abreu, 1999, p. 6; Sánchez, Ruiz, y Jolón, 2005, p. 15; CIT, 2008, p. 16). En cuanto nacen, los neonatos se dirigen hacia el mar para empezar su fase acuática, en la que adquirirán hábitos pelágicos; pero conforme maduran se van acercando a las zonas costeras (Meylan y Meylan, 2000, p. 4; Abreu, 1999, p. 5). En general, la tasa de crecimiento de estos animales es muy lenta; ya que para poder alcanzar su madurez sexual requieren de 10 a 15 años después de su nacimiento, en el caso de *L. olivacea* (Abreu, 1999, p. 6; Chacón y Araúz, 2001, p. 11).

Existe la hipótesis de que las tortugas regresan a anidar a la misma región donde nacieron (filopatría), mediante un proceso denominado impronta o fijación del sitio (Abreu, 1999, pp. 5, 11; CIT, 2008, p. 12). Este proceso inicia cuando al nacer, las crías registran un grupo de parámetros y características fisicoquímicas de su playa de origen que se “imprimen” (guardan) en su memoria, y le otorgan la capacidad de reconocer la misma región donde nacieron (CIT, 2008, p. 12; Mortimer, 2000, p. 12; Abreu, 1999, p. 5; Limpus, 2008, p. 13). Incluso, se ha observado que las hembras prueban varias playas de la región, antes de fijarse en una sola a la cual regresarán a desovar por el resto de su vida fértil (Girondot, comunicación personal, abril 26, 2012).

Los huevos de las tortugas marinas son casi esféricos. Presentan una cáscara con textura apergamada y una escasa calcificación formada por el depósito de cristales de calcita y dragonita (Pineda, 2003, p. 17; Miller, 1985, Vol. 4, p. 275; Frazier, 2001, p. 5; Pineda, 2003, p. 17). En principio es flexible, ya que no puede ser turgente al momento del desove, pues de otra manera se rompería al caer dentro del nido (Miller, 1985, Vol. 4, p. 275; Frazier, 2001, p. 5; Pineda, 2003, p. 17); a 50 centímetros de profundidad, promedio para *L. olivacea* (Girondot, comunicación personal, agosto 28, 2011). Dependiendo de la especie, un huevo pesa entre 25 y 80 gramos, y un diámetro de 38.8 milímetros en promedio para el género *Lepidochelys* (Frazier, 2001, p. 5; Pineda, 2003, p. 17).

### **2.1.2 Desarrollo embrionario y determinación del sexo**

En el proceso de formación, los folículos son ovulados desde el ovario hacia el infundíbulo del oviducto y se deslizan hasta abajo para ser fertilizados por el esperma mantenido en la parte superior del oviducto; en este punto la albúmina es secretada y 72 horas después comenzará a ser encerrados por una membrana débil y parcialmente calcificada (Pineda, 2003, pp. 14-15; Miller, 1985, Vol. 4, p. 276). Luego de 7 días, el

área germinal se somete a una segmentación discoidal meroblástica; y 9 días después de la ovulación, se forma la gástrula. Paralelamente, la cáscara aumenta rápidamente su grosor. Este huevo provee un ambiente adecuado para el embrión con la yema, albúmina y una cáscara que los encierra; y donde las proteínas producidas en el oviducto de la madre son las responsables del ambiente en el cual se desarrollará el embrión (Pineda, 2003, p. 15; Palmer & Guillette, 2004, p. 29).

El óvulo fertilizado evoluciona a gástrula, estadio en el que se mantiene mientras permanece en el oviducto de la madre, hasta que ésta localiza un lugar adecuado para desovar e iniciar la incubación (Pineda, 2003, p. 15; Miller, 1985, Vol. 4, p. 279; Buitrago, s.f., p. 1). En esta etapa del desarrollo, el huevo puede sobrevivir a movimientos y rotaciones asociadas con el mismo hecho del desove. Sin embargo, luego de 2-6 horas de ser puesto, el embrión puede morir por rotación o movimientos; ya que en ese momento comienzan a crecer membranas que se adhieren al vitelo dentro de la cáscara, las cuales pueden desprenderse al ser movidas (Ahmad *et al.*, 2004, pp. 40, 43).

De igual manera, la sobrevivencia de embriones dentro de huevos depende de la interacción de varios factores durante la incubación, tales como: la salinidad, la humedad, la temperatura, el flujo de gases, la lluvia, las marejadas, la erosión y la depredación (Kaska & Downie, 1999, p. 55; Miller, 1985, Vol. 4, p. 272). Es decir, para una incubación exitosa, los huevos deben estar bien ventilados, con salinidad baja y sustrato del nido con alta humedad (Miller, 1985, Vol. 4, p. 272; Ahmad *et al.*, 2004, p. 36).

La incubación se refiere al período entre la puesta de los huevos y la eclosión; hasta este punto se podría considerar el *verdadero período de incubación*; sin embargo, el término utilizado comúnmente lo finaliza en la emergencia de las crías a la superficie (Frazier, 2001, p. 6). En el caso de *L. olivacea*, la incubación tiene una duración promedio de 50 días (CIT, 2008, p. 16). Durante la incubación, el desarrollo

embrionario de las tortugas marinas en general, ha sido clasificado en 31 etapas; desde el huevo ya ovipuesto (gástrula) hasta el neonato, y están basadas en el tiempo o según etapas descritas para otros grupos de animales (Crastz, 1982, p. 113; Miller, 1985, Vol. 4, pp. 280-281). Sin embargo, la forma tradicional de describir el desarrollo embrionario es usar series progresivas de etapas basadas en estructuras morfológicas claves. Estos cambios están normalmente relacionados al tiempo de incubación o a la edad actual del embrión a determinada temperatura (Miller, 1985, Vol. 4, p. 280).

Por lo general, la tasa de desarrollo es lenta al principio, pero se acelera durante determinado momento del período de incubación, luego vuelve a decrecer durante los días previos a la eclosión (Miller, 1985, Vol. 4, p. 279; Girondot, comunicación personal, abril 24, 2012). La tasa de desarrollo total del embrión y caracteres específicos pueden diferir entre especies y como resultado de las diferentes temperaturas de incubación (Miller, 1985, Vol. 4, p. 279).

De manera que las etapas 1-5 abarcan desde los días dentro del oviducto; la inducción de la oxitocina de la oviposición, el proceso cefálico, hasta la formación de la cabeza y de un intestino grueso conspicuo. Durante las etapas 6-10, se dan cambios en la forma del blastoporo y una diferenciación del notocordio, los pliegues neurales, los pliegues de la cabeza, se evidencia el intestino anterior, el crecimiento de dos extremidades y la presencia de una cola. Luego, de las etapas 11 a la 18 se definen principalmente por el número de somitas presentes, el inicio de la formación del carapacho, procesos maxilares y mandibulares, la diferenciación del corazón, y las hendiduras faríngeas. Finalmente, desde la etapa 19 hasta la eclosión, se dan cambios en las extremidades, en la formación de la cáscara, el desarrollo del carapacho, la formación completa de las extremidades, el desarrollo de las escamas y todos los procesos pigmentarios del embrión en general (Miller, 1985, Vol. 4, pp. 281-282, 285, 287-288, 290, 292, 294, 296, 299; Crastz, 1982, pp. 114, 116, 119).

Durante el período del desarrollo embrionario, alrededor del segundo tercio de la incubación, se presencia un suceso muy particular: se da la determinación del sexo. En las tortugas marinas, como en otros reptiles, la diferenciación sexual se encuentra determinada por la temperatura de incubación durante el desarrollo embrionario. Este fenómeno es conocido como la determinación del sexo dependiente de la temperatura (TSD, por sus siglas en inglés) (DeGregorio & Southwood, 2011, p. 54; Girondot, 1999, p. 479; Miller, 1985, Vol. 4, pp. 272-273; Wibbels, Owens, & Limpus, 2000, p. 756; McCoy, Vogt, & Censky, 1983, p. 404; Wyneken, Epperly, Chowder, Vaughan, & Blair, 2007, p. 19; Wibbels, 2002, pp. 104, 123; Merchant, 2000, p. 150). El período del desarrollo embrionario durante el cual se puede dar la TSD es llamado período termosensitivo (DeGregorio & Southwood, 2011, p. 54).

La temperatura influye en la duración de la incubación, la tasa de desarrollo y el éxito de la eclosión, así como el tamaño, comportamiento y sexo de las crías (DeGregorio & Southwood, 2011, p. 54; Miller, 1985, Vol. 4, p. 272). De manera que las temperaturas bajas incrementan la duración de la incubación, disminuyen la tasa de desarrollo embrionario y tienden a producir machos; y las temperaturas altas incrementan la duración, incrementan la tasa, y tienden a producir hembras (Miller, 1985, Vol. 4, p. 272; DeGregorio & Southwood, 2011, p. 54; Girondot, comunicación personal, agosto 28, 2011).

Originalmente, la TSD se describía con base únicamente en la temperatura pivotal (Girondot, 1999, p. 479). La temperatura pivotal se refiere a la temperatura teórica, calculada en condiciones constantes de laboratorio, que produce un número igual para ambos sexos; es decir el punto en el que la razón de sexo se encuentra 1:1 (Girondot, 1999, p. 470; Wibbels, 2002, p. 105; McCoy *et al.*, 1983, p. 405). Sin embargo, esta es subjetiva ya que no aplica a nidos en condiciones naturales, en donde las temperaturas fluctúan a lo largo de la incubación (Girondot, comunicación personal, abril 26, 2012).

Un factor muy importante dentro la TSD es el período termosensitivo, ya que, si bien se sabe que el sexo es determinado durante la mitad del segundo tercio de la incubación, no se puede saber el momento preciso debido a la variabilidad de tiempo de incubación de cada nido (Miller, 1985, Vol.4, pp. 272-273; McCoy *et al.*, 1983, p. 404; Wyneken *et al.*, 2007, p. 19; Wibbels, 2002, pp. 104, 123; Merchant, 2000, p. 150). Esto se debe a que a lo largo del desarrollo, las nidadas se exponen a diferentes temperaturas ambientales y a que producen progresivamente grandes cantidades de calor metabólico. Esta variación en las temperaturas, según su magnitud y temporalidad, puede tener consecuencias en la determinación de sexo de la cría (DeGregorio & Southwood, 2011, p. 54; Wibbels, 2002, p. 123).

El término período termosensitivo según Mrosovsky & Pieau (1991, p. 177), se refiere a *“el intervalo de tiempo en el que la variación de cualquier tipo en la temperatura tiene algún efecto significativo en la razón de sexo”*. Sin embargo, conceptualmente sugieren que es mejor tomarlo como *“el intervalo entre el tiempo o las etapas en las que la temperatura, sin importar cuánto es alterada entre los límites de la viabilidad de los huevos, no puede producir efectos o aún no demuestra que se han producido efectos”*.

La temperatura aparenta tener efectos acumulativos y cuantitativos en la determinación del sexo. Esto significa que los huevos deben estar expuestos a temperaturas masculinizantes o feminizantes por un período de tiempo antes de la determinación del sexo; de manera que una fluctuación (pico alto) de corta duración de temperatura no determinará el sexo irreversiblemente. La diferenciación gonadal, así como los primeros indicios de diferenciación sexual ocurrirán hacia el final del período termosensitivo, el cual inicia en algún punto en el final del primer tercio y el inicio del segundo tercio de la vida embriónica (Wibbels, 2002, p. 123; Mrosovsky & Pieau, 1991, p. 176).

Otro parámetro es el Rango Transicional de Temperaturas (TRT, por sus siglas en inglés), que se refiere al rango de temperaturas constantes en el que la incubación produce ambos sexos. Se cree que éste describe más adecuadamente la consecuencia de la TSD en condiciones naturales. Sin embargo, se ha observado que el TRT es muy reducido en tortugas marinas, de manera que la tendencia es a producir nidos unisexuales; además de que excluye la temperatura pivotal (Girondot, 1999, p. 480; Wibbels, 2002, pp. 104, 107).

## **2.2 Proporción de sexos y técnicas de sexado de neonatos de tortugas marinas**

Conocer la proporción de sexos en un nido es fundamental para hacer modelos poblacionales de las especies (Bjorndal, 2000, p. 14); y está claro que idealmente la estimación de sexos de las crías debería basarse en datos de varios años consecutivos (Godfrey y Mrosovsky, 2000, p. 157). Sin embargo, para conocer la proporción de sexo en un nido, existen varias dificultades asociadas, donde el mayor problema es la identificación del sexo de cada individuo. Esto se debe a que las tortugas marinas inmaduras carecen de características dimórficas externas, así como de cromosomas sexuales heteromórficos; y en tal caso, la morfología dimórfica interna se define en la eclosión; (Wibbels, 2002, p. 119; Wyneken *et al.*, 2007, p. 19).

A raíz de esta situación y de que la mayoría de especies están altamente protegidas, para estimar la proporción de sexo, se han propuesto varios métodos. La mayoría se basan en la utilización de temperaturas o aproximados de temperaturas, como la duración de la incubación u otros datos semejantes que permitan estimar la proporción de sexo del nido (Hulin, Girondot, Godfrey, & Guillon, 2008, p. 284). Sin embargo, dada las diferencias de los individuos por consecuencia de las condiciones térmicas en el sexo, estos métodos indirectos son imprecisos y deben ser interpretados con precaución. Un ejemplo es el método propuesto por Girondot (1999, pp. 479-480), en el que propone estimar la proporción de sexo mediante una ecuación matemática



que calcula simultáneamente la temperatura pivotal y el TRT, sus varianzas y la desviación estándar.

De cualquier manera, la determinación de sexo en un individuo se hace necesaria para hacer esta clase de estimación; y para esto, los científicos han desarrollado métodos alternativos que permitan sexar juveniles y neonatos sin necesidad de sacrificarlos (Wibbels *et al.*, 2000, p. 756; Hulin *et al.*, 2008, p. 284). Estos métodos son invasivos y/o requieren la disección para observación directa de gónadas (Girondot, comunicación personal, agosto 28, 2011; Marchant, 2000, p. 150; Hulin *et al.*, 2008, p. 284).

En una revisión Wibbels *et al.* (2000, p. 756), proponen una evaluación de métodos como técnicas potenciales de sexado de juveniles. Entre estas mencionan el cariotipo, el antígeno H-Y, la huella *Bkm* del ADN, la laparoscopia, y niveles de testosterona en suero. De igual forma Merchant (2000, pp. 150, 152), propone la utilización de un método no invasivo: el radioinmunoanálisis; y tres métodos invasivos basados en observaciones morfológicas: la técnica de aclaramiento de las gónadas *in toto*, estudios histológicos de las gónadas y la observación de gónadas *in situ*.

En el primer caso, se encontró que en varios cariotipos de tortugas marinas, no se han detectado cromosomas sexuales heteromórficos; y considerando que las tortugas tienen TSD, podría ser que simplemente pasa por encima de un genotipo sexual oculto. Esto demuestra que los estudios que utilizan cariotipos no pueden ser utilizados como un indicadores del sexo en las tortugas marinas (Wibbels *et al.*, 2000, p. 756). Por otro lado, algunos estudios han indicado que el antígeno H-Y podría ser específico de sexo en muchos vertebrados; por lo que podría utilizarse como marcador para identificar el sexo. Sin embargo, también existen problemas potenciales asociados a esta técnica; ya que solamente la sangre recién colectada puede utilizarse

en este ensayo, ya que la analizada con más de 24 horas de obtenida, ha demostrado una alta variabilidad en el ensayo (Wibbels *et al.*, 2000, p. 757).

En cuanto al ADN, se ha utilizado una sonda de ADN Bkm (*banded krait minor*), como huella para identificar el sexo en tortugas, debido a que secuencias relacionadas han sido encontradas en los cromosomas sexuales de varios vertebrados. Los resultados indicaron que existen fragmentos específicos del macho en las huellas de algunas especies cuando se utilizan determinadas enzimas de restricción. Sin embargo, aún es necesario validarlo rigurosamente y examinar juveniles en muestras más grandes. Aunque este puede ser un procedimiento a utilizarse, posee la desventaja de que su costo logístico y de procedimiento podría dificultar el análisis de muestras grandes (Wibbels *et al.*, 2000, p. 757).

Otro método es la laparoscopia. Este método está catalogado como un método exacto para el sexado de juveniles de tortugas marinas. Consiste en una operación quirúrgica en la que el laparoscopio es insertado a través de una pared del cuerpo, por lo general en un área cercana a la aleta trasera, hacia la cavidad corporal. En este caso, las gónadas inmaduras de las tortugas marinas son observadas, indicando claramente el sexo. El problema de esta técnica es el alto costo y la dificultad de que debe ser realizada únicamente por investigadores bien entrenados y capaces de realizar este procedimiento quirúrgico intensivo y laborioso (Wibbels *et al.*, 2000, pp. 757, 759).

Finalmente, existen pruebas de testosterona en suero y radioinmunología para predicción de sexo; estas proveen un significado más práctico en grandes cantidades de juveniles. Sin embargo, la exactitud de esta técnica depende de qué tan bien ha sido validado el radioinmunoanálisis, con muestras de tortugas de sexo conocido; además de que requiere validación mediante laparoscopia (Wibbels *et al.*, 2000, pp. 757-759; Merchant, 2000, p. 152). En el caso de utilizar únicamente el radioinmunoanálisis, este utiliza fluidos corioanltoideos y amnióticos; donde en los machos se encuentran concentraciones más altas de estradiol respecto a la testosterona, que es

significativamente menor en hembras; permitiendo predecir el sexo con una precisión aceptable. Sin embargo, se ha descubierto que en *L. olivacea*, no se encuentran ninguno de los metabolitos que puedan permitir una distinción del sexo en esta especie en particular; posiblemente sea porque la actividad endocrina en esta especie es menos avanzada en comparación con otras en las que ha sido probado este método (Merchant, 2000, p. 152).

En cuanto a métodos invasivos, que son los más certeros, tenemos la determinación histológica y la determinación morfológica de observación directa, la cual a su vez puede ser mediante un aclarado de gónadas (Merchant, 2000, p. 150). La determinación por estudios histológicos básicamente consiste en la fijación, deshidratación e inclusión de las gónadas en cera. Esto permite obtener secciones teñidas en láminas fijas que se observarán posteriormente en un microscopio. En este caso, las características histológicas en la estructura cortical y la organización de la médula, son las que permiten la distinción de ovarios y testículos (testis) (Wyneken *et al.*, 2007, p. 26). El problema de esta técnica es que es necesario tener un equipo adecuado de laboratorio o tener presupuesto suficiente para solicitar las láminas a un centro especializado (Merchant, 2000, p. 151).

La observación directa utilizando la técnica de aclaramiento de gónadas *in toto*; consiste en la disección del complejo urogenital y su fijación en formol al 10%; para luego separar la gónada del riñón y sumergirla en 100 ml de solución al 4% de formol y 5 ml de glicerol. Esto permitirá que mediante observación en el microscopio se puedan distinguir los testículos de los ovarios. Esta técnica al igual que la anterior, tiene la desventaja de que requiere un presupuesto suficiente y un equipo adecuado de laboratorio que permita su utilización (Merchant, 2000, p. 151).

Finalmente, tenemos la observación directa de gónadas *in situ*; esta es la técnica más sencilla, útil y accesible, además constituye una técnica relativamente exacta y confiable. Consiste en disectar la tortuga, extraer las vísceras que interfieren con la

visualización de las gónadas y observar estas directamente mediante estereoscopio de detalles y caracteres morfológicos. En este caso, las gónadas se observan como dos bandas claras a lo largo de la longitud de los riñones (mesonefros y metanefros) (Merchant, 2000, p. 150); en este caso, es ideal la verificación del sexo mediante pruebas histológicas, sin embargo, dada la inversión monetaria que esto implica puede hacerse una excepción. En su observación directa en estereoscopio, siguiendo caracteres observados en laparoscopia; en las gónadas pueden observarse caracteres distintivos de tamaño, color; forma, superficie, vascularización, y características específicas del ducto paramesonéfrico, entre otros (Wyneken *et al.*, 2007, p. 21).

### **2.3 *Lepidochelys olivacea* (Eschscholtz, 1829) en Guatemala**

Las tortugas son uno de los animales vivientes más primitivos de todos los vertebrados (CIT, 2004a, p. 4; CIT, 2004b, p. 2; Burnie & Wilson, 2011, p. 374), pertenecen al orden Testudines y se estima que en la actualidad existen 245 especies, distribuidas en 87 géneros y 12 familias (CIT, 2004b, p. 2).

Las tortugas marinas, por su cuenta, forman un grupo monofilético del suborden Cryptodira. Dentro de este se incluyen únicamente 2 familias, Cheloniidae y Dermochelyidae; donde la primera contiene las especies: *Caretta caretta*, *Chelonia mydas*, *Eretmochelys imbricata*, *Lepidochelys kempii*, *Lepidochelys olivacea*, *Natator depressus*; mientras que la segunda únicamente a la especie *Dermochelys coriacea* (Meylan y Meylan, 2000, p. 3).

En el continente americano se encuentran 6 especies, siendo *N. depressus* la excepción. En Guatemala, como en el resto de Centroamérica, tampoco se encuentra la especie *L. kempii*; de manera que solamente 5 de las 7 especies existentes se encuentran distribuidas en ambas costas. En su litoral Pacífico, por lo general,

únicamente las especies *D. coriacea* (Baule) y *L. olivacea* (Parlama) llegan a desovar a sus playas (CONAP, 2009, p. 23; Muccio, Ortiz, y Martínez, 2008, p. 22).

La especie *L. olivacea* es una especie circunmundial y habita especialmente aguas tropicales, subtropicales y templadas (Burnie & Wilson, 2011, p. 377; Beacham, Castronova, Freedman, & Sessine, 2001, Vol. 3, p. 483). Esta tortuga es la especie más pequeña, alcanzando una longitud del carapacho de aproximadamente 50-81 cm y un peso alrededor de las 90 libras (Beacham *et al.*, 2001, Vol. 3, p. 482; CIT, 2004b, p. 6; CIT, 2004a, p. 20). El caparazón es de coloración verde claro con manchas verdes más oscuras y con aletas anteriores más anchas (Burnie & Wilson, 2011, p. 377; Beacham *et al.*, 2001, Vol. 3, p. 482; Ernst & Barbour, 1989, p. 127).

Esta especie comúnmente se encuentra en hábitats donde hay una buena fuente de alimentación; por lo general prefiere aguas relativamente someras, aunque se ha visto que ocasionalmente se encuentra en mar abierto (Beacham *et al.*, 2001, Vol. 3, p. 482; Ernst & Barbour, 1989, p. 128). Para ello, las aguas costeras y pelágicas alrededor del continente americano ofrecen numerosos corredores migratorios y amplias zonas de alimentación para las 6 especies que lo habitan (CIT, 2004a, p. 20). Para esto, pueden bucear profundamente para alimentarse de crustáceos que habitan en el fondo o forrajean crustáceos que suben cerca de la superficie por la noche. La principal fuente de alimentación proviene de cangrejos y camarones, con suplementos de medusas, otros invertebrados pequeños y huevos de pescado (Beacham *et al.*, 2001, Vol. 3, p. 482).

Asimismo, migran de regreso hacia sus playas de reproducción para aparearse y desovar. Cada tortuga podrá reanidar entre 2 y 3 veces; y pone un aproximado de entre 95 y 120 huevos por puesta; con incubación de alrededor de 50 días (Pineda, 2003, p. 12; Chacón y Araúz, 2001, p. 11; Abreu, 1999, p. 6; Sánchez y otros, 2005, p. 15; CIT, 2008, p. 16; Montes, 2004, p. 6). En Guatemala, se ha realizado un estudio de frecuencia de anidación, siendo esta el número de veces que una tortuga regresa a

desovar en una misma temporada. En este caso, de las 60 parlamas marcadas en diferentes puntos de la costa del Pacífico del departamento de Escuintla, el 75% anidó solamente en una ocasión, el 12.5% anidó 2 veces y el 12.5% anidó 3 veces. Igualmente se midió la frecuencia de reanidación, es decir, el periodo de tiempo que transcurrió entre cada anidación; en este caso se estableció que 54.55% reanidó luego de dos semanas, el 18.18% luego de las tres semanas, y el 27.27% reanidó después de un mes y medio (Martínez y Calderón, 2011, p. 5).

En cuanto a la temporalidad, se ha documentado que esta especie anida en cualquier época del año, teniendo picos estacionales que varían de una playa de anidación a otra (Beacham *et al.*, 2001, Vol. 3, p. 482). En Guatemala, por la presencia de tortugarios, se sabe que visitan los 6 departamentos de la costa sur (Pacífico) (CONAP, 2009, p. 31; CONAP, 2008, p. 10; Montes, 2004, p. 20), los que, hasta el 2009, incluían a un total de 29 tortugarios: 2 en Jutiapa: El Jijote y La Barrona; 9 en Santa Rosa: Las Lisas, El Ahumado, Chapetón, El Rosario, Hawaii, Monterrico, El Banco, Candelaria y El Garitón; 9 en Escuintla: Conacaste, Puerto Quetzal, CONAPAC, El Naranja, El Paredón, Sipacate, Rama Blanca, La Laguna y Tecojate; 5 en Suchitepéquez: El Triunfo, Tahuesco, Churirín, Vida y Tulate; 2 en Retalhuleu: Aquamesa y El Chico; y 2 en San Marcos: Tilapa y Ocós (CONAP, 2009, p. 31; CONAP, 2008, p. 10; Muccio y otros, 2008, p. 30).

En cuanto a su densidad poblacional en el país, no se tiene mayor información ni estudios al respecto. Y aunque ya han sido realizados estudios importantes en el campo de la conservación de tortugas marinas en el país: Rivas (2002); Morales y otros (2003); Montes (2004); Martínez y Calderón (2011), entre otros; los trabajos y esfuerzos de conservación se enfocan más que todo a fortalecimiento y establecimiento de tortugarios (CONAP 2009, pp. 9, 30; Sánchez y otros, 2005, p. 17). Con esto, la información que ha sido generada es únicamente de la colecta, siembra y éxito de eclosión y de liberación de cada uno de los tortugarios; presentados en forma de informes anuales de temporada de anidación; y en algunos casos informes

nacionales de una o varias temporadas juntas (CONAP, 2008; CONAP, 2000; Sánchez y otros, 2005, p. 17; CONAP, 2009, p. 34).

En el caso de un informe que recopiló la información de 9 temporadas de anidación (1999-2008), se reportó la siembra de 661,652 huevos y se liberaron al mar 578,030 neonatos de cinco distintas especies. En este caso, se catalogó que la temporada 2007-2008 es la que ha tenido un mayor éxito, con un total de 109,930 huevos sembrados y 98,521 neonatos liberados al mar; lo que representó un 89.62% de éxito de eclosión. Además, se indicó que en la última temporada evaluada (2008), la parlama fue la especie con más cantidad de hembras arribando a las playas guatemaltecas a desovar; es decir, un 98.87% de presencia en esa temporada (CONAP, 2008, p. 31). Luego de esto, se ha reportado que en los tortugarios del Pacífico a nivel general, el éxito de eclosión se encuentra generalmente entre 88 y 92% (Muccio y otros, 2008, p. 35; CONAP, 2009, p. 36).

En cuanto a las poblaciones adultas, no se ha hecho ningún estimado exacto (Barker, 2006, p. 10). Aunque, según lo reportado por Montes (2004, p. 46), tienden a presentar una mayor abundancia durante los meses de julio a octubre, con un pico de anidación entre los meses de agosto y septiembre. Esto, es congruente con la temporada de anidación en el país, que generalmente abarca los meses de julio a noviembre, con picos en agosto y septiembre, y anidaciones esporádicas durante todo el año (Muccio y otros, 2008, p. 22; CONAP, 2009, p. 15).

En Guatemala, se ha calculado que en 254 km de costa del Pacífico, coexisten más de 16,000 hembras anidadoras (Muccio y otros, 2008, p. 22; CONAP, 2009, p. 23; Montes, 2004, p. 22). Esto se obtuvo, junto al apoyo de datos de tortugarios y conteos de huellas, mediante un monitoreo de 9 unidades muestrales de 6 km de largo cada una; aproximadamente el 21% de la costa. Las playas muestreadas fueron las ubicadas en las aldeas El Triunfo y Churirín en Suchitepéquez, Paredón y Conacaste en Escuintla, El Guayabo, Candelaria, Monterrico y Hawaii en Santa Rosa, y la playa

de la aldea La Barrona en Jutiapa (Montes, 2004, p. 22). Para el área Monterrico/Hawaii, se obtuvo que existe una frecuencia de anidación que puede ser de hasta el doble de otros sitios, incluyendo a La Barrona, El Rosario y Sipacate (Muccio y otros, 2008, p. 22; CONAP, 2009, p. 23; Montes, 2004, p. 22).

En un estudio se monitorearon 60 tortugas con el fin de determinar la frecuencia de anidación; sin embargo, también fue posible evaluar el estado de salud. En este caso, se logró determinar que el 16.33% reanida dentro de los 5.3 km de la playa de muestreo, y que solo el 4.08% mostró lesiones leves (dos tortugas). Esto se logró en base a datos biométricos de 49 tortugas, y según el largo del carapacho, se les diagnosticó un estado general de salud aceptable. A pesar de que a principios de la temporada se reportaron 48 parlamas muertas en la playa, posiblemente por enredo en artes de pesca; sin embargo, ninguna de estas era del estudio ya que no se encontraba marcada (Martínez y Calderón, 2011, pp. 5, 11).

Otra situación importante a tenerse en cuenta es la proporción de sexos en una nidada, y en cuanto a esta situación, se han realizado pocos estudios al respecto. En un caso, Rivas (2002), trabajó con huevos principalmente para evaluar el efecto de distintas profundidades sobre el éxito de eclosión; sin embargo, uno de los objetivos fue determinar los sexos de los neonatos mediante un análisis de las temperaturas registradas a las 6, 12 y 18 horas, en profundidades de siembra de 25, 35 y 45 centímetros; y en condiciones de no sombra y de 67.4% de sombra.

Los sexos, en el anterior caso, se determinaron en base a las temperaturas registradas durante al período termosensitivo (alrededor del segundo tercio del tiempo total de incubación) y bajo el valor de temperatura pivotal de 29.1°C; según lo reportado para esta especie, y donde los neonatos producidos bajo temperaturas menores a esta tienden a ser machos; y mayores, tienden a ser hembras (Rivas, 2002, pp. 32-35).



Los resultados indicaron que existe una tendencia a producir hembras, pues las temperaturas se mantuvieron sobre la temperatura pivotal en las 3 profundidades. En el caso del tratamiento de no sombra: para la de 25 cm se registró un promedio de 31.4°C (rango = 26.6°C – 33.9°C), en la de el de 35 cm fue de 31.22°C (rango = 27°C – 33.5°C), y en la de 45 cm fue de 32.05°C (rango = 27.8°C – 34.7°C). Por el otro lado, en el tratamiento de 67.4% de sombra: la profundidad de 25 cm registró un promedio de 33.6°C (rango = 28.8°C – 36°C), la de 35 cm, de 33.6°C (rango = 28.8°C – 35.5°C), y la de 45 cm registró un promedio de 33.42°C (rango = 28.9°C – 35°C) (Rivas, 2002, p. 40).

En este estudio se concluyó que, dado que aunque la sombra es una variable que tiende a disminuir la temperatura produciendo una mayor cantidad de machos; ésta sólo reguló el exceso de temperatura producido durante los meses del estudio (septiembre-noviembre) y con un éxito de eclosión elevado, produjo un mayor porcentaje de hembras. Esta situación llevó a la autora a sugerir la realización de estudios similares durante las épocas de invierno (junio-agosto) para observar si existe una mayor producción de machos (Rivas, 2002, p. 48).

En 2003 se realizó un estudio, esta vez con el fin específico de estimar la proporción sexual de neonatos de parlama en tortugarios guatemaltecos en el Pacífico; lográndolo a través de visitas periódicas a 11 tortugarios ubicados en los departamentos de Suchitepéquez, Escuintla, Santa Rosa y Jutiapa. En estos se midieron diariamente datos de temperaturas a las 6, 12 y 18 horas. Con el fin de abarcar ambas temporadas (lluviosa y seca), se realizó durante todo el período que duró la temporada de anidación en el país para 2002-2003 (julio a diciembre) (Morales y otros, 2003, pp. 61-62).

Para la estimación estadística de las proporciones de sexos, se trabajó en base a la tabla de Zar en la que 0.5 equivale a una proporción de 50%. Además, se analizó el comportamiento en ambas épocas, seca y lluviosa, mediante pruebas de Kolmogorov-

Smirnov, como contraste de similaridad de distribuciones y con un nivel de significancia 5%. Asimismo, se realizó un dendrograma de Euclides para analizar y representar gráficamente el contraste entre las variables de manejo y los resultados obtenidos en los 11 tortugarios evaluados (Morales y otros, 2003, p. 62).

Los resultados individuales de este estudio, en cuanto a la estimación de la proporción de sexos de neonatos liberados, reportaron una gran variabilidad en cada tortugario, donde los valores se mantuvieron en un rango de 0.01% - 76.73% de machos, y esto indicó que las relaciones proporcionales y específicas en cada tortugario son producto del plan de manejo aplicado en cada uno (Morales y otros, 2003, p. 63), considerando que cada tortugario es manejado de diferente manera (CONAP, 2000, p. 4). En general, la proporción de machos y hembras estimada utilizando los valores totales de los 42,658 neonatos liberados por los 11 tortugarios, resultó en una proporción 1:3, donde 10,597 (25.34%) fueron machos y el 32,061 (74.66%) fueron hembras; según su tendencia a mantener sus temperaturas de incubación sobre los 29.13°C, temperatura pivotal reportada por Ackerman (1997) para esta especie (Morales y otros, 2003, p. 63).

#### **2.4 Los tortugarios como estrategia de conservación con anotaciones respecto al caso de Guatemala**

El estado de conservación se refiere a la condición en la que se encuentra una especie o población, el cual deriva de una serie de características (Abreu, 2001, p. 107). La evaluación del estado de conservación se basa principalmente en el análisis de tendencias poblacionales que presente la especie o población en cuestión, tomando en cuenta también el estado de su(s) hábitat(s) crítico(s), así como su distribución (Abreu, 2001, p. 107; Eckert, 2000, p. 6). De manera que cualquier plan de conservación para tortugas marinas debe promover la supervivencia de sus poblaciones a largo plazo, así como la recuperación de poblaciones y la protección de

hábitats críticos, integrando a ello el bienestar y las necesidades de las comunidades humanas con las que interactúan estas especies (Eckert, 2000, p. 6).

En Guatemala se han protegido a las tortugas marinas desde hace 40 años, a través de programas de conservación que se han basado en el uso de viveros llamados tortugarios, situados en distintos departamentos del país; en los cuales los huevos se reubican a áreas protegidas de las playas y, al nacer, los neonatos son liberados al mar (CONAP, 2009, pp. 9, 30; Rivas, 2002, p. 3; CONAP, 2000, p. 3). Hasta la actualidad, la conservación y permanencia de las tortugas marinas en el país dependen en gran medida, del buen manejo y funcionalidad de los tortugarios (CONAP, 2009, pp. 9, CONAP, 2000, p. 4), donde la mayor parte de éstos cuentan con el trabajo de pobladores de las comunidades, ya que los huevos que son incubados en estos viveros son donados por recaudadores locales (CONAP, 2009, pp. 9, 30).

Existen manuales técnicos para la operación de tortugarios, sin embargo, se carece de datos que muestren si todos los tortugarios están dando un manejo apropiado a los huevos (CONAP, 2009; Muccio y otros, 2008, p. 35). Dado que es probable que Guatemala sea el país que tiene más tortugarios por kilómetro de litoral que cualquier otro país del mundo (CONAP 2009, p. 30; CONAP, 2000, p. 7) y se continúa promoviendo la creación y establecimiento de tortugarios en todo el país (CONAP, 2009, pp. 28-31); es fundamental realizar investigaciones que respalden las medidas de conservación.

Por otro lado, y con el fin de aportar información indispensable para el cumplimiento de los propósitos de conservación de tortugas marinas, es necesario conocer las razones de sexos que se generan en los nidos; pues existe el riesgo de sesgo hacia un sexo, y esto podría aportar al declive de la especie por disminución de su variabilidad si hay una mayor proporción de hembras que de machos (Girondot, Fouillet, & Pieau, 1998, p. 353). Esta situación ha sido probada mediante un modelaje de efectos a largo plazo de la introducción en una población de sexos fuertemente

sesgados hacia hembras, 20 hembras por 1 macho, durante 30 años. En este caso, se observó que una vez detenida la manipulación, tanto la proporción de sexos primaria como la proporción sexual en adultos se tornó sesgada hacia machos (Girondot *et al.*, 1998, pp. 353-354).

Por razones como esta, recomendaron que en lugar de pensar en manipular la proporción de sexos, los programas o planes de conservación deben enfocarse en la protección de los animales como tal, sus hábitats y sitios de anidación para mejorar las condiciones de incubación natural, como una alternativa más apta y viable a realizar intentos de manipulación de las proporciones de sexos. Además de tomar en cuenta que debe proveerse protección contra los depredadores y la explotación humana, pues es importante que los huevos recién puestos y que están claramente expuestos a riesgos, sean relocalizados entre sitios de anidación, en lugar de hacia tortugarios (Girondot *et al.*, 1998, pp. 353-354, 361).

