



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS



**PROPORCIÓN SEXUAL EN CRÍAS DE
TORTUGA *Lepidochelys olivacea* EN
CORRALES DE INCUBACIÓN DEL PACÍFICO
MEXICANO**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORADO EN CIENCIAS MARINAS

PRESENTA

SARAHÍ SANDOVAL ESPINOZA

LA PAZ, B.C.S., DICIEMBRE DE 2012



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 12:00 horas del día 7 del mes de Noviembre del 2012 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis titulada:

**“PROPORCIÓN SEXUAL EN CRÍAS DE TORTUGA *Lepidochelys olivacea*
EN CORRALES DE INCUBACIÓN DEL PACÍFICO MEXICANO”**

Presentada por el alumno:

SANDOVAL

Apellido paterno

ESPINOZA

materno

SARAHÍ

nombre(s)

Con registro:

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| A | 0 | 9 | 0 | 1 | 7 | 3 |
|---|---|---|---|---|---|---|

Aspirante de:

DOCTORADO EN CIENCIAS MARINAS

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA DEFENSA DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA

Directores de Tesis

DR. VÍCTOR MANUEL GÓMEZ MUÑOZ
Director de Tesis

DR. MIGUEL ÁNGEL PORTA GÁNDARA
2º. Director de Tesis

DR. ENRIQUE HIPARCO NAVA SÁNCHEZ

DR. FEDERICO ANDRÉS GARCÍA DOMÍNGUEZ

DRA. JANETTE MAGAÑA MURILLO JIMÉNEZ

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

DRA. MARÍA MARGARITA CASAS VALDEZ



IPN
CICIMAR
DIRECCION



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 14 del mes Noviembre del año 2012
el (la) que suscribe MC. SARAHÍ SANDOVAL ESPINOZA alumno(a) del
Programa de DOCTORADO EN CIENCIAS MARINAS
con número de registro A090173 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS
manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de:
DR. VÍCTOR MANUEL GÓMEZ MUÑOZ y DR. MIGUEL ÁNGEL PORTA GÁNDARA
y cede los derechos del trabajo titulado:

**“PROPORCIÓN SEXUAL EN CRÍAS DE TORTUGA *Lepidochelys olivacea*
EN CORRALES DE INCUBACIÓN DEL PACÍFICO MEXICANO”**

al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Éste, puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: vgomez@ipn.mx - maporta@cibnor.mx - sarahisandovale@gmail.com

Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Sarahí Sandoval

MC. SARAHÍ SANDOVAL ESPINOZA

nombre y firma

AGRADECIMIENTOS

Primeramente quiero agradecer a mis Directores de Tesis y Asesores:

- Dr. Víctor Manuel Gómez Muñoz y Dr. Miguel Ángel Porta Gándara por compartir conmigo su conocimiento y paciencia, principalmente por no pertenecer a la misma área del conocimiento.
- Dr. Federico A. García Domínguez, Dr. Enrique H. Nava Sánchez, Dra. Janette M. Murillo Jiménez, igualmente por su enseñanza y ser guía desde el primer semestre de la tesis.

MUCHAS GRACIAS a ustedes que estuvieron apoyándome desde agosto del 2006, fui afortunada de tenerlos seis años y aprender de ustedes. GRACIAS.

A la institución donde realice mis estudios de posgrado:

- Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR-IPN).

A los encargados y trabajadores de cada uno de los campamentos tortugueros donde se realizó la investigación:

- Campamento tortuguero “Don Manuel Orantes” Municipio de Los Cabos, Baja California Sur: M. C. Graciela Tiburcio Pintos, Pedro Márquez, Ernesto Acevedo, Rafael Marron, Maribel Bañaga, Gabriel Olvera.
- Campamento tortuguero “Playa Ceuta” Municipio de Elota, Sinaloa: M. C. Fernando Enciso Saracho, M. C. Ingmar Sosa Cornejo, Biol. Pesq. Jesús Iván Guardado González.
- Campamento Tortuguero “Centro Ecológico de Cuyutlán” Municipio de Armería, Colima: Dra. María del Carmen Jiménez Quiroz, Sergio Aguilar Olgúin.

- Campamento tortuguero “Isla de Pajaros” Municipio de Tecpan de Galeana, Guerrero: Hidrobiol., Rosa E. Flores Ramirez, Erendira Bello.
- Campamento tortuguero “Platanitos”, Nayarit: Biol. Miguel A. Flores Peregrina.

A las instituciones que me otorgaron el apoyo económico:

- Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y Programa Institucional de Formación de Investigadores (PIFI) del IPN.

A las personas que facilitaron datos:

- Adriana L. Sarti Martínez, por facilitar datos de anidación de campamentos tortugueros del país de la CONANP, temporadas 2009-2010.
- Javier Espinosa Cruickshank por facilitar los datos de temperatura ambiental de los años 2009-2010 por parte de la CONAGUA.

A mis profesores de la estancia de investigación:

- Dr. Colin J. Limpus (Queensland Department of Environment and Resource Management, Brisbane, Australia).
- Dr. David Booth (Senior Lecturer, School of Biological Sciences, The University of Queensland, Australia).

Índice

| | Pag. |
|---|-------------|
| Lista de Tablas. | iii |
| Lista de Figuras. | iv |
| Glosario. | ix |
| Resumen. | xi |
| Abstract. | xii |
| 1. Introducción. | 1 |
| 1.1 Tortuga golfina (<i>Lepidochelys olivacea</i>). | 5 |
| 2. Antecedentes. | 8 |
| 3. Justificación. | 11 |
| 4. Hipótesis. | 12 |
| 5. Objetivos. | 12 |
| 6. Área de estudio. | 13 |
| 7. Materiales y Métodos. | 16 |
| 7.1 Medición de la temperatura de los nidos. | 16 |
| 7.2 Experimento de incubación de los huevos | 17 |
| 7.3 Análisis histológico | 19 |
| 7.4 Pronóstico de la temperatura del nido | 20 |
| 7.5 Estimación de la proporción sexual. | 22 |
| 7.6 Incertidumbre del modelo de Girondot. | 25 |
| 7.7 Extrapolación de la proporción sexual estimada | 25 |
| 7.8 Posibles relaciones Macho: Hembra. | 26 |
| 7.9 Proporción normalizada | 28 |
| 8. Resultados | 30 |
| 8.1 Temperatura en nidos protegidos | 30 |
| 8.1.1 Campamento de Baja California Sur | 31 |
| 8.1.2 Campamento de Sinaloa | 40 |
| 8.1.3 Campamento de Colima | 44 |
| 8.1.4 Campamento de Guerrero | 47 |

| | |
|---|-----|
| 8.2 Experimento de incubación | 49 |
| 8.3 Experimento de control | 51 |
| 8.4 Incubación a diferentes temperaturas del nido | 52 |
| 8.5 Análisis geométrico del modelo de Girondot | 54 |
| 8.6 Ajuste del modelo de Girondot | 56 |
| 8.7 Estimación de la proporción sexual | 60 |
| 8.8 Proporción sexual en 15 campamentos tortugueros del Pacífico mexicano | 69 |
| 9. Discusión | 74 |
| 10. Conclusiones. | 85 |
| 11. Literatura citada. | 87 |
| 12. Apéndices | 102 |
| Apéndice 1. Técnica histológica | 101 |
| Apéndice 2. Pronósticos de la temperatura en nidos | 104 |
| Apéndice 3. Proporción sexual en nidos | 129 |
| Apéndice 4. Cálculo de la proporción sexual en las áreas de estudio, durante la temporada 2010 | 132 |
| Apéndice 5. Composición granulométrica en cada una de las áreas de estudio | 135 |
| Apéndice 6. Artículo publicado | 138 |

Lista de Tablas

| | | No. de página |
|---------|--|---------------|
| Tabla 1 | Sensores de temperatura colocados de julio a diciembre | 30 |
| Tabla 2 | Proporción sexual en las 30 crías analizadas con la técnica histológica H-E | 39 |
| Tabla 3 | Datos de temperatura y proporción sexual de los nidos en el área de Baja California Sur. | 59 |
| Tabla 4 | Proporción sexual por temporada en diferentes áreas de estudio del Pacífico mexicano | 68 |

Lista de Figuras

| | | No. de página |
|----------|--|------------------|
| Figura 1 | Proporción sexual en crías en función de la temperatura de incubación en reptiles (tomado de Ciofi & Swingland, 1997). | 2 |
| Figura 2 | Árbol filogenético de los reptiles mostrando los taxa estudiados sobre los mecanismos de determinación sexual: ESD, determinación sexual ambiental; GSD, determinación sexual genotípica. Los mecanismos genotípicos se refieren a la presencia de heterogaméticos (Htg) o homogaméticos (Hmg) en los cromosomas sexuales (tomado de Ciofi & Swingland, 1997). | 3 |
| Figura 3 | (a) Hembra anidante en playas de Guerrero; (b) Cría nacida en playas de San José del Cabo, México. | 5 |
| Figura 4 | Distribución mundial de la tortuga marina <i>Lepidochelys olivacea</i> (UICN, 2012). | 6 |
| Figura 5 | Características para la identificación de la tortuga <i>Lepidochelys olivacea</i> : a) ejemplar de la tortuga <i>L. olivacea</i> donde la letra c (izquierda), representa los seis o más pares de escudos costales; b) Cada uno de los poros inframarginales (derecha). | 6 |
| Figura 6 | Área de estudio: Campamento “Don Manuel Orantes”, Municipio de Los Cabos, BCS; Campamento “Playa Ceuta” Municipio de Elota, Sinaloa; Campamento “Cuyutlán” Municipio de Armería, Colima y Campamento “Isla de Pájaros” Municipio de Tecpan de Galeana, Guerrero. | 13 |
| Figura 7 | (a) Localización de los sensores de temperatura en nidos de tortuga (10 y 30 cm); (b) Localización de sensores en la arena a 10 cm y 30 cm; (c) Sensor utilizado en el interior de los nidos (HOBO UTBI-001); (d) sensor (HOBO UA-001-08). | 17 |
| Figura 8 | Diagrama del sistema de incubación, incluyendo el incubador, el microcontrolador, computadora y escáner de temperatura (tomado de López-Correa <i>et al.</i> , 2010). | 18 |

| | | |
|-----------|--|----|
| Figura 9 | Gónadas de una cría de la tortuga, <i>Lepidochelys olivacea</i> (flecha). | 19 |
| Figura 10 | (a) Testículo de la tortuga marina <i>Lepidochelys olivacea</i> . 200 X; (b) Ovario de la tortuga marina <i>Lepidochelys olivacea</i> 200X. | 20 |
| Figura 11 | (a) Temperatura en nidos del campamento de Baja California Sur temporada 2009, las líneas negras muestran el periodo termosensitivo de cada uno de los nidos registrados; (b) Temperatura en la arena en toda la temporada de anidación vs. precipitación pluvial. | 32 |
| Figura 12 | Correlograma de desfase óptimo de temperaturas en nidos de Baja California Sur. | 33 |
| Figura 13 | Comparación de los pronósticos de temperatura con los datos observados mediante una recta de 45 °, con datos crudos. | 34 |
| Figura 14 | Correlograma de desfase óptimo con promedios móviles en nidos de Baja California Sur. | 34 |
| Figura 15 | (a) Estimación de la temperatura del nido a partir de la superficial con promedios móviles; (b) Comparación de los pronósticos de temperatura con los datos observados mediante una recta de 45°. | 35 |
| Figura 16 | (a) Estimación de la temperatura del nido a partir de la ambiental en corral sin nido con promedios móviles; (b) Comparación de los pronósticos de temperatura con los datos observados mediante una recta de 45 °. | 37 |
| Figura 17 | (a) Temperatura en nidos del campamento de Baja California Sur en la temporada 2010, las líneas negras muestran el periodo termosensitivo de cada uno de los nidos registrados; (b) Temperatura en la arena en toda la temporada de anidación vs. precipitación. | 38 |
| Figura 18 | (a) Temperatura en nidos del campamento de Sinaloa, temporada 2009, las líneas negras muestran el periodo termosensitivo de cada uno de los nidos registrados; (b) Temperatura en la arena en toda la temporada de anidación vs. precipitación. | 41 |