Y es que no debe olvidarse que los tortugarios deben ser utilizados como un último recurso y únicamente cuando la protección de huevos de tortugas marinas *in situ* (nidos naturales) es realmente imposible; estableciéndose solo como una medida temporal y paliativa mientras se continúan los esfuerzos que permitan resolver las amenazas fundamentales (Mortimer, 2000, p. 1999; CIT, 2007, p. 4; Chacón, Sánchez, Calvo, y Ash, 2007, pp. 42, 49; Hardham, 2002, p. 5; CIT, 2008, p. 37; Schroeder, 2001, p. 127). Además, sin un monitoreo cuidadoso e intervención en los viveros basado en estudios de esta naturaleza, la proporción sexual de los neonatos se mantiene fuertemente sesgada; invalidando en este punto esta o cualquier otra de las medidas de conservación adoptadas (Mortimer, 2000, p. 203).

Los tortugarios consisten básicamente en la construcción o siembra de nidos artificiales dentro de recintos protegidos o viveros, donde los nidos se colocan uno a la par del otro, formando filas a lo largo de un terreno aislado de las condiciones naturales de la playa (CIT, 2008, p. 33; Chacón y otros, 2007, p. 48). Estos deben de

estar ubicados tan cerca de la playa de anidación como sea posible, con el fin de minimizar el trauma físico que puedan sufrir los huevos durante el transporte; y también para poder proporcionarle a los embriones y las crías la oportunidad de realizar la impronta sobre la playa de anidación; y por último, facilitar la liberación de las crías (Mortimer, 2000, p. 200; CIT, 2008, p. 33).

Para la selección del sitio, se debe considerar que todas las especies de tortugas marinas anidan sobre la línea de marea alta, de manera que el área para el vivero deberá estar por lo menos a una distancia vertical de 1 m sobre el nivel de la marea alta, y así impedir que el agua subterránea inunde los huevos (Mortimer, 2000, p. 200). En cuanto a su estructura y diseño, muchos autores a su criterio consideran diferentes condiciones apropiadas para los nidos artificiales. Mencionan que el tortugario puede ser cercado con malla o cadenas, además llevar malla fina y/o alambre de púas, para así poder evitar la entrada de cangrejos y demás depredadores pequeños (Mortimer, 2000, p. 200; Ahmad *et al.*, 2004, p. 45; Chacón y otros, 2007, pp. 49, 51). De igual manera, para evitar depredadores excavadores se ha recomendado enterrar una tira de red de hilo plástico de 1–2 metros de ancho a una profundidad de al menos 0.5 m a lo largo de la parte interna de la cerca (Mortimer, 2000, p. 200). Finalmente, para evitar la infección de hongos y bacterias, es necesario no utilizar el mismo sitio para instalar el vivero durante dos temporadas consecutivas (Mortimer, 2000, p. 200; Girondot, comunicación personal, abril 26, 2012).

Idealmente, para proporcionarle la profundidad adecuada a los nidos, se deberá medir la profundidad de los nidos naturales y replicar esta en el vivero (Mortimer, 2000, p. 201). En el caso de Guatemala, CONAP (2009, p. 36) sugiere la mayoría de las recomendaciones anteriores, con algunas modificaciones y adiciones como el que el nido se excave en forma de cántaro y que tenga un fondo más ancho de 25 centímetros, y una profundidad de 32-45 centímetros para un nido completo de parlama, y de 30-35 centímetros para nidos de 20 a 40 huevos.

## **2.5 La Reserva Natural de Usos Múltiples Monterrico (RNUMM) y la conservación de las tortugas marinas**

La RNUMM es un área protegida que se ubica en la Costa del Pacífico. Actualmente se encuentra administrada por el Centro de Estudios Conservacionistas – CECON-, de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Algunos de sus objetivos incluyen: la creación programas de reproducción biológica en cautiverio de especies nativas en peligro de extinción, que sirvan a su vez de instrumentos didácticos para el desarrollo de programas de educación ambiental; elaborar, promover y aplicar programas de educación ambiental en la población residente y visitantes; desarrollar programas orientados a la conservación de la diversidad biológica representada en la Reserva; entre otros (CECON, 1999, pp. 7, 9, 10, 87).

La Reserva, además de propiciar la conservación de ecosistemas de flora y fauna propios del lugar; posee un proyecto en donde la conservación, reproducción, educación y repoblamiento de tortugas marinas representa un estandarte clave de dicha Reserva. Para esto, la metodología que se ha adoptado es la de vivero o anidaje artificial para eclosión exitosa de huevos. Considerando que este tipo de método garantiza una gran cantidad de neonatos liberados al mar, lo que supone aumentar las poblaciones de las tortugas *L. olivacea* y *Dermochelys coriacea*. Sin embargo, la especie *L. olivacea* es la que más se maneja, ya que las poblaciones de *D. coriácea*, se han visto gravemente disminuidas; pues el último reporte que data del 2010, informa de un solo nido y que fue inviable en el 100% de los huevos sembrados (Castellanos, comunicación personal, septiembre, 2010).

Esta Reserva fue fundada por Decreto el 16 de diciembre de 1977 (CECON, 1999, p. 10), pero fue hasta 1993 que se nombra como encargada a la Lic. Aura Zuchini, quien realizó las primeras investigaciones sobre el sexo de neonatos nacidos en los nidos artificiales. Lastimosamente, estos datos no se encuentran publicados, por

lo que no ha sido posible conocer los resultados. De cualquier manera, es hasta el 2001 que se publica el “Primer informe anual de datos de incubación y eclosión de huevos de tortugas marinas de la RNUMM” (Flores, 2007).

Desde entonces se han realizado estudios sobre el manejo de huevos y su éxito de eclosión, utilizando datos teóricos poco relevantes para mejoras en la metodología actual, ya que se tienen como objeto principal el aumento del éxito de eclosión. Uno de estos, fue la evaluación del efecto de la profundidad sobre el éxito de la eclosión de los huevos de parlama, en condiciones controladas (Rivas, 2002). En este caso, se hizo inferencias sobre una metodología que podría ser más funcional dentro de la Reserva, pues al sembrar los huevos a profundidades de 25, 35 y 45 centímetros; y bajo distintas condiciones de sol y sombra (Rivas, 2002, p. 32); se pudo delimitar en su criterio las que serían más adecuadas para el lugar. Algunas de sus recomendaciones incluyeron monitorear los nidos desde los inicios de las temporadas, llevar a cabo una campaña de concientización sobre la importancia que tienen las tortugas marinas para el desarrollo y beneficio de la sociedad y llevar a cabo más investigaciones relacionadas; entre otras (Rivas, 2002, p. 52).

Otro estudio realizado fue en cuanto a la estimación de la abundancia relativa de tortugas marinas que anidan en las costas de Guatemala (Montes, 2004); y aunque no fue un estudio realizado exclusivamente en la Reserva, parte de los resultados son relevantes y útiles para la RNUMM ya que se incluyó a Monterrico, determinándola como una de las playas con mayores índices de abundancia; aproximadamente 0.04 tortugas observadas por hora (Montes, 2004, pp. 29, 56). Además, fue considerada por la autora como una de las más representativas de la población de *L. olivacea* (Montes, 2004, p. 56).

### 3. JUSTIFICACIÓN

Considerando que la comprensión de la biología de la reproducción y la anidación en tortugas marinas es indispensable para la recuperación y el manejo de sus poblaciones, así como para el diseño del programa de conservación (Richardson, 2000, p. 9), en Guatemala es necesario realizar estudios de esta naturaleza. Desde 1971, se iniciaron las estrategias de conservación de tortugas marinas, las cuales se basan en el establecimiento de tortugarios situados en distintos departamentos del país (CONAP, 2009, p. 9; CONAP, 2000, p. 3).

Uno de los factores importantes a tomar en cuenta cuando se habla de conservación de tortugas marinas por medio de viveros o tortugarios, es el conocimiento de la proporción de sexo liberada por cada uno; ya que brinda un punto de comparación para evaluar los efectos de las técnicas de conservación (Godfrey y Mrosovsky, 2000, p. 156). Es decir, la proporción de sexos actúa como un indicador que permite evaluar los efectos de las técnicas aplicadas en cada país, ubicando cada tortugario y su manejo de nidadas, y asumiendo siempre el principio de una proporción 1:1 (Morales y otros, 2003, p. 65).

Debido a la importancia de hacer estudios para conocer la proporción sexual de neonatos en nidos, como un elemento importante para la evaluación del manejo de los tortugarios, en Guatemala se realizó un estudio que brindó un estimado de la proporción de sexos de *L. olivacea* en base a las temperaturas de incubación y utilizando la temperatura pivotal (29.13°C) para estimar cada sexo (mayores temperaturas producen hembras y menores producen machos). Los resultados fueron de 1:3, donde 10,597 (25.34%) fueron machos y 32,061 fueron hembras (74.66%) (Morales y otros, 2003, p. 66). Sin embargo, el mismo estudio recomienda utilizar otros métodos más directos para conocer con mayor certeza la proporción de sexo de tortugas generadas en los tortugarios (Morales y otros, 2004, pp. 61-66).



Considerando que a la especie *L. olivacea* le toma alrededor de 10 años para llegar a una etapa de madurez sexual (Abreu, 1999, p. 6; Chacón y Araúz, 2001, p. 11) y que los porcentajes de individuos que llegan a esta etapa son bajos, es fundamental evaluar y elaborar algunas recomendaciones para el manejo de los nidos. Investigaciones como la que aquí se propone son claves para evidenciar y comprobar si los tortugarios están cumpliendo con la función de generar proporciones de sexo iguales; como uno de los aportes que deben hacerse a la conservación de las tortugas marinas, de manera que se comiencen a sentar cimientos que permitan a los tomadores de decisiones, inferir sobre las metodologías de conservación de tortugas marinas, reevaluando además los tortugarios y sus formas de manejo.

La proporción de sexo se estimó mediante un experimento para crear un modelo predictivo de la proporción de sexos en función de los tiempos de incubación, que presuntamente se validaría utilizando datos de los nidos sembrados por el personal del tortugario de la RNUMM, en condiciones regulares. De manera que junto a más estudios de manejo, se puedan hacer inferencias respecto al uso de tortugarios como herramienta de conservación de tortugas marinas, considerando que en Guatemala es la única metodología (CONAP, 2009, p. 30).

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo General**

- Evaluar la relación entre la duración del período de incubación y la proporción de sexos en las tortugas marinas *Lepidochelys olivacea*.

### **4.2 Objetivos Específicos**

- Establecer experimentalmente la relación entre la duración del período de incubación y la proporción de sexos; adicionalmente las relaciones entre temperatura y la tasa de desarrollo embrionario; y la proporción de sexos y el período termosensitivo.
- Comparar la proporción de sexos de las tortugas que se genera bajo las condiciones actuales de manejo del tortugario de la RNUMM, con las predicciones hechas a partir de modelos basados en datos experimentales.
- Presentar recomendaciones para el desarrollo de un procedimiento de manejo de nidos.

## **5. HIPÓTESIS**

La duración del período de incubación puede usarse para predecir la proporción de sexos en las tortugas marinas *Lepidochelys olivacea*.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1 Materiales

- Huevos de parlama (*L. olivacea*)
- *Dataloggers*
- Bolsas plásticas pequeñas
- Hilo de pescar
- Cuadros de hojalata de 50 cm<sup>2</sup>
- Estacas de alambre galvanizado
- Cinta métrica (20 m)
- Flexómetro (5 m)
- Cámara fotográfica
- Linternas (cabeza y mano)
- Cilindros de malla fina
- Pentobarbital sódico
- Alcohol 70%
- Frascos
- Guantes de látex y kit de disección
- Estereoscopio
- Vernier

### 6.2 Diseño experimental

Para este estudio se incubaron 1600 huevos de *Lepidochelys olivacea*, distribuidos dentro de 80 nidos (20 huevos por nido): 40 nidos en un recinto experimental diseñado exclusivamente para ellos y 40 nidos en el tortugario de la RNUMM, en sus condiciones cotidianas de manejo. Los nidos en el recinto

experimental se sembraron en diferentes condiciones de exposición a la luz solar y profundidad, como se explica en la siguiente sección. Para cada nido se midieron: (1) la temperatura dentro del nido en intervalos de 3 horas, desde la siembra hasta alrededor de 3 días después de la eclosión de las tortugas, (2) la duración del período de incubación (tiempo desde la siembra hasta la emergencia del primer neonato), (3) proporción de sexos (número de machos/número de hembras) utilizando 10 tortugas por nido, (4) el éxito de eclosión de los nidos (porcentaje de huevos que eclosionaron).

Los datos generados en los nidos del tortugario servirían para calibrar el modelo de la relación entre periodo de incubación y proporción de sexos que sería generado con los datos de los nidos experimentales.

Debido a que el área del tortugario de la RNUMM estaba en remodelación durante la realización del estudio, los nidos de tortugario fueron sembrados en el recinto provisional situado en la playa pública, frente a una parte de la RNUMM y del Centro de Estudios del Mar y Acuicultura (CEMA). Este recinto se encontraba ubicado, desde el extremo más próximo a la marea, a 54.6 metros de la marea baja y 29.6 metros de la marea alta (Anexos: Figura No. 1). Además de esto, se encontraba ubicado en un terreno irregular e inclinado, y el sustrato en su interior consistía de una mezcla de arena muy fina con suelo con partículas orgánicas, en lugar de arena de mar (Girondot, comunicación personal, abril 26, 2012). En el lado oeste, se encontraba a una distancia de 1.7 m de la vegetación; en sus lados norte y este, estaba rodeado de vegetación. Además de esto, se observó vegetación creciendo dentro del recinto en los lados norte y este.

Por otro lado, los nidos experimentales se ubicaron en un recinto ubicado a 1.1 metros frente al recinto provisional del tortugario de la RNUMM (lado norte); sobre la playa pública, a 45 metros de la marea baja y 20 metros de la marea alta; desde el extremo más próximo a la marea (Anexos: Figura No. 1). Se encontraba éste en su

lado oeste, a 13.1 metros de la vegetación, y su esquina noreste se situaba a más de 3 metros de la vegetación.

Los huevos para este estudio se compraron a un precio competitivo en un período de 5 días; a Q.25.00 la docena, es decir, Q.5.00 más caro que el precio al que se estaba comprando la docena en el mercado (en ese momento). La compra de los huevos, así como el trabajo y experimento fue realizado con el apoyo, aprobación, autorización y licencia de la Sección de Hidrobiológicos, el Departamento de Vida Silvestre, el Departamento Jurídico y la Dirección Técnica General; del Consejo Nacional de Áreas Protegidas (CONAP).

Una vez comprados los huevos, se sembraron en el tortugario: 7 nidos el primer día, 8 el segundo, 16 nidos el tercer día, 8 el cuarto y solamente 1 el quinto día; los cuales fueron sembrados por parte del personal del tortugario en las condiciones en que lo realizan comúnmente; anotando las características de cada nido evaluado (profundidad y ancho) (Anexos: Cuadro No. 1). Por otro lado, en el experimento, se sembraron 6 nidos el primer día y 34 el siguiente; anotando y especificando las características de cada uno (Anexos: Cuadro No. 2).

### **Condiciones de siembra de los nidos experimentales**

Los nidos experimentales debían presentar una variación en temperatura que permitiera obtener variación en la proporción de sexos. Para lograr esta variación se evaluó inicialmente el uso de cubiertas de láminas de aluminio sobre cada nido, pintadas con colores que presuntamente podían influenciar a la absorción de energía solar. Se elaboraron 32 láminas de 45 x 45 cm, y se pintaron 4 de cada una, con los siguientes colores: negro, gris oscuro, gris claro y blanco; los 8 nidos restantes no llevarían lámina y actuarían como un control (natural).

Además de esto, se contempló la posibilidad de que todos los nidos se feminizaran por consecuencia de una temperatura ambiente particularmente caliente. Por ello, con el fin de limitar el riesgo de tener sólo nidos unisexuales, se decidió sembrar los 8 nidos en cada categoría de cubierta de aluminio, a 2 diferentes profundidades. Considerando que la profundidad promedio de los nidos naturales de *Lepidochelys olivacea* es de 50 cm (Girondot, comunicación personal, agosto 28, 2011), las profundidades utilizadas fueron de 40 cm y 60 cm; esperando que los nidos más profundos fueran menos calientes que los menos profundos. Esto permitió tener 4 nidos por tratamiento (categoría de cubierta y profundidad).

Además de las láminas, se decidió sembrar 20 nidos expuestos al sol y 20 nidos bajo tela de sarán (Anexos: Figura No. 2). Dentro de los 20 nidos en cada grupo había:

- 4 nidos a 40 cm y 4 nidos a 60 cm, ambos sin cobertura de lámina.
- 4 nidos a 40 cm y 4 nidos a 60 cm, ambos con lámina blanca.
- 4 nidos a 40 cm y 4 nidos a 60 cm, ambos con lámina negra.
- 4 nidos a 40 cm y 4 nidos a 60 cm, ambos con lámina gris claro.
- 4 nidos a 40 cm y 4 nidos a 60 cm, ambos con lámina gris oscuro.

Para probar la funcionalidad y efectividad del experimento en cuanto a la forma de crear variación de temperaturas previo a la siembra de los huevos en los nidos experimentales, se hizo una calibración de las temperaturas creadas por las condiciones experimentales de siembra sin utilizar huevos. La calibración consistió en sembrar dispositivos en cada nido para medir la temperatura de tipo *datalogger* (ver detalles en la siguiente sección) por un periodo de 5 días. Esto también permitió comprobar la funcionalidad de dichos *dataloggers*. La calibración permitió obtener la temperatura media y desviación estándar, por tratamiento, de cada uno de los nidos del experimento.

Los resultados de la calibración demostraron que la sombra fue la principal fuente de variación de temperatura en los nidos, mientras que las láminas de colores y

la profundidad no tuvieron efectos significativos (Anexos: Cuadro No. 3). A pesar que las láminas de colores no contribuyeron a disminuir la temperatura, no se removieron y sirvieron como marcadores de la ubicación de los nidos experimentales.

Los resultados de la calibración motivaron a tomar medidas correctivas en el diseño experimental, considerando que la sombra era muy importante para crear variación de temperaturas. Por esta razón, se decidió utilizar sombra con palma de coco a aproximadamente 1.70 metros de altura; generando un ambiente con menor temperatura a la producida bajo sol. Luego de esto se procedió a hacer la siembra de huevos, bajo las nuevas condiciones de sombra y conservando el uso de las dos diferentes profundidades ya que esto simula parte de la variación natural de puesta de huevos por las hembras.

En resumen, se trabajó con los siguientes 5 tratamientos: cuatro dentro del experimento y el quinto fue el tratamiento tortugario. Los tratamientos del experimento consistieron en una combinación entre sombra y profundidades. De esta manera, los tratamientos fueron: (1) experimento con sombra a 40 cm de profundidad (ExpSombra40); (2) experimento con sombra a 60 cm de profundidad (ExpSombra60); (3) experimento sin sombra a 40 cm de profundidad (ExpSol40); (4) experimento sin sombra a 60 cm de profundidad (ExpSol60); y (5) tortugario (Tortugario).

### **Medición de las variables en los nidos**

El monitoreo de la temperatura de los nidos se realizó con un dispositivo termosensitivo de alta precisión (*datalogger*), iButton® DS1922L, con 8kB de memoria *Datalog*, una precisión de  $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ , de  $-10^{\circ}\text{C}$  a  $+65^{\circ}\text{C}$ , con corrección de software; y un rango operacional de  $-40^{\circ}\text{C}$  a  $+85^{\circ}\text{C}$ . Para su lectura, se utilizó el adaptador para puerto USB No. DS9490B y el *1-Wire® Software Authorization Kit*, se



ejecutó con *OneWireViewer* Versión 0.3.15.50. Todo el material mencionado es de la marca *Maxim Integrated Products*, y fue prestado por el Dr. Marc Girondot.

Las temperaturas fueron registradas cada 3 horas durante todo el período de incubación. Para ello, se introdujo dentro de cada nido, un *datalogger* y una etiqueta con la información de las características del nido (número, profundidad, fecha y hora de siembra y tipo de tratamiento, en el caso del experimento). El *datalogger* y la etiqueta de identificación fueron introducidos dentro de una bolsa plástica atada a un hilo de pescar de aproximadamente 70 cm; el cual se encontraba atado en su otro extremo, con otra bolsa que contenía una réplica de la etiqueta de identificación introducida junto al *datalogger*; esta segunda bolsa llegaba a la superficie funcionando como guía de la posición del nido.

El período de incubación se delimitó como el tiempo que transcurre desde la siembra hasta la emergencia del primer neonato. Es decir, el período entre el inicio de la incubación y la emergencia de las crías, se consideró como la duración total de incubación.

Dado que las temperaturas utilizadas serían hasta la primera emergencia de una cría, fue necesario estar pendiente para obtener la fecha de emergencia y con ello la duración del período de incubación. Y considerando que éstas suelen ser repentinas, luego de 45 días de la siembra, se realizaron monitoreos en intervalos de 1 hora durante el día (de 8 a 18 horas) y 2 horas durante la noche (de 20 a 6 horas), hasta observar la primera emergencia en cada uno de los nidos) (Anexos: Cuadros No. 4 y 5), haciendo un total de 17 monitoreos por día (11 observaciones en el día y 6 durante la noche), del 30 de diciembre de 2011 al 19 de enero de 2012; un total de 20 días, es decir, 340 monitoreos a los nidos (220 diurnos y 120 nocturnos).

Al emerger el primer neonato, se debía tomar muestra de 10 neonatos por nido. Los neonatos restantes, en el caso del tortugario, fueron colectados por personal de la

Reserva para formar parte de sus actividades cotidianas de liberaciones públicas y comerciales de neonatos. En cuanto a los neonatos restantes del experimento, no hubo retención, a manera de que los neonatos pudieran movilizarse e ingresar al mar siguiendo su proceso natural, sin intervención humana.

Luego de un mínimo de 3 días desde la emergencia del primer neonato (tiempo esperado de finalización de emergencias), se exhumó cada nido para obtener el éxito de eclosión. En este proceso se recuperó el *datalogger*.

Las exhumaciones consistieron en excavar el nido para obtener y caracterizar los restos. Lo obtenido se registró y caracterizó según lo sugerido por Miller (2000, pp. 146-148); siguiendo a su vez los pasos para el cálculo de éxito de eclosión.

El mismo autor define al éxito de eclosión, como “el número de crías que eclosionan o rompen su cascarón (igual al número de cascarones vacíos en el nido)” (Miller, 2000, p. 148); y sugiere la clasificación de los restos (caracterización) de la siguiente manera (Miller, 2000, pp. 146-148):

- Número de Cascarones (C).
- Número de neonatos encontrados vivos dentro del nido (V).
- Número de neonatos muertos en el nido (M).
- Número de Huevos Sin Desarrollo Aparente (HSDA).
- Número de Huevos No Eclosionados (HNE).
- Número de Embriones a Término No Eclosionados (ETNE).
- Número de Huevos Depredados (D).

Los datos colectados se ingresaron a la fórmula propuesta por Miller (2000, p. 148) para el cálculo del porcentaje de éxito de eclosión. La fórmula es:

$$\text{Éxito de Eclosión (\%)} = \frac{\text{\#cascarones}}{\text{\#cascarones} + \text{\#HSDA} + \text{\#HNE} + \text{\#ETNE} + \text{\#D}} \times 100$$

Estos cálculos se realizaron en programa Microsoft Excel (Microsoft Office Excel, 2012), y se realizaron tanto por nidos como por tratamiento. De igual manera se obtuvo un porcentaje de éxito de eclosión total para los 80 nidos; para esto se hizo la sumatoria individual de cada tipo de resto, y se ingresó a la fórmula.

### 6.2.1 Determinación del sexo y medición de los neonatos

Para la determinación del sexo es necesario sacrificar a los neonatos, pues la determinación debe ser embriológica o histológica de las gónadas. En este caso, se realizó embriológicamente utilizando un estereoscopio.

Para el sacrificio, se utilizó 0.1 mililitro de Pentobarbital sódico inyectado intraperitonealmente (La Eutanasia en los Animales de Laboratorio, 1990, p. 50). Una vez muerto, inmediatamente, se realizó una incisión longitudinal ventral en el carapacho del espécimen, de manera que el alcohol al 70% penetre todos los órganos, y se fijen tanto externa como internamente. Los neonatos fueron colocados en un frasco de vidrio por nido y etiquetado, para su posterior transporte y sexado en el laboratorio.

Una vez en el laboratorio, se tomaron uno a uno los especímenes y se les midió el carapacho utilizando un vernier con escala en milímetros; para el cálculo de la tasa de desarrollo embrionario. Luego, se les extrajeron los intestinos y los órganos y

pedazos de plastrón que interfieran con la observación de las gónadas. Las gónadas se posicionan en la parte ventral baja pegadas al carapacho (Girondot, comunicación personal, agosto 25, 2011). Una vez limpias las tortugas, usando un estereoscopio se buscaron las estructuras gonadales descritas en Wyneken *et al.* (2007, pp. 21, 23, 25), para determinación de sexo mediante laparoscopia. Sin embargo, se utilizó como criterio, lo expuesto por Girondot & Pieau (comunicación personal, mayo 18, 2012), quienes puntualizaron que al eclosionar, los ovarios normalmente se observan más largos que los testículos, al menos la mitad de los mesonefros; tienen forma de burbuja y no se observan por transparencia, estructuras internas. De igual manera, los testículos, al principio tienen el mismo largo que los ovarios, pero ambos extremos se tornan muy reducidos y al final de la incubación pueden observarse como estructuras cuasi-redondas o un poco más largas pero con ambos extremos muy alargados y visibles (Anexos: Figura No. 3).

Siguiendo lo descrito en Wyneken *et al.* (2007), como apoyo a la determinación de sexo, se buscaron los 9 caracteres principales que recomiendan para identificación de gónadas: tamaño, color, forma, superficie, vascularización, forma y posición de unión a otras estructuras, tamaño, motilidad y presencia de lumen en el conducto paramesonéfrico (Wyneken *et al.*, 2007, p. 21). Mencionan que la tendencia de los testículos a ser compactos y fusiformes, con poca motilidad y una coloración que varía de amarillo a cremosa. En cuanto a las características de la superficie, aparentan ser lisos o tersos, o reticulados, dependiendo del grado de diferenciación de los túbulos seminíferos (Wyneken *et al.*, 2007, p. 23). En su grado de unión a la pared celómica, varía en que éstos se unen fuertemente a lo largo de las líneas medias longitudinales por un muy corto mesorquio (pliegue del peritoneo) (Wyneken *et al.*, 2007, p. 25).

Según los autores, los ovarios pueden observarse como estructuras flexibles y doblados sobre sí mismos, además aparentan tener un área más grande en comparación con la de los testículos; y su coloración, la cual puede observarse

también en testículos, es de tipo cremosa (Wyneken *et al.*, 2007, p. 23). En cuanto a la superficie, tienden a ser tersas pero con células corticales que dan una apariencia granular; dependiendo del grado de desarrollo, pueden tener una alta cantidad de gránulos de gran tamaño (más de 40); los cuales en ocasiones muy excepcionales podrían observarse en testículos. En estudios histológicos de ovarios, se ha observado que estos gránulos se deben al desarrollo de vasos linfáticos o de folículos; en observación por estereoscopio se observan como estructuras similares. En cuanto a su unión con las paredes celómicas, se observa mucho más variable que los testículos, donde en unos pueden encontrarse suspendidos por el mesovario longitudinalmente a lo largo de una orilla asimétrica y a lo largo del axis de la gónada; y en otros pueden encontrarse unidos a lo largo de la línea media (Wyneken *et al.*, 2007, p. 25).

Finalmente, sugieren tomar en cuenta características del conducto paramesonéfrico, estructura que se encuentra del lado lateral de cada gónada y riñón; donde en machos, por lo general se observa un lumen incompleto, y en la mayoría de hembras este puede carecer de un lumen obvio. En hembras, también es común observar una gónada con un conducto grande y móvil; en comparación con el de los machos que tiende a ser pequeño e inmóvil. Por otro lado, en ambos casos, puede identificarse una alta vascularización cuando los vasos sanguíneos se observan en toda la gónada, de tortugas recién sacrificadas. Aunque también ha sido observada una vascularización moderada en los casos donde los vasos son pequeños y están restringidos a solamente las extremos (puntas) de las gónadas; incluso, en los casos donde los vasos no contienen sangre y aparentan ser muy pequeños, se observa una baja vascularización dentro de la gónada y entre el mesovario (hembras) o el mesorquio (machos) (Wyneken *et al.*, 2007, p. 25).

### 6.2.2 Variables

En resumen, las variables obtenidas para cada nido fueron:

1. Tratamiento: experimental o tortugario.
2. La proporción de sexos: número de hembras/número total de neonatos disectados por nido
3. Largo del carapacho de cada neonato disectado (mm) (Anexos: Cuadro No. 4)
4. Serie de temperaturas tomadas cada 3 horas desde la siembra del nido hasta la emergencia de las crías (°C) (Anexos: Figura No. 4). A partir de estas series se obtuvieron:
  - a. Temperatura promedio a lo largo de la incubación
  - b. Temperatura mínima a lo largo de la incubación
  - c. Temperatura máxima a lo largo de la incubación
5. Porcentaje de éxito de eclosión
6. Duración del período de la incubación (días)
7. Duración del período termosensitivo (su cálculo se explica en la sección de análisis estadístico) (días)

Además, para los nidos experimentales:

8. Condición: con sombra o sin sombra
9. Profundidad: 40 o 60 cm

### 6.3 Análisis estadístico

#### Análisis de los efectos de los tratamientos sobre las variables medidas en los nidos

Para evaluar si hubo variación entre los nidos como consecuencia de los tratamientos, se realizó una serie de análisis, a continuación descritos, a las siguientes variables: temperatura promedio, temperatura mínima, temperatura máxima, duración del período de incubación y, duración del período termosensitivo (TSP).

Se inició con estadísticos descriptivos en los que se muestra la media por tratamiento y la variación alrededor de la media de: la temperatura promedio, temperatura máxima, temperatura mínima, duración del período de incubación y duración del período termosensitivo; expresadas por cada uno de los 5 tratamientos: Experimento bajo sombra a 40 centímetros de profundidad (ExpSombra40), Experimento bajo sombra a 60 centímetros de profundidad (ExpSombra60), Experimento bajo sol a 40 centímetros de profundidad (ExpSol40), Experimento bajo sol a 60 centímetros de profundidad (ExpSol60) y tortugario.

Posteriormente, se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) de una vía, sobre las cinco variables anteriormente descritas, para determinar si existieron diferencias en las condiciones de los nidos debido a los tratamientos. La hipótesis a evaluar para cada variable fue  $H_0: \mu_{\text{ExpSol40}} = \mu_{\text{ExpSol60}} = \mu_{\text{ExpSombra40}} = \mu_{\text{ExpSombra60}} = \mu_{\text{ExpTortugario}}$ . Luego, se evaluaron los supuestos de normalidad y homoscedasticidad para los residuos, utilizando el test de normalidad de Shapiro Wilk y el test de igualdad de varianzas de Levene. Estos tests demostraron que no se cumplían los supuestos del ANDEVA, por lo que fue necesario realizar un análisis de mínimos cuadrados generalizados (*generalized least squares analysis*). Este análisis no asume igualdad de varianzas y permite que las varianzas sean diferentes entre tratamientos (Zuur, Ieno, Walker, Saveliev, & Smith, 2009, p. 71).

También se realizó una regresión linear simple para determinar la relación entre la temperatura del nido y la duración del período de incubación. Finalmente, para evaluar la relación entre los tratamientos y el éxito de eclosión se utilizó una regresión logística. En este caso, se calculó la razón de posibilidades (RP) de éxito de eclosión entre pares de tratamientos. El número de cascarones vacíos que se encontraron en cada nido fueron considerados como número de éxitos, mientras que la suma de HSDA, HNE, ETNE y D, fue considerada como el número de fracasos. El supuesto de sobredispersión fue evaluado al dividir la desviación residual (*residual deviance*) dentro de los grados de libertad. Un valor alrededor de 1 como resultado de esta división se considera como indicador de ausencia de sobredispersión.

Todos los análisis se realizaron en R software (R Core Team, 2012).

**Relación entre la duración del período de incubación y la proporción de sexos y las relaciones entre temperatura y la tasa de desarrollo embrionario, y la proporción de sexos y el período termosensitivo.**

Partiendo de las ideas de que el sexo de las tortugas es dependiente de la temperatura de incubación; y que temperaturas bajas producen machos y altas producen hembras; se puede afirmar que la proporción de sexo es dependiente de la duración de la incubación. Cuando la temperatura de incubación es baja, la duración de la incubación será más prolongada y se obtendrán machos; y cuando las temperaturas de incubación sean altas, la duración de la incubación será corta y se obtendrán hembras. Si se hace un trazo de la proporción de hembras (plano Y) sobre la duración de la incubación (plano X), la curva tendrá una forma de “S”. Tal forma puede ser modelada usando una ecuación logística (Girondot, comunicación personal, agosto 28, 2011). La fórmula general, aunque hay varias formas de presentarla, es:

$$Y = 1 / (1 + \exp ((1/A)*(B-X)))$$



Siendo  $Y$  la proporción de sexos, y  $X$  la duración de la incubación (Girondot, comunicación personal, agosto 28, 2011).

La idea básica era obtener datos experimentales de la proporción de sexo ( $Y_i$ ) y la duración de la incubación ( $X_i$ ) para encontrar los valores  $A$  y  $B$  que mejor representan los datos observados, lo cual se debía lograr utilizando una regresión logística y el criterio de ajuste de máxima verosimilitud (Girondot, comunicación personal, agosto 28, 2011). Las predicciones del modelo logístico generado con datos experimentales serían luego validadas utilizando los datos del tortugario.

También se pretendía determinar la relación entre la proporción de sexos y el largo del período termosensitivo (TSP, por sus siglas en inglés). Para esto, se calculó el TSP para cada nido, utilizando el método de Girondot & Kaska (in press) (Girondot, comunicación personal, agosto 28, 2011). La importancia de este paso radica en que el período termosensitivo marca la duración del segundo tercio del desarrollo embrionario que es el tercio donde se determina el sexo, y al conocer su duración es posible determinar con mayor precisión el sexo del embrión, a diferencia de si se utiliza únicamente el largo total del período de incubación. Al obtener predicciones similares, utilizando ambos, el largo total del período de incubación y el TSP, entonces sería posible hacer recomendaciones prácticas a tortugarios para la predicción de la proporción de sexos.

El primer paso para obtener el TSP para cada nido consistió en determinar la tasa de desarrollo embrionario en función de la temperatura para la especie *L. olivacea* utilizando los datos de temperatura medidos en los 80 nidos (experimentales y tortugario). La tasa de desarrollo promedio ( $r$ ) en función de las series de temperaturas de cada nido, se modeló y obtuvo utilizando la ecuación y procedimientos utilizados en Girondot & Kaska (in press, p. 6), para calcular la tasa de la especie *C. caretta*. Este modelo fue realizado con el apoyo del Dr. Marc Girondot (*Université Paris-Sud*), experto de la UICN en tortugas marinas, quien visito

Guatemala del 23 al 29 de abril de 2012. Los modelos fueron realizados en el paquete R, y todos los scripts son propiedad del Dr. Girondot por lo que no se incluyen en este documento.

Girondot & Kaska (in press), utilizaron una modificación del modelo de Schoolfield (1981) (Anexos: Figura No. 5) para el cálculo de la tasa de desarrollo ( $r$ ) dependiente de temperatura. De acuerdo a este modelo se necesitan 5 parámetros para el cálculo de la tasa de desarrollo promedio:  $T_{1/2L}$ ,  $\Delta T$ ,  $\Delta H_H$ ,  $\Delta H_L$ ,  $\Delta H_A^\ddagger$ , y  $\rho_{(298\text{ K})}$ ; los mismos fueron utilizados en esta investigación, donde  $T_{1/2L}$  es la temperatura en K a la cual las enzimas están  $\frac{1}{2}$  activas y  $\frac{1}{2}$  inactivas a temperatura baja;  $\Delta H_H$  es el cambio en la entalpía asociado a la inactivación de temperatura baja de las enzimas ( $\text{J mol}^{-1}$ );  $\Delta H_L$  es el cambio en la entalpía asociado a la inactivación de temperatura baja de las enzimas ( $\text{J mol}^{-1}$ );  $\Delta H_A^\ddagger$  es la entalpía de activación de la reacción que es catalizada por las enzimas ( $\text{J mol}^{-1}$ );  $\rho_{(298\text{ K})}$  es la tasa de desarrollo a  $24.85^\circ\text{C}$ , asumiendo que no hay inactivación enzimática ( $\text{tiempo}^{-1}$ ) y;  $\Delta T$  es el cambio entre la temperatura en K a la cual las enzimas están  $\frac{1}{2}$  activas y  $\frac{1}{2}$  inactivas a temperatura baja y la temperatura en K a la cual las enzimas están  $\frac{1}{2}$  activas y  $\frac{1}{2}$  inactivas a temperatura baja ( $T_{1/2H} = T_{1/2L} + |\Delta T|$ ) (Girondot & Kaska, in press, pp. 5-6).

Es importante mencionar que esta es la primera vez que se calcula  $r$  para *L. olivacea* bajo condiciones naturales. La  $r$  obtenida con el modelo anterior, fue utilizada como parámetro en un modelo de Gompertz (Girondot & Kaska, in press, p. 7) para modelar la tasa de desarrollo embrionario ( $X(t)$ ) (tamaño del caparazón) para cada nido en función del tiempo tomando como base el modelo propuesto por Laird (1964) (Anexos: Figura No. 6). El modelo Gompertz utilizado en esta investigación, fue modificado a manera de ajustarse a los datos obtenidos. En esta investigación la función del Gompertz fue utilizada con  $\mathbf{K} = \mathbf{r}(\mathbf{K}) * (\text{tamaño del neonato en mm})$ . Donde, la  $r(\mathbf{K})$  utilizada fue la ya establecida para *C. caretta*: 2.03 (Girondot, comunicación personal, julio 29, 2012). Una vez con este valor, los parámetros

ajustados a todos los datos fueron analizados tanto juntos como separados, y para ambos experimento y tortugario. En cuanto al  $X(0)$  o tamaño inicial del embrión, dado que este no puede ser determinado con los datos observados, Girondot & Kaska (in press, p. 7), mencionan que dado que los estadios de desarrollo tempranos entre tortugas son similares y todas siguen el mismo patrón general de desarrollo pre-oviposicional, el valor adoptado para este parámetro fue de 1.7 mm, como el tamaño aproximado de la gástrula calculado en numerosas especies.

Para el ajuste de parámetros y cálculo del error estándar del modelo Gompertz, se utilizó un método Bayesiano con una cadena de Markov re-muestreada por Monte Carlo (MCMC) con el algoritmo Metropolis-Hasting (Girondot, comunicación personal, julio 29, 2012).

Se obtuvo un modelo Gompertz de crecimiento del caparazón en función del tiempo para cada nido por separado, utilizando su particular  $r(t)$  calculada en base a la serie de temperaturas medidas en el nido. Posteriormente, para cada nido fue posible determinar en qué momento del período de incubación se encuentra la mitad del segundo tercio de desarrollo del embrión, y alrededor de éste se pudo estimar el TSP de cada nido.

Todos los análisis se realizaron en R software (R Core Team, 2012) y en Microsoft Excel (Microsoft Office Excel, 2012); con modificaciones y ajustes propios realizados por el Dr. Marc Girondot.

## **7. RESULTADOS**

### **7.1 Efectos de los tratamientos en la temperatura de los nidos, duración del período de incubación y éxito de eclosión.**

A continuación se presentan los resultados del estudio del efecto de los 5 tratamientos (ExpSombra40, ExpSombra60, ExpSol40, ExpSol60, y tortugario) en cuatro variables continuas medidas en los nidos: temperatura promedio, temperatura máxima, temperatura mínima y duración del periodo de incubación.

En el Cuadro No. 1 se observan los estadísticos descriptivos de las cinco variables obtenidas para los nidos, expresadas por tratamiento. Esta información se presenta visualmente en las Figuras No. 1-4. De manera que respectivamente muestran la media por tratamiento y la variación alrededor de la media de: la temperatura promedio, temperatura máxima, temperatura mínima, y duración del período de incubación.

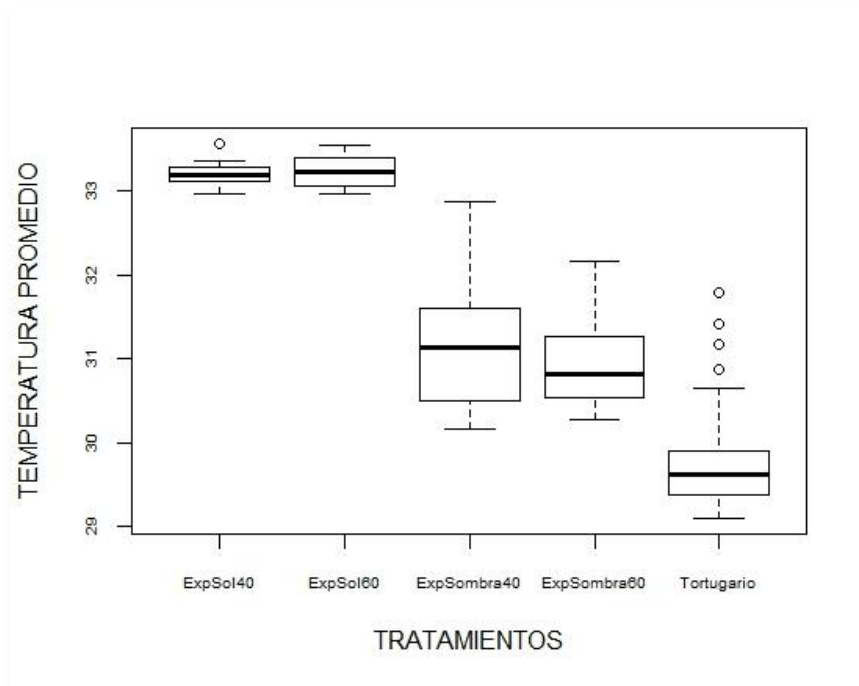
En las Figuras No. 1-3, se puede observar la tendencia de los nidos a poseer temperaturas más altas a medida en que disminuye la sombra. Como se puede notar, el tortugario es el tratamiento que registró las temperaturas más bajas, como será discutido posteriormente, esto podría deberse a la alta cobertura (sombra) del tortugario, el ángulo, el tipo de sustrato, la vegetación, etc. Además de esto, se evidencia claramente que en los tratamientos bajo el sol, las temperaturas promedio, máxima y mínima registradas son mayores en comparación con los otros tratamientos; siendo el tratamiento de sol a 40 cm, el que registró las temperaturas más altas.

Por otro lado, la Figura No. 4 muestra que la duración del período de incubación tiende a aumentar conforme las temperaturas son más altas, siendo congruente con que el período más largo corresponde al tratamiento tortugario y el más corto

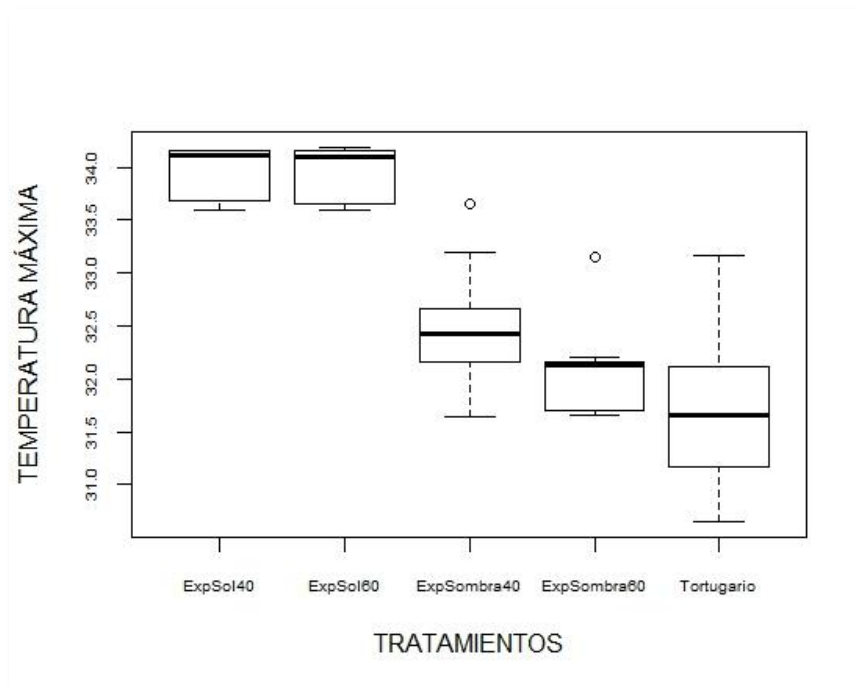
corresponde al tratamiento de nidos del experimento sembrados bajo sol a 40 cm (ExpSol40), cuyas temperaturas fueron las más altas.

**Cuadro No. 1.** Media y desviación estándar de las cinco variables obtenidas para los nidos, expresadas por tratamiento.

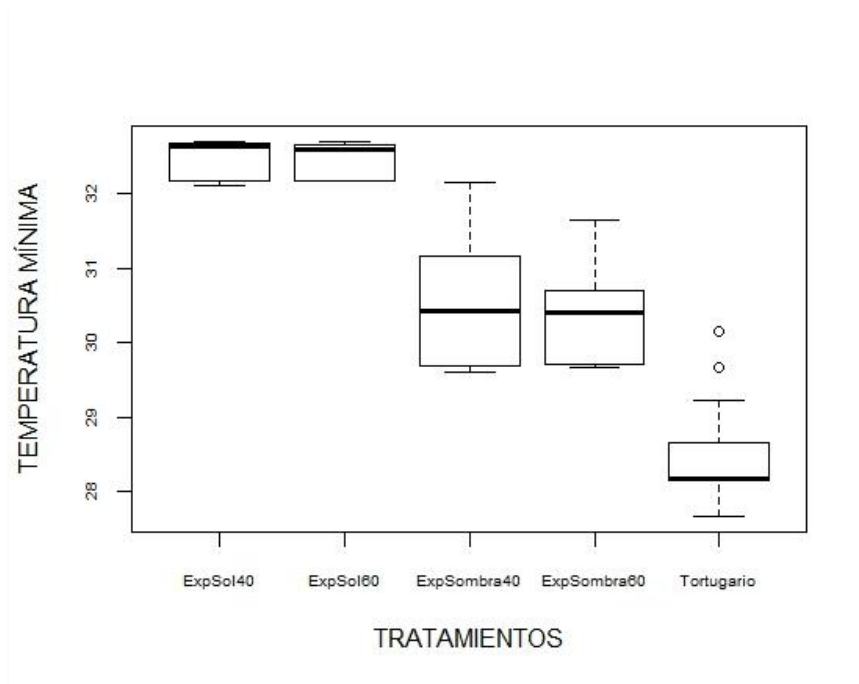
| <b>Tratamiento</b>                              | <b>Temperatura promedio</b> | <b>Temperatura máxima</b> | <b>Temperatura mínima</b> | <b>Duración del período incubación</b> |
|---|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|--|
| Experimental                                    |                             |                           |                           |  |
| Sol<br>40 cm de profundidad<br>(ExpSol40)       | 33.21±0.17                  | 33.95±0.25                | 32.50±0.25                | 45.00±0.47                             |
| Experimental                                    |                             |                           |                           |  |
| Sol<br>60 cm de profundidad<br>(ExpSol60)       | 33.23±0.22                  | 33.95±0.26                | 32.45±0.24                | 45.10±0.88                             |
| Experimental                                    |                             |                           |                           |  |
| Sombra<br>40 cm de profundidad<br>(ExpSombra40) | 31.22±0.89                  | 32.51±0.59                | 30.51±0.82                | 49.20±3.08                             |
| Experimental                                    |                             |                           |                           |  |
| Sombra<br>60 cm de profundidad<br>(ExpSombra60) | 30.96±0.58                  | 32.10±0.43                | 30.41±0.67                | 49.40±1.84                             |
| Tortugario                                      | 29.81±0.64                  | 31.69±0.66                | 28.47±0.55                | 52.63±1.94                             |



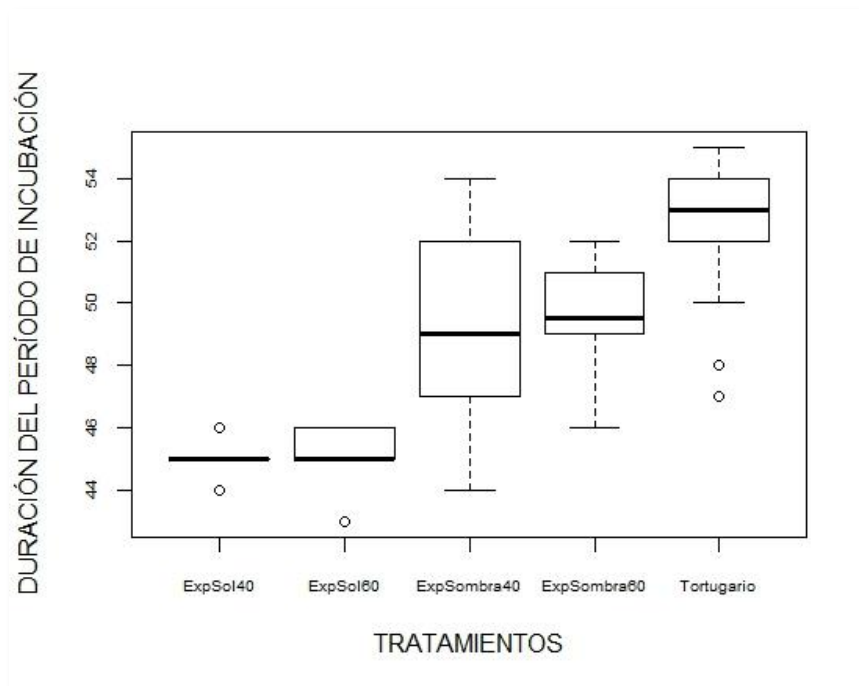
**Figura No. 1.** Diagrama de caja-bigotes que muestra la media de la temperatura promedio por tratamiento y la variación alrededor de la media.



**Figura No. 2.** Diagrama de caja-bigotes que muestra la media de la temperatura máxima por tratamiento y la variación alrededor de la media.



**Figura No. 3.** Diagrama de caja-bigotes que muestra la media de la temperatura mínima por tratamiento y la variación alrededor de la media.



**Figura No. 4.** Diagrama de caja-bigotes que muestra la media de la duración del período de incubación por tratamiento y la variación alrededor de la media.

Se realizó un análisis de varianza sobre las cuatro variables anteriormente descritas, para determinar si existieron diferencias en las condiciones de los nidos debido a los tratamientos.

En el Cuadro No. 2 se muestran los resultados del análisis de varianza (ANDEVA). Posterior al análisis se evaluaron los supuestos de normalidad y homoscedasticidad para los residuos (Cuadro No. 3). En el Cuadro No. 3, los resultados de la evaluación de los residuos, utilizando el test de normalidad de Shapiro Wilk y el test de igualdad de varianzas de Levene, muestran que no se cumplen los supuestos. Por esta razón se invalida el test.

Debido a que no se cumplieron los supuestos, se realizó un análisis de mínimos cuadrados generalizados (*generalized least squares analysis*), como análisis que no asume igualdad de varianzas, y que permite que las varianzas sean diferentes entre tratamientos (Zuur *et al.* 2009 p. 71). Los Cuadro No. 4-7 muestran que no hay diferencia significativa entre los tratamientos ExpSol60 y ExpSol40, y entre los tratamientos ExpSombra60 y ExpSombra40; tanto para la variable duración de temperatura promedio (Cuadro No. 4), temperatura máxima (Cuadro No. 5), temperatura mínima (Cuadro No. 6), como para la duración del período de incubación (Cuadro No. 7). Esto indica que no hay efecto de la profundidad. Todas las demás comparaciones entre tratamientos mostraron diferencias significativas en las variables medidas, lo cual indica efectos de las condiciones sol, sombra y tortugario.



**Cuadro No. 2.** Resultados de los análisis de varianza de una vía para evaluar la  $H_0$ :

$$\mu_{\text{ExpSol40}} = \mu_{\text{ExpSol60}} = \mu_{\text{ExpSombra40}} = \mu_{\text{ExpSombra60}} = \mu_{\text{ExpTortugario}}$$

| Variable                                  | Efectos      | Grados de libertad | Sumas de cuadrados | Cuadrados medios | F      | p      |
|---|--------------|--------------------|--------------------|------------------|--------|--------|
| <b>Temperatura promedio</b>               | Tratamientos | 4                  | 156.29             | 39.07            | 110.36 | < 0.01 |
|   | Residuos     | 75                 | 26.55              |                  |        |        |
| <b>Temperatura máxima</b>                 | Tratamientos | 4                  | 69.02              | 17.255           | 56.18  | < 0.01 |
|   | Residuos     | 75                 | 23.03              |                  |        |        |
| <b>Temperatura mínima</b>                 | Tratamientos | 4                  | 220.57             | 55.14            | 178.2  | < 0.01 |
|   | Residuos     | 75                 | 23.21              |                  |        |        |
| <b>Duración del período de incubación</b> | Tratamientos | 4                  | 774.9              | 193.73           | 53.37  | < 0.01 |
|   | Residuos     | 75                 | 272.3              |                  |        |        |

**Cuadro No. 3.** Evaluación de los supuestos de normalidad y homoscedasticidad para los residuos de los análisis de varianza del Cuadro No. 2.

| Variable                                  | Test de normalidad de Shapiro Wilk |       | Test de igualdad de varianzas de Levene |      |       |
|---|------------------------------------|-------|---|------|-------|
|   | W                                  | p     | Grados de libertad                      | F    | p     |
| <b>Temperatura promedio</b>               | W = 0.90                           | <0.01 | 4,75                                    | 3.25 | 0.02  |
| <b>Temperatura máxima</b>                 | W=0.94                             | <0.01 | 4,75                                    | 2.17 | 0.08  |
| <b>Temperatura mínima</b>                 | W=0.91                             | <0.01 | 4,75                                    | 2.77 | 0.03  |
| <b>Duración del período de incubación</b> | W=0.93                             | <0.01 | 4,75                                    | 4.85 | <0.01 |

**Cuadro No. 4.** Resultados de los análisis de mínimos cuadrados generalizados para evaluar la  $H_0: \mu_{\text{ExpSol40}} = \mu_{\text{ExpSol60}} = \mu_{\text{ExpSombra40}} = \mu_{\text{ExpSombra60}} = \mu_{\text{ExpTortugario}}$  para la variable temperatura promedio (AIC = 159.87, error estándar residual = 0.60, g.l.=75). Se observa que no hay diferencia significativa entre los tratamientos ExpSol60 y ExpSol40, y entre los tratamientos ExpSombra60 y ExpSombra40.

| Tratamientos comparados | Diferencia entre las medias | Error estándar | Valor t | p     |
|-------------------------|-----------------------------|----------------|---------|-------|
| ExpSol60-ExpSol40       | 0.02                        | 0.09           | 0.28    | 0.78  |
| ExpSombra40-ExpSol40    | -1.99                       | 0.29           | -6.96   | <0.01 |
| ExpSombra60-ExpSol40    | -2.25                       | 0.19           | -11.76  | <0.01 |
| Tortugario-ExpSol40     | -3.40                       | 0.11           | -29.99  | <0.01 |
| ExpSol60-Tortugario     | 3.43                        | 0.12           | 28.21   | <0.01 |
| ExpSombra40-Tortugario  | 1.41                        | 0.30           | 4.74    | <0.01 |
| ExpSombra60-Tortugario  | 1.15                        | 0.21           | 5.50    | <0.01 |
| ExpSol60-ExpSombra40    | 2.01                        | 0.29           | 6.97    | <0.01 |
| ExpSombra60-ExpSombra40 | -0.26                       | 0.36           | -0.78   | 0.44  |
| ExpSol60-ExpSombra60    | 2.27                        | 0.20           | 11.59   | <0.01 |

**Cuadro No. 5.** Resultados de los análisis de mínimos cuadrados generalizados para evaluar la  $H_0: \mu_{\text{ExpSol40}} = \mu_{\text{ExpSol60}} = \mu_{\text{ExpSombra40}} = \mu_{\text{ExpSombra60}} = \mu_{\text{ExpTortugario}}$  para la variable temperatura máxima (AIC = 149.20, error estándar residual = 0.55, g.l.=75). Se observa que no hay diferencia significativa entre los tratamientos ExpSol60 y ExpSol40, y entre los tratamientos ExpSombra60 y ExpSombra40.

| Tratamientos comparados | Diferencia entre las medias | Error estándar | Valor t | p     |
|-------------------------|-----------------------------|----------------|---------|-------|
| ExpSol60-ExpSol40       | -0.0010                     | 0.115          | -0.001  | 0.99  |
| ExpSombra40-ExpSol40    | -1.44                       | 0.20           | -7.12   | <0.01 |
| ExpSombra60-ExpSol40    | -1.84                       | 0.16           | -11.70  | <0.01 |
| Tortugario-ExpSol40     | -2.26                       | 0.13           | -17.18  | <0.01 |
| ExpSol60-Tortugario     | 2.26                        | 0.13           | 16.86   | <0.01 |
| ExpSombra40-Tortugario  | 0.82                        | 0.21           | 3.82    | <0.01 |
| ExpSombra60-Tortugario  | 0.41                        | 0.17           | 2.40    | 0.02  |
| ExpSol60-ExpSombra40    | 1.44                        | 0.20           | 7.06    | <0.01 |
| ExpSombra60-ExpSombra40 | -0.40                       | 0.23           | -1.75   | 0.08  |
| ExpSol60-ExpSombra60    | 1.84                        | 0.16           | 11.54   | <0.01 |

**Cuadro No. 6.** Resultados de los análisis de mínimos cuadrados generalizados para evaluar la  $H_0: \mu_{\text{ExpSol40}} = \mu_{\text{ExpSol60}} = \mu_{\text{ExpSombra40}} = \mu_{\text{ExpSombra60}} = \mu_{\text{ExpTortugario}}$  para la variable temperatura mínima (AIC = 149.76, error estándar residual = 0.55, g.l.=75). Se observa que no hay diferencia significativa entre los tratamientos ExpSol60 y ExpSol40, y entre los tratamientos ExpSombra60 y ExpSombra40.

| Tratamientos comparados | Diferencia entre las medias | Error estándar | Valor t | p     |
|-------------------------|-----------------------------|----------------|---------|-------|
| ExpSol60-ExpSol40       | -0.05                       | 0.11           | 0.44    | 0.66  |
| ExpSombra40-ExpSol40    | -1.99                       | 0.27           | -7.31   | <0.01 |
| ExpSombra60-ExpSol40    | -2.10                       | 0.23           | -9.25   | <0.01 |
| Tortugario-ExpSol40     | -4.03                       | 0.12           | -33.96  | <0.01 |
| ExpSol60-Tortugario     | 3.98                        | 0.12           | 34.20   | <0.01 |
| ExpSombra40-Tortugario  | 2.04                        | 0.27           | 7.43    | <0.01 |
| ExpSombra60-Tortugario  | 1.94                        | 0.23           | 8.47    | <0.01 |
| ExpSol60-ExpSombra40    | 1.94                        | 0.27           | 7.15    | <0.01 |
| ExpSombra60-ExpSombra40 | -0.10                       | 0.33           | -0.30   | 0.76  |
| ExpSol60-ExpSombra60    | 2.04                        | 0.22           | 0.08    | <0.01 |

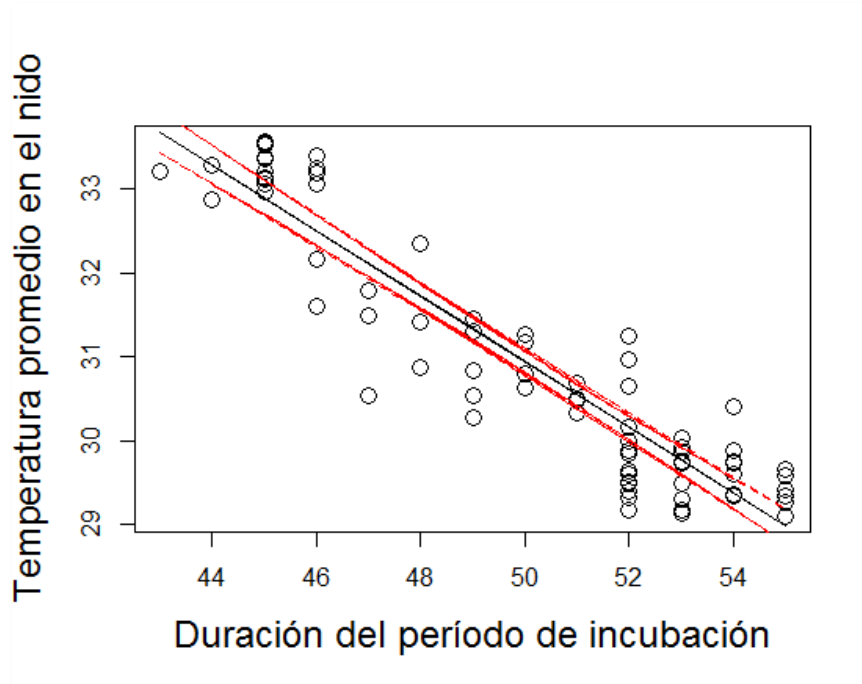
**Cuadro No. 7.** Resultados de los análisis de mínimos cuadrados generalizados para evaluar la  $H_0: \mu_{\text{ExpSol40}} = \mu_{\text{ExpSol60}} = \mu_{\text{ExpSombra40}} = \mu_{\text{ExpSombra60}} = \mu_{\text{ExpTortugario}}$  para la variable duración del período de incubación (AIC = 334.44, error estándar residual = 1.91, g.l.=75). Se observa que no hay diferencia significativa entre los tratamientos ExpSol60 y ExpSol40, y entre los tratamientos ExpSombra60 y ExpSombra40.

| Tratamientos comparados | Diferencia entre las medias | Error estándar | Valor t | p     |
|-------------------------|-----------------------------|----------------|---------|-------|
| ExpSol60-ExpSol40       | 0.10                        | 0.31           | 0.32    | 0.75  |
| ExpSombra40-ExpSol40    | 4.20                        | 0.99           | 4.26    | <0.01 |
| ExpSombra60-ExpSol40    | 4.40                        | 0.60           | 7.33    | <0.01 |
| Tortugario-ExpSol40     | 7.62                        | 0.34           | 22.32   | <0.01 |
| ExpSol60-Tortugario     | -7.52                       | 0.41           | -18.20  | <0.01 |
| ExpSombra40-Tortugario  | -3.42                       | 1.02           | -3.35   | <0.01 |
| ExpSombra60-Tortugario  | -3.22                       | 0.66           | -4.90   | <0.01 |
| ExpSol60-ExpSombra40    | -4.10                       | 1.01           | -4.04   | <0.01 |
| ExpSombra60-ExpSombra40 | 0.20                        | 1.13           | 0.18    | 0.86  |
| ExpSol60-ExpSombra60    | -4.30                       | 0.64           | -6.68   | <0.01 |

Se realizó una regresión lineal simple para determinar la relación entre la temperatura del nido y la duración del período de incubación. El Cuadro No. 8 muestra los resultados de la regresión, cuya ecuación resultó ser:  $T.PROMEDIO=50.52-0.39DURACION$ , con  $R^2 = 87.8\%$ . Los resultados también se presentan visualmente en la Figura No. 5, donde se observa que se trata evidentemente de una relación inversa, en la que a mayor temperatura menor es el período de incubación.

**Cuadro No. 8.** Resultados de la regresión entre la temperatura de los nidos y la duración del período de incubación ( $T.PROMEDIO=50.52-0.39DURACION$ ,  $R^2 = 87.8\%$ ). La prueba t se hizo con 78 grados de libertad.

|                                    | <b>Coefficientes estimados</b> | <b>Error estándar</b> | <b>t</b> | <b>Pr(&gt; t )</b> |
|------------------------------------|--------------------------------|-----------------------|----------|--------------------|
| Intercepto                         | 50.52                          | 0.83                  | 61.14    | <0.01              |
| Duración del período de incubación | -0.39                          | 0.02                  | -23.71   | <0.01              |



**Figura No. 5.** Diagrama de regresión que muestra la relación inversamente proporcional entre la temperatura promedio de los nidos y la duración de su período de incubación.

Al emerger el primer neonato, se tomó una muestra de 10 neonatos por nido, de la mayoría de los nidos. Solamente en 11 de los 80 nidos no se pudo colectar la muestra de 10 neonatos debido al escape o muerte accidental de 55 neonatos. En los nidos 1, 5, 8, 9, 21-23 y 40, no se colectaron los 10 neonatos principalmente por escape, pero también por muerte accidental a causa emerger en horas de excesivo sol o muerte natural durante la eclosión y emergencia. En los nidos 7, 34 y 35, no se colectó ningún neonato debido a escape del nido completo en momentos no monitoreados. A pesar de esto, sí se tienen las fechas de emergencia de los nidos sin colecta alguna de neonatos, por lo que sí se pudo estimar la duración del período de incubación de todos los nidos. En el Cuadro No. 5 de los Anexos, se observa la información de los neonatos colectados en el tortugario, desde las horas de emergencia hasta la duración del período de incubación de cada nido. La menor

duración del período de incubación fue de 43 días y la mayor fue de 54 días; es decir, hubo una diferencia de 11 días de incubación en los nidos con valores extremos en el experimento.

Por otro lado, en el nido 21 del tortugario, donde se sembró un total de 21 huevos (por falta de huevos para sembrar otro nido); solo se pudo colectar un total de 7 neonatos, aparentemente no hubo más emergencias. Por el contrario, del nido 31 del tortugario, debido a que los nidos se encontraban a manejo propio de la Reserva y emergieron durante el día, muriendo por quemaduras debido al calor de la arena generado por el sol; se colectaron todos los neonatos muertos (15) y solamente 1 vivo (moribundo). En el Cuadro No. 6 de los Anexos, se observa la información de los neonatos colectados en el tortugario, desde las horas de emergencia hasta la duración del período de incubación de cada nido. La menor duración del período de incubación fue de 47 días y la mayor fue de 55 días; es decir, hubo una diferencia de 8 días de incubación en los nidos con valores extremos en el experimento.

Luego de los nacimientos se realizó la exhumación para el obtener el éxito de eclosión. El Cuadro No. 9 muestra los datos obtenidos en la exhumación, así como los porcentajes de éxito de eclosión por cada uno de los nidos del tortugario y del experimento. En el cuadro se puede observar que los porcentajes de éxito de eclosión varían desde un 44.44% hasta un 100% de éxito.

En el Cuadro No. 10 se muestran las cantidades de los restos exhumados y el porcentaje de éxito de eclosión total de los nidos del tortugario y de los nidos del experimento. En el mismo cuadro se muestra el porcentaje de eclosión del total de los nidos evaluados (experimento y tortugario), el cual fue de 83.82%. Asimismo, en el Cuadro No. 10, se muestran las cantidades de restos exhumados y porcentajes de eclosión, para cada uno de los 5 tratamientos (Tortugario, Experimento bajo Sol a 40 centímetros de profundidad, Experimento bajo Sol a 60 centímetros de profundidad,

Experimento bajo Sombra a 40 centímetros de profundidad y Experimento bajo Sombra a 60 centímetros de profundidad).

De igual manera, en el Cuadro No. 11 se observa claramente que los nidos sembrados a 60 centímetros de profundidad tienen los porcentajes de éxito de eclosión más altos de todos los tratamientos, mientras que los nidos sembrados a 40 centímetros de profundidad muestran los porcentajes más bajos; y el tortugario presentó el porcentaje medio.

Posteriormente, se realizó la regresión logística para evaluar la relación entre los tratamientos y el éxito de eclosión. En el Cuadro No. 12 se observan las razones de posibilidades de eclosión entre pares de tratamientos. Los resultados mostraron que:

- Las posibilidades de eclosión del tratamiento Experimental Sol 40 son un tercio (0.29) de las posibilidades de eclosión obtenidas en el Tortugario.
- Las posibilidades de eclosión entre el tratamiento Experimental Sol 60 y el Tortugario no son diferentes.
- Las posibilidades de eclosión en el tratamiento Experimental Sombra 40 son la mitad (0.49) de las posibilidades de eclosión obtenidas en el Tortugario.
- Las posibilidades de eclosión entre el tratamiento Experimental Sombra 60 y el Tortugario no son diferentes.
- Las posibilidades de eclosión del tratamiento Experimental Sol 60 son 3.28 veces mayores que en el tratamiento Experimental Sol 40.
- Las posibilidades de eclosión del tratamiento Experimental Sombra 40 son 1.68 veces mayores que en el tratamiento que en el tratamiento Experimental Sol 40.
- Las posibilidades de eclosión del tratamiento son 6.01 veces mayores en el tratamiento Experimental Sombra 60 que en el tratamiento Experimental Sol 40.
- Las posibilidades de eclosión del tratamiento Experimental Sombra 40 son la mitad (0.51) de las posibilidades de eclosión obtenidas en el tratamiento experimental sol 60.

- Las posibilidades de eclosión entre el tratamiento Experimental Sombra 60 y el tratamiento Experimental Sol 60 no son diferentes.
- Las posibilidades de eclosión del tratamiento Experimental Sombra 60 son 3.58 veces mayores que en el tratamiento Experimental Sombra 40.

**Cuadro No. 9.** Caracterización de los restos obtenidos en la exhumación de los nidos, y porcentaje de éxito de eclosión individual de cada uno de los 80 nidos.

| Nido | Caracterización |   |   |      |     |      |   | Éxito de eclosión |
|------|-----------------|---|---|------|-----|------|---|-------------------|
|      | C               | V | M | HSDA | HNE | ETNE | D |                   |
| 1T   | 15              | 0 | 0 | 1    | 0   | 0    | 0 | 93.75%            |
| 2T   | 17              | 0 | 0 | 3    | 0   | 0    | 0 | 85.00%            |
| 3T   | 17              | 0 | 0 | 3    | 0   | 0    | 0 | 85.00%            |
| 4T   | 14              | 0 | 0 | 5    | 0   | 0    | 0 | 73.68%            |
| 5T   | 20              | 0 | 0 | 0    | 0   | 0    | 0 | 100.00%           |
| 6T   | 18              | 0 | 0 | 2    | 0   | 0    | 0 | 90.00%            |
| 7T   | 19              | 1 | 0 | 0    | 0   | 0    | 0 | 95.00%            |
| 8T   | 20              | 0 | 0 | 0    | 0   | 0    | 0 | 100.00%           |
| 9T   | 20              | 0 | 0 | 0    | 0   | 0    | 0 | 100.00%           |
| 10T  | 19              | 0 | 0 | 1    | 0   | 0    | 0 | 95.00%            |
| 11T  | 20              | 3 | 0 | 0    | 0   | 0    | 0 | 86.96%            |
| 12T  | 17              | 0 | 0 | 3    | 0   | 0    | 0 | 85.00%            |
| 13T  | 20              | 3 | 2 | 0    | 0   | 0    | 0 | 80.00%            |
| 14T  | 18              | 1 | 0 | 2    | 0   | 0    | 0 | 85.71%            |
| 15T  | 15              | 0 | 0 | 4    | 0   | 0    | 0 | 78.95%            |
| 16T  | 18              | 1 | 0 | 0    | 0   | 0    | 0 | 94.74%            |
| 17T  | 17              | 1 | 0 | 3    | 0   | 0    | 0 | 80.95%            |
| 18T  | 17              | 0 | 0 | 3    | 0   | 0    | 0 | 85.00%            |
| 19T  | 17              | 0 | 0 | 3    | 0   | 0    | 0 | 85.00%            |
| 20T  | 20              | 6 | 1 | 1    | 0   | 0    | 0 | 71.43%            |
| 21T  | 14              | 1 | 1 | 6    | 0   | 0    | 0 | 63.64%            |
| 22T  | 20              | 3 | 1 | 0    | 0   | 0    | 0 | 83.33%            |
| 23T  | 19              | 0 | 1 | 1    | 0   | 0    | 0 | 90.48%            |
| 24T  | 20              | 1 | 0 | 0    | 0   | 0    | 0 | 95.24%            |



|     |    |   |   |    |    |   |   |         |
|-----|----|---|---|----|----|---|---|---------|
| 25T | 20 | 6 | 0 | 2  | 0  | 0 | 0 | 71.43%  |
| 26T | 20 | 9 | 0 | 1  | 1  | 0 | 0 | 64.52%  |
| 27T | 17 | 2 | 1 | 2  | 0  | 1 | 0 | 73.91%  |
| 28T | 15 | 0 | 1 | 0  | 5  | 0 | 0 | 71.43%  |
| 29T | 15 | 0 | 0 | 3  | 1  | 1 | 0 | 75.00%  |
| 30T | 16 | 2 | 0 | 4  | 0  | 0 | 0 | 72.73%  |
| 31T | 17 | 0 | 0 | 2  | 0  | 0 | 0 | 89.47%  |
| 32T | 19 | 5 | 0 | 1  | 0  | 0 | 0 | 76.00%  |
| 33T | 20 | 7 | 1 | 0  | 0  | 0 | 0 | 71.43%  |
| 34T | 18 | 0 | 0 | 3  | 0  | 0 | 0 | 85.71%  |
| 35T | 19 | 5 | 1 | 1  | 0  | 0 | 0 | 73.08%  |
| 36T | 18 | 0 | 0 | 2  | 0  | 0 | 0 | 90.00%  |
| 37T | 20 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0 | 0 | 100.00% |
| 38T | 20 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0 | 0 | 100.00% |
| 39T | 20 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0 | 0 | 100.00% |
| 40T | 20 | 2 | 0 | 0  | 0  | 0 | 0 | 90.91%  |
| 1E  | 10 | 2 | 0 | 10 | 0  | 0 | 0 | 45.45%  |
| 2E  | 15 | 0 | 1 | 3  | 2  | 0 | 0 | 71.43%  |
| 3E  | 18 | 0 | 0 | 0  | 0  | 1 | 0 | 94.74%  |
| 4E  | 20 | 0 | 1 | 0  | 0  | 0 | 0 | 95.24%  |
| 5E  | 11 | 3 | 0 | 3  | 0  | 3 | 0 | 55.00%  |
| 6E  | 14 | 0 | 0 | 2  | 0  | 4 | 0 | 70.00%  |
| 7E  | 18 | 0 | 0 | 1  | 1  | 0 | 0 | 90.00%  |
| 8E  | 8  | 0 | 0 | 0  | 10 | 0 | 0 | 44.44%  |
| 9E  | 18 | 1 | 0 | 1  | 0  | 1 | 0 | 85.71%  |
| 10E | 16 | 0 | 0 | 2  | 2  | 0 | 0 | 80.00%  |
| 11E | 15 | 2 | 0 | 0  | 1  | 0 | 0 | 83.33%  |
| 12E | 18 | 0 | 0 | 0  | 2  | 0 | 0 | 90.00%  |
| 13E | 19 | 0 | 0 | 1  | 0  | 0 | 0 | 95.00%  |
| 14E | 18 | 0 | 1 | 1  | 0  | 0 | 0 | 90.00%  |
| 15E | 17 | 0 | 1 | 2  | 0  | 0 | 0 | 85.00%  |
| 16E | 20 | 0 | 3 | 2  | 0  | 0 | 0 | 80.00%  |
| 17E | 18 | 0 | 0 | 0  | 2  | 0 | 0 | 90.00%  |
| 18E | 20 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0 | 0 | 100.00% |
| 19E | 19 | 0 | 0 | 1  | 0  | 0 | 0 | 95.00%  |
| 20E | 18 | 1 | 0 | 1  | 0  | 1 | 0 | 85.71%  |

|     |    |   |   |   |   |   |   |         |
|-----|----|---|---|---|---|---|---|---------|
| 21E | 16 | 0 | 2 | 2 | 0 | 1 | 0 | 76.19%  |
| 22E | 14 | 0 | 0 | 7 | 1 | 0 | 0 | 63.64%  |
| 23E | 14 | 3 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 70.00%  |
| 24E | 17 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 89.47%  |
| 25E | 19 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 100.00% |
| 26E | 17 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 85.00%  |
| 27E | 19 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 95.00%  |
| 28E | 17 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 85.00%  |
| 29E | 16 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 | 80.00%  |
| 30E | 14 | 1 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 | 73.68%  |
| 31E | 20 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 90.91%  |
| 32E | 20 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 95.24%  |
| 33E | 19 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 95.00%  |
| 34E | 13 | 0 | 1 | 2 | 5 | 0 | 0 | 61.90%  |
| 35E | 18 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 90.00%  |
| 36E | 17 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 85.00%  |
| 37E | 12 | 0 | 1 | 7 | 0 | 0 | 0 | 60.00%  |
| 38E | 17 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 85.00%  |
| 39E | 20 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 90.91%  |
| 40E | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 100.00% |

Encontrado en un nido exhumado: C = Cáscaras. V = neonatos Vivos. M = neonatos Muertos. HSDA = Huevos Sin Desarrollo Aparente. HNE = Huevos No Eclosionados. ETNE = Embriones a Término No Eclosionados. D = Depredados.