| | | |
|-----------|---|----|
| Figura 19 | (a) Temperatura en nidos del campamento de Sinaloa, temporada 2010, las líneas negras muestran el periodo termosensitivo de cada uno de los nidos registrados; (b) Temperatura en la arena en toda la temporada de anidación vs. precipitación. | 42 |
| Figura 20 | Temperatura en nidos del campamento de Colima, temporada 2009, las líneas negras muestran el periodo termosensitivo de cada uno de los nidos registrados. | 44 |
| Figura 21 | Temperatura en nidos del campamento de Colima, temporada 2010, las líneas negras muestran el periodo termosensitivo de cada uno de los nidos registrados. | 45 |
| Figura 22 | Temperatura en nidos del campamento de Guerrero, temporada 2009, las líneas negras muestran el periodo termosensitivo de cada uno de los nidos registrados. | 47 |
| Figura 23 | Temperatura en nidos del campamento de Guerrero, temporada 2010, las líneas negras muestran el periodo termosensitivo de cada uno de los nidos registrados. | 48 |
| Figura 24 | Fluctuación de la temperatura ambiente en el cuarto de incubación en el día 14 y 15 de agosto del 2009. | 49 |
| Figura 25 | Fluctuación de la temperatura ambiente en el cuarto de incubación durante los meses agosto- octubre del 2009. | 50 |
| Figura 26 | Temperatura de las cajas de incubación con huevos. | 52 |
| Figura 27 | Promedios móviles de la temperatura en las cajas de incubación y temperatura promedio en el segundo tercio del período de incubación (datos dentro de líneas azules punteadas). | 54 |
| Figura 28 | Sensibilidad de la curva al modificar la temperatura pivote, manteniendo el factor de forma constante ($S=-0.63209$). | 55 |
| Figura 29 | Sensibilidad de la curva al modificar el factor de forma, manteniendo la temperatura pivote constante ($P=29.60$). | 55 |

| | | |
|-----------|---|----|
| Figura 30 | Curvas de ajuste a los datos de <i>Caretta caretta</i> de Carolina del Norte (NC), Florida (FL) y los datos combinados de las dos regiones (NC + FL). Los datos observados se indican con un asterisco (NC) y círculos (FL). | 57 |
| Figura 31 | Curva ajustada a los datos de proporción sexual a temperatura controlada de Wibbels <i>et al.</i> (1998); Paukstis & Janzen (1990); López-Correa (2010) así como los de esta investigación, las líneas azules muestran la temperatura masculinizante y feminizante, la línea roja identifica la temperatura pivote. | 59 |
| Figura 32 | Simulación de las proporciones sexuales de machos, modificando la temperatura pivote y el factor de forma. | 58 |
| Figura 33 | Desviación estándar a diferentes temperaturas durante la simulación de la proporción sexual. | 60 |
| Figura 34 | Distribución estadística de la proporción de machos para los campamentos tortugueros de Los Cabos, BCS, Playa Ceuta, Sin., Platanitos, Nay. y Tecpan de Galeana, Gro. | 62 |
| Figura 35 | Distribución del número de machos a lo largo de la temporada de anidación en cada campamento tortuguero. Se indica el extremo izquierdo de cada intervalo (i.e. 20: indica el intervalo de 20 a 30). | 63 |
| Figura 36 | Distribución mensual de nidos en los campamentos tortugueros de Los Cabos, BCS., Playa Ceuta, Sin.; Platanitos, Nay. y Tecpan de Galeana, Gro. | 64 |
| Figura 37 | Distribución mensual de la proporción de machos en el tortuguero de Los Cabos, BCS., Playa Ceuta, Sin., Platanitos, Nay. y Tecpan de Galeana, Gro. | 65 |
| Figura 38 | Distribución mensual del número de machos en los diferentes campamentos tortugueros estudiados. | 66 |

| | | |
|-----------|---|----|
| Figura 39 | <p>Áreas de anidación del Pacífico Mexicano, a cargo de la CONANP (Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas). 1. Barrancas, BCS; 2. Frailes, BCS; 3. Cabo Pulmo, BCS; 4. Playa Ceuta, Sinaloa; 5. El Verde, Sinaloa; 6. Platanitos, Nayarit; 7. Nuevo Vallarta, Nayarit; 8. Playón de Mismaloya, Jalisco; 9. Chalacatepec, Jalisco; 10. Chupadero, Colima; 11. Mexiquillo, Michoacan; 12. Tierra Colorada, Guerrero; 13. Cahuitán, Oaxaca; 14. Chacahua, Oaxaca; 15. Barra de la Cruz, Oaxaca.</p> | 69 |
| Figura 40 | <p>Proporción de machos en cada una de las 15 áreas de anidación del Pacífico mexicano en la temporada 2009 (Barrancas, BCS; Frailes, BCS; Cabo Pulmo, BCS; Playa Ceuta, Sinaloa; El Verde, Sinaloa; Platanitos, Nayarit; Nuevo Vallarta, Nayarit; Playón de Mismaloya, Jalisco; Chalacatepec, Jalisco; Chupadero, Colima; Mexiquillo, Michoacan; Tierra Colorada, Guerrero; Cahuitán, Oaxaca; Chacahua, Oaxaca).</p> | 70 |
| Figura 41 | <p>Proporción de machos por mes en playas de anidación del Pacífico mexicano en la temporada 2009, Barrancas, BCS; Frailes, BCS; Cabo Pulmo, BCS; Playa Ceuta, Sinaloa; El Verde, Sinaloa; Platanitos, Nayarit; Nuevo Vallarta, Nayarit; Playón de Mismaloya, Jalisco; Chalacatepec, Jalisco; Chupadero, Colima; Mexiquillo, Michoacan; Tierra Colorada, Guerrero; Cahuitán, Oaxaca; Chacahua, Oaxaca.</p> | 71 |
| Figura 42 | <p>Proporción de machos por zonas de anidación del Pacífico mexicano en la temporada 2010: Barrancas, BCS; Frailes, BCS; Cabo Pulmo, BCS; Playa Ceuta, Sinaloa; El verde, Sinaloa; Platanitos, Nayarit; Nuevo Vallarta, Nayarit; Playón de Mismaloya, Jalisco; Chalacatepec, Jalisco; Chupadero, Colima; Mexiquillo, Michoacan; Tierra Colorada, Guerrero; Cahuitan, Oaxaca; Chacahua, Oaxaca.</p> | 72 |
| Figura 43 | <p>Proporción de machos por mes para el total de las áreas de anidación del Pacífico mexicano en la temporada 2010, Barrancas, BCS; Frailes, BCS; Cabo Pulmo, BCS; Playa Ceuta, Sinaloa; El verde, Sinaloa; Platanitos, Nayarit; Nuevo Vallarta, Nayarit; Playón de Mismaloya, Jalisco; Chalacatepec, Jalisco; Chupadero, Colima; Mexiquillo, Michoacan; Tierra Colorada, Guerrero; Cahuitan, Oaxaca; Chacahua, Oaxaca. . .</p> | 72 |

Glosario

Calor: Energía que fluye entre un sistema y su entorno debido a que hay una diferencia de temperatura entre ellos. Flujo de energía causado por un gradiente de temperatura.

Corrales de incubación: Área de playa protegida para evitar el ingreso de depredadores, donde se resiembran los nidos de tortuga marina.

Correlación cruzada: Es una medida de la similitud entre dos series de tiempo, frecuentemente usada para encontrar características relevantes en una señal desconocida, por medio de la comparación con otra que sí se conoce. Es la correlación lineal simple entre la 1ª serie y los valores de la 2ª con desfases de tiempo positivos y negativos.

Covarianza: Es la medida del grado de dependencia entre las variables X e Y.

Determinación sexual: Evento molecular que se establece en etapas tempranas del desarrollo embrionario, mediante el cual se define el sexo.

Diferenciación del sexo: Secuencia de eventos genéticos y hormonales que lleva a la gónada indiferenciada a desarrollarse como un ovario o como un testículo.

Dimorfismo sexual: Se refiere a las características externas particulares de cada sexo.

Haplotipo: Conjunto de alelos o secuencias de ADN que están muy cercanos, es decir, estrechamente ligados, y que para muchos usos puede considerarse como una única región de ADN.

Inercia térmica: Es la resistencia que ofrece un material a ser calentado o enfriado.

Periodo termosensitivo: Lapso dentro de la incubación en el cual la temperatura determina el sexo. En las tortugas marinas es durante el segundo tercio del periodo de incubación.

Promedio móvil de orden k: Serie sucesiva de promedios de k datos consecutivos, en donde a medida que un dato aparece, un nuevo promedio es generado y el dato más viejo sale de la serie.

Rango transicional de temperaturas (TRT): Rango de temperaturas en el cual las proporciones sexuales cambia de 100% machos a 100% hembras.

Temperatura feminizante: Temperatura de incubación en la que se produce un mayor porcentaje de crías hembras.

Temperatura masculinizante: Temperatura de incubación en la que se producen un mayor porcentaje de crías machos.

Temperatura pivote: Temperatura de incubación a la cual la proporción sexual resultante en la nidada es 1:1.

Temperatura: Medida de la energía cinética de las moléculas de un cuerpo.

RESUMEN

La presente investigación se realizó en cuatro campamentos tortugeros del Pacífico mexicano de los Municipios de: Los Cabos, Baja California Sur; 2) Elota, Sinaloa; 3) Armería, Colima; 4) Tecpan de Galeana, Guerrero, con el fin de conocer la proporción sexual de hembras y machos, dato necesario para comprender el estado de conservación de la tortuga *Lepidochelys olivacea*. Debido a que la temperatura de incubación en los huevos define el sexo de las crías, fueron colocados sensores digitales programables en nidos, así como en corrales de incubación. Con un total de 76 nidos analizados durante las temporadas 2009-2010 (julio-diciembre) y utilizando las bitácoras de los campamentos tortugeros, se amplió la muestra a 5358 nidos. Las aportaciones de la investigación fueron tres: 1) Diseño de un nuevo método para determinar los umbrales de las temperaturas masculinizantes y feminizantes, basándose en la suposición que las respuestas fisiológicas de una especie de tortuga a la temperatura de incubación, no dependen de la zona geográfica, ampliándose los umbrales a 27.1 °C y 32.9 °C; 2) Determinación de la temperatura pivote (29.9 °C) y 3) La proporción sexual M:F para BCS fue de 2:7, en Sinaloa de 2:5 y Nayarit de 2:4. Se concluye que a pesar que la proporción de machos es alta a fin de temporada, debido al bajo porcentaje de nidos en esa época, la proporción final total del número de machos es baja. Con datos de anidación de otros 15 campamentos del Pacífico mexicano y temperaturas ambientales, se obtuvo que Tierra Colorada, Gro., es el campamento con mayor proporción de machos, un 30 % de un total de 1310 nidos y noviembre es el mes con más machos. En el 2010, Chalacatepec, Jalisco, tuvo el mayor número de nidos con 4482 y en éstos hubo un 23 % de machos, con un máximo en septiembre.

Palabras clave: Determinación de sexo, Temperatura de incubación, Proporción de sexos, Temperatura pivote, *Lepidochelys olivacea*.

ABSTRACT

It has been observed that temperature is a key parameter for sex determination in many reptiles. In order to determine whether temperature influenced the actual sex ratio of males and females in the sea turtle *Lepidochelys olivacea*, we collected experimental data of turtle nest temperatures and the sex ratio of *Lepidochelys olivacea* hatchlings in four rookery sites along the Mexican Pacific coast: 1) Los Cabos, Baja California Sur (BCS), 2) Elota, Sinaloa, 3) Armeria, Colima, and 4) Tecpan de Galeana, Guerrero. Programmable digital sensors were placed in 76 nests, and data from these sensors were analyzed during the 2009-2010 turtle nesting season (July-December). By using the acquired data sheet of those nesting areas, the sample was extended to 5358 nests. The main aims of this research were to: 1) Design a new method for determining the temperature thresholds that influence sex ratios in *Lepidochelys olivacea*, based on the assumption that the physiological responses of species of sea turtle in the incubation temperature, do not depend on the geographical area, extending the thresholds to 27.1°C and 32.9 °C, 2) Determine the pivotal temperature, approximately 29.9 °C and 3) The male:female sex ratio was 2:7, 2:5 and 1:2, in BCS, Sinaloa and Nayarit, respectively. We conclude that eventhough the proportion of males is high at the end of each season the final overall proportion of males is low. By using nest data from other 15 rookeries in the Mexican Pacific, and ambiental temperatures, it was found that Tierra Colorada, Guerrero, had the highest proportion of males (30% of a total of 1310 nests), and November had the highest number of males. In 2010, Chalacatepec, Jalisco, had the highest number of nests (4482), with a 23% of males, and a maximum during September.

Key words: Sex determination, incubation temperature, sex ratio, pivotal temperature, *Lepidochelys olivacea*.

1. INTRODUCCIÓN

A partir de los años setentas comenzaron a realizarse estudios enfocados a la determinación sexual en reptiles, desde que se describió por primera vez el efecto de la temperatura sobre la proporción de sexos en crías del lagarto *Agama agama* (Charnier, 1966), surgieron investigaciones sobre la importancia de la temperatura en embriones de cocodrilos (Deeming, 2004), lagartos y serpientes (Harlow, 2004), tuátaras (Nelson *et al.*, 2004) y sobre de tortugas (Ewert *et al.*, 2004; Bull, 1980).