**Cuadro No. 10.** Caracterización de los restos obtenidos en la exhumación de los nidos y porcentaje de éxito de eclosión total de los 40 nidos del tortugario, de los 40 nidos del experimento y de los 80 nidos en total.

|                    | Caracterización |    |    |      |     |      |   | Éxito de eclosión |
|--------------------|-----------------|----|----|------|-----|------|---|-------------------|
|                    | C               | V  | M  | HSDA | HNE | ETNE | D |                   |
| <b>Tortugario</b>  | 725             | 59 | 10 | 62   | 7   | 2    | 0 | 83.82%            |
| <b>Experimento</b> | 669             | 18 | 14 | 68   | 30  | 13   | 0 | 82.39%            |
| <b>TOTAL</b>       | 1394            | 77 | 24 | 130  | 37  | 15   | 0 | 83.12%            |

Encontrado en un nido exhumado: C = Cáscaras. V = neonatos Vivos. M = neonatos Muertos. HSDA = Huevos Sin Desarrollo Aparente. HNE = Huevos No Eclosionados. ETNE = Embriones a Término No Eclosionados. D = Depredados.

**Cuadro No. 11.** Caracterización de los restos obtenidos en la exhumación de los nidos, y porcentaje de éxito de eclosión por tratamiento (Tortugario, Experimento bajo Sol a 40 centímetros de profundidad, Experimento bajo Sol a 60 centímetros de profundidad, Experimento bajo Sombra a 40 centímetros de profundidad y Experimento bajo Sombra a 60 centímetros de profundidad).

| Tratamiento          | Caracterización |    |    |      |     |      |   | Éxito de eclosión |
|----------------------|-----------------|----|----|------|-----|------|---|-------------------|
|                      | C               | V  | M  | HSDA | HNE | ETNE | D |                   |
| <b>Tortugario</b>    | 725             | 59 | 10 | 62   | 7   | 2    | 0 | 83.82%            |
| <b>Exp-Sol-40</b>    | 149             | 1  | 1  | 29   | 17  | 4    | 0 | 74.13%            |
| <b>Exp-Sol-60</b>    | 176             | 8  | 7  | 12   | 1   | 5    | 0 | 84.21%            |
| <b>Exp-Sombra-40</b> | 165             | 4  | 3  | 22   | 9   | 2    | 0 | 80.49%            |
| <b>Exp-Sombra-60</b> | 179             | 5  | 3  | 5    | 3   | 2    | 0 | 90.86%            |

Encontrado en un nido exhumado: C = Cáscaras. V = neonatos Vivos. M = neonatos Muertos. HSDA = Huevos Sin Desarrollo Aparente. HNE = Huevos No Eclosionados. ETNE = Embriones a Término No Eclosionados. D = Depredados.

**Cuadro No. 12.** Resultados de la regresión logística para evaluar la relación entre los tratamientos y el éxito de eclosión. Se obtuvo un razón de posibilidades (RP) de éxito de eclosión entre pares de los tratamientos: Tortugario, Experimental Sol 40, Experimental Sol 60, Experimental Sombra 40 y Experimental Sombra 60. El supuesto de sobredispersión fue de 0.69 (desviación residual = 1079.6, g.l.=1571).

| Denominador            | Experimental Sol 40 |                       | Experimental Sol 60 |                       | Experimental Sombra 40 |                       | Experimental Sombra 60 |                       |
|------------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|
|                        | RP                  | p                     | RP                  | p                     | RP                     | p                     | RP                     | p                     |
| Tortugario             | 0.29                | $2.01 \times 10^{-9}$ | 0.96                | 0.88                  | 0.49                   | $1.71 \times 10^{-3}$ | 1.75                   | 0.11                  |
| Experimental Sol 40    |                     |                       | 3.28                | $6.16 \times 10^{-5}$ | 1.68                   | 0.04                  | 6.01                   | $8.25 \times 10^{-7}$ |
| Experimental Sol 60    |                     |                       |                     |                       | 0.51                   | 0.03                  | 1.83                   | 0.14                  |
| Experimental Sombra 40 |                     |                       |                     |                       |                        |                       | 3.58                   | $7.11 \times 10^{-4}$ |

RP = Razón de Posibilidades

## **7.2 Relación entre la duración del período de incubación y la proporción de sexos**

Posterior a la colecta y preservación de los neonatos, se transportaron al laboratorio, y se disectaron y sexaron. Se observó que algunos neonatos presentaron gónadas reducidas. A esto, Girondot & Pieau (comunicación personal, mayo 18, 2012), comentaron que a muy altas temperaturas, los ovarios se constituyen únicamente por una superficie ligera con muy pocas estructuras epiteliales; lo cual no es observable sin un estereoscopio. Tal situación, hizo más complicada la discriminación entre ovarios y testículos; por lo que fue necesario encontrar y definir estructuras alternas para la determinación.

Por esta razón, Girondot & Pieau (comunicación personal, abril 27, 2012), sugirieron la observación adicional de conductos de Müller, que debían observarse como finos conductos que surgían desde el complejo nefro-gonadal hasta la parte dorsal superior, hasta la cavidad torácica aproximadamente.

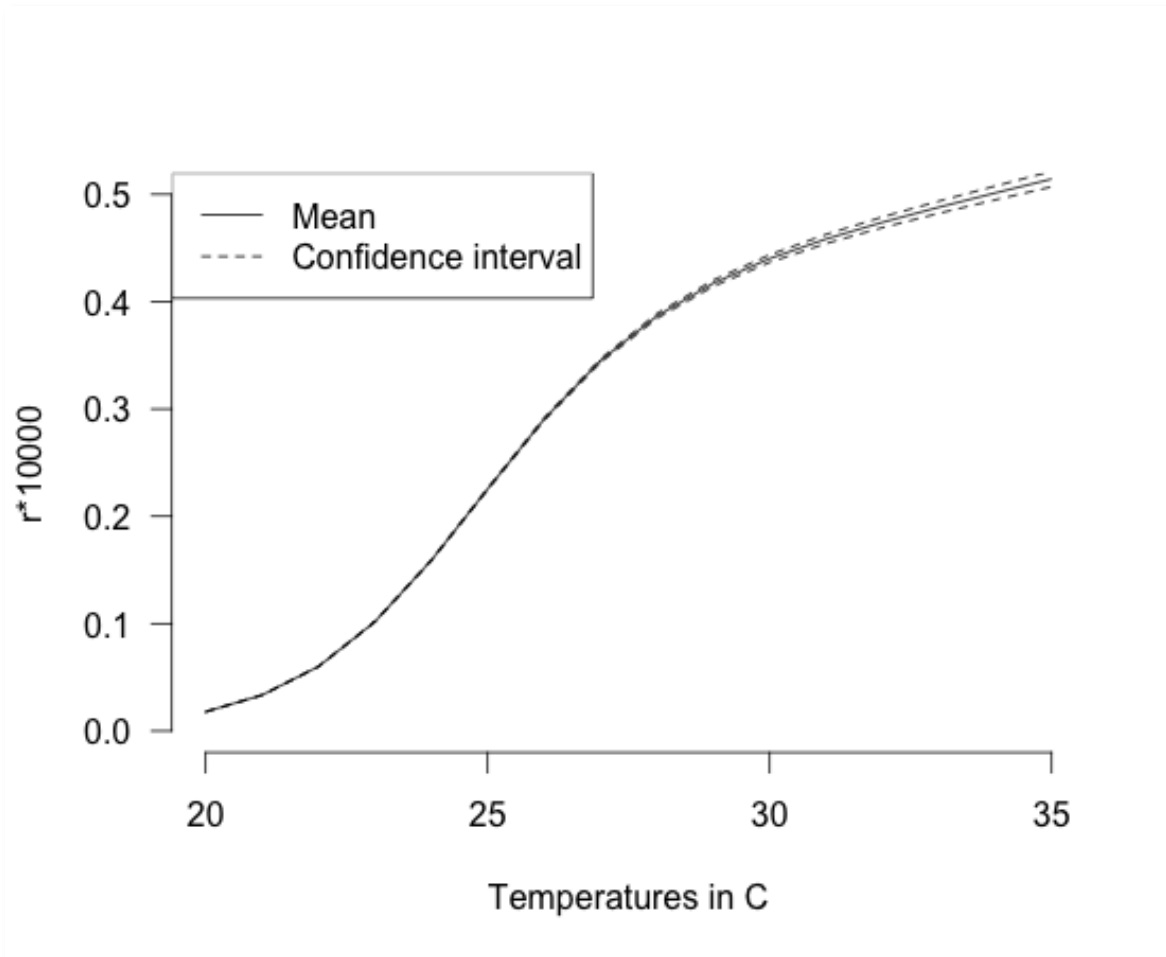
En embriones, ciertas partes del sistema urinario se incorporan o se comparten pro el sistema genital. En un principio, el conducto pronéfrico suele conservarse y actúa como desagüe del mesonefros o del opistonefros. En dichos casos el nombre pasa a ser el de conducto mesonéfrico o conducto opistonéfrico, respectivamente. En algunos machos, los espermatozoides se desplazan por este conducto y entonces pasa a denominarse conducto deferente (Kardong, 2007, p. 558; Balinsky, 1970, p. 497). En las hembras, este conducto se conoce embriológicamente como conducto de Wolff, y en éstas, suelen actuar sólo al servicio del sistema urinario pero en machos sí llegan a tener una función reproductiva. Embriológicamente, el conducto de Müller se origina en las proximidades del de Wolff, y se desarrolla inicialmente en embriones de ambos sexos. Sin embargo, resulta ser funcional únicamente en hembras, al formar posteriormente los oviductos; y en machos se degenera y prácticamente desaparecen

en el estadio 22 (Balinsky, 1970, p. 495, 497; Kardong, 2007, pp. 558-559; Merchant-Larios, Villalpando, & Centeno, 1989, p. 43).

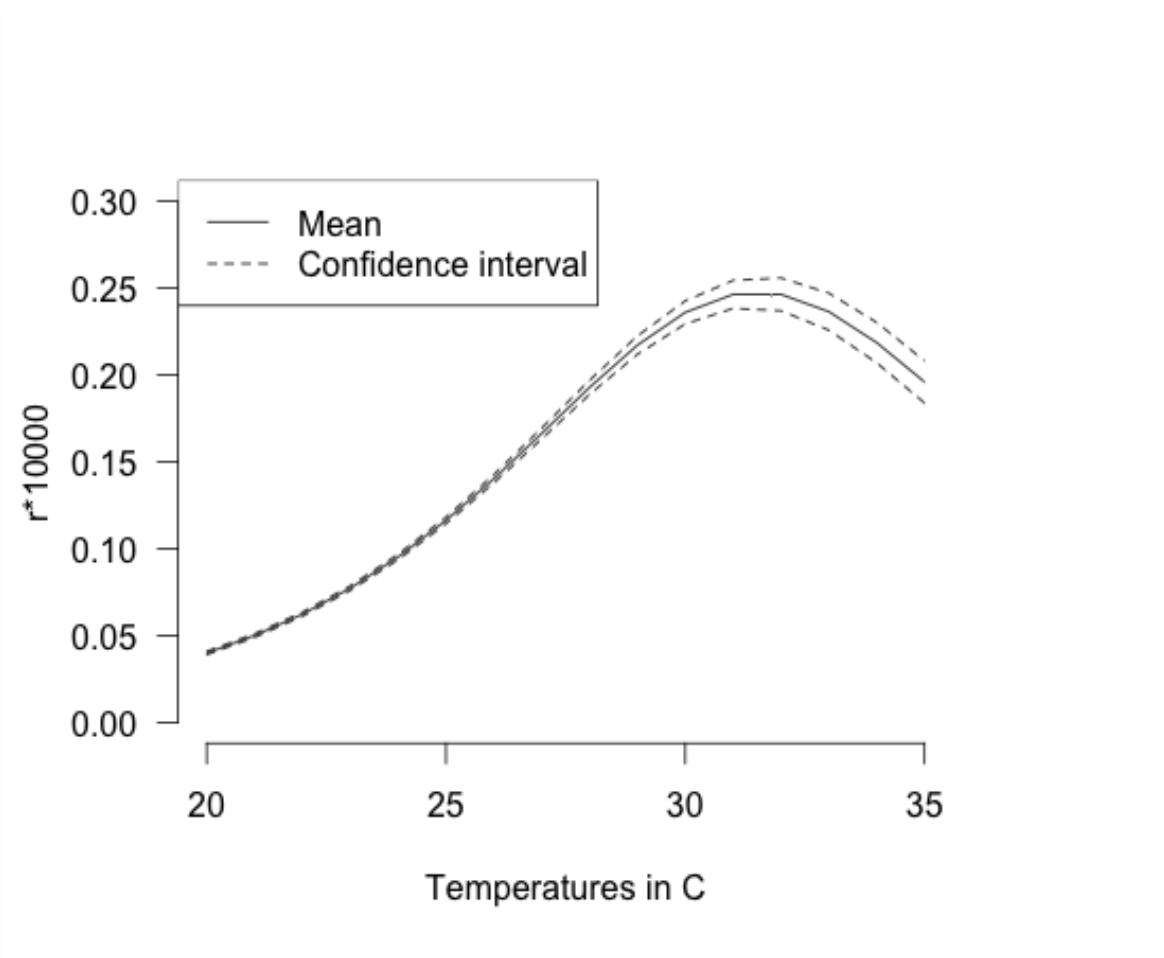
Por esta razón, se decidió utilizar los conductos de Müller como indicadores de hembras, pues sólo serían observables en hembras. El resultado de la búsqueda y observación de estos conductos en los especímenes muestreados fue sorprendente, se observaron en todos los neonatos colectados, tanto en los del experimento como en los del tortugario. Es decir, a pesar de que sí se observó variación de temperatura y de la duración del periodo de incubación entre los nidos (como los resultados lo muestran en la sección anterior), lo que se esperaba resultaría en una producción de los dos sexos; se obtuvieron únicamente hembras (100%). Esto, fue reconfirmado, en conjunto con el Dr. Girondot, por corroboración visual del Dr. Pieau, experto en el tema, a quien se enviaron fotografías de algunos de los especímenes (Girondot & Pieau, comunicación personal, mayo 18, 2012). Por esta razón, no fue posible obtener una proporción de sexos, y por ende no se pudo ajustar el modelo logístico propuesto entre la proporción de sexos y la duración del periodo de incubación.

### **7.3 Relación entre la tasa de crecimiento embrionario y la temperatura**

Las Figuras No. 6 y 7, muestran como la tasa de crecimiento ( $r$ ) cambia con la temperatura de incubación. La Figura No. 6 muestra la tasa de crecimiento de *L. olivacea*, la cual, en este estudio, fue calculada por primera vez para esta especie. La Figura No. 7 la  $r$  de *C. caretta* calculada por Girondot & Kaska (in press) como comparación. En estas se observa una diferencia evidente de la influencia que tiene la temperatura en el crecimiento embrionario de cada especie. *Caretta caretta* alcanza un crecimiento máximo al alcanzar los 31 °C mientras que el crecimiento de *L. olivacea* luego de esta temperatura continúa incrementándose.

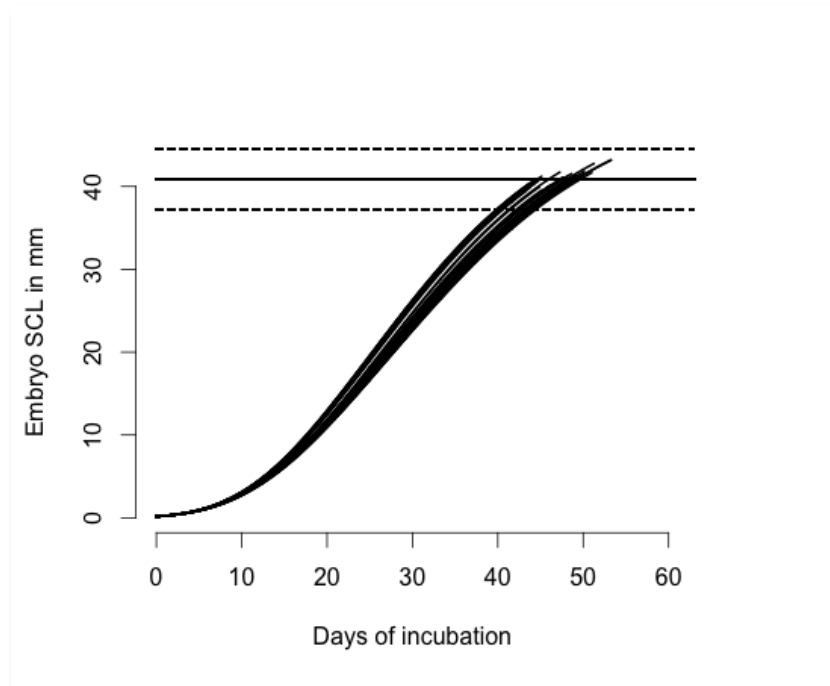


**Figura No. 6.** Diagrama de  $r$  ajustado a los 4 parámetros, ingresados a la ecuación propuesta en Girondot & Kaska (in press, p. 21) y al modelo Gompertz para la tasa de crecimiento de *Lepidochelys olivacea* en Guatemala, en base a todos los datos obtenidos en esta investigación.

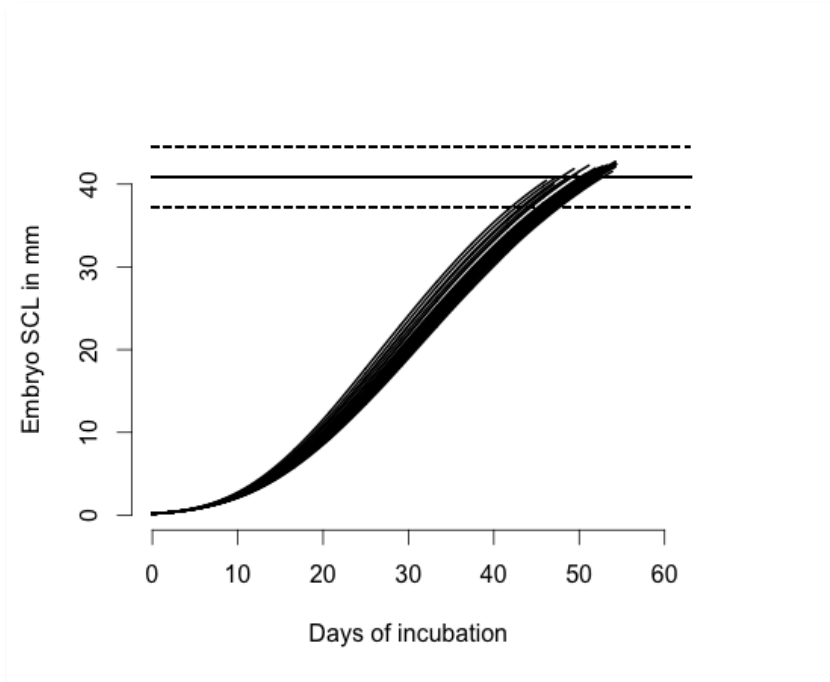


**Figura No. 7.** Diagrama de  $r$  de *Caretta caretta* de Turquía ajustada a los 21 nidos con la ecuación de 4 parámetros (eqn 2) (Anexos: Figura No. 4) y el modelo Gompertz para la tasa de crecimiento, obtenido en Girondot & Kaska (in press, p. 21).

Las Figuras No. 8 y 9, muestran el patrón de crecimiento embrionario de los 40 nidos del experimento y los 40 nidos del tortugario, respectivamente. En ambas, el promedio del tamaño del carapacho y su desviación estándar, son usados para mostrar sólo el límite de crecimiento de todos los nidos. Se observa una tendencia similar de los nidos del tortugario y los del experimento, en cuanto al patrón de sensibilidad de los embriones a la temperatura. Los nidos del tortugario muestran mayor variabilidad en las la dirección de las curvas de crecimiento.



**Figura No. 8.** Patrón de desarrollo embrionario de los 40 nidos del experimento. El eje Y muestra el tamaño del carapacho (mm) y el eje X los días de incubación.



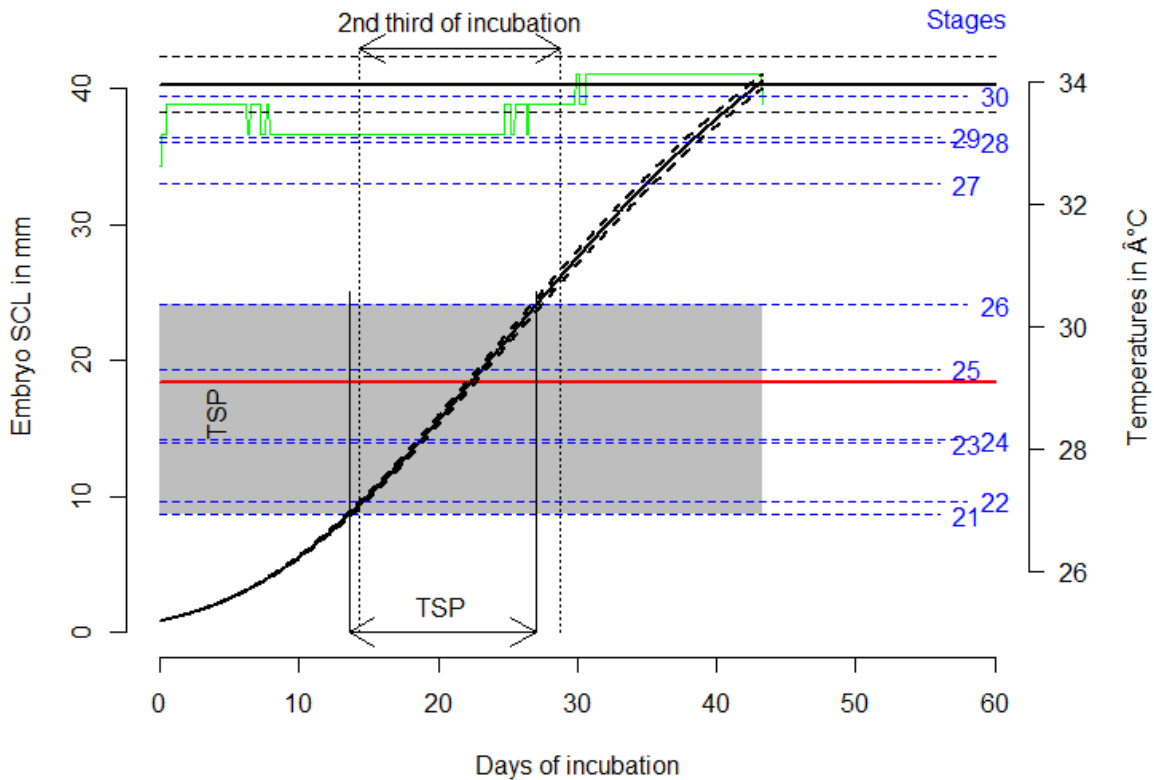
**Figura No. 9.** Patrón de desarrollo embrionario de los 40 nidos del tortugario. El eje Y muestra el tamaño del carapacho (mm) y el eje X los días de incubación.



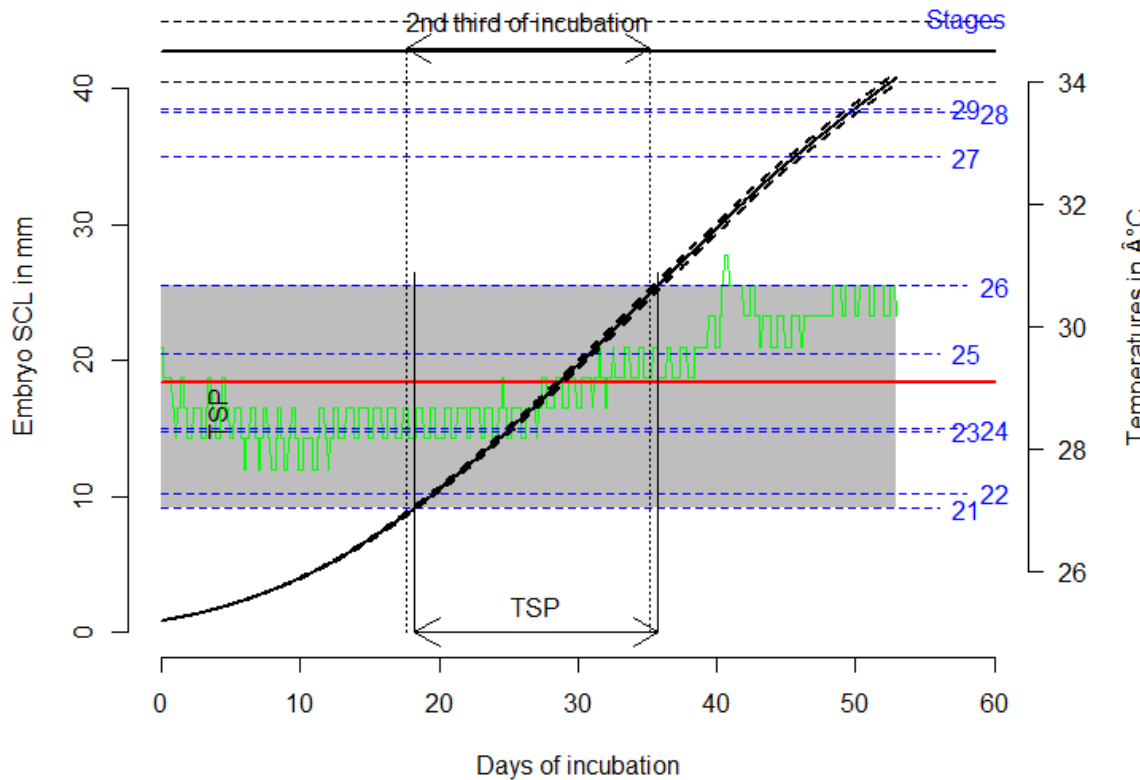
#### **7.4 Cálculo del período termosensitivo (TSP) para los nidos**

La Figura No. 10 muestra un ejemplo del patrón de crecimiento embrionario, utilizando el nido 6 del experimento ya que fue el nido que presentó la temperatura promedio más alta entre todos los nidos. La Figura No. 11 muestra el patrón de crecimiento embrionario utilizando el nido 20 del tortugario, como nido que presentó la temperatura promedio más baja de los nidos.

En la Figura No. 10, se observa que la temperatura promedio durante el TSP (línea verde), se mantuvo por arriba de la temperatura pivotal, y se hubiese esperado obtener hembras. Por el contrario, en el nido del tortugario (Figura No. 11), la temperatura promedio (línea verde) se mantuvo por debajo de la temperatura pivotal durante el TSP y se hubiese esperado obtener machos. A pesar de esto, los nidos resultaron ser 100% feminizados. Así mismo, es observable que el TSP cambia en comparación con la mitad del segundo tercio de incubación, porque la temperatura no es constante.



**Figura No. 10.** Patrón de crecimiento utilizando el nido 6 del experimento, el cual presentó las temperaturas más altas de todos los nidos. La línea horizontal roja que se muestra alrededor de la mitad de la temperatura del TSP (rectángulo gris) es la representación de la temperatura pivotal establecida por  $r$  como  $29.1^{\circ}\text{C}$ . La línea verde claro es el comportamiento de la temperatura a lo largo de la incubación. Las líneas azules punteadas y números azules representan los estadios embrionarios. Se observa la tendencia del crecimiento y su intervalo de confianza.



**Figura No. 11.** Patrón de crecimiento utilizando el nido 20 del tortugario, el cual presentó las temperaturas más bajas de todos los nidos. La línea horizontal roja que se muestra alrededor de la mitad de la temperatura del TSP (rectángulo gris) es la representación de la temperatura pivotal establecida por  $r$  como  $29.1^{\circ}\text{C}$ . La línea verde claro es el comportamiento de la temperatura a lo largo de la incubación. Las líneas azules punteadas y números azules representan los estadios embrionarios. Se observa la tendencia del crecimiento y su intervalo de confianza.

En el Cuadro No. 13 se muestra la duración media y error estándar del Período Termosensitivo (TSP) de los 80 nidos. Por su parte, en el Cuadro No. 14 se observan los estadísticos descriptivos de la duración del período termosensitivo obtenidos por

tratamiento. Esta información, se presenta visualmente en la Figura No. 12, donde se muestra la media por tratamiento y la variación alrededor de la misma. En esta también se pudo observar, que existe una tendencia de los nidos a poseer períodos termosensitivos más largos a medida que disminuyen las temperaturas. Congruente con que, como se mostró anteriormente, en los tratamientos de sol las temperaturas son mayores en comparación con los otros tratamientos; el período más largo corresponde al tratamiento tortugario y el más corto al tratamiento de nidos del experimento sembrados a 40 cm (ExpSol40).

**Cuadro No. 13.** Duración media y error estándar en el Período Termosensitivo (TSP) de los 80 nidos.

| <b>Nido</b> | <b>TSP</b>            |                          |
|-------------|-----------------------|--------------------------|
|             | <b>Duración media</b> | <b>SE de la duración</b> |
| <b>1E</b>   | 14.38                 | 0.12                     |
| <b>2E</b>   | 15.75                 | 0.10                     |
| <b>3E</b>   | 15.54                 | 0.09                     |
| <b>4E</b>   | 14.04                 | 0.10                     |
| <b>5E</b>   | 13.63                 | 0.10                     |
| <b>6E</b>   | 13.46                 | 0.10                     |
| <b>7E</b>   | 14.42                 | 0.09                     |
| <b>8E</b>   | 13.21                 | 0.08                     |
| <b>9E</b>   | 14.83                 | 0.11                     |
| <b>10E</b>  | 13.38                 | 0.08                     |
| <b>11E</b>  | 16.00                 | 0.10                     |
| <b>12E</b>  | 13.50                 | 0.08                     |
| <b>13E</b>  | 14.75                 | 0.09                     |
| <b>14E</b>  | 13.29                 | 0.09                     |
| <b>15E</b>  | 14.63                 | 0.09                     |
| <b>16E</b>  | 13.75                 | 0.11                     |
| <b>17E</b>  | 15.38                 | 0.11                     |
| <b>18E</b>  | 15.88                 | 0.10                     |
| <b>19E</b>  | 14.92                 | 0.10                     |

---

|            |       |      |
|------------|-------|------|
| <b>20E</b> | 13.63 | 0.09 |
| <b>21E</b> | 13.63 | 0.09 |
| <b>22E</b> | 13.75 | 0.08 |
| <b>23E</b> | 13.75 | 0.08 |
| <b>24E</b> | 13.79 | 0.09 |
| <b>25E</b> | 15.17 | 0.09 |
| <b>26E</b> | 15.29 | 0.11 |
| <b>27E</b> | 14.88 | 0.09 |
| <b>28E</b> | 14.46 | 0.10 |
| <b>29E</b> | 13.54 | 0.10 |
| <b>30E</b> | 13.25 | 0.10 |
| <b>31E</b> | 13.29 | 0.08 |
| <b>32E</b> | 13.46 | 0.08 |
| <b>33E</b> | 13.13 | 0.08 |
| <b>34E</b> | 14.29 | 0.09 |
| <b>35E</b> | 14.00 | 0.09 |
| <b>36E</b> | 13.71 | 0.10 |
| <b>37E</b> | 13.58 | 0.10 |
| <b>38E</b> | 13.58 | 0.11 |
| <b>39E</b> | 13.67 | 0.10 |
| <b>40E</b> | 13.63 | 0.09 |
| <b>1T</b>  | 16.67 | 0.09 |
| <b>2T</b>  | 16.83 | 0.12 |
| <b>3T</b>  | 16.75 | 0.11 |
| <b>4T</b>  | 16.08 | 0.10 |
| <b>5T</b>  | 15.42 | 0.11 |
| <b>6T</b>  | 14.42 | 0.07 |
| <b>7T</b>  | 13.83 | 0.09 |
| <b>8T</b>  | 16.63 | 0.10 |
| <b>9T</b>  | 17.13 | 0.09 |
| <b>10T</b> | 16.71 | 0.08 |
| <b>11T</b> | 16.79 | 0.10 |
| <b>12T</b> | 16.42 | 0.09 |
| <b>13T</b> | 15.50 | 0.08 |
| <b>14T</b> | 15.63 | 0.08 |

---

|            |       |      |
|------------|-------|------|
| <b>15T</b> | 15.88 | 0.11 |
| <b>16T</b> | 15.08 | 0.10 |
| <b>17T</b> | 13.92 | 0.11 |
| <b>18T</b> | 13.58 | 0.08 |
| <b>19T</b> | 16.88 | 0.11 |
| <b>20T</b> | 17.54 | 0.11 |
| <b>21T</b> | 16.63 | 0.09 |
| <b>22T</b> | 16.38 | 0.09 |
| <b>23T</b> | 16.63 | 0.11 |
| <b>24T</b> | 16.00 | 0.10 |
| <b>25T</b> | 16.79 | 0.11 |
| <b>26T</b> | 16.13 | 0.10 |
| <b>27T</b> | 16.21 | 0.10 |
| <b>28T</b> | 15.88 | 0.12 |
| <b>29T</b> | 15.83 | 0.09 |
| <b>30T</b> | 15.92 | 0.09 |
| <b>31T</b> | 15.79 | 0.10 |
| <b>32T</b> | 17.42 | 0.12 |
| <b>33T</b> | 17.75 | 0.10 |
| <b>34T</b> | 17.29 | 0.11 |
| <b>35T</b> | 16.46 | 0.10 |
| <b>36T</b> | 15.92 | 0.09 |
| <b>37T</b> | 15.83 | 0.11 |
| <b>38T</b> | 16.17 | 0.10 |
| <b>39T</b> | 16.29 | 0.10 |
| <b>40T</b> | 16.96 | 0.09 |

Fuente: Datos Experimentales

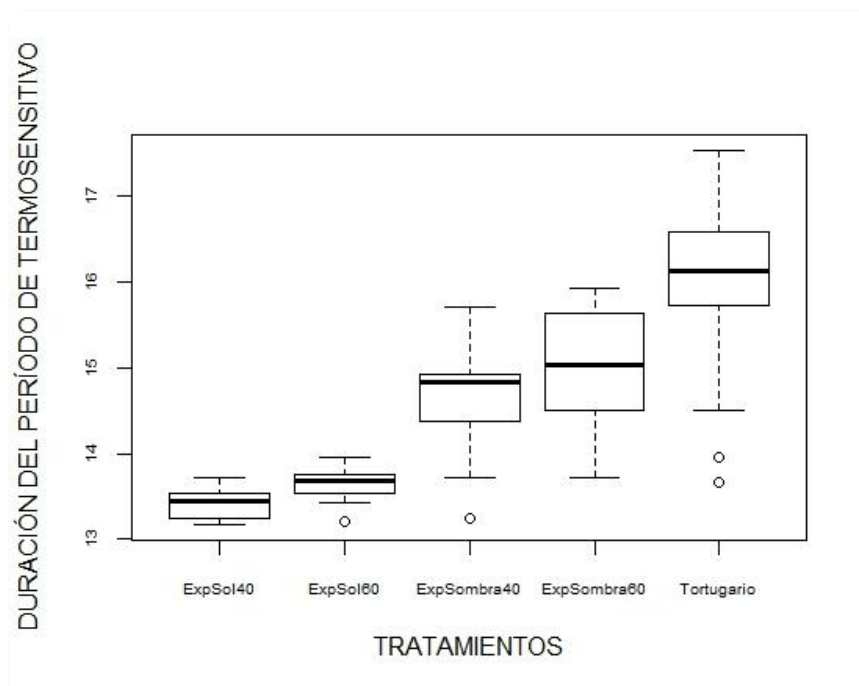
**Cuadro No. 14.** Media y desviación estándar de la duración del período termosensitivo obtenidas para los nidos, expresadas por tratamiento.

| <b>Tratamiento</b>  | <b>Duración del período<br/>termosensitivo</b> |
|---------------------|--|
| Experimental<br>Sol | 13.42±0.17                                     |

---

|   |            |
|---|------------|
| 40 cm de profundidad<br>(ExpSol40)<br>Experimental<br>Sol       | 13.64±0.21 |
| 60 cm de profundidad<br>(ExpSol60)<br>Experimental<br>Sombra    | 14.64±0.73 |
| 40 cm de profundidad<br>(ExpSombra40)<br>Experimental<br>Sombra | 14.97±0.76 |
| 60 cm de profundidad<br>(ExpSombra60)<br>Tortugario             | 16.02±0.88 |

---



**Figura No. 12.** Diagrama de caja-bigotes que muestra la media de la duración del período termosensitivo por tratamiento y la variación alrededor de la media.