Yntema & Mrosovsky (1979) dieron a conocer que todas las especies de tortugas marinas presentan una determinación sexual dependiente de la temperatura (TSD, por sus siglas en inglés) y Ackerman (1994) comentó que la temperatura no sólo es crítica para la determinación del sexo, sino que también afecta el desarrollo embrionario, como lo han demostrado estudios en: *Caretta caretta* (Yntema & Mrosovsky, 1980), *Chelonia mydas* (Miller & Limpus, 1981), *Dermochelys coriacea* (Rimblot *et al.*, 1985), *Lepidochelys olivacea* (Morreale *et al.*, 1982), *Lepidochelys kempii* (Shaver *et al.*, 1988), *Eretmochelys imbricata* (Dalrymple *et al.*, 1985) y *Natator depressus* (Hewavisenthi & Parmenter, 2002).

En reptiles se han observado tres diferentes patrones de determinación sexual por temperatura: a) En lagartos y cocodrilos se generan hembras a bajas temperaturas de incubación y machos a altas temperaturas (Viets *et al.*, 1994); b) En algunas tortugas se ha observado la producción de machos a bajas temperaturas de incubación y hembras a altas temperaturas (Ewert *et al.*, 1994); c) Se producen hembras a bajas y altas temperaturas, mientras que los machos a temperaturas intermedias, encontrando esto en algunas especies de tortugas, cocodrilos y serpientes (Lang & Andrews, 1994) (Fig. 1) .

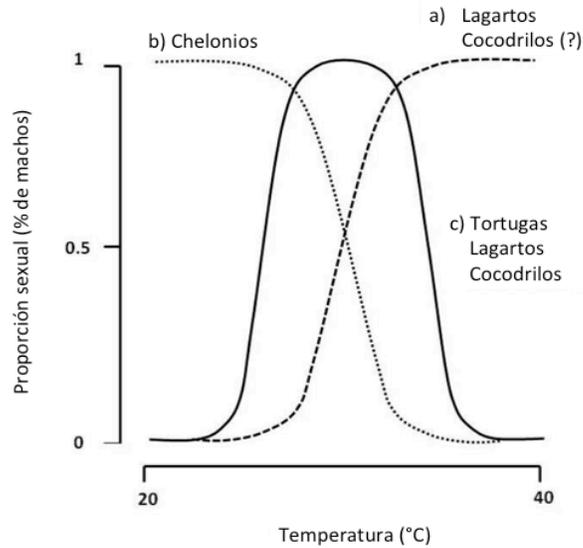


Figura 1. Proporción sexual en crías en función de la temperatura de incubación en reptiles (tomado de Ciofi & Swingland, 1997).

Algunas especies de reptiles exhiben una determinación sexual genotípica (GSD), donde el sexo fenotípico es independiente de la temperatura de incubación. Las tortugas y lagartos tienen una gran variación de mecanismos de determinación sexual: en tortugas de las familias Chelidae, Trionychidae y Staurotypidae muestran sólo GSD, mientras en la familia Emididae, Batagurinae y Emidinae cuentan con ambos mecanismos GSD y TSD (Janzen & Paukstis, 1991). Para algunas especies de reptiles el mecanismo de determinación sexual es incierto (Fig. 2).

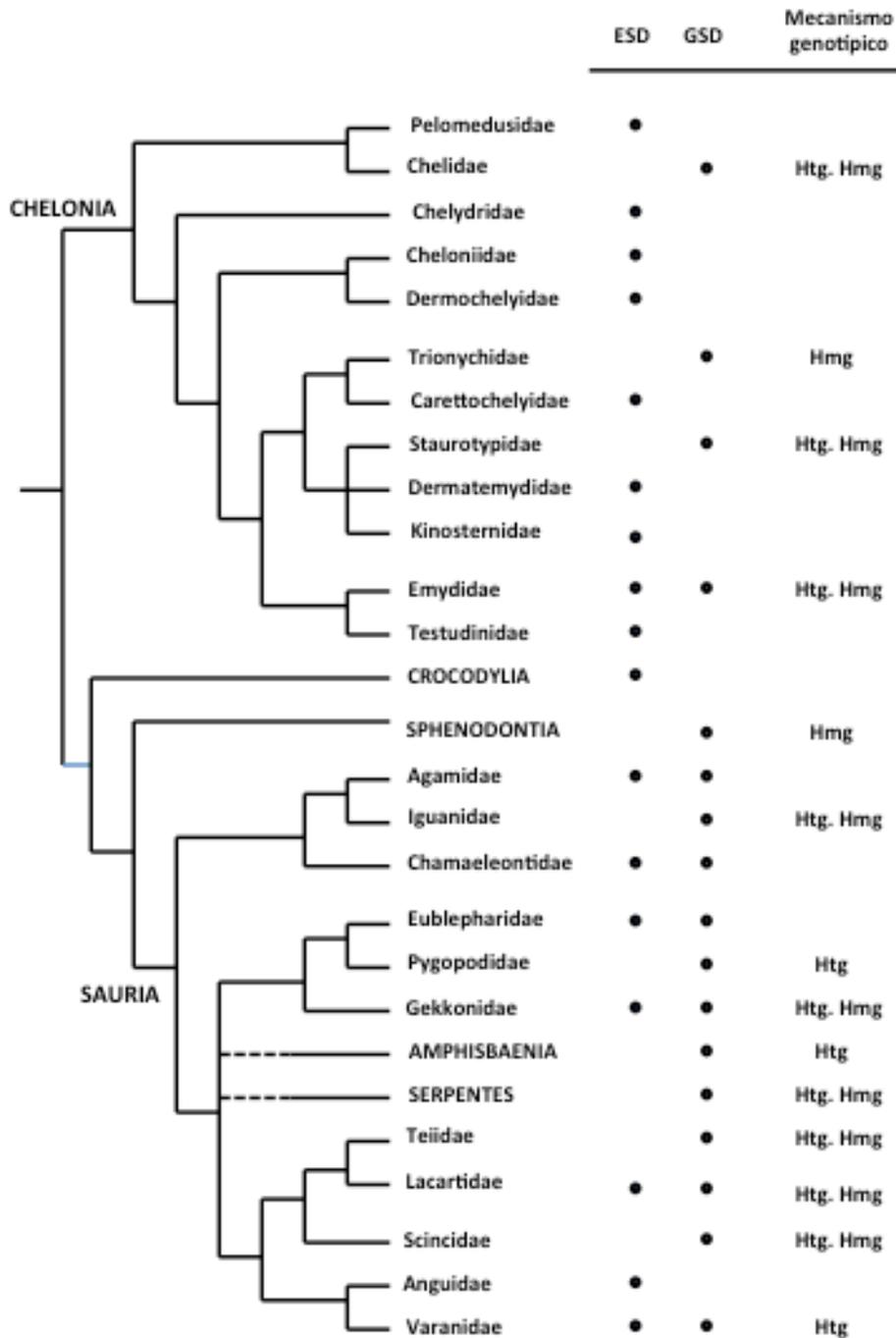


Figura 2. Árbol filogenético de los reptiles mostrando los taxa estudiados sobre los mecanismos de determinación sexual: ESD, determinación sexual ambiental; GSD, determinación sexual genotípica. Los mecanismos genotípicos se refieren a la presencia de heterogaméticos (Htg) o homogaméticos (Hmg) en los cromosomas sexuales (tomado de Ciofi & Swingland, 1997).

En la determinación del sexo por efecto de la temperatura, se han propuesto dos mecanismos por los que la temperatura en un estadio embrionario específico o periodo termosensible actúa sobre la diferenciación sexual gonadal: una indirecta y otra directa. Ambos modelos se basan en la hipótesis hormonal de la diferenciación sexual gonadal, en donde se indica que durante la diferenciación testicular se producen principalmente andrógenos, mientras que en la diferenciación de los ovarios prevalece la producción de estrógenos (Salame-Méndez & Villalpando-Fierro, 1998).

En las especies de tortugas marinas no se ha encontrado una característica morfológica externa conspicua que pueda ser empleada para determinar el sexo de las crías. El método más preciso para conocer el sexo de las crías es la observación directa de las estructuras gonadales (Mrosovsky & Godfrey, 1995; Godfrey, 1997), sin embargo tal metodología requiere el sacrificio de las crías, por tal motivo se han propuesto algunos métodos no invasivos como el radioinmunoanálisis de testosterona (RIA), para el cual no se requiere el sacrificio del ejemplar. Este método se ha utilizado en las tortugas *Podocnemis expansa* (Lance *et al.*, 1992) y *Caretta caretta* (Gross *et al.*, 1995).

En la tortuga *L. olivacea* los embriones de los huevos incubados a temperaturas entre 26 y 28 °C (temperatura masculinizante) producirán más andrógenos, razón por la cual desarrollan testículos, y a temperaturas ligeramente mayores, entre 29 y 32 °C (temperatura feminizante) se desarrollan ovarios, al tener una mayor producción de estrógenos (Salame-Méndez *et al.*, 1998; Willingham *et al.*, 2000).

1.1 TORTUGA GOLFINA (*Lepidochelys olivacea*)

Clase: Reptilia

Orden: Testudines

Familia: Cheloniidae

Especie: *Lepidochelys olivacea* (Eschscholtz, 1829)

Nombre común: Golfina u olive ridley (Fig. 3).



Figura 3. (a) Hembra anidante en playas de Guerrero; (b) Cría nacida en playas de San José del Cabo, México.

El género *Lepidochelys* está representado por dos especies: *L. olivacea* considerada la tortuga marina más abundante en el mundo, con una distribución circuntropical que incluye el norte de Australia y *L. kempii*, que se restringe al Golfo de México y norte del Atlántico (Cogger & Lindner, 1969; Márquez, 1996).

La anidación de las golfinas (Fig. 4) comúnmente se efectúa durante el verano, llegan a playas abiertas, continentales, aisladas, con pendiente cerca de 5°, dentro de zonas tropicales y subtropicales que se encuentran aproximadamente entre los 40° N y 30° S de latitud, siempre con temperaturas del agua superficial del mar por encima de los 24 °C (Márquez, 1996). En la costa este de India (Orissa), costa del Pacífico mexicano y Costa Rica se encuentra una gran población anidadora

con cerca de 100,000 hembras anidantes anualmente (Márquez, 1990; Reichart, 1993).

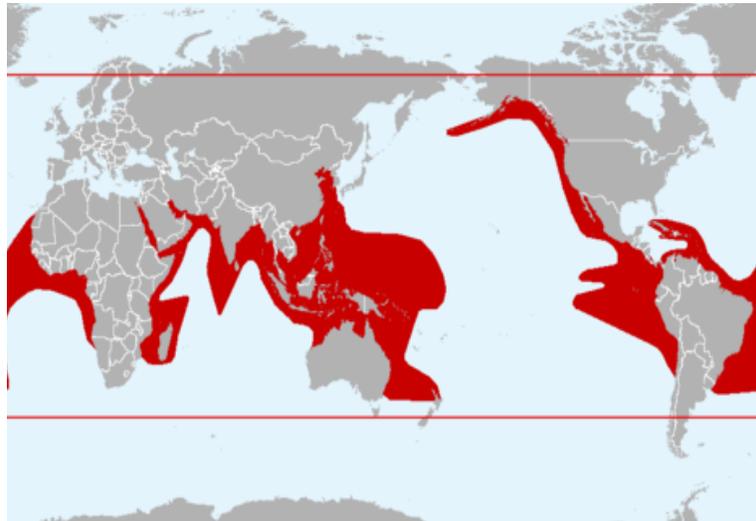


Figura 4. Distribución mundial de la tortuga marina *Lepidochelys olivacea* (UICN, 2012).

Para su identificación se conoce que su caparazón tiene seis o más pares de escudos costales y la presencia de poros inframarginales (Cogger, 1992; Limpus, 1992) (Fig. 5).



Figura 5. Características para la identificación de la tortuga *Lepidochelys olivacea*: a) ejemplar de la tortuga *L. olivacea* donde la letra c (izquierda), representa los seis o más pares de escudos costales; b) Cada uno de los poros inframarginales (derecha).

Los huevos de la tortuga *L. olivacea* miden en promedio 3.7 cm de diámetro, y una hembra anidante en promedio pone 100 huevos por desove (Limpus *et al.*, 1983; Márquez, 1996; Casas-Andreu, 1978). La edad de la primera madurez en la tortuga golfina se estima que puede ser a partir de los 20 años (Pandav & Kar,

2000). Esta especie habita la zona nerítica y es carnívora, se alimenta principalmente de gasterópodos, moluscos y pequeños cangrejos (Conway, 1994).