En el Cuadro No. 15 se observan los resultados del ANDEVA realizado con el fin de comprobar si existió variación entre el período termosensitivo de los tratamientos. Se evaluaron los supuestos de normalidad y homoscedasticidad para los residuos, mediante el test de normalidad de Shapiro Wilk y el test de igualdad de varianzas de Levene (Cuadro No. 16). Estos muestran que no se cumplen los supuestos, por lo que se invalida el test. Fue necesario realizar de nuevo el análisis de mínimos cuadrados generalizados. Los resultados, en el Cuadro No. 17, muestran que en cuanto a la duración del período termosensitivo, tampoco hay diferencia significativa entre los tratamientos ExpSol60 y ExpSol40, y entre los tratamientos ExpSombra60 y ExpSombra40 (Cuadro No. 17). Esto indica que no hay efecto de la profundidad. Por otro lado, sí hay efectos de las condiciones sol, sombra, y tortugario.

**Cuadro No. 15.** Resultados de los análisis de varianza de una vía para evaluar la  $H_0$ :

$$\mu_{\text{ExpSol40}} = \mu_{\text{ExpSol60}} = \mu_{\text{ExpSombra40}} = \mu_{\text{ExpSombra60}} = \mu_{\text{ExpTortugario}}$$

| Variable                                   | Efectos      | Grados de libertad | Sumas de cuadrados | Cuadrados medios | F     | p      |
|--|--------------|--------------------|--------------------|------------------|-------|--------|
| <b>Duración del período termosensitivo</b> | Tratamientos | 4                  | 86.06              |                  |       |        |
|  | Residuos     | 75                 | 40.59              | 21.514           | 39.75 | < 0.01 |

**Cuadro No. 16.** Evaluación de los supuestos de normalidad y homoscedasticidad para los residuos de los análisis de varianza del Cuadro No. 10.

| Variable | Test de normalidad de Shapiro Wilk | Test de igualdad de varianzas de Levene                             |
|----------|------------------------------------|---|
|          | $H_0$ : los residuos son normales  | $H_0$ : los residuos tienen la misma varianza para cada tratamiento |



|   | W      | p     | Grados de libertad | F      | p     |
|---|--------|-------|--------------------|--------|-------|
| <b>Duración del período de incubación</b> | W=0.94 | <0.01 | 4.75               | W=0.94 | <0.01 |

**Cuadro No. 17.** Resultados de los análisis de mínimos cuadrados generalizados para evaluar la  $H_0: \mu_{\text{ExpSol40}} = \mu_{\text{ExpSol60}} = \mu_{\text{ExpSombra40}} = \mu_{\text{ExpSombra60}} = \mu_{\text{ExpTortugario}}$  para la variable duración del período termosensitivo (AIC = 191.69, error estándar residual = 0.74, g.l.=75). Se observa que no hay diferencia significativa entre los tratamientos ExpSol60 y ExpSol40 y entre los tratamientos ExpSombra60 y ExpSombra40.

| Tratamientos comparados | Diferencia entre las medias | Error estándar | Valor t | p     |
|-------------------------|-----------------------------|----------------|---------|-------|
| ExpSol60-ExpSol40       | 0.22                        | 0.08           | 2.57    | 0.12  |
| ExpSombra40-ExpSol40    | 1.21                        | 0.24           | 5.09    | <0.01 |
| ExpSombra60-ExpSol40    | 1.55                        | 0.24           | 6.33    | <0.01 |
| Tortugario-ExpSol40     | 2.60                        | 0.15           | 17.49   | <0.01 |
| ExpSol60-Tortugario     | -2.39                       | 0.15           | -15.58  | <0.01 |
| ExpSombra40-Tortugario  | -1.39                       | 0.27           | -5.14   | <0.01 |
| ExpSombra60-Tortugario  | -1.05                       | 0.28           | -3.81   | <0.01 |
| ExpSol60-ExpSombra40    | -0.997                      | 0.24           | -4.13   | <0.01 |
| ExpSombra60-ExpSombra40 | 0.34                        | 0.33           | 1.01    | 0.31  |
| ExpSol60-ExpSombra60    | -1.33                       | 0.25           | -5.39   | <0.01 |

## 7.5 Relación entre el período termosensitivo y la proporción de sexos

Debido a que no se obtuvo proporción de sexos, no fue posible encontrar una relación entre el período termosensitivo y la proporción de sexos.

## **8. DISCUSIÓN**

### **8.1 Efectos de los tratamientos en la temperatura de los nidos, duración del período de incubación y éxito de eclosión**

Los tratamientos en este estudio consistieron en diferentes condiciones de siembra de los nidos en las que se varió la exposición al sol y la profundidad. Se esperaba que estos factores crearan diferencias en la temperatura de los nidos y por lo tanto, afectarían la duración de la incubación, el éxito de eclosión y como se discutirá más adelante, la proporción de sexos. Los resultados mostraron que los tratamientos si tuvieron efectos en la temperatura de incubación, la duración del periodo de incubación y el éxito de eclosión.

Considerando que la temperatura juega un rol tan importante en estas especies, es fundamental evaluar las posibles variables que pueden tener influencia sobre la temperatura de los nidos. Sobre todo, si se considera que diferencias mínimas en la temperatura de incubación pueden tener efectos directos sobre la proporción de sexos de los neonatos producidos en el nido (Janzen & Paukstis, 1991, p. 154).

En este experimento, la temperatura de incubación mantuvo una relación inversa con la duración del período de incubación, como lo muestra la Figura No. 5 de la regresión lineal simple realizada. Resultados similares fueron observados por DeGregorio & Southwood, (2011, p. 54), quienes indican que las temperaturas de incubación dentro de los nidos no solo tienen impacto sobre la duración de la incubación; también afectan al éxito de eclosión, el tamaño del neonato y su comportamiento.

La fluctuación de las temperaturas a lo largo de la incubación en nidos naturales puede ser causada por varios factores. En un caso, Valverde, Wingard, Gómez, Tordoir, & Orrego (2010, p. 84), estimaron que las variaciones de temperaturas entre

controles y nidos de *L. olivacea*, se debían a microbios o descomponedores y calor metabólico, entre otros. Por su cuenta, Bull (1980, p. 15), estipula que la temperatura es variable en el espacio y que varía con la profundidad y la exposición al sol. En este experimento, los resultados mostraron diferencias en las temperaturas de los nidos como consecuencia de la exposición a la luz solar, mas no de la profundidad.

En este estudio las temperaturas más bajas se encontraron en los nidos del tortugario, y las más altas en los nidos del experimento bajo sol, específicamente los nidos experimentales bajo el sol a 40 centímetros de profundidad. Es importante señalar que en el tortugario la filtración de luz solar era muy poca, pues se encontraba completamente cubierto por sarán y por mantas vinílicas a los costados, mientras que los nidos bajo sol del experimento, no poseían ningún tipo de cobertura o sombra en ningún momento del día (aún con cambios en la posición del sol). Por otro lado, otros factores deben ser considerados en cuanto al tratamiento tortugario y su relación con las temperaturas bajas, sobre todo porque sus nidos estaban a profundidades menores que los del experimento (< 30 cm).

En su estudio con *Chellydra serpentina*, St.Juliana, Bowden, & Janzen, (2004, pp. 271, 275), al intentar determinar si las propiedades microclimáticas de un nido pueden acertadamente predecir la temperatura del mismo, obtuvieron que de las variables correlacionadas con la temperatura, únicamente son significativas la sombra que proveía la vegetación. Esto coincide con lo observado en este experimento, con la diferencia de que la fuente de sombra fue del sarán (tortugario) y de la hoja de palma (experimento). Sin embargo, no se descarta que las diferencias de temperaturas entre los nidos del tortugario y los nidos cubiertos del experimento, podrían haber tenido otras causas que no fueron medidas durante el estudio.

Algunos autores sugieren que la temperatura puede ser influenciada por algunos factores bióticos y abióticos como: microorganismos descomponedores, humedad, vegetación, tipo de sustrato (Valverde, *et al.*, 2010, p. 77). Otros se centran en el

potencial hídrico y su relación con el sustrato, pues se mencionan que una humedad insuficiente en la arena (por factores como la granulometría y tipo de sustrato) puede provocar el colapso de uno o varios nidos (Janzen & Paukstis, 1991, p. 154; Alkindi, Mahmoud, Al-Habsi, Al-Bahry, Al-Gheilani, & Bakheit, 2006, p. 289).

El tipo de sustrato puede también tener un efecto en la mortalidad de los neonatos y el éxito del nido. En su estudio, Witherington (2000, p. 206), en base a lo revisado en Crain *et al.* (1995), menciona que la cantidad excesiva de limos, arcillas, partículas de conchas y la distribución espacial de los granos de arena en el sustrato, pueden provocar, entre algunos sucesos, que la arena esté demasiado compacta para permitir una excavación exitosa de los neonatos en su ascenso hacia la superficie. Sin embargo, también menciona que existe poco conocimiento en cuanto a cómo un buen control de calidad de la arena y la selección adecuada de los métodos de dispersión pueden reducir las diferencias entre las arenas naturales y las adicionadas. Sin embargo, sugiere en base a los resultados de su estudio, que el criterio que debe utilizarse para juzgar a la calidad del sustrato, debe ser la semejanza de la compactación de la arena agregada con la de la original. Por el contrario, según lo mencionado por Orantes (comunicación personal, noviembre 15, 2011), tanto el tortugario provisional como el oficial fueron rellenos con otro tipo de arena, diferente a la de mar. Es decir, de un sustrato consistente de una mezcla de arena muy fina y suelo con partículas orgánicas, diferente a la arena de mar según lo observado por Girondot (comunicación personal, abril 26, 2012).

El papel del sustrato es muy importante. Mortimer (1990, p. 804), cita estudios que muestran que las características físicas del sustrato en el que se incuban los huevos tienen un fuerte efecto en el crecimiento embrionario y la diferenciación sexual durante la incubación; éste afecta particularmente condiciones de: temperatura, humedad e intercambio gaseoso. Además de esto, el tipo de sustrato crea determinados gradientes térmicos dentro del nido y dependiendo de su composición puede o no ser un buen conductor de energía térmica hacia los huevos (Spotila,

Zimmerman, Binckley, Grumbles, Rostal, List,..., & Kemp, 1994, p. 105). Estudios en playas artificiales de arena fina, como la del tortugario, han demostrado que tal finza tiende a retener más agua, aumentando la conductividad térmica de la arena, lo cual puede alterar los períodos de TSD y la proporción de sexos en los nidos (Coudert, 2009, pp. 13-14).

Por estas razones podría suponerse que el éxito de eclosión, tanto como la variación de la temperatura durante la incubación y por lo tanto la duración del periodo de incubación, pueden estar influenciados por las condiciones que provee el tipo de arena de la playa donde se sitúan los huevos (Pike, 2008, p. 706; Schroeder y Murphy, 2000, p. 53); pudiendo ser arena de origen calcáreo o volcánico, lo cual se verá reflejado en su color y en el tipo de arena (fina, gruesa, gruesa mezclada con fragmentos de conchas, etc.) (Schroeder y Murphy, 2000, p. 53; Strahler & Strahler, 1973, p. 388).

Todos los tipos de arena poseen granos de minerales pesados de diferentes tamaños (granulometría), y que provienen de sedimentos (Strahler & Strahler, 1973, p. 388); se diferencian según la composición, características físicas y químicas, tamaño de sus sedimentos, etc. (Strahler & Strahler, 1973, p. 193; Simons, 1990, p. 315). El sedimento, a su vez, se compone de diferentes compuestos que le dan cierto nivel de conducción térmica, lo que aporta de alguna manera las fluctuaciones térmicas dentro de los nidos. Es decir, algunos sedimentos como los clásticos, derivan directamente de partículas rotas de una roca madre y están compuestos de minerales de alta densidad, como: magnetita e ilmenita, con cantidades considerables de compuestos férricos; zirconio, con compuestos de sílice y cinc; y granate, con compuestos silicatos de aluminio de calcio, magnesio, manganeso y hierro. De los sedimentos clásticos surgen los piroclásticos, de los cuales provienen las arenas negras como las de Guatemala. Este tipo de sedimento proviene directamente de los volcanes, en forma de terrones, cenizas y polvo volcánico; de manera que tiene una cantidad alta de minerales

magmáticos, como: silicatos, granita, basalto, entre otros. (Strahler & Strahler, 1973, p. 194).

Todos estos componentes son extremadamente resistentes a la abrasión y componen la arena de mar, atribuyéndole a su vez sus grandes concentraciones de metales (Strahler & Strahler, 1973, p. 194; Simons, 1990, p. 315). Además de esto, muchos de los minerales que componen este tipo de arena, en general, “*tienen capacidades caloríficas molares altas. Es decir, que son muy buenos “almacenes” de calor*” (Cerbuna, 2003, p. 2), lo que en este caso se podría atribuir a las altas temperaturas registradas, las cuales suponen ser las causantes de la obtención de únicamente hembras en este estudio.

Según los datos crudos obtenidos en este estudio, los porcentajes de eclosión mayores fueron los de los nidos del tratamiento 60 centímetros bajo sombra, seguidos de los del tratamiento 60 centímetros bajo sol. Los tratamientos con menor éxito de eclosión fueron el tratamiento 40 centímetros bajo sombra, seguido del tratamiento 40 centímetros bajo sol. Mientras que el tortugario por su cuenta, permaneció como el tratamiento medio; es decir fue el tercer tratamiento con éxito de eclosión más alto (Cuadro No. 11). Los resultados estadísticos corroboraron que los nidos de los tratamientos: 60 centímetros bajo sombra, 60 centímetros bajo sol y tortugario, no variaron significativamente en su porcentaje de éxito de eclosión, siendo entonces los tres tratamientos con mayor éxito de eclosión. De igual manera, muestra que el tratamiento 40 centímetros bajo sombra fue el siguiente con mayor éxito de eclosión y finalmente el tratamiento 40 centímetros bajo sol fue el que obtuvo el menor éxito de eclosión de los 5 tratamientos (Cuadro No. 12). Vemos como en este caso no hay un patrón definido y no podemos atribuir diferencias en el éxito de eclosión a la exposición al sol.

El éxito de eclosión también puede variar entre playas y entre especies (Pike, 2008, p. 706), por factores que pueden tener efecto sobre el desarrollo embrionario,

como: la calidad fisicoquímica y estado de la arena de incubación, las influencias ambientales, las condiciones dentro del nido (microhábitat), etc. (Gutzke & Packard, 1987, p. 161; Spotila, *et al.*, 1994, p. 104; Pike, 2008, p. 706; Richardson, 2000, p. 11). En un estudio realizado con *L. olivacea* en condiciones de laboratorio, los huevos incubados a las temperaturas más altas tuvieron un éxito de eclosión de 73%, en contraposición con el de los huevos incubados a la menor temperatura, 60%. En cuanto las temperaturas intermedias, la mayor mostró un porcentaje de 54.2% y la siguiente 68.5% (Wibbels, Rostal, & Byles, 1998, p. 1087).

Respecto a la profundidad, no puede decirse que tiene un efecto directo sobre el éxito de eclosión, pues en el tortugario el éxito de eclosión no varió del de los nidos sembrados en el experimento a 60 centímetros (los cuales eran 33.1 centímetros más profundos), aún cuando las temperaturas entre los tres tratamientos fueron relativamente similares. Por otro lado, los nidos sembrados a 40 centímetros (13.1 cm más profundos que los del tortugario) tienen un tercio de posibilidad de tener el mismo porcentaje de éxito de eclosión que los nidos del tortugario. Esto demuestra que son varios factores los que influyen en el éxito de eclosión, ya sea en conjunto o individuales. En el caso de la profundidad y la temperatura, si bien son factores influyentes por sí solos, tiene un gran impacto sobre otros; es decir facilita el surgimiento de factores que propician ciertas condiciones dentro del nido (Pike, 2008, p. 706).

Respecto a la viabilidad de los huevos y la sobrevivencia de embriones y neonatos, se mencionan factores como: salinidad, humedad, flujo de gases, lluvia, inundaciones (marejadas), erosión y la depredación; además de: insectos adultos y larvas, hongos, microorganismos; incluso la profundidad y temperatura (que además son facilitadores de muchos) (Kaska, & Downie, 1999, p. 55; Bull, 1980, p. 8; Valverde *et al.*, 2010, p. 77; Spotila, *et al.*, 1994, p. 106). Por otro lado, Kaska & Downie (1999, p. 55), mencionan que el manejo inapropiado de huevos durante su traslado a un tortugario puede incrementar la mortalidad; situación que hay que tener

en cuenta para los esfuerzos de conservación que se llevan a cabo. Esta es una de las razones por las que se debe prestar mucha atención al éxito de eclosión que maneja el tortugario, como presunto recinto de protección y conservación de tortugas marinas.

El porcentaje de eclosión del total de los nidos evaluados (experimento y tortugario), el cual fue de 83.82%. El éxito de eclosión del tortugario fue de 83.82%, lo cual es similar a lo que se ha encontrado en otros países en nidos naturales. Durante varios años se ha evaluado el éxito de eclosión de *Lepidochelys olivacea*, tanto en poblaciones naturales como en tortugarios y en experimentos de laboratorios. Una de las estimaciones se remonta a 1986, donde según Gaos, Yañez, & Arauz (2006, p. 7), Castro (1986) estimó en playas con anidaciones solitarias de esta especie, un éxito de eclosión considerablemente alto, más del 80% para las poblaciones de la costa este del pacífico costarricense. Al igual que lo obtenido en el tortugario de la RNUMM, en Costa Rica se reportó un tortugario con un éxito de eclosión de 85.81% (Gaos, *et al.*, 2006, p. 17). Recientemente, en otra playa costarricenses, se estimó un porcentaje de éxito de eclosión en nidos naturales de 81.78% (Viejobueno, Adams, & Arauz, 2011, p. 10), cercano al reportado por Castro para nidos naturales hace más de 26 años.

En otro estudio realizado en condiciones de laboratorios, se incubaron huevos de *L. olivacea* a determinadas temperaturas. Se obtuvieron 3 nidadas evaluadas y se distribuyeron en submuestras incubadas a 23, 25, 28, 30 y 32°C. El porcentaje de éxito de eclosión global obtenido fue de 42%; donde no hubo eclosión de los huevos incubados a 23°C (McCoy, *et al.*, 1983). Un caso similar fue citado por Bull (1980, p.8), huevos de la tortuga del género *Chelydra* fueron incubados a varias temperaturas, en este caso, no hubo eclosión de los huevos incubados a 20°C.

En conclusión, en este estudio se determinó que las temperaturas dentro del nido y la duración del periodo de incubación fueron afectadas por la exposición al sol versus la sombra. La profundidad no tuvo efectos. Las causas de la variación en el éxito de eclosión son menos claras, pero en general todos los tratamientos presentaron



un alto éxito de eclosión (74% o mayor). La revisión bibliográfica indica que el tipo de arena (que en el Pacífico de Guatemala es negra y rica en hierro) pudo tener efecto en las temperaturas y como se discutirá a continuación, las propiedades físicas de este tipo de arena pudieron haber tenido influencia en la determinación del sexo de los neonatos.

## **8.2 Relación entre la duración del período de incubación y la proporción de sexos**

En este estudio, el periodo de incubación apareció inversamente relacionado con la temperatura, sin embargo, las variaciones en el periodo de incubación no conllevaron a una variación en los sexos de los neonatos y se obtuvieron únicamente hembras.

Para entender los aspectos relacionados a cómo la temperatura durante la incubación afecta varios de los procesos embrionarios, es necesario retomar algunos conceptos básicos de fisiología embrionaria y determinación de sexo en estos reptiles.

La determinación de sexo por temperatura o determinación termodependiente del sexo (TSD) en las tortugas es un proceso fisiológico en el que la incubación de los huevos a bajas temperaturas produce machos y a altas produce hembras (Hulin, *et al.*, 2009, p. 494; Bull, 1980, pp. 4, 8). Cada sexo únicamente puede ser obtenido en un rango determinado de temperaturas (TRT, por sus siglas en inglés), el cual es determinado por la temperatura pivotal (TP) (Mrosovsky & Pieau, 1991, p. 169).

Aunque existen varios conceptos sobre la TP, una definición consensuada se refiera a ésta como el valor (temperatura) en el cual ambos sexos son producidos en iguales proporciones. Dado que la TP ha sido obtenida bajo condiciones controladas

de laboratorio a temperaturas de incubación constantes, la variación térmica dentro de nidos naturales durante el TSP podría complicar las comparaciones entre los datos de laboratorio y los de campo (Hulin, *et al.*, 2009, p. 494; Mrosovsky & Pieau, 1991, p. 178; Bull, 1980, p. 8; Mrosovsky, 1980, p. 532; Georges, 1989, p. 323). Hulin, *et al.* (2009, p. 494), mencionan que la TP debe ser utilizada simplemente como un índice de temperatura que marca un posible cambio en la proporción de sexos de un nido. Por su parte, Mrosovsky & Pieau (1991, p. 170), mencionan que debe utilizarse con precaución y únicamente como una definición enteramente operacional para describir resultados de incubaciones experimentales a temperaturas constantes.

Bull *et al.* (1982), observaron variaciones de la TP en rangos de pocos centígrados, entre: géneros de una misma familia, especies de un mismo género, e incluso entre rangos de distribución geográfica de una misma especie (McCoy, *et al.*, 1983, p. 405). Otros estudios mencionan que lo mismo ocurre con el TRT, el cual varía específicamente entre poblaciones (Mrosovsky & Pieau, 1991, pp. 175, 178). Bull & Vogt (1979, p. 1186), mostraron que la producción de sexos dentro de los TRT es relativa y variable a la temperatura de incubación, pues en su estudio con la tortuga del género *Chelydra* la incubación a temperaturas presuntamente feminizantes (reportadas para otras poblaciones) produjeron 100% machos fenotípicos.

Morafka, Spangenberg, & Lance (2000, p. 359), mencionan que estudios realizados por Rhen & Lang (1995), Janzen (1995) y O'Steen (1998), mostraron que la temperatura por sí sola tiene un efecto en la alteración de la condición y desempeño a nivel neonatal, y ésta dista de la coincidencia normal de la TSD. Por tales razones, y considerando que la TSD y sus valores asociados de TP y TRT son obtenidos en condiciones constantes de laboratorio, la influencia que tiene la temperatura sobre el sexo de los embriones en nidos naturales no puede ser estimada confiablemente utilizando dichos valores, pues las temperaturas dentro del nido fluctúan durante todo el período de incubación (Hulin, *et al.*, 2009, p. 494; Georges, 1989, p. 323). Incluso, Mrosovsky & Pieau (1991, p. 173), mencionan que pequeñas diferencias de las TP

podrían surgir de la extrapolación de datos de diferentes individuos, si se intenta correlacionar los valores de TP con la distribución geográfica o con otras influencias ambientales térmicas. Agregan que aunque dichas diferencias pueden no ser detectadas, su acumulación durante varios años puede influenciar considerablemente la estructura demográfica en la naturaleza.

La TP fue originalmente el único valor en base al cual se describió la TSD (Girondot, 1999, p. 479), y es la referencia que se ha venido utilizando para estimar la proporción de sexos en nidos naturales. Sin embargo, como fue descrito, la forma en cómo deber ser evaluada la TP es aún incierta y controversial.

A pesar de que aún existen muchas incógnitas, varios métodos para estimar la proporción de sexos en especies con TSD han sido impulsados desde hace varias décadas. Considerando que la duración del período de incubación tiene una relación estrecha con la temperatura de incubación, ésta ha sido en varias ocasiones propuesta y utilizada para estimar el sexo de embriones, indicando que con ésta junto a la TP podrían estimar la proporción de sexos en los nidos de estas especies. Como en el caso de los estudios de Wilhoft *et al.* (1983), Bull (1985) y Schwartzkopf & Brooks (1985), citados en Georges (1989, p. 326), que utilizaron la cantidad de horas de incubación a temperaturas por encima de la TP para determinar el sexo de tortugas de agua dulce. En estos casos mostraron que, si la proporción de desarrollo es más importante que la proporción de tiempo de exposición de los huevos a temperaturas sobre la TP, tal valor no era un parámetro fiable pues una hora de exposición de los huevos a temperaturas de hasta 1°C más que la TP no era equivalente a una hora de hasta 5°C más.

La predicción de cuántos neonatos de cada sexo se producirán en condiciones naturales utilizando la TP se complica por razones como los cambios temporales que difieren de año a año y la masa de huevos que produce calor metabólico a medida que avanza la incubación. Además, la TP es obtenida en condiciones constantes de

laboratorio lo cual no se traduce directamente a condiciones naturales (Mrosovsky & Yntema, 1980, p. 1015). Esta premisa aplica no solo a nidos naturales, también a nidos de tortugarios y otros nidos que no están a temperaturas constantes ni se tiene control sobre las variables que los afectan. Por esta razón, este estudio buscaba determinar si variaciones en temperaturas en nidos naturales realmente podría predecir el sexo de las tortugas, utilizando un experimento controlado y la determinación embriológica del sexo del neonato a través de la observación de gónadas *in situ* mediante un estereoscopio.

Al disectar y sexar los especímenes se obtuvo que la producción total de los nidos, tanto del tortugario como del experimento, generó únicamente hembras; aún cuando sí hubo variación (diferencia) en la temperatura y en la duración del período de incubación entre los nidos: 3.4°C y 11 días de diferencia entre los nidos más extremos en el experimento, y 0.58°C y 8 días de diferencia entre los nidos más extremos en el tortugario. Cabe mencionar que el sexado se hizo bajo la supervisión de expertos que han sexado neonatos de tortugas marinas en vastas ocasiones; de manera que la ocurrencia de un error de sexado es posible, pero poco probable.

Dados los resultados, no es posible establecer una proporción de sexos como tal, sin embargo, si es posible hablar de un sesgo hacia las hembras (razón de sexos 1:0). Similares sesgos han sido documentados en diferentes especies, incluso diferentes poblaciones de una misma región. Este suceso ha sido estudiado con el fin de conocer su posible origen y las implicaciones que puede tener en las poblaciones.

Como fue mencionado en varias ocasiones, son diversos los factores que se atribuyen a la diferenciación sexual de los animales con TSD. Muchos autores sugieren encontrar las razones por las cuales este mecanismo ha sido tan exitoso y permanece aún en algunas especies, aún cuando suceden cosas como el sesgo de sexos en varias poblaciones por factores recientes que podrían amenazar las especies a la

extinción. Bull (1980, p. 15) sugiere que la explicación más plausible es que la TSD selecciona de por sí, las historias de vida que minimicen dichas desviaciones.

La diferenciación del sexo en animales con TSD puede estar afectada o influenciada por factores fisiológicos, genéticos, ambientales, evolutivos, entre otros; teniendo implicaciones considerables en la proporción de sexos: sesgos o desviaciones. La magnitud de estos sesgos puede ser grandemente influenciada por la historia de vida de cada especie, el ambiente local de cada organismo; incluso pueden variar según el rango de distribución de la especie (Bull, 1980, pp. 15, 18). Aún las mínimas variaciones en la temperatura de incubación pueden afectar la proporción de sexos de los neonatos. Respecto a esto, Janzen & Paukstis (1991, p. 154), citan que en estudios han observado que factores no controlados en los que las condiciones hídricas del sustrato pueden influenciar directamente las gónadas durante el desarrollo embrionario, pudiendo ser directa o indirectamente a través de la relación entre el potencial hídrico y la temperatura.

En el presente estudio se observó reducción de gónadas en varios especímenes. Según lo observado en otros estudios las gónadas son influenciadas durante el desarrollo embrionario por cambios en la temperatura (Janzen & Paukstis, 1991, p. 154). De manera que las temperaturas extremas generadas en los nidos de este estudio podrían ser la razón por la que se observó reducción de gónadas, más no necesariamente la única causa de la producción exclusiva de hembras en todos los nidos.

Estudios mencionan que el hecho de que las temperaturas pivotaes varíen geográficamente, temporalmente, por condiciones ambientales, o incluso entre poblaciones, tiene implicaciones directas sobre la proporción de sexos a nivel regional (Janzen & Paukstis, 1991, p. 158; McCoy *et al.*, 1983, p. 405; Spotila, *et al.*, p. 111; Mrosovsky & Pieau, 1991, pp. 172-173). Tal es el caso del estudio realizado con *D. coriacea* en Costa Rica, donde con el fin de probar una variación intraespecífica de la

temperatura pivotal de una población de esta especie en la costa pacífica, en relación a la proporción de sexos obtenida en tres temporadas, los resultados fueron contrastados con otras poblaciones del atlántico. El resultado fue un sesgo de 100%, 93.5% y 74.3% hacia hembras (Binckley, Spotila, Wilson, & Paladino, 1998, pp. 293-296). Los autores comentaron que el sesgo hacia hembras obtenido en estas poblaciones, es similar al de las poblaciones de Surinam y Guyana Francesa, según las proporciones reportadas desde hace aproximadamente 39 años. Por tal razón no aceptaron la hipótesis de que una temperatura pivotal elevada refleja diferencias de los cambios climáticos entre áreas de anidación en el Atlántico y el Pacífico. Por el contrario, presumieron que hay igualdad de las temperaturas pivotaes entre las poblaciones del Atlántico y el Pacífico, y esto se debe a flujo genético entre ambas poblaciones o a los ambientes de anidamiento similares entre estas áreas geográficamente separadas (Binckley *et al.*, 1998, p. 296).

Por otro lado, varios autores hablan de sesgo en las proporciones sexuales como si se tratase de algo natural. Wibbels (2002, pp. 114-115), menciona que si bien existen cambios en las proporciones de sexo de neonatos de tortugas marinas, que pueden implicar sesgos, estos suceden de forma anual o estacional (temporadas de anidación). Bull (1980, p. 18) agrega la influencia que tiene además el sitio de anidación y la incubación parental como factores que afectan dicha proporción a nivel de rangos de especie. Bowden, Ewert, & Nelson (2000, p. 1747), por su cuenta, aunque comparte que el cambio en las proporciones son estacionales, añade que estos cambios pueden activar otros procesos feminizantes o masculinizantes, como los cambios hormonales. Es decir, existe evidencia que las hormonas pueden tener un papel en la determinación del sexo en animales con TSD.

Existe evidencia de que muchos de los procesos, valores y estándares de la TSD están determinados genéticamente (TP, las proporciones de sexo, etc.); los cuales a su vez pueden deberse a diferentes niveles de hormonas entre el genotipo o a diferente sensibilidad entre genotipos para el mismo nivel hormonal; incluso entre especies

(Girondot & Pieau, 1990, p. 77). En tal caso, la temperatura de incubación modifica el microambiente endocrino del embrión, y las hormonas esteroideas sirven como un desencadenante proximal de la determinación del sexo (Crews, 1996, p. 11).

Una hipótesis al respecto que ha sido muy bien respaldada por varios estudios es la propuesta por Bogart (1987), la cual supone que el sexo en las gónadas presuntamente está determinado por la proporción gonadal local de esteroides de androgénicos a estrogénicos. Tal proporción está regulada por la aromatasa, la cual está encargada de convertir la testosterona a estrógeno. La aromatasa se encuentra regulada por la temperatura o por las transcripciones génicas que dependen de la temperatura. De cualquier manera, se ha observado en varios estudios que hay una relación directamente proporcional entre la temperatura y los niveles de aromatasa, y por ende, entre la aromatasa y la cantidad de estrógenos (Belaid, Richard-Mercier, & Pieau, 2001, pp. 494, 496; Hulin *et al.*, 2009, p. 497; Janzen & Paukstis, 1991, p. 163).

Esta podría considerarse una razón proximal respecto a la feminización total obtenida en este estudio. Es decir, dado que las temperaturas en los nidos fueron relativamente constantes, podría suponerse que éstas fueron lo suficientemente altas como para producir altos niveles de aromatasa, lo que resultó en una gran cantidad de estrógenos que indujeron la determinación de hembras. Máxime porque el período sensible a los efectos de estas hormonas coincide con el TSP de la diferenciación normal del sexo, según lo reportado por Gutzke & Chymiy (1988), Dorizzi *et al.* (1994, 1996) y Richard-Mercier *et al.* (1995) (Janzen & Paukstis, 1991, p. 165; Belaid *et al.*, 2001, p. 490).

Varios supuestos pueden surgir respecto a las altas temperaturas generadas en las playas. Por un lado, podría asumirse que el color de la arena es un factor que por sus propiedades y color tiene influencia sobre la temperatura dentro de los nidos. Es decir, como fue mencionado, la arena negra que se encuentra en las playas de la costa

del Pacífico de Guatemala es de origen volcánico. Esto significa que en su composición posee grandes concentraciones de metales y minerales pesados (Strahler & Strahler, 1973, p.194; Simons, 1990, p.315); y dado que muchos de sus componentes tienen una alta capacidad de absorción y acumulación de calor (Cerbuna, 2003, p. 2), podría ser la razón de las altas temperaturas en esta arena que provocan el alto sesgo hacia las hembras producidas en las costas (según los resultados obtenidos). Esta información conlleva a cuestionar si es posible que los nidos naturales expuestos al sol en arenas negras, pueden producir temperaturas menores a la pivotal reportada para esta especie (29.1°C), durante el periodo crítico de la incubación donde se determina el sexo. Las temperaturas mínimas promedio en los nidos expuestos al sol en este experimento, fueron de 32.50°C (40 cm) y 32.45°C (60 cm).

De corroborarse esta presunción, se esperaría que por los componentes mismos de las playas de arena clara (que le confieren otras propiedades como una menor captación y almacenaje de calor), es en estos sitios que se están produciendo mayores cantidades de machos que esperaría se aparearán con las hembras producidas en sitios de arenas negras; esto ha sido evidenciado en otras especies. Un ejemplo es el reporte de la tortuga *E. imbricata* marcada en Brasil que fue recuperada las costas en Senegal (Marcovaldi & Fiippini, 1991), pues confirma el supuesto de que ante los grandes sesgos de hembras que se están produciendo en algunas poblaciones de Brasil, las hembras migran hacia costas africanas para aparearse con poblaciones de machos producidas en esos sitios (Godfrey, D'Amato, Marcovaldi, & Mrosovsky, 1999, pp. 1470-1471).