En cuanto a la variabilidad genética, Shanker *et al.* (2004b) examinaron la relación entre las tortugas golfinas de la India con la población mundial, para entender la filogenia y el estado taxonómico de esta especie. De un total de 81 muestras se encontraron ocho haplotipos, sólo tres se han encontrado en Sri Lanka, Malasia, Australia y Costa Rica (Bowen *et al.*, 1998), mientras que los cinco restantes se registraron por primera vez. Gracias a este estudio, se encontró una relación filogenética de *Lepidochelys olivacea* con *Caretta caretta*, *Chelonia mydas*, *Eretmochelys imbricata*, *Dermochelys coriacea*, y más estrechamente con *Lepidochelys kempfi*.

La Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Flora y Fauna (CITES) enlista a la tortuga *L. olivacea* en su Apéndice I, referida a su prohibición en el comercio internacional, y la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN) considera a esta especie en peligro de extinción en la categoría Vulnerable A2bd (IUCN, 2012).

2. ANTECEDENTES

En la tortuga *L. olivacea* los huevos incubados a temperaturas de 28 °C producirán el 100 % de machos y los incubados a 32 °C producirán el 100 % de hembras (McCoy *et al.*, 1983). Para que la eclosión sea exitosa es necesario que la temperatura en el nido se encuentre entre los 25 y 33 °C, y que existan una buena ventilación, baja salinidad, alta humedad y un substrato que no esté sujeto a inundaciones (Miller, 1985).

Entre los métodos no invasivos se han realizado radioinmunoanálisis del suero pre y posteclosión de varios metabolitos esteroides incluyendo estradiol y testosterona, sin embargo no es posible encontrar diferencias significativas en ninguno de los metabolitos que pudieran permitir una distinción del sexo en esta especie (Merchant-Larios, 2000). Es posible que en *C. caretta* la actividad endócrina de las gónadas sea más avanzada que crías de *L. olivacea*, ya que los conductos de Müller han desaparecido casi totalmente (Yntema & Mrosovsky, 1980).

Otro método no invasivo para conocer el sexo de las crías consiste en conocer la temperatura de incubación en el nido, y de acuerdo con McCoy (1983) cuando la temperatura del nido está por debajo de los 28 °C o por arriba de los 32 °C se obtendrá una proporción de 100% de machos o de hembras, respectivamente. A temperaturas intermedias no se sabe la proporción sexual de las crías, sólo es posible conocerla incubando grupos de huevos a temperaturas constantes en laboratorio (McCoy *et al.*, 1983; Mrosovsky *et al.*, 1984; Godfrey *et al.*, 1996).

La duración del periodo de incubación también permite determinar el sexo, ya que en periodos alrededor de 60 días se producirán machos y periodos de 45 días o menos se producirán hembras (Marcovaldi *et al.*, 1997; Godley *et al.*, 2001).

La morfometría ha sido también utilizada para diferenciar o definir el sexo de las tortugas recién eclosionadas. Michelle-Morfin (1995) incubó grupos de huevos a

temperaturas productoras de hembras (32 °C) y productoras de machos (28 °C). Se consideraron 51 variables, 21 merísticas y 30 morfométricas y por medio de métodos multivariados, obtuvo una función discriminante con 30 variables continuas, a través de la cual se obtiene una determinación perfecta de los sexos. Con el fin de tener un método sencillo y económico de uso común dentro de los programas de conservación de tortugas marinas, redujo el número de variables a nueve, con las cuales es posible inferir el sexo con una confiabilidad del 95 %. Esta metodología no implica el sacrificio del organismo y permite discriminar el sexo por medio de la morfometría.

La determinación sexual se presenta alrededor del segundo tercio del tiempo total de incubación llamado periodo termosensitivo (PTS) (Mrosovsky & Pieau, 1991). La temperatura de incubación en la cual la proporción sexual resultante de la nidada es 1:1 es llamada temperatura pivote. Experimentalmente se ha calculado la temperatura pivote al incubar grupos de huevos a varias temperaturas constantes y determinando la proporción de crías hembras y machos: *Caretta caretta* (28.74 °C), *Chelonia mydas* (28.26 °C), *Lepidochelys olivacea* (29.13 °C) y *Eretmochelys imbricata* (29.32 °C) (Ackerman, 1997).

Mrosovsky *et al.* (2009) determinaron la temperatura pivote de 29.6 °C al incubar dos nidos de tortuga *E. imbricata* en Isla Mona, Puerto Rico, a temperaturas controladas. En Antigua se encontró una temperatura pivote de 29.3 °C con cuatro nidos (Mrosovsky *et al.*, 1992) y en Brasil de 29.7 °C con dos nidos (Godfrey *et al.*, 1999).

Valadez-González *et al.* (2000) registraron un total de 230 hembras y 90 machos de *L. olivacea*, en la playa de anidación "La Gloria", Jalisco, que representa una relación de sexos de 7:3 sesgada a hembras. El muestreo se realizó de agosto a diciembre de 1993, con un total de 32 nidos y 320 crías. Observaron que la proporción de sexos de los organismos analizados cambió a lo largo de la temporada de anidación: los nidos incubados a partir de agosto hasta principios de

octubre fueron 100 % hembras, con temperaturas mínimas diarias de la arena superiores a 32 °C, mientras que al final de octubre, la relación fue de 1:1, cuando la temperatura de la arena disminuyó gradualmente hasta 31 °C; en noviembre y diciembre se encontró un 100 % de machos, con una temperatura máxima diaria de la arena inferior a 30 °C.

Fuentes *et al.* (2010) trabajaron con la tortuga *Chelonia mydas* en el norte de Australia, utilizando datos de la temperatura de la arena y datos históricos de la temperatura superficial del mar, así como de la temperatura del aire, para modelar el pasado y predecir el futuro de la temperatura en la arena. Al reconstruir la temperatura de la arena a partir de 1990 hasta la fecha, sugieren que no ha cambiado significativamente durante los últimos 18 años. Las proyecciones de tales modelos sugieren que en el año 2070, bajo un escenario extremo del cambio climático, en algunas zonas se producirá una feminización casi total de crías en esta población, pero también se encontró que en algunas zonas de anidación se seguirán produciendo crías macho, aún en el escenario más extremo de cambio climático.

En algunos trabajos se han estudiado las condiciones de la temperatura de la arena dentro de los nidos y muestran que algunos factores influyen la temperatura de la arena sobre la anidación en playas: variaciones latitudinales, cambios estacionales de temperatura, sombra por vegetación, color de arena, profundidad de los huevos y precipitación (Godfrey *et al.*, 1996). En México se encuentra lo anteriormente mencionado, además de la influencia de ríos o arroyos cercanos a los corrales de incubación, los cuales pueden provocar el enfriamiento de los nidos.

Tomando en cuenta los antecedentes descritos y el conocimiento empírico, es posible que la proporción sexual de las crías esté equilibrada, ya que el rango de temperatura de la arena es muy amplio, dependiendo de las diferentes latitudes, épocas del año, precipitación pluvial, inundación de los nidos, niveles de insolación y sombreado de las playas.

3. JUSTIFICACIÓN

En organismos con reproducción sexual, la proporción de sexos es un factor importante para el crecimiento de la población. En la mayoría de las especies dioicas, los machos y hembras suelen producirse en un número aproximadamente igual, dependiendo del mecanismo de determinación de sexo, para lograr relaciones sexuales equilibradas, sin embargo en algunas circunstancias el principio de Fisher (relaciones sexuales extraordinarias, es decir diferentes de una relación 1:1 entre machos y hembras), no se podrá cumplir (Charnov, 1975).

La información sobre las proporciones de sexo natural en especies con determinación sexual dependiente de la temperatura es necesaria para entender su demografía y como punto de referencia en el problema del calentamiento global. La mayoría de los trabajos sobre la proporción de sexos de las tortugas marinas ha sido con las crías, ya que la evaluación de las proporciones sexuales en las tortugas marinas adultas es difícil porque los machos casi nunca llegan a la costa, y es complicado realizar capturas en el agua, además en el caso de los juveniles la captura de un número suficiente de tortugas en el agua es laborioso y costoso (Hawkes *et al.*, 2009).

A pesar de que un gran número de crías pueden estar disponibles, el estado inmaduro de los órganos reproductores y de los caracteres sexuales secundarios ha hecho que el estudio de las gónadas sea el método más fiable para determinar el sexo en las crías, aunque esto implica el sacrificio de las mismas. Esta situación ha llevado a la utilización de otros métodos. Una de ellas es la base de la proporción de sexos en la histología de las crías que se encuentran muertas en los nidos, pero puede haber un sesgo en el muestreo. Otra estrategia es confiar en la temperatura de los nidos para diagnosticar el sexo, en lugar de la histología gonadal.

1. HIPÓTESIS

La diversidad de ambientes térmicos en los corrales de protección a lo largo del Pacífico mexicano asegura la generación de ambos sexos en la población de tortuga *Lepidochelys olivacea*.

2. OBJETIVOS

5.1. OBJETIVO GENERAL

Estimar la proporción sexual en corrales de incubación de la tortuga *Lepidochelys olivacea* en playas de anidación del Pacífico mexicano en las temporadas 2009 y 2010.

5.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Pronosticar la temperatura de nidos a partir de registros de temperatura superficial de la arena y ambiental.
- Determinar la incertidumbre del método para estimar la proporción sexual.
- Estimar la proporción sexual en crías de tortuga golfina.

3. ÁREA DE ESTUDIO

Para tener una visión a mayor escala de la proporción sexual de crías se realizó el estudio en cuatro campamentos tortugueros del Pacífico mexicano (Fig. 6), que se describen sucintamente a continuación:

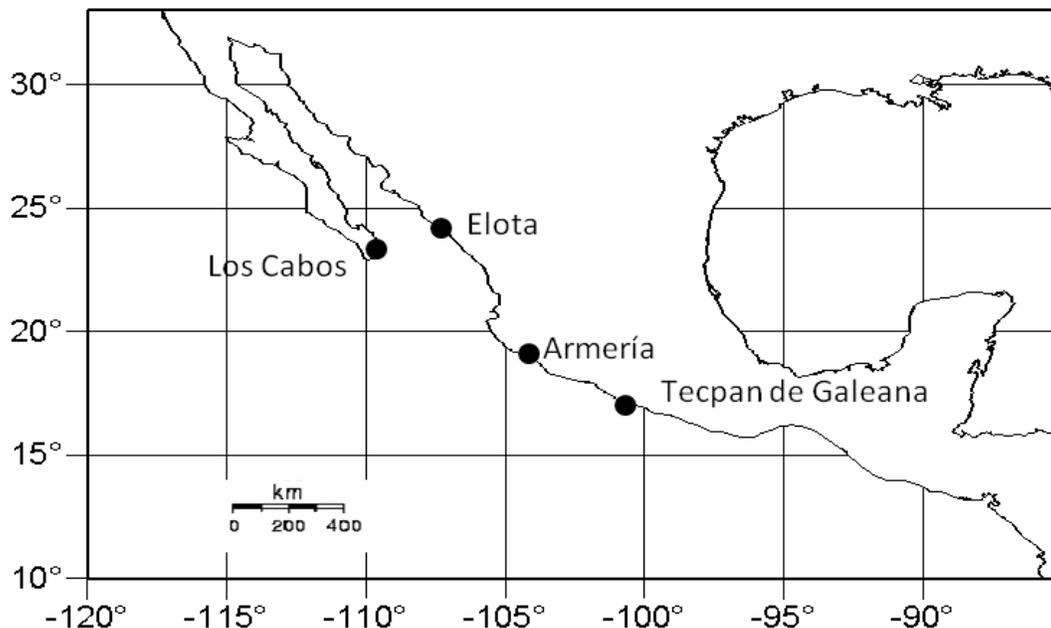


Figura 6. Área de estudio: Campamento “Don Manuel Orantes”, Municipio de Los Cabos, BCS; Campamento “Playa Ceuta” Municipio de Elota, Sinaloa; Campamento “Cuyutlán” Municipio de Armería, Colima y Campamento “Isla de Pájaros” Municipio de Tecpan de Galeana, Guerrero.

El campamento tortuguero “Don Manuel Orantes” se encuentra situado al sur de la Península de Baja California, incluido en el programa de protección de tortugas marinas, comprende alrededor de 60 km de playa a cargo del Municipio de Los Cabos. Se ubica entre los 23 ° 1 ' y 23 ° 26 ' N y los 109 ° 42 ' y 109 ° 25 ' W. Los climas característicos del municipio son: cálido-seco hasta muy seco. El mes más frío del año por lo regular es enero y la temperatura media anual es de 24 °C. El rango de precipitación total anual es de 0 a 200 mm, con un régimen de lluvias en verano, registrándose en el mes de septiembre la mayor precipitación pluvial (Meza-Sánchez & Leyva-Corona, 2009). El 75.8 % de la superficie está caracterizada por zonas de matorral, los suelos pertenecen a las clases desértico

y semidesértico, siendo arenosos profundos, arcillosos, pedregosos y rocosos (INEGI, 2003).