El sesgo en la proporción de sexos ha sido observado en varias poblaciones y varias especies de tortugas marinas. En pocas ocasiones se ha visto más el sesgo hacia machos, pero en la gran mayoría de estudios publicados el sesgo es notoriamente hacia hembras, desde hace varias décadas (Chan & Liew, 1995; Mrosovsky, Hopkins-Murphy, & Richardson, 1984; Binckley *et al.*, 1998; Hernández-Echeagaray, Hernández-Cornejo, Harfush-Meléndez, & Gacía-Gasca, 2012; Wibbels, Hillis-Star,



& Phillips, 1999; Godfrey *et al.*, 1999; Godfrey, Barreto, & Mrosovsky, 1996). En algunos estudios se han obtenidos sesgos evidentes en acorde la temporada o estación del año. De hecho, en el estudio de Janzen (1994), Godfrey *et al.* (1999, p. 275), mencionan que con una especie de tortuga de agua dulce se obtuvo variaciones anuales en las proporciones de sexo (sesgos) estimadas de neonatos de tortuga de agua dulce *Chrysemys picta*, balanceadas en 1:1 por más de 49 años. A pesar de esto, Mrosovsky (2002, p. 114), aclara que esto no sucede en todas las playas, pues dependerá muchas veces de las condiciones climáticas y la duración de la temporada de anidación de cada lugar. En el caso de los neonatos de *Caretta caretta* del estudio de Mrosovsky, *et al.* (1984), en Carolina del Sur y Georgia (Estados Unidos), hubo un sesgo de menos del 10% hembras durante la época más fresca de temporada de anidación y hasta 80% hembras en las temporada más cálida (Mrosovsky, 2002, p. 114).

Un estudio realizado con *D. coriacea* en Nueva Guinea, obtuvo una proporción de sexos sesgada hacia machos, mediante cálculos realizados utilizando la TP. Trabajaron 3 localidades y obtuvieron la proporción por localidad. En la primera obtuvieron únicamente de 24.2 a 35.2% hembras, en la segunda obtuvieron 38% hembras y en la tercera de 5.4 a 18.4% hembras (Steckenreuter, Pilcher, Krüger, & Ben, 2010, p. 126). Otro estudio fue realizado con *D. coriacea*, pero además con *Chelonia mydas*. En este caso se estimaron las proporciones de sexo pasadas y presentes de estas especies en Surinam. Se obtuvo para ambas especies sesgo hacia hembras en el año 1,993: 69.4% hembras de *D. coriacea* y 63.8% hembras de *C. mydas*. Esta proporción de sexos resultó ser 10% mas sesgado hacia hembras que la estimada en 1982 (Godfrey *et al.*, 1996, p. 275).

Dos estudios fueron realizados para calcular la proporción de sexos de la especie *Eretmochelys imbricata*, uno en Brasil y otro en las Islas Vírgenes (Estados Unidos). El primero se realizó durante 6 temporadas de anidación y se basó en pruebas histológicas, en la duración de incubación, la temperatura pivotal y la duración pivotal

de incubación. Los resultados para las seis temporadas fue una proporción de sexos sesgada de más de 90% hembras (Godfrey *et al.*, 1999, pp. 1466-1468). Los autores discuten respecto a las implicaciones biológicas de este sesgo, sugieren que las poblaciones sesgadas hacia hembras producidas en esta playa podrían estarse apareando con las de otros lugares donde no se ha producido neonatos altamente sesgados hacia hembras, como es el caso de machos producidos en el Caribe, específicamente en Antigua. Es decir, se basan en el suceso de las *C. caretta* de las costas de Brasil, donde se presume que los machos producidos en el sur migran hacia el norte para aparearse con las hembras producidas allí; incluso existe la posibilidad de que las hembras de Brasil se apareen con machos del continente africano (Godfrey *et al.*, 1999, pp. 1470-1471). El otro estudio realizado con *E. imbricata* del Caribe estadounidense, también obtuvo un sesgo en la proporción de sexos hacia hembras. De 51 nidos muestreados, 49 fueron totalmente de hembras; los dos nidos restantes contenían ambos machos y hembras (Wibbels, *et al.*, 1999).

Finalmente, en cuanto a la especie *L. olivacea* estudiada en esta ocasión, se tiene poca información sobre la proporción de sexos. Un estudio reciente ha sido realizado con arribadas de esta especie en una playa del pacífico mexicano cercano a Guatemala, para evaluar la proporción de sexos en nidos *in situ*. Los resultados fueron un leve sesgo de 55% hembras, en ambas estaciones del año en las que no hubo diferencia estadística significativa. Se obtuvo 61% hembras en el verano y 51% hembras en el invierno (Hernández-Echeagaray, *et al.*, 2012, p. 15).

En resumen, el presente estudio detectó un alto sesgo hacia hembras en esta especie para la playa del Pacífico de Guatemala. Sesgos hacia un sexo han sido observados en otras especies en función de la región y la temporada; diferencias genéticas entre individuos o poblaciones podrían también influenciar estos sesgos ya que la causa proximal de la determinación del sexo es la activación de ciertas hormonas por la temperatura. Por otro lado, surge la pregunta de si las arenas negras de Guatemala podrían ser tan buenos conductores térmicos que impiden la reducción

de la temperatura lo suficiente para producir machos en esta zona. Esto tendría implicaciones antes no previstas para la conservación de la especie: las hembras producidas en Guatemala podrían estarse apareando con machos de otras regiones. La conservación de esta especie debería ser entonces un esfuerzo regional. La existencia de cambios temporales o regionales en la producción de machos y hembras en esta especie amerita un estudio más profundo.

### **8.3 Relación entre la tasa de desarrollo embrionario y la temperatura**

El desarrollo embrionario de tortugas marinas como en otros animales con TSD, puede ser afectado por varios factores. La humedad y la temperatura son reguladores poderosos del desarrollo embrionario. Según Valverde *et al.* (2010, p. 83), la temperatura es el factor que juega el papel más significativo, pues además de afectar y cambiar varios procesos del desarrollo, tiene implicaciones en el crecimiento del embrión. Además de esto, se considera que la tasa de desarrollo embrionario es un factor proximal que influencia el sexo, incluso más que la temperatura *per se* (Georges, 1989, p. 327). Por esta razón, muchos estudios en los que se ha trabajado con temperaturas de incubación, desarrollo embrionario y TSD en tortugas marinas; coinciden en la incertidumbre que causa que las poblaciones sean potencialmente feminizadas; pues tal situación podría restringir el potencial reproductivo de la población, al decrecer el número de machos (Valverde, *et al.*, 2010, p. 83).

Para modelar la tasa de crecimiento embrionario en este estudio, se utilizó el tamaño del embrión, pues como en la mayoría de reptiles, el tamaño del neonato depende del tamaño del huevo, y esto facilita referirse al tamaño de cualquier estadio como el tamaño relativo del neonato. Asimismo, el tamaño del neonato puede considerarse como el tamaño promedio de la especie, según los datos que se tengan (teóricos reportados, observado en poblaciones o nidadas) (Girondot, comunicación

personal, julio 21, 2012). Dado que el crecimiento de los chelonios es muy similar, y el tamaño relativo para los estadíos ha sido usado como referencia, en este estudio la tasa de crecimiento embrionario ( $r$ ) se comparó y modeló en base a la tasa de crecimiento embrionario de la especie *Caretta caretta*, obtenida por Girondot & Kaska (in press) (Figura No. 7). Cabe resaltar que esta es la primera vez que se obtiene la  $r$  para *Lepidochelys olivacea* (Figura No. 6). Para su obtención, se utilizaron la ecuación de parámetros y el modelo de Gompertz propuesto para *C. caretta* por Girondot & Kaska (in press), y se ajustaron a los datos obtenidos para *Lepidochelys olivacea* de Guatemala. El resultado fue un modelo exponencial sigmoideal de crecimiento embrionario con temperaturas de incubación muy variables a lo largo de su desarrollo de embriones en los nidos evaluados.

Ambos modelos muestran que así como existe una relación entre la temperatura y la  $r$ , existe una diferencia evidente de la influencia que la temperatura misma tiene sobre el crecimiento embrionario de cada especie. En tal caso, *C. caretta* alcanza su crecimiento máximo al llegar a los 31 °C, significando que el embrión de esta especie crece más rápidamente a esta temperatura y por ende la incubación será más corta. Por el contrario, si es incubado a una temperatura mayor, se observará un efecto deletéreo y el desarrollo del embrión será más lento; mientras que si es incubado a 20°C se observará un desarrollo casi nulo (Girondot, comunicación personal, julio 29, 2012). En cuanto *L. olivacea*, el desarrollo embrionario puede continuar arriba de los 31°C. En el experimento se observó que la temperatura máxima obtenida en el nido número 6 (tratamiento Exp40Sol) fue de 33.95°C±0.25, casi 3°C más que el límite para *C. caretta*, y no hubo efectos deletéreos graves. Esto podría deberse a que según Valverde, *et al.* (2010, p. 83), los embriones de esta especie, han desarrollado mecanismos fisiológicos que permiten soportar temperaturas excedentemente altas, sin embargo estos mecanismos pueden fallar en el caso de que las temperaturas no decrecen abajo del límite letal.

El desarrollo embrionario en tortugas marinas ocurre dentro de un rango de tolerancia térmica, sobre o bajo la que el desarrollo embrionario es incapacitado (Valverde, *et al.*, 2010, p. 77). Al respecto, Georges (1989, p. 323) menciona que varios autores han notado que la tasa de desarrollo embrionario es mayor a temperaturas altas que a temperaturas bajas, dentro de los límites letales, por lo que embriones incubados a temperaturas por arriba de la media tendrán un mayor desarrollo que aquellos incubados a temperaturas bajo esta. Además, existe una observación, basada en arribadas de *L. olivacea*, que establece que el desarrollo embrionario es vulnerable a que cambios en la temperatura ambiental fluctúen alrededor de la temperatura pivotal, donde un cambio de 3°C o menos pueden resultar en una producción exclusiva de un solo sexo (Valverde, *et al.*, 2010, p. 78); y esto coincide con que en este estudio solo se obtuvo hembras.

Los modelos de la *r* del tortugario (Figura No. 8) y del experimento (Figura No. 9), muestran una tendencia similar de patrones de sensibilidad a la temperatura, donde los nidos del tortugario muestran mayor variabilidad en la dirección de las curvas de crecimiento. Esto podría deberse a la variabilidad de las temperaturas de incubación generadas en el tortugario, pues influencia el crecimiento embrionario.

En un estudio realizado con *L. olivacea* en Costa Rica evaluaron las temperaturas de nidos naturales en época seca. Los resultados fueron preocupantes, obtuvieron temperaturas que se encontraban el límite superior del TRT (sobre la TP), las cuales además se encontraban el límite superior de los rangos de tolerancia de temperatura (TTR, por sus siglas en inglés) y sobrepasaban las temperaturas letales. Esto provocó la muerte y detención de desarrollo los embriones. Contrario a este estudio, los autores únicamente evaluaron la época seca (Valverde, *et al.*, 2010, p. 83). Con esto, surge una situación para Guatemala que expone la necesidad de realizar más estudios relacionados: este estudio fue realizado en una época entre temporada lluviosa y temporada seca (noviembre-diciembre), de manera que habría que evaluar si en la época lluviosa se generen machos (septiembre), pues la época seca (más

caliente) es antes de la temporada de anidación (CONAP, 2009, p. 23). Esto supondría que este estudio registró las temperaturas más altas (posibles) de la temporada de anidación de esta especie en el país.

En conclusión, esta es la primera vez que se calcula la tasa de desarrollo embrionario para *Lepidochelys olivacea*. El resultado muestra que posee una tolerancia más alta que *Careta caretta* y que su desarrollo continúa aún arriba de los 31°C; lo cual seguramente se relaciona con presiones selectivas diferenciales según la distribución geográfica de estas especies cercanamente emparentadas que, según el estudio genético de Bowen & Karl (2007, p. 4886), recientemente colonizaron las cuencas oceánicas mediante el desplazamiento de las aguas cálidas que atraviesan ocasionalmente la zona fría del sur de África.

#### **8.4 Cálculo del período termosensitivo (TSP) para los nidos**

Dado que en teoría el sexo de animales con TSD puede ser manipulado mediante el control de la temperatura de incubación, el conocimiento del TSP ha sido útil para trabajar con aspectos teóricos de cualquier fenómeno que se desee estudiar como para programas de conservación y manejo (Yntema & Mrosovsky, 1982, p. 1012). Es decir, el conocimiento de este período en específico permitirá que especialistas estimen la proporción de sexos en nidos naturales, mediante el monitoreo de las temperaturas de los nidos durante el tiempo apropiado en la incubación.

El TSP también es importante a nivel genético, pues como sabemos las tortugas marinas carecen de cromosomas sexuales sexualmente dimórficos y la diferenciación de las gónadas hacia ovarios o testículos depende de la temperatura de incubación de los huevos durante el TSP del desarrollo embrionario. En tal caso, como fue observado por Merchant-Larios, *et al.* (1997), el TSP no solo es el período crítico en

el que se define el sexo, también es el tiempo que se requiere para establecer un proceso molecular irreversible que promueve la diferenciación sexual (Mrosovsky & Pieau, 1991, p. 176; Bull, 1980, p. 9; Hulin, *et al.*, 2009, p. 494; Bull & Vogt, 1979, p. 1186; Yntema & Mrosovsky, 1982, pp. 1012-1013; Hernández-Echeagaray, *et al.*, 2012, p. 12). Como bien se sabe, la temperatura no tiene ninguna influencia sobre la determinación del sexo ni antes ni después del TSP; ya que antes de éste no existen gónadas formadas y después de éste el nivel de estrógenos es demasiado bajo o demasiado alto para ser contrarrestado por la temperatura (Girondot, comunicación personal, julio 21, 2012; Belaid *et al.*, 2001, p. 490).

Yntema & Mrosovsky (1982, p. 1012), establecen que no es la temperatura a lo largo de la incubación la que determina la dirección de la diferenciación sexual, son los niveles que prevalecen durante el TSP. Por esta razón, Girondot (Comunicación personal, 21 julio 2012), menciona que los límites del TSP están definidos por los estadios embrionarios y que el uso de estos más que la masa o el tamaño del embrión son comúnmente usados en embriología comparativa pues permite evaluar un patrón similar en diferentes especies. Asimismo, aclara que en tortugas marinas la tabla de desarrollo de Miller (1985, Vol. 4) es la referencia para clasificar los estadios embrionarios, pues para determinadas especies, la conversión entre estadio, tamaño o masa es fácilmente realizado. Dado que a determinado estadio le corresponde un rango de posible tamaño o masa, Girondot (Comunicación personal, 21 julio 2012), estipula que es más útil referirse al tamaño como un valor promedio y una desviación estándar para determinado estadio, tal y como se hizo en este estudio para el cálculo del TSP y la tasa de crecimiento embrionario.

Algunos estudios se han llevado a cabo en la búsqueda de métodos que permitan determinar el sexo de los embriones de una manera más precisa y con ello hacer una estimación confiable de la proporción de sexos que se está produciendo en nidos tanto naturales como artificiales. Hulin, *et al.* (2009, p. 494), proponen el uso de un método indirecto de estimación de la proporción de sexos en nidos naturales utilizando la TP

en base a la proporción del TSP de incubación, durante el cual la temperatura está por encima de la temperatura pivotal.

Es común la presunción de que el TSP es el período del desarrollo en el cual el fenotipo sexual es sensible a la incubación de la temperatura (Mrosofsky & Pieau, 1991, p. 176; Bull, 1980, p. 9; Hulin, *et al.*, 2009, p. 494; Bull & Vogt, 1979, p. 1186; Yntema & Mrosofsky, 1982, pp. 1012-1013). Sin embargo, en base a los modelos que muestran el comportamiento de las temperaturas durante la incubación en nidos con temperaturas las extremas, altas (Figura No. 10) y bajas (Figura No. 11), en los nidos evaluados; surge un supuesto más plausible respecto al TSP. Es decir, en base a la evidencia recabada y a la posición del TSP en los modelos (durante la incubación), se puede suponer que el TSP no se encuentra a la mitad del tercio de incubación, está a la mitad del tercio del desarrollo. Asimismo, bajo el suceso de que al finalizar el TSP la gónada se encuentra bien diferenciada (Belaid *et al.*, 2001, p. 490), los modelos resaltaron que existe una mayor importancia de las temperaturas en el final del TSP que las del inicio, las temperaturas eran más altas al inicio del TSP que al final.

Existe una tendencia a poseer TSP más largos a medida que disminuyen las temperaturas, la cual se vio reflejada en el modelo que muestra que el TSP más largo en el tratamiento tortugario, el cual tuvo las temperaturas más bajas; y el más corto se observó en el nido bajo sol a 40 cm del experimento (Figura No. 12). Sin embargo, según los resultados del análisis de mínimos cuadrados generalizados la profundidad no afecta la duración del TSP, solo la temperatura (exposición al sol).

En este estudio se obtuvo un sesgo pronunciado de 100% hembras en neonatos de *L. olivacea*. El estudio de Hernández-Echeagaray, *et al.* (2012, p. 12), realizado con esta especie también mostró un sesgo (aunque no tan pronunciado) hacia hembras. En tal caso, los autores atribuyen tal sesgo a que las fluctuaciones de temperaturas durante TSP se mantuvieron cercanas a las temperaturas feminizantes. Por el contrario, el presente estudio mostró que las temperaturas en los nidos más calientes



se mantuvieron por encima de la TP y las de los nidos menos calientes, por debajo. Estos resultados cuestionan fuertemente el supuesto de que las temperaturas de incubación que se mantienen sobre la TP durante el TSP producen hembras y las que se mantienen por debajo producen machos. En función de la evidencia existente de la importancia del TSP, podríamos señalar que podrían haber habido errores en el cálculo de las temperaturas utilizando dataloggers, lo cual pudo haber conducido a errores en el cálculo del TSP. Errores de este tipo no son raros en experimentos. Pero el resultado también nos conduce a cuestionar si 29.1°C es la temperatura pivotal para esta especie, podría ser que estamos tomando un punto de referencia erróneo para la determinación del sexo. La única forma de aclarar estas dudas sería conducir más experimentos.

### **8.5 Relación entre el período termosensitivo y la proporción de sexos**

Como fue mencionado en los resultados, debido a que únicamente se obtuvo hembras, no se obtuvo proporción de sexos y por ende no fue posible encontrar una posible relación entre el período termosensitivo y la proporción de sexos. A pesar de que sí se obtuvo variaciones en la duración del periodo termosensitivo y las temperaturas dentro de estos periodos, es posible que los periodos termosensitivos calculados en este estudio no incluyeron los rangos que determinan el sexo masculino.

Cabe recordar que lo que sucede en nidos naturales de *L. olivacea* en Guatemala permanece desconocido, pues aún cuando este estudio generó cierta información respecto a la proporción de sexos en tortugario, nidos naturales podrían producir diferentes resultados (sin embargo casi todos los huevos de la especie en Guatemala se relocalizan a tortugarios). Por esta razón y basados en los resultados, hasta ahora lo único que se tiene es la presunción que Guatemala es un país con proporción de sexo sesgada hacia hembras, pues como fue observado, en otras especies y lugares

pareciera ser común el sesgo hacia hembras. Sin embargo, hay que resaltar que, tal como lo mencionan Wibbels *et al.* (1999, p. 142), son varios los factores que podrían haber contribuido a este sesgo pronunciado hacia hembras, por lo que es necesario considerar las posibilidades. Por tal razón, la presunción de únicamente hembras (producidas en Guatemala, o al menos en las playas de Monterrico), tal y como lo reiteran los anteriores autores, es puramente especulativa pues no se han realizado estudios previos que evalúen la proporción de sexos a través de los años, tanto en la misma playa como en otras de Guatemala.

De cualquier manera, asumiendo la existencia de un sesgo total hacia hembras en el país y bajo la presunción de que algunas poblaciones sesgadas hacia determinado sexo migran para aparearse con las poblaciones sesgadas del sexo opuesto producidas en otro sitio, la interrogante, en cuanto a las poblaciones sesgadas de Guatemala sería: “¿*Con qué poblaciones de machos se están apareando las hembras de L. olivacea de Guatemala!*?”.

## **8.6 Implicaciones para la conservación en función del sesgo de sexos, éxito de eclosión**

Aunque en este estudio se trabajó la variación de temperaturas a una escala fina, varios autores argumentan fuertemente que la variación de la temperatura es consecuencia de cambios abruptos del ambiente que pueden ser directa o indirectamente provocados por el cambio climático (Georges, 1989, p. 327; Bowden, *et al.*, 2000, p. 1745; Girondot & Pieau, 1999, p. 359; Bull, 1980, p. 15). Mortimer (1990, p. 814), supone que la distribución de las tortugas a nivel mundial no se determina únicamente por características fisionómicas de la playa, se debe más a respuestas a presiones selectivas como: temperatura, humedad, sustrato, etc.; y es que la temperatura varía entre diferentes zonas de una misma playa, algunos sugieren que

tal variación podría ser consecuencia del sitio donde se encuentran los nidos. Al respecto varias hipótesis han sido propuestas. Una es la de la influencia materna, que supone que la hembra selecciona un sitio de anidación con temperaturas que puedan producir una proporción de sexos equitativa (Georges, 1989, p. 327; Bowden, *et al.*, 2000, pp. 1745, 1747; St.Juliana *et al.*, 2004, p. 270; DeGregorio & Southwood, 2011, p. 58).

Como ya fue ampliamente discutido, el sesgo en la proporción de sexos conlleva varias implicaciones a las poblaciones. Valverde, *et al.* (2010, p. 83), mencionan que existen preocupaciones respecto a que las poblaciones de tortugas marinas se feminicen en respuesta a las temperaturas altas provocadas por el calentamiento global; pues considerando que las hembras se producen a temperaturas altas, la tendencia de las proporciones de sexos de estas especies se inclina hacia un sesgo femenino (Wibbels, 2002, p. 114). Con ello, varios estudios han surgido para determinar las implicaciones y los costos que tienen las proporciones de sexo sesgadas sobre las poblaciones de tortugas marinas.

Hulin *et al.* (2009, p. 494), atribuyen al cambio climático las variaciones en la temperatura, que están teniendo consecuencias en las proporciones de sexo como sesgo hacia un sexos en varias poblaciones. Estipulan que este fenómeno podría ser el responsable de los sesgos reportados en varias especies y en varios sitios de anidación; como consecuencia de su posible influencia (modificación) sobre varios rasgos de las historias de vida de poblaciones naturales de especies con TSD. Al respecto, varios supuestos han surgido respecto a los cambios en la historia de vida de las poblaciones y su implicación en las proporciones de sexo. La dirección ambiental de las especies es uno de estos, se refiere a la variación en el espacio que permite asegurar la producción de ambos sexos dentro de un rango de dispersión, y en un tiempo constante para evadir fluctuaciones en la proporción de sexos. Se presume que los cambios a largo plazo en la dirección ambiental causarán poblaciones con proporciones de sexo sesgadas, pero que éstas sucederán gradualmente en especies

longevas, y la selección comenzará a actuar para revertirlas en las fases tempranas del sesgo (Bull, 1980, p. 15).

Hulin *et al.* (2009, p. 494), según lo reportado por Doody *et al.* (2006), estipula que por selección natural, ante las implicaciones del cambio climático, algunos cambios en los mecanismos de determinación de sexo o del comportamiento maternal de comportamiento en especies con TSD, a manera de asegurar ambos sexos en temperaturas extremas, podrían ser favorecidos. St.Juliana, *et al.* (2004, pp. 271, 275) y Bowden *et al.* (2000, p. 1745) proponen que las hembras anidadoras, como una adaptación a presiones de variación ambiental, seleccionan el sitio de anidación en el que se pueda producir una proporción de sexos equitativa. St.Juliana, *et al.* (2004, p. 275), agrega que existe una influencia materna sobre los nidos, donde las hembras tienen la habilidad de seleccionar el sitio de anidación donde la temperatura será más favorable para un proporción equitativa de sexos en los nidos; es decir presuntamente pueden manipular la proporción de sexos.

Otro aspecto de la historia de vida que afecta las proporciones es la movilidad de las especies, pues la variación espacial en la proporción de sexo de los neonatos se puede reducir gradualmente entre adultos, en especies con capacidades grandes de dispersión. Esta movilidad, por la misma migración de grandes distancias, permitirá efectuar panmixia en grandes áreas (apareamiento en el que se seleccionan las parejas al azar). Finalmente, propone como factor importante, la longevidad reproductiva de las especies, pues los extremos anuales en las proporciones de sexo de los neonatos tienen poco efecto sobre las proporciones de sexo de las poblaciones de especies longevas (de 30 años en adelante); donde ante un exceso de machos y hembras tiende a cancelarse (Bull, 1980, p. 15).

Múltiples estudios han mostrado que en varias especies la tendencia de producir más hembras es alta. Wibbels, *et al.* (1999, p. 142), comentan que a no ser que las hembras de determinada población sean reclutadas a otros sitios de anidación, es

difícil que una población estable produzca consecuentemente fuertes sesgos hacia machos. Godfrey *et al.* (1999, p. 1471), por su cuenta, mencionan que una de las consecuencias que conlleva la relativa escasez de machos generados durante la incubación, dado el sesgo hacia hembras en la proporción de sexos, podría resultar la hibridación de las especies o incluso en el hecho de que en poblaciones donde hay un menor porcentaje de machos adultos las posibilidades de recuperarse son bajas (Steckenreuter, *et al.*, 2010, p. 127). Esta situación podría conllevar a la competencia entre machos para aparearse (Godfrey, *et al.*, 1999, p. 1470); de aquí el surgimiento de muchas hipótesis respecto al apareamiento múltiple de las hembras (poliandria), la cual ha creado varias especulaciones respecto a lo que implica y conlleva este mecanismo reproductivo.

La hipótesis más consistente respecto a la poliandria es la propuesta en el estudio de Lee & Hays (2004, p. 6530). Ésta toma en consideración el hecho de que un solo apareamiento es suficiente para cubrir las necesidades de fecundación en la gran mayoría de hembras y que el acto del apareamiento en sí conlleva muchos costos para los individuos. La hipótesis propone, en base a lo observado y al alto acoso que existe de los machos hacia las hembras, que las hembras de tortugas marinas por lo general se resisten a aparearse más de una vez, a no ser que el costo de resistirse sea más alto que el de aparearse. Esta poliandria por conveniencia (“*convenience polyandry*”), es una explicación razonable en cuanto a los casos donde los costos que les implica a las hembras el apareamiento múltiple le trae muy pocos beneficios, es decir, no obtienen beneficios directos o genéticos; según lo detectado en este estudio y en contraposición de otros que sugieren lo contrario, pero no tienen pruebas de ello (Lee & Hays, 2004, pp. 6530, 6534-6535).

En su estudio con *E. imbricata* Godfrey, *et al.* (1999, p. 1470), mencionan que el gran sesgo observado ha sido un suceso común desde hace alrededor de 33 años, y que esto podría implicar que un gran número de neonatos hembras están llegando a ser adultas y con ello el sesgo femenino en las poblaciones adultas. Sin embargo, Janzen

& Paukstis (1991, p. 158), en base a lo observado en Spotila *et al.* (1987), mencionan que aún hay desconocimiento respecto a la manera en que la proporción de sexos de los neonatos refleja o afecta la proporción de sexos de la población. De cualquier manera, la respuesta podría estar en el apareamiento (interpoblacional) de poblaciones sesgadas de un sexo con las del sexo opuesto producido en otro sitio.

En cuanto a los resultados obtenidos, muchos podrían asumir que la mejor estrategia a adoptar, podría ser la manipulación de temperaturas para producir más machos. Sin embargo, ante el desconocimiento de las proporciones de sexo en nidos naturales, las consecuencias que esto podría tener sobre las poblaciones serían inciertas. Y aún si las proporciones de nidos naturales coincidieran con el sesgo obtenido en este estudio, valdría la pena cuestionarse si realmente valdría la pena producir machos cuando estos no se están produciendo en condiciones naturales (Girondot, comunicación personal, julio 21, 2012). Deben entonces impulsarse más estudios a lo largo del Pacífico guatemalteco y esfuerzos regionales para poder conocer donde se producen machos. Además, estudios de genética poblacional para dilucidar el comportamiento de apareamiento de las poblaciones.

## **8.7 Manejo de nidos**

El experimento realizado en este estudio presuntamente fue localizado en un área de la playa donde normalmente desovan las tortugas (arriba de la marea alta), con el fin de crear condiciones lo más naturales posibles. Con esto, se esperaba que al determinar las diferencias en las condiciones entre los nidos del tortugario y los nidos “naturales” (duración en el período de incubación y proporción de sexos). Sin embargo, dado que no hubo variación de sexos, esto no fue posible. Aún así, hay algunas consideraciones que se deben tomar en cuanto al manejo de nidos, como será discutido a continuación.

Cuando se habla de manejo de nidos en conservación, es importante tomar en consideración varias cosas, teniendo en mente que el monitoreo de los mismos es indispensable para solventar a tiempo cualquier problema que se esté dando. Al referirse a nidos lo más lógico es pensar que se trata de nidos naturales, sin embargo en Guatemala los esfuerzos de conservación de tortugas marinas en el país “*se han concentrado casi exclusivamente en los tortugarios*” (CONAP, 2009, p. 30); de manera que el manejo de nidos se lleva a nivel de nidos artificiales y esto implica un cuidado aún mayor. Máxime porque es “*muy probable sea el país que tiene más tortugarios por kilómetro litoral que cualquier otro país en el mundo pero el manejo ha carecido de coordinación, financiamiento y administración variable.*” (CONAP, 2009, p. 30).

De cualquier manera, la estimación de la proporción de sexos en nidos naturales es una evaluación importante para las prácticas de manejo, y de acuerdo a las estimaciones realizadas por Godfrey *et al.* (1999, p. 1471), con poblaciones fuertemente sesgadas hacia hembras, las temperaturas que se generan en condiciones naturales es el valor que debe ser replicado en nidos artificiales, aún cuando esto pueda implicar sesgo hacia algún sexo. Por esta razón, uno de los aspectos iniciales que deben tomarse en cuenta al momento de establecer protocolos y estándares de manejo de tortugario y con ello, de nidos, **es la evaluación de los nidos naturales en los lugares de las playas de donde están siendo extraídos los huevos**. Esto permitirá replicar las condiciones naturales, a manera de lo posible, en los nidos artificiales.

Uno de los cimientos que se deben tener en cuenta para el manejo de los nidos, es el reordenamiento y estandarización de las playas, en playas donde se tiene un crecimiento desordenado y otros tipos de contaminación. De esto dependerá tanto la sobrevivencia de los nidos como el éxito de eclosión, pues una tendencia que ha permanecido constante y es de mucha importancia, es el hecho de que más huevos

eclosionan de nidos puestos en playas naturales que los puestos en playas desarrolladas, sin importar la identidad de la especie (Pike, 2008, p. 706).

Según el estudio realizado por Spotila *et al.* (1994, p. 113), tanto la misma TSD como los efectos de la temperatura y las condiciones de incubación, tienen un efecto sobre el éxito de eclosión, el tamaño y el crecimiento del neonato; el cual trae consigo implicaciones importantes en el manejo de las especies. Igualmente, tienen una fuerte influencia sobre la diferenciación del sexo, ya sea directa o indirectamente. Pero el hecho de que surjan casos con proporciones de sexo sesgadas, no implica que deba incrementarse la cantidad de machos producidos en un nido, mediante el manejo térmico de su microhábitat o incluso del tortugario (Godfrey *et al.*, 1999, p. 1471).

Los resultados de este estudio, para muchos, podrían parecer alarmantes. Sin embargo, como ya ha sido vastamente discutido; el sesgo pronunciado obtenido para los nidos, tanto del tortugario como experimentales, aunque puede ser una respuesta del manejo también puede ser una adaptación por parte de estos organismos a determinadas presiones. Para evitar la confusión y corroborar estos resultados, es necesario realizar más estudios que evalúen las proporciones de sexos en otros tortugarios del país por varios años, además de evaluar condiciones en nidos naturales; aunque se esperaría que en varios años los tortugarios ya no sean utilizados como herramienta para conservación, sino más bien como una herramienta y apoyo para experimentación en pro de la conservación de las tortugas marinas.



## 9. CONCLUSIONES

- Las temperaturas dentro del nido y la duración del periodo de incubación fueron afectadas por la exposición al sol versus la sombra. La profundidad no tuvo efectos. La revisión bibliográfica indica que el tipo de arena (que en el Pacífico de Guatemala es negra y rica en hierro) pudo tener efecto en las temperaturas, y las propiedades físicas de este tipo de arena pudieron haber tenido influencia en la determinación del sexo de los neonatos.
- El diseño experimental utilizado sí generó variaciones en la temperatura y en la duración del período de incubación. Sin embargo, estas variaciones no generaron variaciones en la proporción de sexos de las tortugas. Otros factores que pudieron haber influido, pero que no fueron considerados en el diseño son: el tipo de arena, contenido de humedad en la arena y la época del año.
- En los nidos experimentales y en los del tortugario se mostró que hubo variación en el éxito de eclosión. El porcentaje de eclosión del total de los nidos evaluados (experimento y tortugario), fue de 83.82%, lo cual es similar a lo que se ha encontrado en otros países en nidos naturales (80-85%).
- No se pudo establecer experimentalmente una relación entre la duración del periodo de incubación o el periodo termosensitivo y la proporción de sexos ya que se obtuvo un sesgo hacia 100% hembras. De manera que la duración del periodo de incubación no pudo utilizarse para predecir la proporción de sexos en *Lepidochelys olivacea*.

- Según los resultados obtenidos en este estudio, la Reserva Natural de Usos Múltiples Monterrico (RUNMM) tiene una producción de 100% hembras.
- La causa por la que se obtuvo un 100% de hembras, aún a temperaturas inferiores a la temperatura pivotal, permanece desconocida, pero podría incluir factores locales que no fueron medidos (tipo de arena y su contenido de humedad y metales, por ejemplo), o factores temporales, espaciales y genéticos (diferencias entre poblaciones) como ha sido observado en otras especies.
- Esta es la primera vez que se calcula la tasa de desarrollo embrionario para *Lepidochelys olivacea*. Este estudio generó el primer modelo que explica la relación entre la temperatura y la tasa de desarrollo embrionario. Este modelo muestra que esta especie continúa su crecimiento aún en temperaturas arriba de los 31°C, como es de esperarse en una especie de distribución tropical.
- El modelo del período termosensitivo mostró que las temperaturas en los nidos más calientes se mantuvieron por encima de la temperatura pivotal y las de los nidos menos calientes, por debajo, lo que cuestiona el supuesto de que las temperaturas de incubación que se mantienen sobre la temperatura pivotal durante el período termosensitivo producen hembras y las que se mantienen por debajo producen machos. Además cuestiona la temperatura pivotal utilizada para esta especie, pues sugiere que podría no ser el punto de referencia más adecuado para la determinación del sexo en esta especie.
- Este estudio generó información respecto a la proporción de sexos en el tortugario, pero debido a que casi todos los huevos de la especie en Guatemala se relocalizan a tortugarios, lo que sucede en nidos naturales es desconocido y podrían encontrarse diferentes resultados, por lo que hasta ahora lo único que se tiene es la presunción de que Guatemala es un país con proporción de sexo sesgada hacia hembras, como ha sido observado en otras especies y lugares.

## 10. RECOMENDACIONES

- Continuar estudios en esta línea, realizando experimentos donde se consideren otros factores como el tipo de arena, la humedad de la arena y la época del año; y sus posibles efectos en la proporción de sexos.
- Considerando que las hembras producidas en Guatemala podrían estarse apareando con machos de otras regiones y que la conservación de esta especie debería ser entonces un esfuerzo regional, se recomienda realizar más estudios en áreas con otro tipo de arena y con otras características, como un intento de conocer y comprender la dinámica de la proporción de sexos a una escala mayor.
- Es necesario realizar un estudio más profundo respecto a la existencia de cambios temporales o regionales en la producción de machos y hembras en esta especie.
- Se deben evaluar las condiciones de incubación y la proporción de sexos en nidos naturales, de manera que pueda conocerse si el supuesto sesgo obtenido en este estudio se da en poblaciones naturales.
- Es necesario realizar estudios que evalúen la proporción de sexos a través de los años, tanto en la misma playa como en otras de Guatemala; pues este estudio genera la presunción que en las playas de este país (o al menos en las playas de Monterrico) únicamente se están produciendo hembras. Por esta razón también se recomienda iniciar un monitoreo anual de la proporción de sexos para determinar si existen cambios temporales en este parámetro.