El campamento "Isla de Pájaros" en el Municipio de Tecpan de Galeana, Guerrero, abarca 10 km de playa entre los paralelos 17 ° 07 ' y 17 ° 42' N y los meridianos 100 ° 28 ' y 101 ° 06 ' W. Los recursos hidrológicos se basan en los siguientes ríos: Tecpan, el cual tiene una cuenca de captación de 1,363 km² y el río Nuxco con 260 km². También existen varias lagunas como la Nuxco y El Plan que son perennes, intermitentes de poca importancia. Existen arroyos como Santa Lucía, Chiquito, Vergel y Tigre. El relieve en la parte alta presenta el tipo de clima semicálido-subhúmedo, mientras que en la parte baja es cálido-subhúmedo; la temperatura media anual es 26.6 °C. Los meses más calurosos tanto en la parte baja como en la alta son abril y mayo, registrando temperaturas máximas de 40 °C. El régimen de lluvias comprende los meses de junio a octubre en la parte baja, con precipitación pluvial promedio de 950 mm (H. Ayuntamiento de Tecpan de Galeana, 2009).

El campamento "Playa Ceuta" Municipio de Sinaloa, cubre 30 kilómetros de playa entre la boca de Cospita al norte (24 ° 10' N, 107 ° 20' W) y la desembocadura del río Elota al sur (23 ° 52' N, 106° 57' W) con clima seco semicálido extremo con lluvias en verano. Las corrientes hidrológicas del municipio son: el Río Elota, único Río dentro del municipio que desemboca en el Golfo de California y el arroyo del norte, que desemboca en la Bahía de Ceuta. El tipo de vegetación que presenta esta zona es vegetación halófila, pastizal donde sobresale la especie *Uniola pittieri* "pasto", vegetación de manglar con *Conocarpus erectus* "mangle botoncillo", dunas costeras donde se encuentran especies como *Sesuvium portulacastrum* "verdolaga de la costa", *Ipomoea prescaprae* "riñonina" y la vegetación de bosque espinoso (Rzedowski, 2006; Beltrán *et al.*, 1994). Playa Ceuta fue decretada en 1986 como zona de reserva y sitio de refugio para la protección, conservación, repoblación, desarrollo y control de las diversas especies de tortuga marina y se

decretó como área natural protegida con la categoría de Santuario, mediante el acuerdo publicado el 16 de julio de 2002 en el Diario Oficial de la Federación.

El campamento “El tortugario Cuyutlán” Municipio de Armería, Colima, cubre alrededor de 30 kilómetros de playa, se localiza entre los 18° 59' y 18° 51' N de latitud, y los 104 ° 15' y 103° 58' W de longitud. De importancia hidrológica se encuentra el Rio Armería, principal fuente de abastecimiento acuífero, el arroyo La Atravezada, y la Laguna de Cuyutlán. El clima es considerado como cálido subhúmedo, con lluvias en verano. Presenta una temperatura media anual de 26.3 °C. El municipio tiene una precipitación pluvial media anual de 700 milímetros.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 MEDICIÓN DE LA TEMPERATURA DE LOS NIDOS

Se realizaron recorridos nocturnos en las playas de cada campamento tortuguero, con el fin de recolectar los huevos de *L. olivacea* los cuales se trasladaron a un corral protegido. El registro de la temperatura del interior de los nidos se realizó mediante termómetros digitales programables “HOBO UTBI - 001” y “HOBO UA-001-08” con resolución de 0.02 °C y 0.1 °C a una profundidad de 10 y 30 cm (centro del nido). Los registros se obtuvieron cada 30 minutos durante el periodo de incubación en los corrales protegidos. También se registró la temperatura de la arena a 10 y 30 cm (en una esquina del corral de incubación) durante toda la temporada de anidación en cada campamento tortuguero de julio a diciembre de las temporadas 2009 y 2010 (Fig. 7).

Se tomaron muestras de arena de 100 a 200 g aproximadamente en cada uno de los corrales de incubación de las cuatro áreas de estudio, y se guardaron herméticamente en bolsas de plástico. Las muestras se transportaron para su análisis granulométrico y composición mineralógica en el laboratorio. Para el procesamiento de todas las muestras se llevo a cabo un análisis siguiendo los métodos convencionales descritos por Folk (1954).

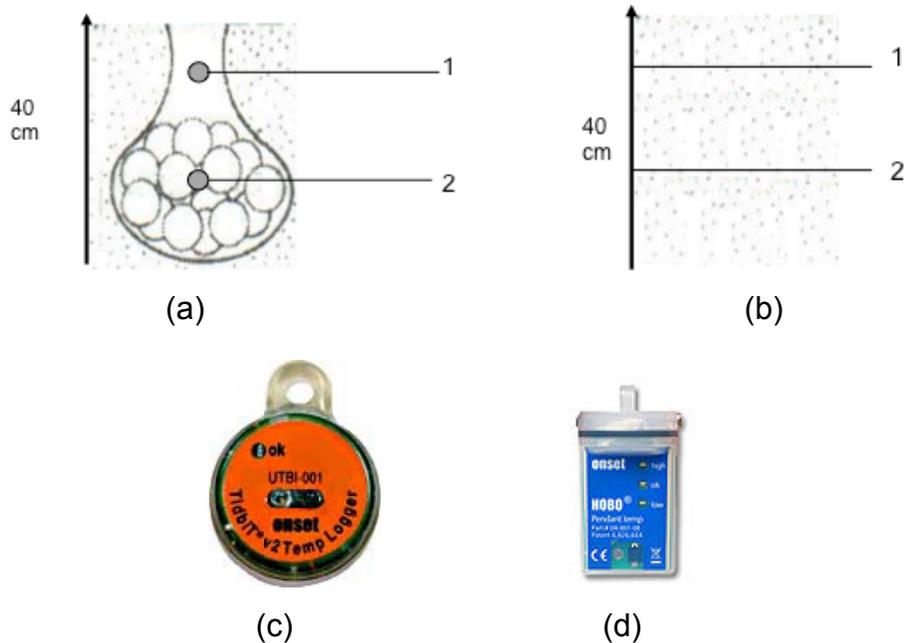


Figura 7. (a) Localización de los sensores de temperatura en nidos de tortuga (10 y 30 cm); (b) Localización de sensores en la arena a 10 cm y 30 cm; (c) Sensor utilizado en el interior de los nidos (HOBOT UTBI-001); (d) sensor (HOBOT UA-001-08).

7.2 EXPERIMENTO DE INCUBACIÓN DE LOS HUEVOS

Antes de trasladar los huevos al laboratorio fue necesario hacer pruebas para el control de la temperatura de los nidos, para programar una incubadora electrónica, con un termostato con resolución de $0.06\text{ }^{\circ}\text{C}$, que mantuvo la temperatura de la arena constante, a la profundidad donde se colocaron los huevos (López-Correa *et al.*, 2010).

En las pruebas para el control de temperatura primero se probaron y calibraron los elementos que conforman la incubadora electrónica (circuito, termopares, escáner, termostato). Los termopares utilizados fueron tipo J y sus lecturas fueron comparadas con un termómetro de mercurio ($0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$) en agua a $0.7\text{ }^{\circ}\text{C}$ (inicialmente) y a $1.1\text{ }^{\circ}\text{C}$, ocho minutos después. En todos los casos hubo coincidencias entre las lecturas con los termopares y las del termómetro de mercurio.

Se recolectaron 125 huevos de un nido del campamento tortuguero del municipio de Los Cabos, BCS durante la temporada de anidación 2009. El nido se trasladó al área acondicionada para el experimento y se dividió en cinco cajas de poliestireno, con 25 huevos cada una, incubados a 28, 29, 30, 31 y 32 °C, respectivamente, con arena del sitio de desove. Se programó un escáner (registrador de temperaturas con termopares) para tomar lecturas cada minuto y el almacenamiento de los datos diarios (Fig. 8).

La humedad medida como porcentaje en peso (diferencia en peso entre la muestra húmeda y seca respecto al peso seco; McGehee, 1979), se mantuvo al 7 %. El control de humedad se verificó semanalmente tomando muestras de alrededor de 100 g de arena en cada caja de incubación, que se pesaron en una balanza digital, se secaron en un horno durante 24 horas a 100 °C y después se volvieron a pesar para determinar la cantidad de agua evaporada (López-Correa, 2010).

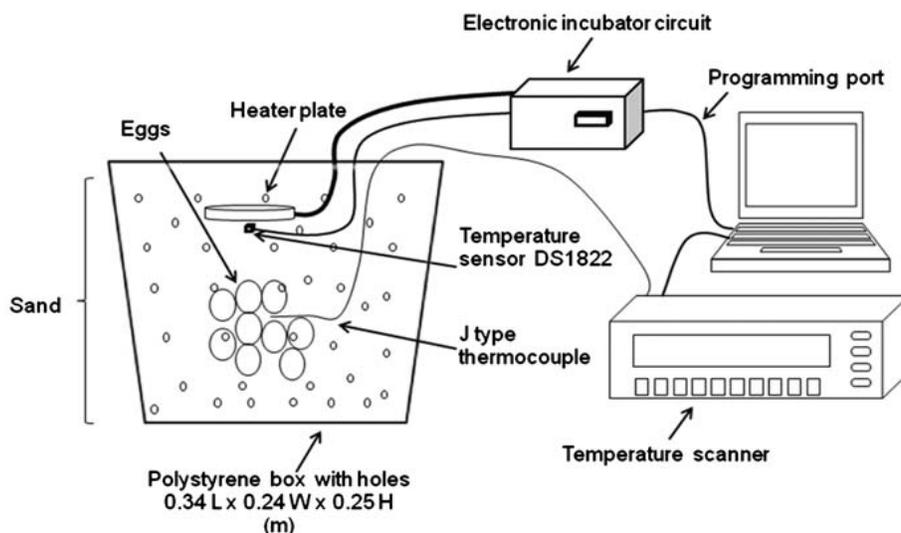


Figura 8. Diagrama del sistema de incubación, incluyendo el incubador, el microcontrolador, computadora y escáner de temperatura (tomado de López-Correa *et al.*, 2010).

7.3 ANÁLISIS HISTOLÓGICO

El día de la eclosión las crías se sacrificaron con cloroformo, se extrajeron las gónadas y se fijaron con Davidson. Las gónadas se lavaron en agua corriente durante 24 horas, se deshidrataron con alcohol, se incluyeron en parafina y se hicieron cortes transversales de 7 µm de espesor. Posteriormente se aplicó la técnica de tinción Hematoxilina de Harris-Eosina acuosa al 1 % (Apéndice 1, Tablas A1.1-A1.3) y se montaron en resina sintética (Humason, 1979). Finalmente se observaron los cortes usando un microscopio compuesto para distinguir las características de hembras y machos de acuerdo al criterio de Merchant-Larios (2000) (Fig. 9).



Figura 9. Gónadas de una cría de la tortuga, *Lepidochelys olivacea* (flecha).

El epitelio superficial de los machos es plano, monoestratificado y frecuentemente contiene varias células germinales. Los cordones medulares, rodeados por una membrana basal, se forman por un tipo de células epiteliales con abundantes gotas de lípidos, las células germinales son escasas y no hay lumen en los cordones medulares para que pudieran ser considerados túbulos seminíferos; entre estas formaciones y bordeando el epitelio superficial está una membrana basal y abundante tejido estromático, formado en gran parte por matriz extracelular, células fibroblásticas y vasos sanguíneos.

Los ovarios se distinguen por un engrosamiento conspicuo del epitelio superficial (Fig. 10). Éste aparece como un epitelio columnar, con una o más células de espesor. Contiene una membrana basal gruesa que separa el epitelio superficial de la región medular de la gónada. Los cordones medulares son vestigiales y aparecen como pequeños grupos de células epiteliales rodeadas de una membrana basal (Merchant-Larios, 2000).

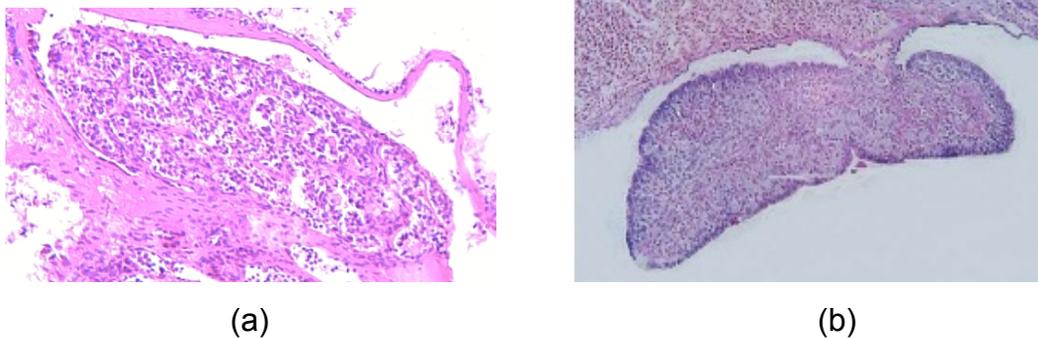


Figura 10. (a) Testículo de la tortuga marina *Lepidochelys olivacea*. 200 X; (b) Ovario de la tortuga marina *Lepidochelys olivacea* 200X.

7.4 PRONÓSTICO DE LA TEMPERATURA DEL NIDO

A los datos de temperatura de la arena $T_a(t)$ a 10 cm de profundidad y del nido $T_n(t)$ se les aplicaron correlaciones cruzadas (Ec. 1) para diferentes desfases de tiempo δ entre las dos series, sustituyéndolas por sus promedios móviles, para eliminar la estacionalidad diaria.

$$r(\delta) = \text{corr}(T_a(t), T_n(t + \delta)), \delta \geq 0 \quad (1)$$

Dado que la temperatura se registró cada 0.5 h, en ambos casos se utilizó el promedio móvil de orden 48 (Ec. 2), de modo que la serie resultante refleje la tendencia de corto plazo de las temperaturas:

$$\text{pm}(t) = \frac{X_{t-23} + X_{t-22} + \dots + X_t + \dots + X_{t+24}}{48} \quad (2)$$

donde X_t representa a cualquiera de las series de temperatura $T_a(t)$ ó $T_n(t)$. Se calcularon los desfases óptimos con los que se obtuvo la correlación más alta y se verificó la capacidad predictiva de la recta de regresión correspondiente en cada lugar, mediante la comparación gráfica se probó si la pendiente es significativamente diferente de 1, de los datos observados con los calculados en una recta de 45 ° (Zar, 2010; Ec. 17.21).

Para el pronóstico de la temperatura se usó la recta de regresión correspondiente (Ec. 3) con el desfase óptimo δ previamente encontrado:

$$y(t) = a + b \cdot x(t - \delta) \quad (3)$$

donde:

y = Promedio móvil pronosticado de la temperatura del nido

a = Término independiente (ordenada al origen)

b = Pendiente

x = Promedio móvil de la temperatura en superficie ó a 10 cm de profundidad

δ = Desfase óptimo entre los promedios móviles de ambas series

Cabe mencionar que el método estadístico ya fue probado en el área de San José del Cabo durante la temporada de anidación 2004 y 2007 en seis diferentes nidos, encontrándose buenos pronósticos de la temperatura (Sandoval, 2008).

7.5 ESTIMACIÓN DE LA PROPORCIÓN SEXUAL

Mediante el siguiente modelo fue posible conocer la proporción sexual de la nidada dentro del periodo termosensitivo a partir de la temperatura (Ec. 4) conforme al modelo de Girondot (1999):

$$P_m = \frac{1}{1 + \exp\left[\frac{P_{iv} - T_n}{S}\right]} \quad (4)$$

donde:

P_m = Proporción de machos en la nidada.

T_n = Temperatura promedio de incubación durante el segundo tercio del periodo de incubación.

S = Factor de forma que define que tan rápido cambia la proporción de sexos con la temperatura.

P_{iv} = Temperatura pivote.

Los parámetros S y P_{iv} se estimaron a partir del ajuste del modelo por el método de regresión no lineal de Marquardt (1963) a los datos experimentales de temperatura del nido durante el segundo tercio del periodo de incubación y proporción observada de machos. Los valores observados de temperatura y proporción de sexos se calcularon a través de experimentos de incubación a temperatura controlada y del anterior análisis histológico de las gónadas de las tortugas recién nacidas para determinar su sexo, tanto propios como de la bibliografía.

La función *nlinfit* de MATLAB se utilizó para estimar estos parámetros por medio de un método de regresión no lineal mediante el ajuste de datos experimentales de incubación de proporción de machos y temperatura. Todos los datos disponibles de la bibliografía y datos propios fueron utilizados para hacer una curva representativa única de esta especie, bajo el supuesto de que las

respuestas de los organismos a la temperatura de incubación para la determinación del sexo no dependen de los nidos, ni de la zona geográfica.

Debido que la curva del modelo de Girondot es asintótica, tanto a la izquierda como a la derecha, el modelo nunca predice 100 % de machos ni 100 % de hembras. Dado que los nidos tienen alrededor de 100 huevos cada uno, se consideró la temperatura correspondiente al valor de 0.99 como el umbral de la temperatura masculinizante T_m , y la temperatura correspondiente a 0.01, el umbral de la temperatura feminizante T_f . Entre esos dos umbrales de temperatura es posible obtener una mezcla de sexos mediante este modelo.

Resolviendo la Ec. 4 para T , la ecuación general para calcular la temperatura de la proporción de machos (Ec. 5) es:

$$T = P_{iv} - S \ln \left[\frac{1 - P_m}{P_m} \right] \quad (5)$$

Entonces, la temperatura umbral de machos (límite superior de producción de machos, Ec. 6) es:

$$T_m = P_{iv} - S \ln \left[\frac{1 - 0.99}{0.99} \right] \quad (6)$$

Y la temperatura correspondiente al umbral de las hembras (límite inferior de la producción hembras, Ec. 7) es la siguiente:

$$T_f = P_{iv} - S \ln \left[\frac{1 - 0.01}{0.01} \right] \quad (7)$$

Con el fin de demostrar que una única curva de Girondot (1999) podría describir la relación entre la temperatura de anidación y la proporción de machos producida por una especie específica de tortuga marina, el análisis de suma de cuadrados residual RSS propuesto por Ratkowsky (Chen *et al.*, 1992) fue usado para comparar los ajustes no lineales de la curva de Girondot a la temperatura y los

datos de proporción sexual de *C. caretta* entre Carolina del Norte y Florida (Mrosovsky, 1988), que fueron los únicos disponibles en la bibliografía con un amplio margen de temperaturas de incubación experimentales.

La comparación se basa en un estadístico F para un modelo no lineal de dos parámetros, calculado a partir de RSS correspondiente a los ajustes del modelo a diferentes conjuntos de datos K (K=2 en este caso): uno para cada juego de datos y uno más para todos los datos combinados (N), que producen sumando RSSs y combinando RSSp respectivamente (Ec. 8):

$$F = \frac{\frac{RSS_p - RSS_s}{2(K-1)}}{\frac{RSS_s}{N-2K}} \quad (8)$$

El modelo se ajustó a los datos de *L. olivacea* obtenidos a partir de datos de experimentos propios y de artículos publicados de Mc Coy *et al.* (1983), Wibbels *et al.* (1998), Paukstis & Janzen (1990) y López-Correa (2010).

7.6 INCERTIDUMBRE DEL MODELO DE GIRONDOT

A partir de los valores estimados de Piv y S a través de la regresión no lineal y de la matriz de covarianza entre estos dos parámetros que proporciona el método, para cada valor de temperatura del nido durante el periodo termosensitivo entre 26 y 34 °C se generaron 100 valores de temperatura pivote y 100 valores de factor de forma bajo el supuesto que ambos parámetros siguen una distribución normal, cuya media es el valor ajustado, y su varianza es la proporcionada por la matriz mencionada. Con los valores que dan todas las combinaciones entre los parámetros, para cada temperatura se generaron 10,000 posibles valores de proporción sexual de machos con lo cual se estimó su varianza, como un indicador de la incertidumbre de la predicción del modelo.

7.7 EXTRAPOLACIÓN DE LA PROPORCIÓN SEXUAL ESTIMADA

De las bitácoras de cada uno de los campamentos tortugeros para cada nido i se tomaron los datos de: día de desove $des(i)$, fecha de eclosión de las crías $eclo(i)$ y número de huevos $h(i)$ sembrados en el nido, con lo que se procedió a calcular la proporción sexual final en toda la temporada de anidación en cada campamento tortugero como se describe a continuación.

Para cada nido i se calcularon el día inicial $ini(i)$ y final $fin(i)$ del periodo termosensitivo (Ecs. 9 y 10) que definen el segundo tercio del periodo total de incubación:

$$ini(i) = des(i) + \frac{1}{3}(eclo(i) - des(i)) \quad (9)$$

$$fin(i) = des(i) + \frac{2}{3}(eclo(i) - des(i)) \quad (10)$$

Con los datos de anidación del corral de incubación y los datos de temperatura del sensor colocado en la arena a 30 cm de profundidad en el corral de incubación se calculó la temperatura promedio $T_{mean(i)}$ durante el periodo termosensitivo para cada uno de los nidos sembrados (Ec. 11).

$$T_{mean(i)} = \text{Promedio}(T(t); ini(i) \leq t \leq fin(i)) \quad (11)$$

donde $T(t)$ es la temperatura al tiempo t .

Usando el modelo de Girondot (Ec. 4) con los parámetros ajustados P_{iv} y S , a partir de $T_{mean(i)}$ se calculó la proporción de machos $P_m(i)$ (12):

$$P_m(i) = \text{Girondot}(T_{mean(i)}; P_{iv}, S) \quad (12)$$

Y el correspondiente número de machos $machos(i)$ (Ec. 13):

$$machos(i) = p(i) \cdot h(i) \quad (13)$$

7.8 POSIBLES RELACIONES MACHO : HEMBRA

Al aplicar la ecuación de Girondot (1999) se obtuvieron proporciones de machos P_m entre 0 y 1. Para una mayor comprensión del resultado, se aplicaron pruebas de hipótesis de proporciones sexuales teóricas P_T a partir de las relaciones Macho (M): Hembra (F) en valores enteros de M y F (para M entre 1 y 3).

La relación M : F equivale a una proporción de machos P_m (Ec. 14):

$$P_m = \frac{M}{M + F} \quad (14)$$

Para cada prueba de hipótesis se usa:

$$H_0: P = P_T$$

$$H_A: P \neq P_T$$

Con el estadístico de prueba (Ec. 15):

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(o_i - e_i)^2}{e_i} \quad (15)$$

donde:

k = Número de intervalos o grupos

o_i = Frecuencia absoluta observada del grupo i

e_i = Frecuencia absoluta esperada del grupo i

Para la aplicación a la proporción de sexos de la muestra M:F, la proporción observada es (Ec. 16):

$$P_o = \frac{M}{M + F} \quad (16)$$

Si fueron n individuos (número de huevos)

$o_1 = M$ (número de machos observado)

$o_2 = F$ (número de hembras observado)

$e_1 = P_T \cdot n$ (valor esperado de machos)

$e_2 = (1 - P_T) \cdot n$ (valor esperado de hembras)

Por lo tanto a partir de $\chi^2 = \frac{n(o_1 - e_1)^2}{e_1} + \frac{n(o_2 - e_2)^2}{e_2}$ y haciendo la sustitución se

obtiene la expresión (Ec. 17):

$$\chi^2 = \frac{n(P_o - P_T)^2}{P_T(1 - P_T)} \quad (17)$$

7.9 PROPORCIÓN NORMALIZADA

A partir de los datos de anidación de la tortuga *L. olivacea* en los 15 campamentos del país supervisados por la CONANP (Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas) de las temporadas 2009 - 2010 y de los datos de temperatura en las estaciones meteorológicas más cercanas, se construyeron las matrices de temperatura media mensual del aire T y del total de nidos N por mes (renglones) y campamento (columnas), con el objeto de normalizar la estimación del número de machos considerando la producción de nidos mensual de cada campamento como se explica a continuación.

A partir de la matriz T se pronostica la matriz de temperaturas del nido T_n usando el ajuste de la Ec. 3 obtenido en el apartado 7.4, omitiendo el desfase en horas entre la temperatura del aire y de la arena dado que aquí sólo fueron usados los promedios mensuales de temperatura (Ec. 18):

$$T_n = a + b \cdot T_s \quad (18)$$

Ya encontrada la temperatura a 30 cm a partir de la ambiental, se sustituyeron los valores de temperatura pivote P_{iv} y factor de forma S en (Ec. 4) para conocer la matriz de la proporción mensual estimada de machos P_m en cada campamento (Ec. 19):

$$P_m = \text{Girondot}(T_n; P_{iv}; S) \quad (19)$$

Para conocer la matriz del número de machos se aplicó:

$$M = N \cdot P_m \quad (20)$$

Entonces, se calcula la matriz de la proporción mensual de machos normalizada PN_M a la producción local de nidos (Ec. 21):

$$PNm = \frac{M}{T_{temporada}} \quad (21)$$

donde $T_{temporada}$ es el número total de machos de cada temporada.