- El sesgo pronunciado obtenido para los nidos tanto del tortugario como experimentales, aunque puede ser una respuesta del manejo, también puede ser una adaptación por parte de estos organismos a determinadas presiones selectivas como tolerancia térmica, selección sexual, entre otras. Para evitar la confusión y corroborar estos resultados, es necesario realizar más estudios que evalúen las proporciones de sexos en otros tortugarios del país por varios años, además de evaluar condiciones en nidos naturales.
- El manejo de nidos es muy importante, tanto en nidos naturales como en artificiales de tortugario. Es necesario considerar que las variables en los nidos artificiales sean lo más apegadas a las encontradas en nidos naturales. Es decir, los nidos realizados en un tortugario deben simular lo más exacto posible las condiciones de los nidos naturales.
- Según especialistas, para que cualquier plan de conservación garantice que las estrategias de conservación sean efectivas, debe partir de su estado de conservación actual. Por esta razón, es indispensable que en Guatemala se realicen estudios que generen la información que permita conocer el estado de conservación de las tortugas marinas, así como estudios que tomen en cuenta y protejan todas las fases de su ciclo de vida. De esta manera, como lo indican especialistas, se promoverá la supervivencia de sus poblaciones a largo plazo, la recuperación de sus poblaciones y la protección de hábitats críticos.
- Es necesario actualizar, modificar y replantear la Estrategia Nacional de Conservación de Tortugas Marinas, a través de investigaciones que fundamenten las acciones a realizarse respecto a la conservación de tortugas marinas, así como promover la prevalencia de nidos in situ y el establecimiento de áreas de anidamiento en áreas protegidas marino costeras; como herramientas de conservación de tortugas marinas.

## 11. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abreu, F. (1999). *Genética poblacional y filogeografía de las tortugas marinas golfinas (Lepidochelys olivacea) y laúd (Dermochelys coriacea) en el Pacífico mexicano*. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Informe final SNIBCONABIO. Proyecto No. G007.
- ----. (2001). Determinación de la Distribución y Estado de la Conservación de las Tortugas Marinas. En Eckert, K. y Abreu, F. (2001). *Conservación de Tortugas Marinas en la Región del Gran Caribe: Un Diálogo para el Manejo Regional Efectivo*. WIDECAS, UICN/CSE Grupo Especialista en Tortugas Marinas (MTSG), WWF y el Programa Ambiental del Caribe del PNUMA. 105-116.
- Ahmad, A. Zulkifli, T. Mahyam, M. Solahuddin, A. & Azman, N. (2004). *A guide to set-up and manage sea turtle hatcheries in the South Asia region*. Malaysia: Marine Fishery Resources Development and Management Department Southeast Asian Fisheries Development Center.
- Alkindi, A. Mahmoud, I. Al-Habsi, A. Al-Bahry, S. Al-Gheilani, H. & Bakheit, C. (2006). The Effect of Physical and Human Factors on Beach Selection by Green Turtles (*Chelonia mydas*) at Ras Al-Hadd Reserve, Oman. *Chelonian Conservation and Biology*. 5(2): 289–294.
- Balinsky, B. (1970). *An Introduction to Embryology*. (3d ed.) USA: W.B. Saunders Company.

- Barker, F. (2006). *The utility of local knowledge of olive ridley (Lepidochelys olivacea) nesting behavior for turtle conservation management in Guatemala*. United Kingdom: Institute of Water and the Environment.
- Beacham, W. Castronova, F. Freedman, B. & Sessine, S. 2001. *Terrapins, Tortoises, and Turtles: Order: Testudines. Beacham's guide to international endangered species*. Vol.3. Canada: Gale Group.
- Belaid, B. Richard-Mercier, N. & Pieau, C. (2001). Sex Reversal and Aromatase in the European Pond Turtle: Treatment With Letrozole After the Thermosensitive Period for Sex Determination. *Journal of Experimental Zoology*. 290:490-497.
- Binckley, C. Spotila, J. Wilson, K. & Paladino, F. (1998). Sex Determination and Sex Ratios of Pacific Leatherback Turtles, *Dermochelys coriacea*. *Copeia*, Vol. 1998:291-300.
- Bjorndal, K. (2000). Prioridades para la investigación en hábitats de Alimentación. En Eckert, K. Bjorndal, K. Abreu-Grobois, F. y Donnelly, M. . (2000). *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas* (4a ed.). USA: Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/CSE.
- Bowden, R. Ewert, M. & Nelson, C. (2000). Environmental sex determination in a reptile varies seasonally and with yolk hormones. *Proc. R. Soc. Land. B*. 267:1745-1749.
- Bowen, B. & Karl, S. (2007). Population genetics and phylogeography of sea turtles. *Molecular Ecology*. 16:4886–4907.
- Buitrago, J. (s.f.) *Aspectos básicos sobre biología reproductiva de las tortugas marinas*. Venezuela: Estación de Investigaciones Marinas de Margarita.

- Bull, J. & Vogt, R. (1979). Temperature-dependent sex determination in turtles. *Science*. 206: 1186-1188.
- Bull, J. (1980). Sex determination in reptiles. *Quarterly Review of Biology*. 55:3-21.
- Burnie, D. & Wilson, D. (2011). *Animal: The Definitive Visual Guide*. Smithsonian. USA: DK Publishing.
- Castellanos, P. (Septiembre 2010). Comunicación personal.
- CECON. (1999). *Plan Maestro 2000-2005: Reserva Natural de Usos Múltiples Monterrico (Taxisco-Chiquimulilla, Santa Rosa)*. Guatemala: Centro de Estudios Conservacionistas (CECON); Consejo Nacional de Áreas Protegidas (CONAP).
- Cerbuna, P. (2003). *Propiedades térmicas de las rocas*. España: Geochemical Modelling Group. Facultad de Ciencias. Universidad de Zaragoza.
- Chacón, D. y Araúz, R. (2001). *Diagnostico Regional y Planificación Estratégica para la Conservación de las Tortugas Marinas en Centroamérica*. Red Regional para la Conservación de las Tortugas Marinas en Centroamérica.
- Chacón, D. Sánchez, J. Calvo, J. y Ash, J. (2007). *Manual para el manejo y la conservación de las tortugas marinas en Costa Rica, con énfasis en la operación de proyectos en playa y viveros*. Costa Rica: Sistema Nacional de Áreas de Conservación (SINAC).
- Chan, E. & Liew, H. (1995). Incubation temperatures and sex ratios in the Malaysian leatherback turtle *Dermochelys coriacea*. *Biol. Conserv.* 74:169-174.

- CIT. (2004a). *Convención interamericana para la protección y conservación de las tortugas marinas (CIT): Una introducción*. Secretaría Pro Tempore de la Convención Interamericana para la Protección y Conservación de las Tortugas Marinas (CIT).
- ----. (2004b). *Una Introducción a las Especies de Tortugas Marinas del Mundo*. Costa Rica: Secretaría Pro Tempore de la Convención Interamericana para la Protección y Conservación de las Tortugas Marinas (CIT). 10pp.
- ----. (2006). *Amenazas a las Tortugas Marinas y Posibles Soluciones*. Secretaría Pro Tempore de la Convención Interamericana para la Protección y Conservación de las Tortugas Marinas (CIT). 11pp. Recuperado de <http://www.iacseaturtle.org/download/Amenazas%20Publicacion%20con%20fondo%20Espanol.pdf>.
- ----. (2007). *Tortugas Marinas: Una lucha por la supervivencia*. Convención Interamericana para la Protección y Conservación de las Tortugas Marinas (CIT). IFAW. Humane Society International.
- ----. (2008). *Manual sobre técnicas de manejo y conservación de las tortugas marinas en playas de anidación de Centroamérica (Propuesta Base)*. Convención Interamericana de tortugas marinas (CIT).
- CONAP. (2000). *Informes Nacionales Temporadas de Anidación de Tortugas Marinas 1999-2000 y 2000-2001*. Guatemala: Consejo Nacional de Áreas Protegidas (CONAP).
- ----. (2008). *Informes nacionales de las temporadas de anidación de tortugas marinas 1999-2008*. Guatemala: Consejo Nacional de Áreas Protegidas (CONAP).



- ----. (2009). *Manual para la conservación de las tortugas marinas en Guatemala, con énfasis en el manejo de tortugarios*. Guatemala: Asociación Rescate y Conservación de Vida Silvestre (ARCAS) y el Consejo Nacional de Áreas Protegidas (CONAP).
- Coudert, J. (2009). *An Assessment of Sea Turtle Nesting Sites in Las Perlas Archipelago, Panama*. (Tesis de Maestría). United Kingdom: Heriot-Watt University Edinburgh.
- Crastz, F. (1982). Embryological stages of the marine turtle *Lepidochelys olivacea* (Eschscholtz). *Rev. Biol. Trop.* 30(2):113-120.
- Crews, D. (1996). Temperature-Dependent Sex Determination: The Interplay of Steroid Hormones and Temperature. *Zoological Science*. 13:1-13.
- DeGregorio, B. & Southwood, A. (2011). Incubation Temperatures and Metabolic Heating of Relocated and *In situ* Loggerhead Sea Turtle (*Caretta caretta*) Nests at a Northern Rookery. *Chelonian Conservation and Biology*. Vol.10(1): 54–61.
- Eckert, K. (2000). Diseño de un programa de conservación. En Eckert, K. Bjorndal, K. Abreu-Grobois, F. y Donnelly, M. (2000). *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas* (4a ed.). USA: Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/CSE.
- Ernst, C. & Barbour, R. (1989). *Turtles of the world*. USA: Smithsonian Institution Press.

- Flores, C. (2007). *Informe anual de Datos de incubación y eclosión de huevos de tortuga marina: Temporada de julio del 2007 a marzo del 2008*. Guatemala: Reserva Natural de Usos Múltiples ‘Monterrico’ Taxisco, Santa Rosa, Guatemala.
- Frazier, J. (2001). Generalidades de la Historia de Vida de las Tortugas Marinas. En Eckert, K. y Abreu, F. (2001). *MEMORIAS: Conservación de Tortugas Marinas en la Región del Gran Caribe: Un Diálogo para el Manejo Regional Efectivo*. WIDECAS, UICN/CSE Grupo Especialista en Tortugas Marinas (MTSG), WWF y el Programa Ambiental del Caribe del PNUMA.
- Gaos, A. Yañez, I. & Arauz, R. (2006). *Sea turtle conservation and research on the Pacific coast of Costa Rica*. Costa Rica: Technical Report. Programa Restauración de Tortugas Marinas.
- Georges, A. (1989). Female turtles from hot nests: is it duration of incubation or proportion of development at high temperatures what matters? *Oecología*. 81:323-328.
- Girondot, M. & Pieau, C. (1990). *Sex determination in the critical range of temperature for marine turtles*. USA: 10th Workshop on Sea Turtle, Biology and Conservation.
- ----. (1999). A fifth hypothesis for the evolution of TSD in reptiles. *TREE*, Vol.14(9):359-360.
- Girondot, M. (1999). Statistical description of temperature-dependent sex determination using maximum likelihood. *Evolutionary Ecology Research*. 1:479-486.
- ----. (25 de agosto 2011). Comunicación personal.

- ----. (28 de agosto 2011). Comunicación personal.
- ----. (24 de abril 2012). Comunicación personal.
- ----. (26 de abril 2012). Comunicación personal.
- ----. (21 de julio 2012). Comunicación personal.
- ----. (29 de julio 2012). Comunicación personal.
- Girondot, M. Fouillet, H. & Pieau, C. (1998). Feminizing turtle embryos as a conservation tool. *Conservation Biology*. Vol.12(2):353-362.
- Girondot, M. & Kaska, Y. (in press). A model to predict temperature dependency on embryo growth rate and incubation duration from field data. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*. 24pp.
- Girondot, M. & Pieau, C. (27 de abril 2012). Comunicación personal.
- ----. (18 de mayo 2012). Comunicación personal.
- Godfrey, M. D'Amato, A. Marcovaldi, M. & Mrosovsky, N. (1999). Pivotal temperature and predicted sex ratios for hatchling hawksbill turtles from Brazil. *Can. J. Zool.* Vol.77:1465-1473.
- Godfrey, M. y Mrosovsky, N. (2000). Estimación de la proporción sexual en playas de anidación. En Eckert, K. Bjorndal, K. Abreu-Grobois, F. y Donnelly, M.

- (2000). *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas* (4a ed.). USA: Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/CSE.
- Gutzke, W. & Packard, G. (1987). The Influence of Temperature on Eggs and Hatchlings of Blanding's Turtles, *Emydoidea blandingii*. *Journal of Herpetology*, Vol.21.(2):161-163.
  - Hardham, L. (2002). *Guidelines for marine turtle permit holders: Nest Protection Management*. USA: Wildlife Diversity Section. South Carolina Department of Natural Resources.
  - Hernández-Echeagaray, O. Hernández-Cornejo, R. Harfush-Meléndez, M. & Gacía-Gasca, A. (2012). Evaluation of Sex Ratios of the Olive Ridley Sea Turtle (*Lepidochelys olivacea*) on the Arribada Nesting Beach, La Escobilla, México. *Marine Turtle Newsletter*. No. 133:12-15.
  - Hulin, V. Girondot, M. Godfrey, M. & Guillion, J. (2008). Mixed and uniform brood sex ratio strategy in turtles: the facts, the theory, and their consequences. Chapter 11. In Wyneken, J. Godfrey, M. & Bels, V. (Eds). (2008). *Biology of Turtles*. CRC Press. USA. 279-300.
  - Hulin, V. Delmas, V. Girondot, M. Godfrey, M. & Guillon, J. (2009). Temperature-dependent sex determination and global change: are some species at greater risk? *Oecologia*. 160:493-506.
  - Janzen, F. & Paukstis, G. (1991). Environmental sex determination in reptiles: ecology, evolution and experimental design. *Quarterly Review of Biology*. 66:149-179.

- Kardong, K. (2007). *Vertebrados: Anatomía comparada, función y evolución*. España: McGraw-Hill Interamericana de España, S.A.U. 782.
- Kaska, Y. & Downie, R. (1999). Embryological development of sea turtles (*Chelonia mydas*, *Caretta caretta*) in the Mediterranean. *Zoology in the Middle East*, 19(1999):55-69.
- *La Eutanasia en los Animales de Laboratorio*. (1990). Research In Surgery. Suplemento 5. 45-56.
- Lee, P. & Hays, G. (2004). Polyandry in a marine turtle: Females make the best of a bad job. *PNAS*, Vol. 101(17):6530-6535.
- Limpus, C. (2008). *Una Revisión Biológica de las Especies Australianas de Tortugas Marinas: Tortuga Olive Ridley (Eschscholtz)*. Australia: Environmental Protection Agency.
- Maloney, J. Darian-Smith, C. Takahashi, Y. & Limpus, C. (1990). The Environment for Development of the Embryonic Loggerhead Turtle (*Caretta caretta*) in Queensland. *Copeia*, Vol.1990(2):378-387.
- Martínez, J. y Calderón, V. (2011). *Informe final Proyecto: Determinación de la frecuencia de anidación de la tortuga marina Parlama (Lepidochelys olivacea) por medio de marcaje, en la playa El Paredón del Parque Nacional Sipacate Naranjo, La Gomera, Escuintla*. Guatemala: Programa Universitario de Investigación en Ciencias Básicas (PUICB). Dirección General De Investigación (DIGI). Universidad De San Carlos De Guatemala (USAC). Guatemala.

- McCoy, C. Vogt, R. & Censky, E. (1983). Temperature-Controlled Sex Determination in the Sea Turtle *Lepidochelys olivacea*. *Journal of Herpetology*. Vol.17(4):404-406.
- Merchant-Larios, Villalpando, I. & Centeno, B. (1989). Gonadal Morphogenesis under Controlled Temperature in the Sea Turtle *Lepidochelys olivacea*. *Herpetological Monographs*, 3, 43-61.
- Merchant, H. (2000). Determinación del Sexo en Crías. En Eckert, K. Bjorndal, K. Abreu-Grobois, F. y Donnelly, M. (2000). *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas* (4a ed.). USA: Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/CSE.
- Meylan, A. y Meylan, P. (2000). Introducción a la Evolución, Historias de Vida y Biología de las Tortugas Marinas. En Eckert, K. Bjorndal, K. Abreu-Grobois, F. y Donnelly, M. (2000). *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas* (4a ed.). USA: Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/CSE.
- Microsoft Office Excel. (2012). Microsoft Corporation.
- Miller, J. (1985). Embryology of Marine Turtle. Chapter 4. In Gans, C. (1985). *Biology of Reptilia*. Vol.14. John Wiley y Sons, Inc. 269-328.
- Miller, J. (2000). Determinación del Tamaño de la Nidada y el Éxito de Eclosión. En Eckert, K. Bjorndal, K. Abreu-Grobois, F. y Donnelly, M. (2000). *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas* (4a ed.). USA: Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/CSE.

- Montes, N. (2004). *Estimación de la abundancia relativa de tortugas marinas que anidan en las costas de Guatemala*. (Tesis *ad gradum*). Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
- Morafka, D. Spangenberg, E. & Lance, V. (2000). Neonatology of Reptiles. *Herpetological Monographs*. 14:353-370.
- Morales, C. Jolón, M. y Sánchez, R. (2003). Estimación de la proporción sexual en neonatos de tortuga *Lepidochelys olivacea* en los tortugarios del pacífico guatemalteco, durante la temporada de anidación 2002-2003. En Sánchez, R. Ruiz, R. y Jolón, M. (2005). *Guatemala en la Protección y Conservación de Tortugas Marinas*. Guatemala: PROBIOMA-CECON-FONACON-CONCYT.
- Mortimer, J. (1990). The Influence of Beach Sand Characteristics on the Nesting Behavior and Clutch Survival of Green Turtles (*Chelonia mydas*). *Copeia*, Vol.1990(3):802-817.
- Mortimer, J. (2000). Reducción de las Amenazas a los Huevos y a las Crías: Los Viveros. En Eckert, K. Bjorndal, K. Abreu-Grobois, F. y Donnelly, M. (2000). *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas* (4a ed.). USA: Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/CSE.
- Mrosovsky, N. (1980). Thermal Biology of Sea Turtles. *Amer. Zool.* 20:531-547.
- Mrosovsky N. & Yntema, C. (1980). Temperature dependence of sexual differentiation in sea turtles: implications for conservation practices. *Biol. Conserv.* 18:271-280.

- Mrosovsky, N. & Pieau, C. (1991). Transitional range of temperature, pivotal temperatures and thermo-sensitive stages for sex determination in reptiles. *Amphibia-Reptilia*. 12:169-179.
- Muccio, C. Ortiz, L. y Martínez, J. (2008). *Manual para la conservación de las tortugas marinas en Guatemala, con énfasis en el manejo de tortugarios*. Guatemala: ARCAS/CONAP.
- Orantes, N. (15 de noviembre 2011). Comunicación personal.
- Palmer, B. & Guillete, L. (2004). Oviductal proteins and their influence on embryonic development in birds and reptiles. In Deeming, D. & Ferguson, M. (2004). *Egg incubation: its effects on embryonic development in birds and reptiles*. United Kingdom: Cambridge University Press.
- Pike, D. (2008). Natural beaches confer fitness benefits to nesting marine turtles. *Biol. Lett.* 4:704-706.
- Pineda, C. (2003). *Biología y ecología de la tortuga golfina (Lepidochelys olivacea) y laúd (Dermochelys coriacea)*. (Tesis ad gradum). Universidad Autónoma Metropolitana. México.
- R Core Team. (2012). R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Recuperado de: <http://www.R-project.org/>.
- Richardson, J. (2000). Prioridades para los estudios sobre la biología de la reproducción y de la anidación. En Eckert, K. Bjorndal, K. Abreu-Grobois, F. y Donnelly, M. (2000). *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de*



*las Tortugas Marinas* (4a ed.). USA: Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/CSE.

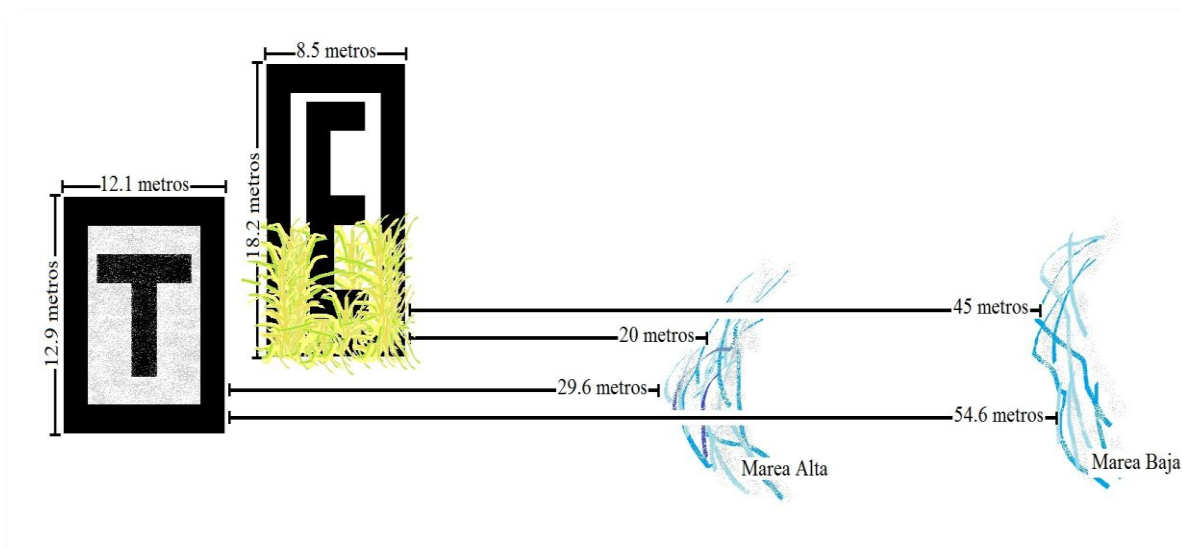
- Rivas, A. (2002). *Evaluación del efecto de la profundidad sobre el éxito de la eclosión de los huevos de Tortuga Parlama (Lepidochelys olivacea, Eschscholtz, 1829: CHELONIDAE) bajo condiciones controladas, en la Reserva Natural de Usos Múltiples Monterrico, Taxisco, Santa Rosa, Guatemala. (Tesis ad gradum).* Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
- Sánchez, R. Ruiz, R. y Jolón, M. (2005). *Guatemala en la Protección y Conservación de Tortugas Marinas.* Guatemala: PROBIOMA-CECON-FONACON-CONCYT.
- Schmidt-Nielsen, K. (1976). *Fisiología Animal, Adaptación y Ambiente.* España: Ediciones Omega.
- Schroeder, B. y Murphy, S. (2000). *Prospecciones Poblacionales (Terrestres y Aéreas) en Playas de Anidación.* En Eckert, K. Bjorndal, K. Abreu-Grobois, F. y Donnelly, M. (2000). *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas* (4a ed.). USA: Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/CSE.
- Schroeder, B. (2001). *Mitigación de las Amenazas en Playas de Anidación.* En Eckert, K. y Abreu, F. (2001). *MEMORIAS: Conservación de Tortugas Marinas en la Región del Gran Caribe: Un Diálogo para el Manejo Regional Efectivo.* WIDECAS, UICN/CSE Grupo Especialista en Tortugas Marinas (MTSG), WWF y el Programa Ambiental del Caribe del PNUMA.
- Simons, E. (1990). *Geología Física Básica.* México: Editorial Limusa. 699pp.

- Spotila, J. & Standora, R. (1985). Environmental Constraints on the Thermal Energetics of Sea Turtles. *Copeia*, Vol.1985(3):694-702.
- Spotila, J. Zimmerman, L. Binckley, C. Grumbles, J. Rostal, D. List, A. *et al.* (1994). Effects of Incubation Conditions on Sex Determination, Hatching Success, and Growth of Hatchling Desert Tortoises, *Gopherus agassizii*. *Herpetological Monographs*. 8:103-116.
- St.Juliana, J. Bowden, R. & Janzen, F. (2004). The impact of behavioral and physiological maternal effects on offspring sex ratio in the common snapping turtle, *Chelydra serpentina*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 56:270-278.
- Steckenreuter, A. Pilcher, N. Krüger, B. & Ben, J. (2010). *Chelonian Conservation and Biology*. 9(1):123-128.
- Strahler, A. & Strahler, A. (1973). *Environmental Geoscience: Interactions between Natural Systems and Man*. Canada: Hamilton Publishing Company.
- Valverde, R. Wingard, S. Gómez, F. Tordoir, M. & Orrego, C. (2010). Field lethal incubation of olive ridley sea turtle *Lepidochelys olivacea* embryos at mass nesting rookery. *Endang Species Res*, Vol.12. 77-86.
- Viejobueno, S. Adams, C. & Arauz, R. (2011). *Sea Turtle Conservation and Research in the Coastal Community of Corozalito on the Pacific Coast of Costa Rica. Technical Report*. Programa Restauración de Tortugas Marinas.
- Vitt, L. & Caldwell, J. (2009). Chapter 7: Thermoregulation, performance and energetics. In Vitt, L. & Caldwell, J. (2009). *Herpetology: An introductory biology of amphibians and reptiles* (3a ed.). USA: Elsevier.

- Wibbels, T. Rostal, D. & Byles, R. (1998). High Pivotal in the Sex Determination of the Olive Ridley Sea Turtle, *Lepidochelys olivacea*, from Playa Nancite, Costa Rica. *Copeia*. 4:1086-1088.
- Wibbels, T. Hillis-Star, Z. & Phillips, B. (1999). Female-biased Sex Ratios of Hatchling Hawksbill Sea Turtles from a Caribbean Nesting Beach. *Journal of Herpetology*, Vol. 33(1):142-144.
- Wibbels, T. Owens, D. & Limpus, C. (2000). Sexing Juvenile Sea Turtles: Is There an Accurate and Practical Method? *Chelonian Conservation and Biology*. 3(4):756-761.
- Wibbels, T. (2002). Critical Approaches to Sex Determination in Sea Turtles. Chapter 4. In Lutz, P. Musck, J. & Wyneken, J. (2002). *The Biology of Sea Turtles*, Volume II. CRC Press. 103-134.
- Witherington, B. (2000). Reducción de las Amenazas al Hábitat de Anidación. En Eckert, K. Bjorndal, K. Abreu-Grobois, F. y Donnelly, M. (Eds.). (2000). Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas. Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/CSE. 4ª. Ed. 204-210p.
- WWF. (s.f.). *Situación Actual de las Tortugas Marinas en América*. Central America: World Wildlife Fund (WWF). Recuperado de [http://www.wwfca.org/nuestro\\_trabajo/especies/tortugas\\_marinas/situacion\\_actual](http://www.wwfca.org/nuestro_trabajo/especies/tortugas_marinas/situacion_actual)
- Wyneken, J. Epperly, S. Chowder, L. Vaughan, J. & Blair, K. (2007). Determining Sex in Posthatchling Loggerhead Sea Turtles Using Multiple Gonadal and Accessory Duct Characteristics. *Herpetologica*. Vol.63(1):19-30.

- Yntema, C. & Mrosovsky, N. (1982). Critical periods and pivotal temperatures for sexual differentiation in loggerhead sea turtles. *Can. J. Zool.*, 60:1012-1016.
- Zug, G. Vitt, L. & Caldwell, J. (2001). Chapter 7: Thermoregulation, performance and energetics. In Zug, G. Vitt, L. & Caldwell, J. (2001). *Herpetology: An introductory biology of amphibians and reptiles* (2a ed.). USA: Academic Press.
- Zuur, A. Ieno, E. Walker, N. Saveliev, A. & Smith, G. (2009). *Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R*. USA: Springer.

## 12. ANEXOS



**Figura No. 1.** Esquema de dimensiones del área del tortugario y del experimento. Se muestran las distancias entre el tortugario y experimento, y las mareas alta y baja.

**Cuadro No. 1.** Información sobre la siembra de cada uno de los 40 nidos de *Lepidochelys olivacea* evaluados en el tortugario (T) de la RNUMM.

| Nido | Fecha de siembra | Hora de siembra | Profundidad del nido | Ancho del nido |
|------|------------------|-----------------|----------------------|----------------|
|      |                  |                 | (cm)                 | (cm)           |
| 1T   | 16/11/2011       | 08:45           | 26                   | 17             |
| 2T   | 16/11/2011       | 08:48           | 22                   | 15             |
| 3T   | 16/11/2011       | 09:00           | 26                   | 19             |
| 4T   | 16/11/2011       | 09:03           | 25                   | 15             |
| 5T   | 16/11/2011       | 09:10           | 26                   | 23             |
| 6T   | 16/11/2011       | 09:17           | 22                   | 19             |
| 7T   | 16/11/2011       | 09:20           | 23                   | 17             |
| 8T   | 23/11/2011       | 09:02           | 28                   | 21             |
| 9T   | 23/11/2011       | 09:04           | 25                   | 19             |
| 10T  | 23/11/2011       | 09:07           | 24                   | 18             |
| 11T  | 23/11/2011       | 09:09           | 22                   | 19             |

---

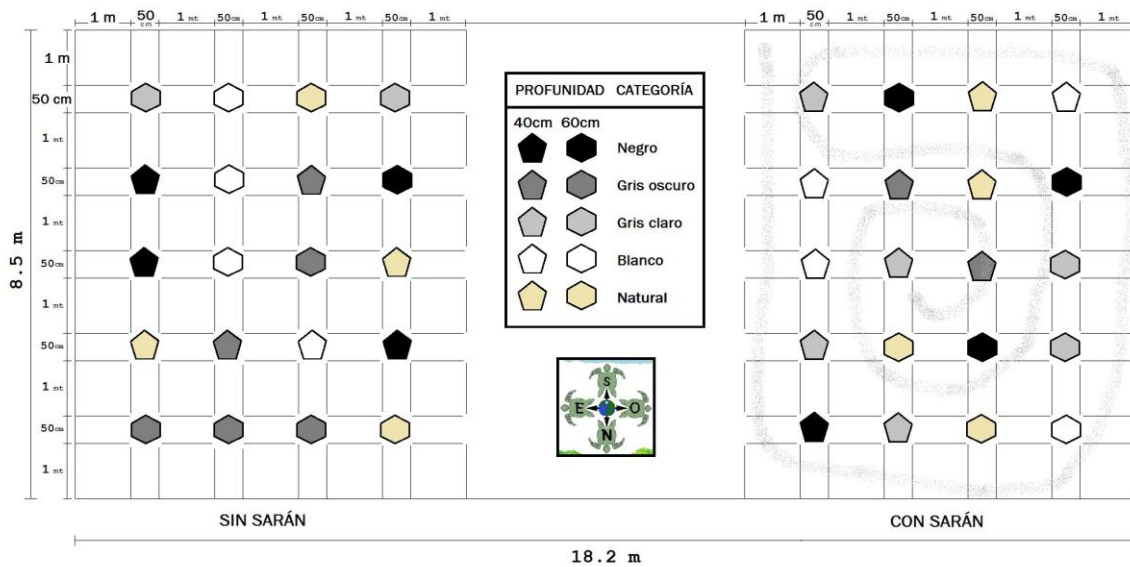
|            |            |       |    |    |
|------------|------------|-------|----|----|
| <b>12T</b> | 23/11/2011 | 09:12 | 22 | 18 |
| <b>13T</b> | 23/11/2011 | 09:16 | 22 | 16 |
| <b>14T</b> | 23/11/2011 | 09:21 | 23 | 15 |
| <b>15T</b> | 23/11/2011 | 09:24 | 23 | 17 |
| <b>16T</b> | 24/11/2011 | 11:00 | 30 | 12 |
| <b>17T</b> | 24/11/2011 | 11:05 | 30 | 14 |
| <b>18T</b> | 24/11/2011 | 11:10 | 30 | 12 |
| <b>19T</b> | 24/11/2011 | 11:06 | 31 | 15 |
| <b>20T</b> | 24/11/2011 | 11:10 | 30 | 15 |
| <b>21T</b> | 24/11/2011 | 11:15 | 30 | 14 |
| <b>22T</b> | 24/11/2011 | 11:20 | 27 | 14 |
| <b>23T</b> | 24/11/2011 | 11:25 | 27 | 15 |
| <b>24T</b> | 24/11/2011 | 11:30 | 27 | 14 |
| <b>25T</b> | 24/11/2011 | 11:35 | 27 | 15 |
| <b>26T</b> | 24/11/2011 | 11:40 | 28 | 15 |
| <b>27T</b> | 24/11/2011 | 11:45 | 29 | 14 |
| <b>28T</b> | 24/11/2011 | 11:50 | 27 | 17 |
| <b>29T</b> | 24/11/2011 | 11:55 | 27 | 15 |
| <b>30T</b> | 24/11/2011 | 12:00 | 27 | 17 |
| <b>31T</b> | 24/11/2011 | 12:05 | 28 | 19 |
| <b>32T</b> | 25/11/2011 | 08:28 | 29 | 17 |
| <b>33T</b> | 25/11/2011 | 08:28 | 29 | 17 |
| <b>34T</b> | 25/11/2011 | 08:29 | 27 | 16 |
| <b>35T</b> | 25/11/2011 | 08:32 | 29 | 18 |
| <b>36T</b> | 25/11/2011 | 08:33 | 30 | 16 |
| <b>37T</b> | 25/11/2011 | 08:37 | 30 | 17 |
| <b>38T</b> | 25/11/2011 | 08:40 | 30 | 15 |
| <b>39T</b> | 25/11/2011 | 08:43 | 28 | 16 |
| <b>40T</b> | 26/11/2011 | 08:19 | 30 | 14 |

---

**Cuadro No. 2.** Información sobre la siembra de cada uno de los 40 nidos de *Lepidochelys olivacea* evaluados en el Experimento (E).

| <b>Nido</b> | <b>Fecha de siembra</b> | <b>Hora de siembra</b> | <b>Profundidad (cm)</b> | <b>Sombra</b> |
|-------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|---------------|
| <b>1E</b>   | 22/11/2011              | 09:05                  | 40                      | Con           |
| <b>2E</b>   | 22/11/2011              | 09:09                  | 40                      | Con           |
| <b>3E</b>   | 22/11/2011              | 09:12                  | 60                      | Con           |
| <b>4E</b>   | 22/11/2011              | 09:20                  | 60                      | Sin           |
| <b>5E</b>   | 22/11/2011              | 09:24                  | 60                      | Sin           |
| <b>6E</b>   | 22/11/2011              | 09:28                  | 40                      | Sin           |
| <b>7E</b>   | 24/11/2011              | 10:03                  | 60                      | Con           |
| <b>8E</b>   | 24/11/2011              | 09:10                  | 40                      | Sin           |
| <b>9E</b>   | 24/11/2011              | 10:05                  | 40                      | Con           |
| <b>10E</b>  | 24/11/2011              | 09:15                  | 40                      | Sin           |
| <b>11E</b>  | 24/11/2011              | 10:10                  | 60                      | Con           |
| <b>12E</b>  | 24/11/2011              | 09:30                  | 40                      | Sin           |
| <b>13E</b>  | 24/11/2011              | 10:10                  | 60                      | Con           |
| <b>14E</b>  | 24/11/2011              | 09:32                  | 60                      | Sin           |
| <b>15E</b>  | 24/11/2011              | 10:15                  | 40                      | Con           |
| <b>16E</b>  | 24/11/2011              | 09:35                  | 60                      | Sin           |
| <b>17E</b>  | 24/11/2011              | 10:15                  | 40                      | Con           |
| <b>18E</b>  | 24/11/2011              | 10:20                  | 60                      | Con           |
| <b>19E</b>  | 24/11/2011              | 10:50                  | 40                      | Con           |
| <b>20E</b>  | 24/11/2011              | 10:35                  | 60                      | Con           |
| <b>21E</b>  | 24/11/2011              | 09:40                  | 60                      | Sin           |
| <b>22E</b>  | 24/11/2011              | 09:43                  | 40                      | Sin           |
| <b>23E</b>  | 24/11/2011              | 09:47                  | 60                      | Sin           |
| <b>24E</b>  | 24/11/2011              | 09:50                  | 60                      | Sin           |
| <b>25E</b>  | 24/11/2011              | 10:20                  | 60                      | Con           |
| <b>26E</b>  | 24/11/2011              | 10:25                  | 60                      | Con           |
| <b>27E</b>  | 24/11/2011              | 10:30                  | 40                      | Con           |
| <b>28E</b>  | 24/11/2011              | 10:30                  | 60                      | Con           |
| <b>29E</b>  | 24/11/2011              | 09:50                  | 40                      | Sin           |
| <b>30E</b>  | 24/11/2011              | 09:50                  | 40                      | Sin           |
| <b>31E</b>  | 24/11/2011              | 09:52                  | 40                      | Sin           |
| <b>32E</b>  | 24/11/2011              | 09:52                  | 60                      | Sin           |

|            |            |       |    |     |
|------------|------------|-------|----|-----|
| <b>33E</b> | 24/11/2011 | 10:40 | 40 | Con |
| <b>34E</b> | 24/11/2011 | 10:40 | 40 | Con |
| <b>35E</b> | 24/11/2011 | 10:35 | 60 | Con |
| <b>36E</b> | 24/11/2011 | 10:40 | 40 | Con |
| <b>37E</b> | 24/11/2011 | 09:55 | 40 | Sin |
| <b>38E</b> | 24/11/2011 | 09:57 | 40 | Sin |
| <b>39E</b> | 24/11/2011 | 10:00 | 60 | Sin |
| <b>40E</b> | 24/11/2011 | 10:00 | 60 | Sin |



**Figura No. 2.** Mapa de ubicación de los 40 nidos del Experimento. Cada nido estará ubicado a un metro de distancia, a partir del espacio de cada nido (50 cm). El área total es de 8.5 X 18.2 metros. Los rombos representan los nidos sembrados a 60 centímetros de profundidad, y los pentágonos representan los nidos sembrados a 40centímetros de profundidad.