8. RESULTADOS

8.1 TEMPERATURA EN NIDOS PROTEGIDOS

Para conocer la temperatura en los nidos de tortuga ubicados en algunos de los corrales protegidos del Pacífico mexicano, se utilizaron sensores de temperatura digitales programables en cada uno de los campamentos tortugeros de las cuatro áreas de estudio: Playa Ceuta (Sinaloa), Cuyutlán (Colima), Tecpan de Galeana (Gro.) y San José del Cabo (BCS), de julio a diciembre en las temporadas 2009 y 2010. También se registraron datos de temperatura de la arena de los corrales de incubación a 10 y 30 cm de profundidad de las dos temporadas de anidación. En total fueron analizados 76 nidos para las dos temporadas de anidación (Tabla 1).

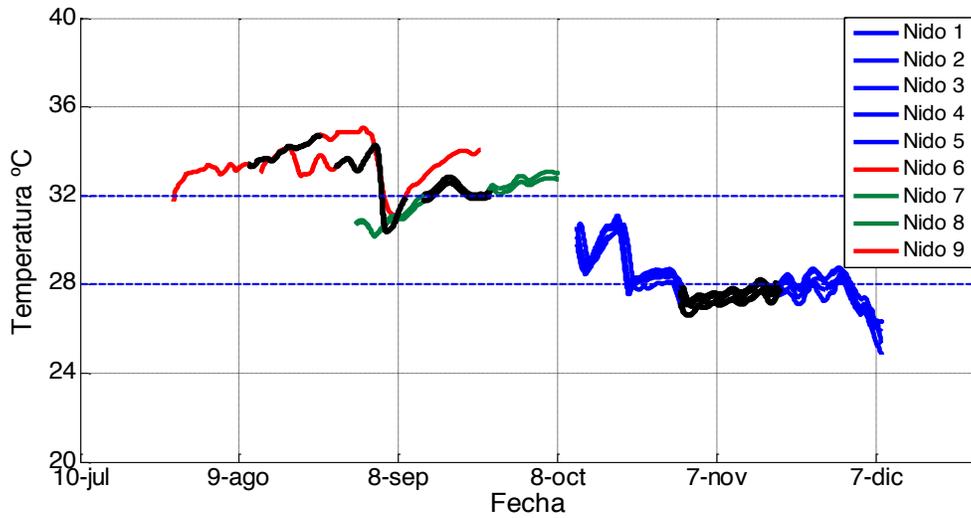
Tabla 1. Sensores de temperatura colocados de julio a diciembre.

| Campamento | Temporada 2009 | Temporada 2010 | Total |
|--------------------------------|-----------------------|-----------------------|--------------|
| San José del Cabo, BCS | 9 | 6 | 15 |
| Playa Ceuta, Sinaloa | 14 | 7 | 21 |
| Cuyutlán, Colima | 12 | 8 | 20 |
| Tecpan de Galeana, Guerrero | 12 | 7 | 19 |
| Total | 48 | 28 | 76 |

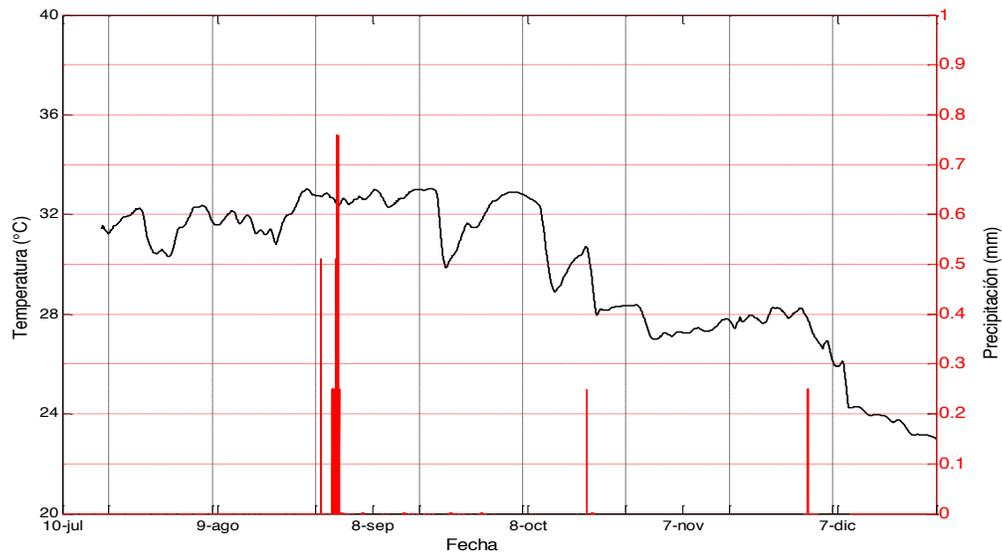
Para un mejor entendimiento de lo que está pasando a lo largo de la temporada de anidación, en las gráficas siguientes se marcaron los nidos registrados en: color rojo para el inicio de temporada (julio-agosto), con verde para media temporada (septiembre-octubre) y azul para el fin de temporada (noviembre-diciembre).

8.1.1 CAMPAMENTO DE BAJA CALIFORNIA SUR

Para el área de estudio de Baja California Sur en la temporada 2009 sólo se cuenta con registros de temperatura en nidos a partir de octubre debido a que no se contaba con permiso de la SEMARNAT, por lo que no fue posible entrar a playas del campamento tortuguero. Al comienzo del segundo tercio del periodo de incubación (tiempo en el cual se da la determinación sexual en tortugas), la temperatura fue debajo de los 28 °C en los cinco nidos analizados y con un tiempo de incubación de 60 días, por lo tanto se espera una proporción sexual sesgada a machos (Fig. 11). En el análisis de los cinco nidos se observa que a inicios de octubre, en el primer tercio de incubación ocurrieron dos marcados descensos de temperatura debido a las lluvias en la zona (Fig. 11b).



(a)



(b)

Figura 11. (a) Temperatura en nidos del campamento de Baja California Sur temporada 2009, las líneas negras muestran el periodo termosensitivo de cada uno de los nidos registrados; (b) Temperatura en la arena en toda la temporada de anidación vs. precipitación pluvial.

Se aplicó el modelo estadístico descrito por Sandoval (2008) en cada uno de los nidos registrados de esta área de estudio, calculando correlaciones cruzadas con desfaseamientos de media hora hasta de 24 h, dónde se obtuvo un desfase óptimo

de la temperatura a 30 cm, respecto a la de 10 cm, que ocurre 7.5 h después, de acuerdo al correlograma (Fig. 12).

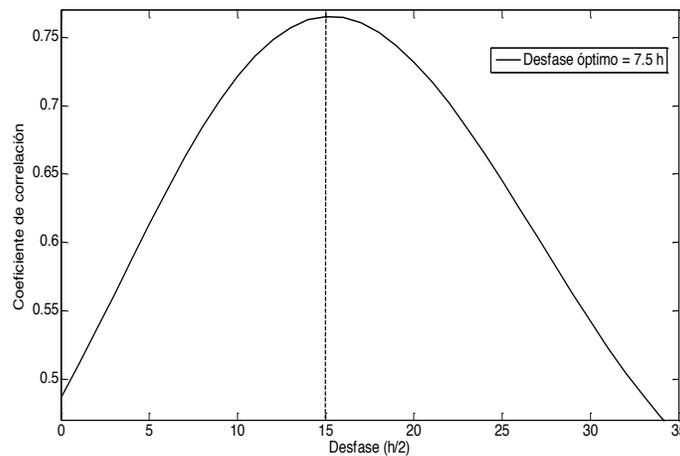


Figura 12. Correlograma de desfase óptimo de temperaturas en nidos de Baja California Sur.

Aunque los ajustes son significativos (correlación significativamente diferente de cero), en ocasiones no hubo buen pronóstico de la temperatura a 30 cm de profundidad a partir de la superficial. Para evaluar la calidad de un ajuste, se usó la recta de 45° como criterio de referencia, la cual representa la coincidencia con la temperatura observada. En el diagrama de dispersión de la figura 13 se observó que hay un gran número de datos entre las temperaturas 26 y 29 °C, se nota que el modelo subestima la temperatura observada a temperaturas bajas y que a temperaturas altas entre 29 y 31 °C, la sobreestima. En este caso el pronóstico de temperatura no es adecuado ya que la temperatura estimada se separa demasiado de la recta de 45°, aun teniendo una correlación significativa ($r^2 = 0.60$; $p < 0.05$; $n = 2710$) y de que se usó el desfase óptimo (Fig. 13).

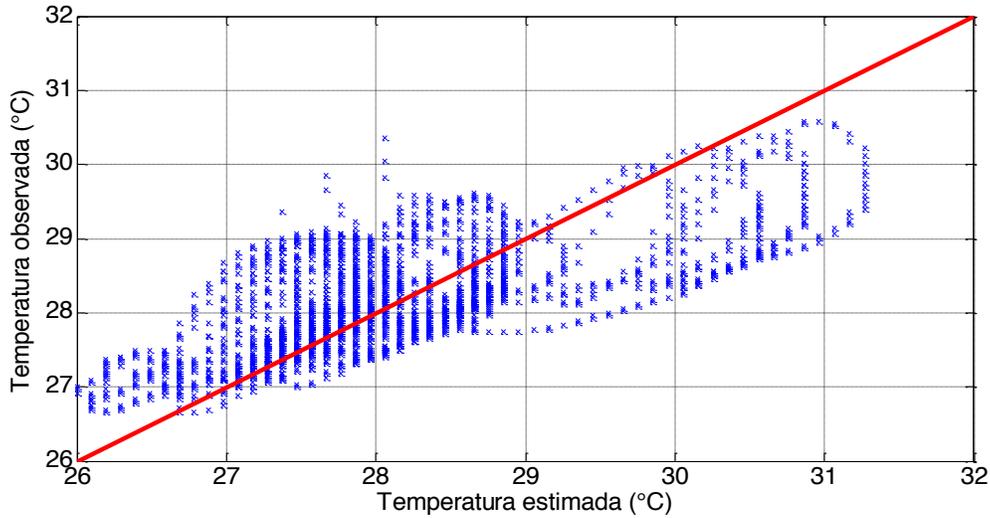


Figura 13. Comparación de los pronósticos de temperatura con los datos observados mediante una recta de 45°, con datos crudos.

Con los promedios móviles de orden 48 aplicados a los datos de 10 y 30 cm de profundidad se encontró un desfase óptimo de 16 h. El correlograma de los promedios móviles muestra un pronóstico aceptable cercano a la recta de 45°, contrario a lo que se observó en el correlograma con los datos crudos (Fig. 14).

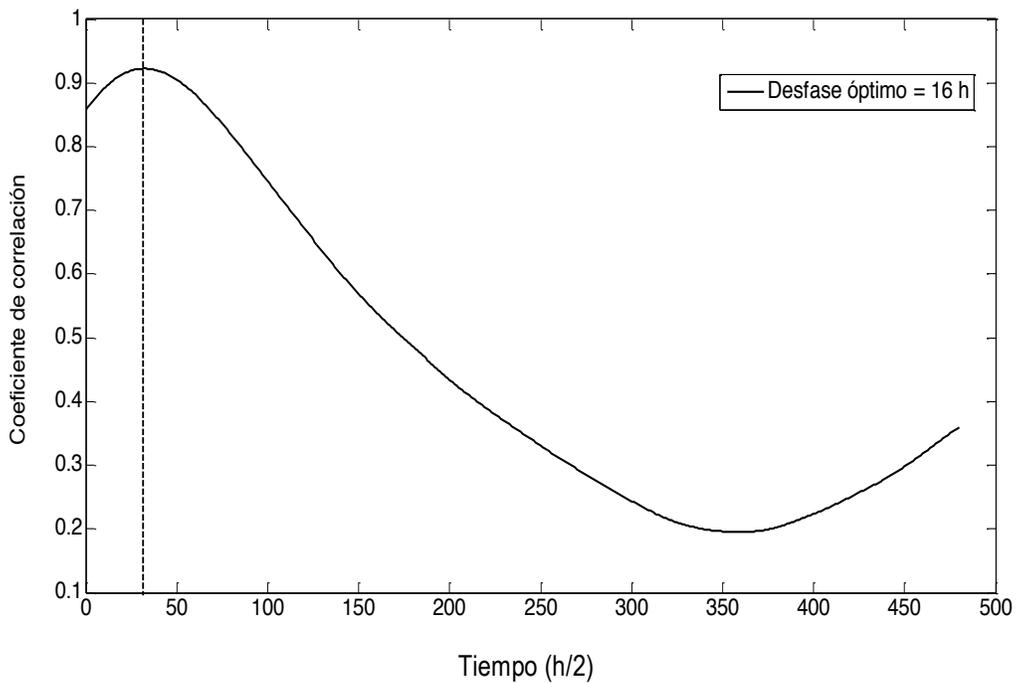
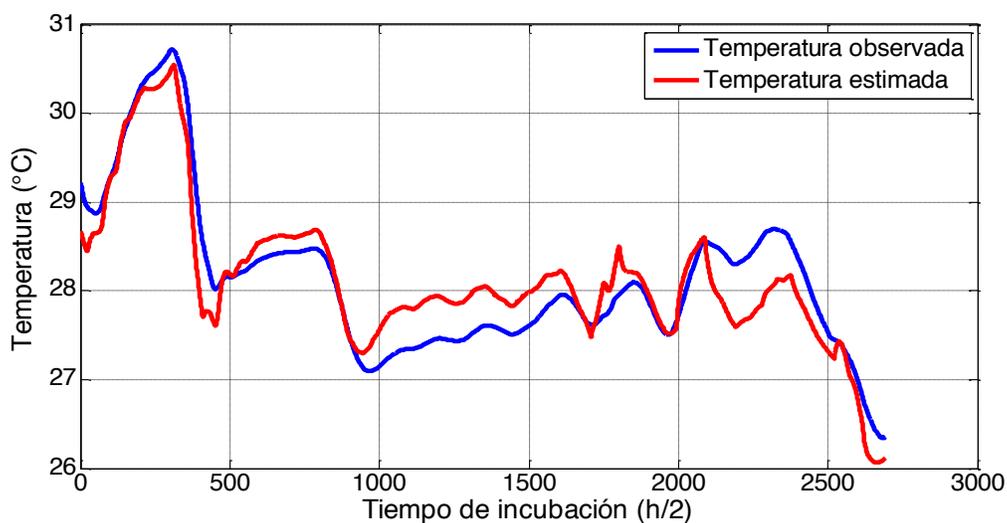
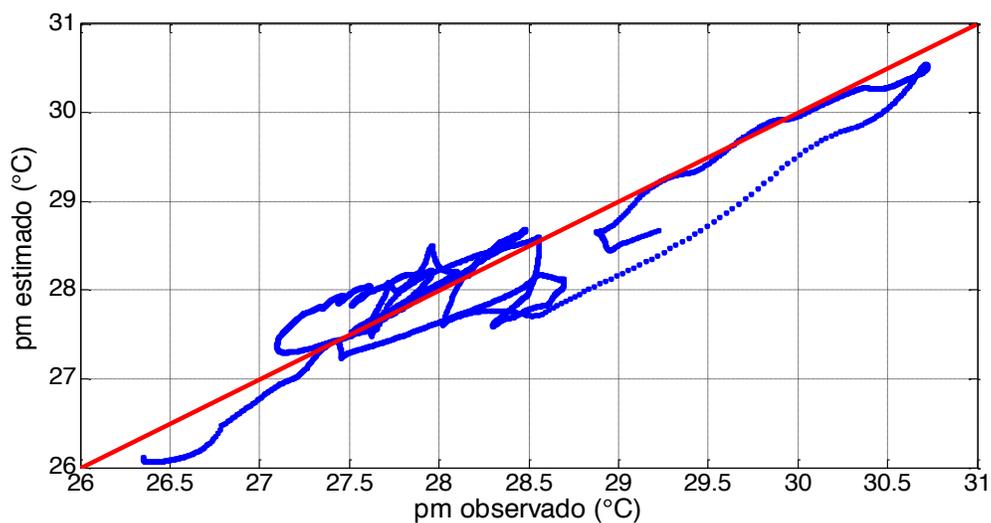


Figura 14. Correlograma de desfase óptimo con promedios móviles en nidos de Baja California Sur.

Para la comprobación del pronóstico de la temperatura del nido a 30 cm a partir de la arena a 10 cm con los datos de promedios móviles (Fig. 15a), la mayoría de los resultados fluctúan alrededor de la línea de 45° con ($p < 0.05$; $R^2 = 0.84$; $n = 2711$, $p_{comb} = 0.314$, ver A2.1-2.) indicando una alta capacidad predictiva (Fig. 15b).



(a)

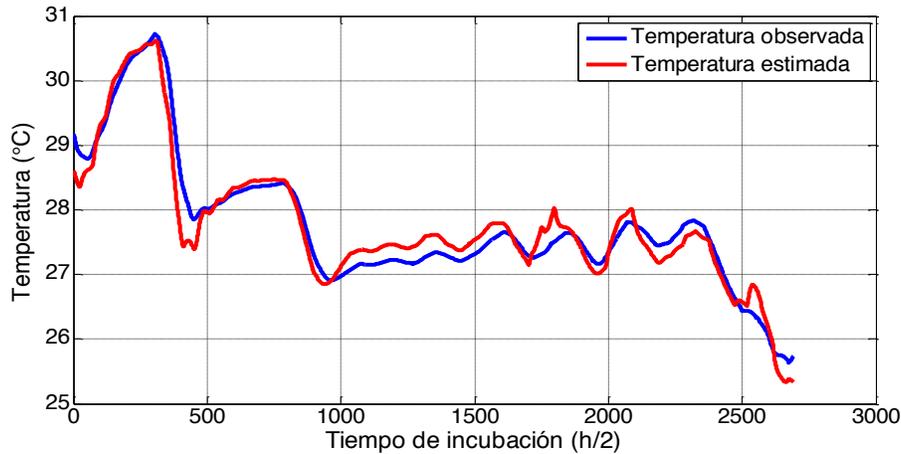


(b)

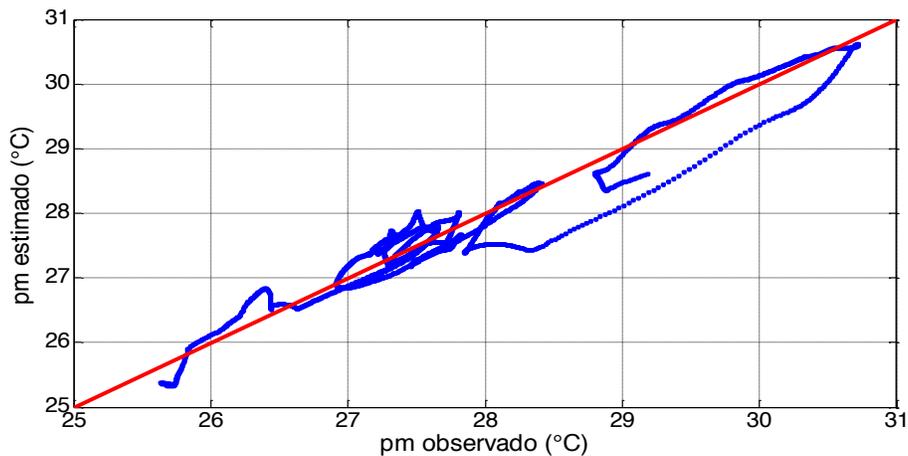
Figura 15. (a) Estimación de la temperatura del nido a partir de la superficial con promedios móviles; (b) Comparación de los pronósticos de temperatura con los datos observados mediante una recta de 45°.

En cada campamento fue colocado un sensor de temperatura a 10 cm de profundidad en una esquina del corral sin nido, el cual no se movió desde julio a diciembre con el propósito de pronosticar la temperatura del corral a 30 cm de profundidad donde los huevos se encuentran y de esa manera tener un método útil y aplicable en cada campamento tortuguero.

Se observó un buen pronóstico de la temperatura a partir del sensor colocado en la esquina del corral de incubación a 10 cm de profundidad, respecto al promedio observado en los nidos (Fig. 16a), con la comparación de los datos en la recta de 45° se nota un buen ajuste sobre todo a temperaturas menores debido a que la mayor parte del periodo de incubación la temperatura fluctuó alrededor de los 28°C ($p < 0.05$; $R^2 = 0.92$; $n = 2805$, $p_{\text{comb}} = 0.411$, ver A2.2.) (Fig. 16b).



(a)

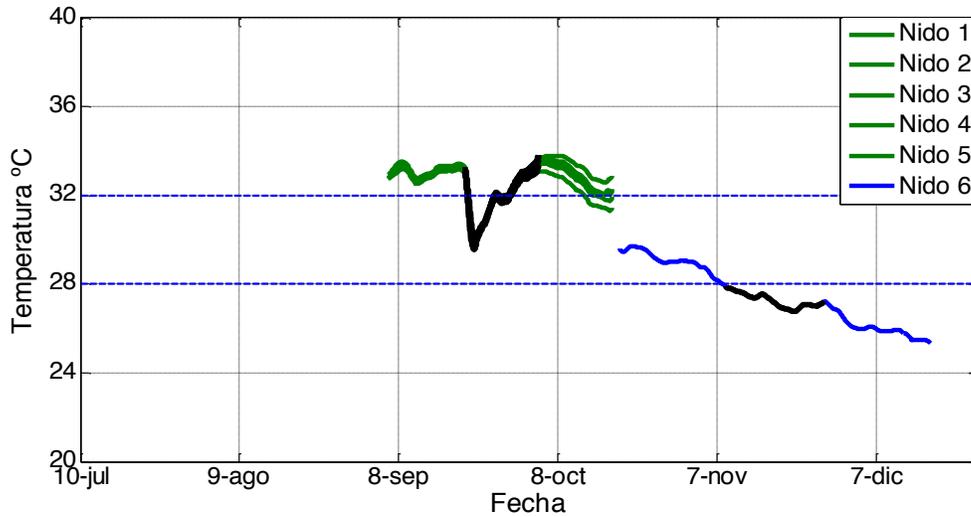


(b)

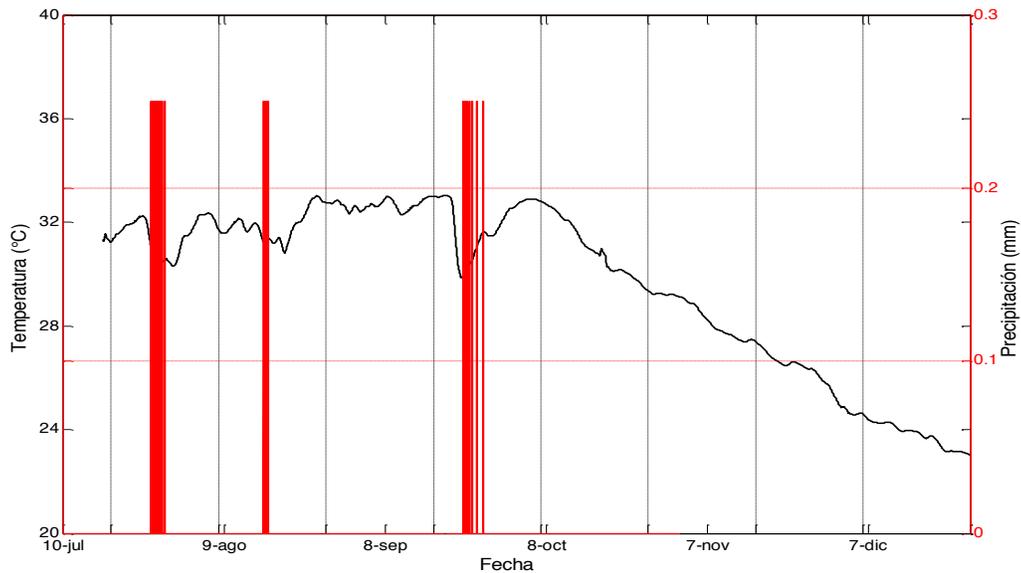
Figura 16. (a) Estimación de la temperatura del nido a partir de la ambiental en corral sin nido con promedios móviles; (b) Comparación de los pronósticos de temperatura con los datos observados mediante una recta de 45 °.

Durante la temporada 2010 de esta misma área de estudio, las temperaturas a partir del mes de septiembre fluctuaron por arriba de los 32 °C tanto a inicio como a fin de la incubación, pero durante el periodo termosensitivo llovió justo en el momento de la determinación sexual del nido, por lo cual se decidió tomar una muestra de 10 crías por nido, en tres de los cinco nidos registrados, esto debido a que en los cinco nidos los registros de temperatura eran similares como se muestra en la Fig. 17. Hacia el fin de temporada, o sea a fines del mes de octubre,

la temperatura descendió desde alrededor de los 29 °C al inicio de la incubación y durante el periodo termosensitivo por debajo de los 28 °C, hasta un mínimo para mediados de diciembre de 25 °C por lo cual la eclosión se retrasó más de 60 días.



a)



b)

Figura 17. (a) Temperatura en nidos del campamento de Baja California Sur en la temporada 2010, las líneas negras muestran el periodo termosensitivo de cada uno de los nidos registrados; (b) Temperatura en la arena en toda la temporada