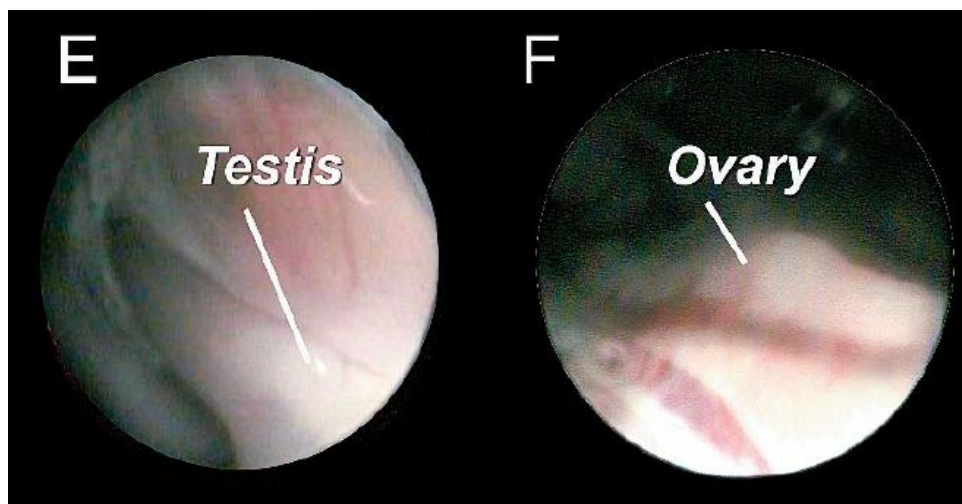


**Cuadro No. 3.** Datos de temperatura media y desviación estándar, por tratamiento, de cada uno de los nidos en la fase de calibración del experimento. La temperatura promedio máxima fue de 33.75°C, en el tratamiento Natural bajo Sol a 40 centímetros de profundidad. La temperatura promedio mínima fue de 32.06°C, en el tratamiento Negro bajo Sombra a 60 centímetros de profundidad. La diferencia entre el tratamiento con mayor temperatura y el de menor temperatura fue de 1.69°C.

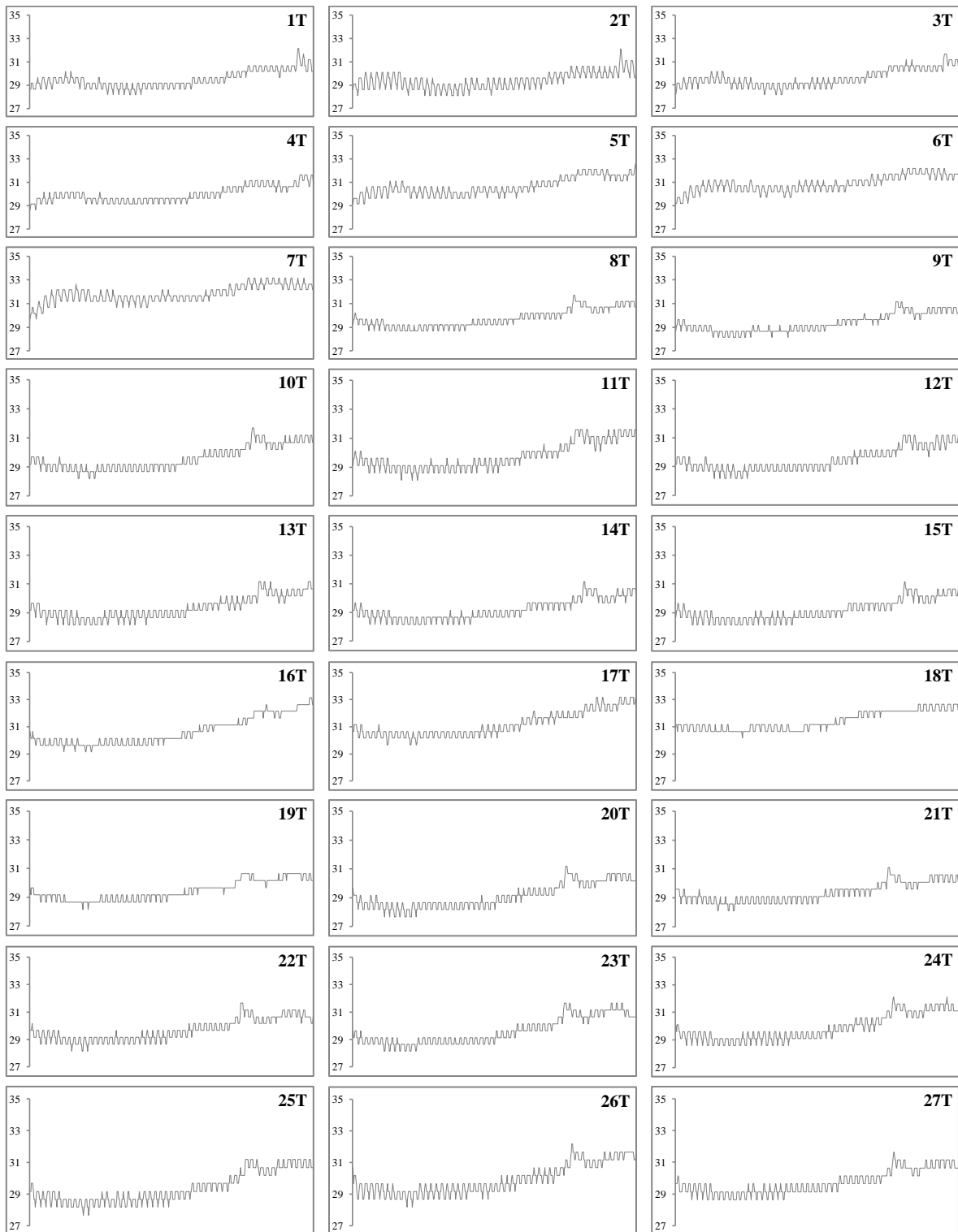
|                | <b>Tratamiento</b> | <b>Temperatura Media</b> | <b>Desviación Estándar</b> |
|----------------|--------------------|--------------------------|----------------------------|
| Sol            |                    |                          |                            |
| 40 centímetros |                    |                          |                            |
|                | Natural            | 33.53                    | 0.21                       |
|                | Natural            | 33.75                    | 0.32                       |
|                | Blanco             | 33.24                    | 0.28                       |
|                | Gris Oscuro        | 33.40                    | 0.57                       |
|                | Gris Oscuro        | 33.40                    | 0.33                       |
|                | Negro              | 33.51                    | 0.26                       |
|                | Negro              | 33.20                    | 0.19                       |
|                | Negro              | 33.65                    | 0.31                       |
| 60 centímetros |                    |                          |                            |
|                | Natural            | 32.73                    | 0.42                       |
|                | Natural            | 33.06                    | 0.22                       |
|                | Blanco             | 32.99                    | 0.25                       |
|                | Blanco             | 33.12                    | 0.08                       |
|                | Blanco             | 32.59                    | 0.25                       |
|                | Gris Claro         | 32.66                    | 1.44                       |
|                | Gris Claro         | 33.20                    | 0.21                       |
|                | Gris Oscuro        | 32.69                    | 0.08                       |
|                | Gris Oscuro        | 33.00                    | 0.23                       |
|                | Gris Oscuro        | 32.96                    | 0.24                       |
|                | Gris Oscuro        | 32.60                    | 1.44                       |
|                | Negro              | 32.64                    | 2.88                       |
| Sombra         |                    |                          |                            |
| 40 centímetros |                    |                          |                            |
|                | Natural            | 33.09                    | 0.39                       |
|                | Natural            | 32.81                    | 0.40                       |

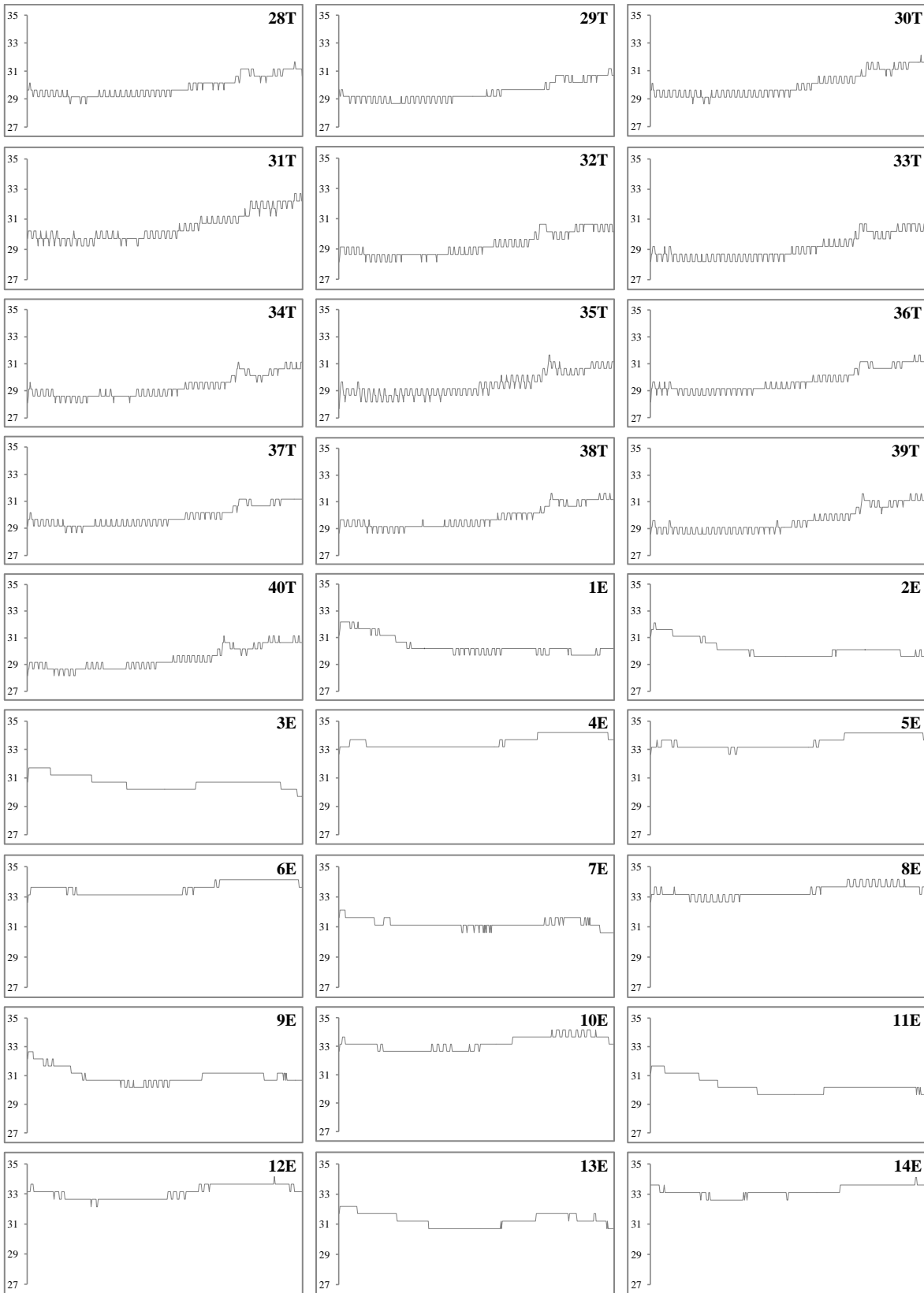
|                |             |       |      |
|----------------|-------------|-------|------|
|                | Blanco      | 32.82 | 0.35 |
|                | Blanco      | 32.86 | 0.45 |
|                | Blanco      | 33.05 | 0.39 |
|                | Gris Claro  | 32.60 | 0.43 |
|                | Gris Claro  | 32.79 | 0.38 |
|                | Gris Claro  | 33.07 | 0.38 |
|                | Gris Claro  | 32.82 | 0.25 |
|                | Gris Oscuro | 32.72 | 0.38 |
|                | Gris Oscuro | 32.80 | 0.37 |
|                | Negro       | 32.65 | 0.45 |
| 60 centímetros |             |       |      |
|                | Natural     | 32.54 | 0.25 |
|                | Natural     | 32.54 | 0.22 |
|                | Blanco      | 32.67 | 0.35 |
|                | Gris Claro  | 32.75 | 0.23 |
|                | Gris Claro  | 32.42 | 0.25 |
|                | Negro       | 32.06 | 0.21 |
|                | Negro       | 32.39 | 0.25 |
|                | Negro       | 32.41 | 0.25 |

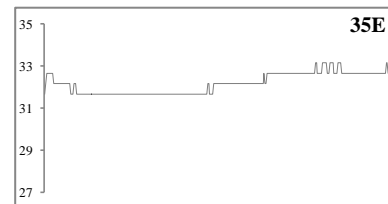
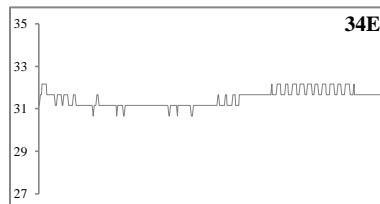
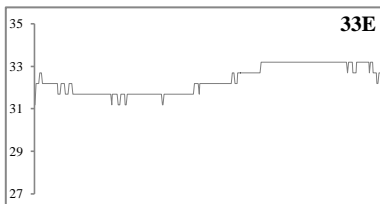
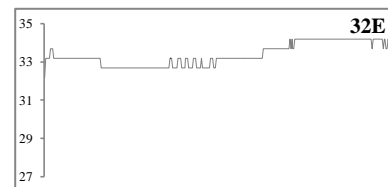
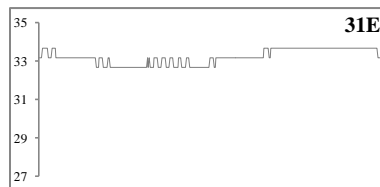
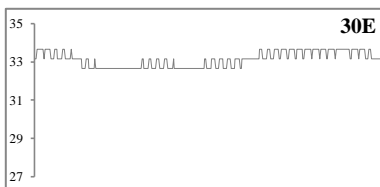
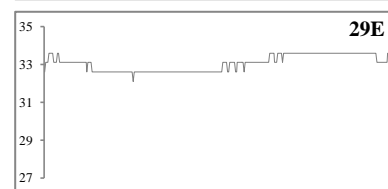
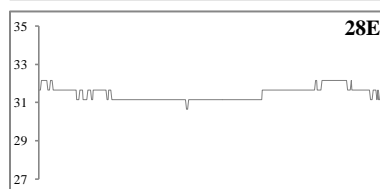
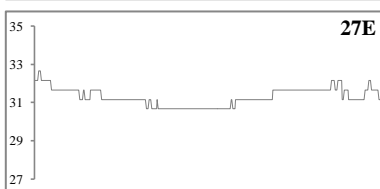
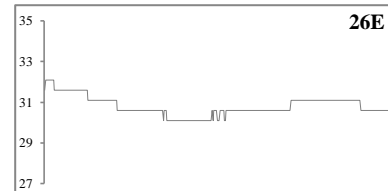
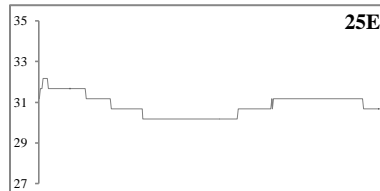
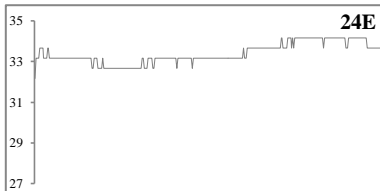
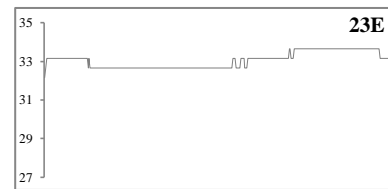
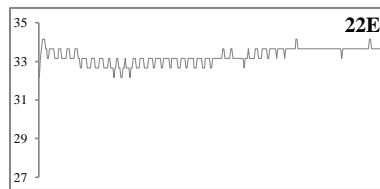
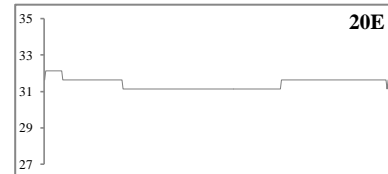
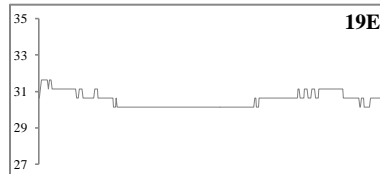
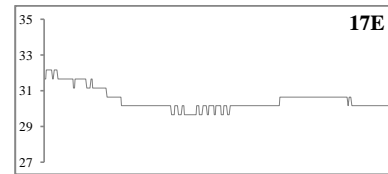
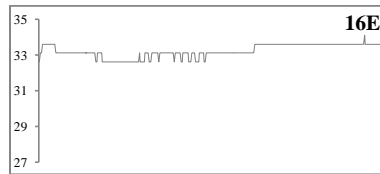
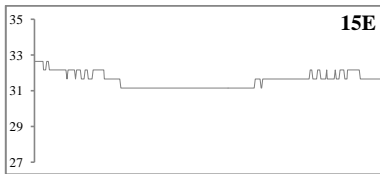
---

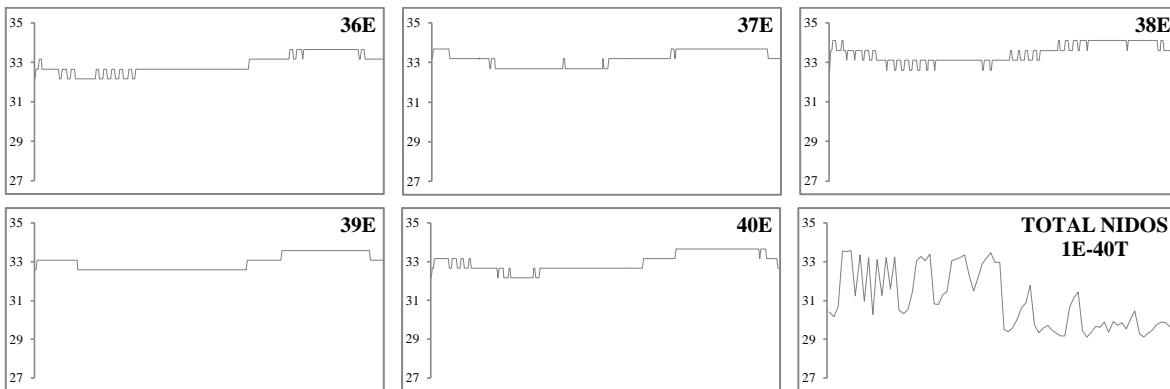


**Figura No. 3.** Esquema de ovarios y testículos de neonatos observados en estereoscopio. Tomado de Wyneken *et al.* (2007, p. 24).









**Figura No. 4.** Gráficas de series de temperatura de cada uno de los nidos del tortugario (T) y del experimento (E). Cada numeración de gráfica representa al nido medido. La última gráfica muestra el promedio de series de temperatura de todos los nidos, iniciando con los del tortugario (1T a 40T) y continuando con los del experimento (1E a 40E).

$$r(T) = \frac{\rho_{(298\text{ K})} \frac{T}{298} \exp \left[ \frac{\Delta H_A^\ddagger}{R} \left( \frac{1}{298} - \frac{1}{T} \right) \right]}{1 + \exp \left[ \frac{\Delta H_H}{R} \left( \frac{1}{T_{1/2H}} - \frac{1}{T} \right) \right]}$$

$r(T)$  Tasa de desarrollo promedio a la temperatura T (tiempo<sup>-1</sup>)

$T$  Temperatura en K (298 K = 24.85°C)

$R$  es la constante de gas universal (8.314472 J K<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup>)

NOTA: El modelo original definía R en cal K<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup>, pero fue convertido en unidades SI

$\rho_{(298\text{ K})}$  Tasa de desarrollo a 24.85°C, asumiendo que no hay inactivación enzimática (tiempo<sup>-1</sup>)

$\Delta H_A^\ddagger$  Entalpía de activación de la reacción que es catalizada por las enzimas (J mol<sup>-1</sup>)

$T_{1/2L}$  Temperatura en K a la cual las enzimas están ½ activas y ½ inactivas a temperatura baja

$\Delta H_L$  Cambio en la entalpía asociado a la inactivación de temperatura baja de las enzimas (J mol<sup>-1</sup>)

$T_{1/2H}$  Temperatura en K a la cual las enzimas están ½ activas y ½ inactivas a temperatura alta

$\Delta H_H$  Cambio en la entalpía asociado a la inactivación de temperatura alta de las enzimas (J mol<sup>-1</sup>)

Fuente: eqn 2. En: Girondot & Kaska (in press, pp. 6-7)

**Figura No. 5** Modelo de Schoolfield (1981). Es una modificación de los modelos biológicos formulados por Sharpe & DeMichele (1997) para el cálculo de la tasa de

desarrollo dependiente de temperatura, basado en las ecuaciones Arrhenius & Eyring. En Girondot & Kaska (in press, pp. 5-6).

$$X(t) = K \exp \left( \ln \left( \frac{X(0)}{K} \right) \exp(-r(T) t) \right)$$


---

**X(0)** Tamaño de masa en al momento de anidación (tiempo=0)

**r(T)** Tasa de crecimiento al inicio de la curva

Capacidad de carga con  $\lim_{t \rightarrow +\infty} X(t) = K$

**K** Observar que la eclosión generalmente ocurre antes de que el embrión alcance un tamaño o masa K  
El parámetro K podría tomarse únicamente como una manera de disminuir el crecimiento al final de la incubación

Fuente: eqn 3. En: Girondot & Kaska (in press, p. 7)

**Figura No. 6.** Modelo Gompertz propuesto por Laird (1964). Se utilizó como base para modelar la tasa de desarrollo embrionario (X) para cada nido. Propuesto en Girondot & Kaska (in press, p. 7).

**Cuadro No. 4.** Largos de los carapachos de cada espécimen colectado en los nidos del tortugario (T) y del experimento (E). En milímetros.

| Nido | Medidas del carapacho de cada neonato muestreado (milímetros) |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|------|---|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 1E   | 37  | 39.5 | 40   | 37.5 | 34   | 40.5 | 40   | ---- | ---- | ---- |
| 2E   | 44  | 42   | 42   | 36   | 41   | 43   | 39   | 41.5 | 43   | 42   |
| 3E   | 43  | 43   | 42.5 | 42   | 44   | 43   | 42   | 42   | 44   | 41   |
| 4E   | 42.5  | 42   | 43   | 43   | 41.5 | 43   | 42.5 | 42   | 41   | 43   |
| 5E   | 39.5  | 42   | 41   | 41.5 | 41   | 40.5 | 40.5 | 40.5 | 40.5 | 41   |
| 6E   | 41.5  | 40   | 40.5 | 40   | 41   | 41   | 41   | 39   | 38   | 41   |
| 7E   | ----  | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- |
| 8E   | 37.5  | 39   | 39   | 38   | 40   | 41   | 40   | 40   | ---- | ---- |
| 9E   | ----  | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- |
| 10E  | 40  | 40   | 41   | 41   | 40   | 40   | 38   | 39   | 39   | 38.5 |
| 11E  | 42  | 42.5 | 42.5 | 41   | 43   | 43   | 42   | 42   | 43.5 | 42   |

|     |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 12E | 39   | 40   | 41   | 39.5 | 39   | 40.5 | 39   | 41   | 41   | 40.5 |
| 13E | 41   | 42   | 41   | 41   | 42.5 | 41   | 41   | 40   | 42   | 42   |
| 14E | 40   | 38   | 40   | 39   | 39   | 39.5 | 40   | 40   | 40.5 | 38   |
| 15E | 41   | 43   | 41   | 42.5 | 41   | 42   | 42   | 41   | 42   | 43   |
| 16E | 41   | 42   | 42   | 41   | 42   | 40   | 41   | 41   | 40   | 42   |
| 17E | 41.5 | 41   | 41.5 | 38   | 42   | 42   | 43   | 40   | 42   | 41   |
| 18E | 42   | 42.5 | 41.5 | 42   | 43   | 43   | 41   | 43   | 42   | 42   |
| 19E | 40   | 40   | 41   | 40   | 40   | 39   | 41   | 39   | 41   | 40   |
| 20E | 39   | 37.5 | 37.5 | 38.5 | 39   | 39   | 38   | 39.5 | 36.5 | 38.5 |
| 21E | 40.5 | 39   | 41.5 | 39   | 40   | 42   | 41.5 | ---- | ---- | ---- |
| 22E | 41.5 | 42   | 41   | 43.5 | 40.5 | 41   | 42   | 40.5 | 39   | ---- |
| 23E | 41   | 41.5 | 41.5 | 42.5 | 40.5 | 40.5 | 39   | ---- | ---- | ---- |
| 24E | 42   | 41   | 40.5 | 41   | 42   | 41   | 41   | 40   | 43   | 42.5 |
| 25E | 41   | 41   | 42   | 40.5 | 42   | 41.5 | 41   | 40   | 41   | 42   |
| 26E | 42   | 42.5 | 43.5 | 42   | 41   | 42   | 42.5 | 41   | 41.5 | 42   |
| 27E | 42   | 42   | 41   | 41   | 41   | 41   | 41   | 42   | 42.5 | 43   |
| 28E | 41   | 41   | 41   | 41   | 41.5 | 42   | 39.5 | 41   | 41.5 | 42   |
| 29E | 40   | 41   | 41   | 40.5 | 41   | 40   | 40   | 40.5 | 40.5 | 38   |
| 30E | 40.5 | 39   | 38   | 39   | 38   | 41   | 38   | 40   | 40   | 38.5 |
| 31E | 39.5 | 39   | 40   | 39   | 40   | 39   | 40   | 40   | 39   | 39   |
|     | 43.5 | 44   | 44   | 40   | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- |
| 32E | 39.5 | 41   | 41   | 40   | 39   | 41   | 39   | 39.5 | 40.5 | 39   |
| 33E | 37   | 37   | 36   | 38   | 37   | 40   | 38   | 37   | 38   | 39.5 |
| 34E | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- |
| 35E | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- |
| 36E | 40.5 | 40.5 | 42.5 | 41   | 41   | 41   | 41   | 40.5 | 39   | 40   |
| 37E | 40.5 | 40.5 | 40   | 41   | 41.5 | 39.5 | 40.5 | 40   | 40.5 | 39.5 |
| 38E | 39   | 41   | 42   | 40   | 40   | 40   | 40   | 43   | 41.5 | 40   |
| 39E | 41   | 41   | 41   | 41   | 38.5 | 40   | 41.5 | 41.5 | 40   | 40   |
| 40E | 39.5 | 41   | 42   | 40   | 40   | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- |
| 1T  | 41   | 41.5 | 40   | 43   | 40   | 41   | 42   | 42   | 40   | 41   |
| 2T  | 42   | 40.5 | 41   | 43   | 41   | 41   | 42   | 41   | 41   | 42   |
| 3T  | 40   | 41   | 43   | 43   | 41   | 42   | 41   | 43   | 43   | 41.5 |
| 4T  | 42   | 42   | 42   | 41.5 | 41.5 | 43   | 41   | 42   | 41   | 41.5 |
| 5T  | 42   | 43   | 42   | 42   | 42   | 42.5 | 42   | 40.5 | 42   | 41   |



|     |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 6T  | 41   | 39.5 | 38.5 | 41   | 39.5 | 39   | 41   | 40   | 37   | 39   |
| 7T  | 40   | 39   | 41   | 41   | 39.5 | 38   | 39   | 41   | 39   | 38   |
| 8T  | 42   | 39   | 42   | 44   | 45   | 42   | 44   | 43   | 43.5 | 43   |
| 9T  | 42   | 44   | 43   | 43   | 43   | 43   | 41   | 43   | 42   | 41   |
| 10T | 43   | 42   | 37.5 | 44   | 38   | 42   | 43   | 45   | 44   | 43   |
| 11T | 44   | 43   | 43   | 44   | 43   | 41   | 43   | 39   | 42.5 | 45   |
| 12T | 37.5 | 40   | 39   | 42   | 38   | 46   | 37   | 44   | 44   | 38   |
| 13T | 38   | 38   | 38   | 38   | 38   | 37.5 | 37   | 38   | 34   | 37.5 |
| 14T | 36   | 38   | 38.5 | 38   | 38   | 36.5 | 37   | 39   | 34.5 | 37   |
| 15T | 37   | 38   | 37.5 | 38   | 39   | 37.5 | 38.5 | 38   | 38.5 | 38   |
| 16T | 41   | 40   | 41   | 40   | 39   | 40.5 | 41.5 | 39.5 | 40.5 | 41   |
| 17T | 40   | 40.5 | 37   | 39.5 | 42   | 35   | 37   | 35   | 37   | 37   |
| 18T | 38   | 40   | 36.5 | 36   | 36   | 38   | 39   | 38   | 37   | 38   |
| 19T | 41   | 43   | 42   | 41.5 | 42   | 42   | 43   | 44   | 42.5 | 42   |
| 20T | 42   | 43   | 45   | 43   | 42   | 42   | 41   | 43   | 44   | 42   |
| 21T | 43   | 41   | 38.5 | 38   | 42.5 | 41.5 | 43.5 | ---- | ---- | ---- |
| 22T | 41.5 | 42   | 39   | 42   | 41   | 40.5 | 43   | 41   | 41   | 42.5 |
| 23T | 40   | 42   | 42   | 41   | 42   | 42   | 42.5 | 42   | 41   | 40.5 |
| 24T | 41   | 40.5 | 40   | 40   | 40.5 | 41   | 41.5 | 41   | 41   | 40.5 |
| 25T | 42.5 | 41.5 | 43   | 41   | 39   | 41   | 41   | 41   | 41   | 41   |
| 26T | 42   | 41   | 41   | 42   | 40   | 42.5 | 41   | 41.5 | 41   | 41   |
| 27T | 41   | 41   | 42   | 42   | 42   | 41   | 41.5 | 41   | 42   | 40   |
| 28T | 42   | 41   | 41   | 40.5 | 39.5 | 41   | 40   | 41   | 41   | 41   |
| 29T | 40   | 40   | 40   | 37   | 41   | 39   | 37.5 | 41   | 40   | 41   |
| 30T | 41.5 | 40.5 | 42   | 40   | 48.5 | 40.5 | 39   | 40   | 41.5 | 40   |
| 31T | 43   | 43.5 | 42   | 43   | 37.5 | 43   | 43   | 43   | 43.5 | 43   |
| 32T | 43   | 43   | 44   | 45   | 44.5 | 44   | 41   | 42   | 42.5 | 43.5 |
| 33T | 43   | 43.5 | 43   | 44   | 43   | 43.5 | 44   | 44   | 43.5 | 44.5 |
| 34T | 45   | 42   | 43   | 44   | 43   | 43   | 42   | 44.5 | 42   | 42   |
| 35T | 41   | 39.5 | 40   | 41   | 42   | 41.5 | 42   | 41.5 | 41.5 | 41   |
| 36T | 41   | 40   | 40   | 40.5 | 41   | 41   | 41.5 | 39.5 | 39   | 41   |
| 37T | 41   | 41   | 40   | 42   | 41   | 41   | 42   | 40   | 41   | 41   |
| 38T | 42   | 41   | 42   | 42   | 41.5 | 42   | 42   | 41.5 | 41   | 41.5 |
| 39T | 41   | 41.5 | 41.5 | 40   | 41   | 41   | 42   | 41   | 42   | 40.5 |
| 40T | 42   | 42   | 43   | 43.5 | 43   | 42   | 42   | 43   | 41.5 | 43   |

**Cuadro No. 5.** Información sobre las emergencias de los neonatos colectados de los nidos del experimento.

| <b>Nido</b> | <b>Profundidad del nido (cm)</b> | <b>Duración del período de incubación (días)</b> | <b>Total de neonatos colectados</b> |
|-------------|----------------------------------|--|-------------------------------------|
| 1E          | 40                               | 54   | 7                                   |
| 2E          | 40                               | 52   | 10                                  |
| 3E          | 60                               | 51   | 10                                  |
| 4E          | 60                               | 45   | 10                                  |
| 5E          | 60                               | 45   | 8                                   |
| 6E          | 40                               | 45   | 10                                  |
| 7E          | 60                               | 52   | 0                                   |
| 8E          | 40                               | 45   | 8                                   |
| 9E          | 40                               | 52   | 1                                   |
| 10E         | 40                               | 45   | 10                                  |
| 11E         | 60                               | 49   | 10                                  |
| 12E         | 40                               | 45   | 10                                  |
| 13E         | 60                               | 50   | 10                                  |
| 14E         | 60                               | 43   | 10                                  |
| 15E         | 40                               | 46   | 10                                  |
| 16E         | 60                               | 46   | 10                                  |
| 17E         | 40                               | 51   | 10                                  |
| 18E         | 60                               | 51   | 10                                  |
| 19E         | 40                               | 49   | 10                                  |
| 20E         | 60                               | 47   | 10                                  |
| 21E         | 60                               | 46   | 7                                   |
| 22E         | 40                               | 44   | 9                                   |
| 23E         | 60                               | 45   | 7                                   |
| 24E         | 60                               | 46   | 10                                  |
| 25E         | 60                               | 49   | 10                                  |
| 26E         | 60                               | 50   | 10                                  |
| 27E         | 40                               | 49   | 10                                  |
| 28E         | 60                               | 49   | 10                                  |
| 29E         | 40                               | 45   | 10                                  |
| 30E         | 40                               | 45   | 10                                  |
| 31E         | 40                               | 45   | 10                                  |

|     |    |    |    |
|-----|----|----|----|
| 32E | 60 | 45 | 10 |
| 33E | 40 | 48 | 10 |
| 34E | 40 | 47 | 0  |
| 35E | 60 | 46 | 0  |
| 36E | 40 | 44 | 10 |
| 37E | 40 | 46 | 10 |
| 38E | 40 | 45 | 10 |
| 39E | 60 | 45 | 10 |
| 40E | 60 | 45 | 5  |

**Cuadro No. 6.** Información sobre las emergencias de los neonatos colectados de los nidos del tortugario.

| <b>Nido</b> | <b>Profundidad del nido (cm)</b> | <b>Duración del período de incubación (días)</b> | <b>Total de neonatos colectados</b> |
|-------------|----------------------------------|--|-------------------------------------|
| 1T          | 26                               | 52   | 10                                  |
| 2T          | 22                               | 52   | 10                                  |
| 3T          | 26                               | 52   | 10                                  |
| 4T          | 25                               | 52   | 10                                  |
| 5T          | 26                               | 50   | 10                                  |
| 6T          | 22                               | 48   | 10                                  |
| 7T          | 23                               | 47   | 10                                  |
| 8T          | 28                               | 54   | 10                                  |
| 9T          | 25                               | 54   | 10                                  |
| 10T         | 24                               | 54   | 10                                  |
| 11T         | 22                               | 54   | 10                                  |
| 12T         | 22                               | 53   | 11                                  |
| 13T         | 22                               | 52   | 10                                  |
| 14T         | 23                               | 52   | 10                                  |
| 15T         | 23                               | 53   | 10                                  |
| 16T         | 30                               | 52   | 10                                  |
| 17T         | 30                               | 50   | 10                                  |
| 18T         | 30                               | 48   | 10                                  |
| 19T         | 31                               | 55   | 10                                  |

|     |    |    |    |
|-----|----|----|----|
| 20T | 30 | 55 | 10 |
| 21T | 30 | 55 | 7  |
| 22T | 27 | 55 | 10 |
| 23T | 27 | 55 | 10 |
| 24T | 27 | 54 | 10 |
| 25T | 27 | 54 | 10 |
| 26T | 28 | 53 | 10 |
| 27T | 29 | 53 | 10 |
| 28T | 27 | 53 | 10 |
| 29T | 27 | 52 | 10 |
| 30T | 27 | 53 | 10 |
| 31T | 28 | 51 | 15 |
| 32T | 29 | 55 | 10 |
| 33T | 29 | 53 | 10 |
| 34T | 27 | 53 | 10 |
| 35T | 29 | 53 | 11 |
| 36T | 30 | 53 | 10 |
| 37T | 30 | 52 | 10 |
| 38T | 30 | 52 | 10 |
| 39T | 28 | 52 | 10 |
| 40T | 30 | 55 | 10 |

---



---

Br. Berta Alejandra Morales Mérida

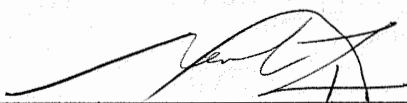
**Autora**



---

PhD. Dulce María Bustamante Zamora

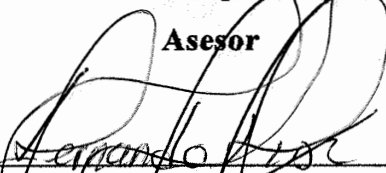
**Asesora**



---

Lic. Claudio Aquiles Méndez

**Asesor**



---

Lic. José Fernando Díaz Coppel

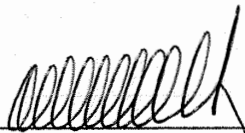
**Revisor**



---

PhD. Sergio Alejandra Melgar

**Director Escuela de Biología**



---

PhD. Oscar Manuel Cobar Pinto

**Decano Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia**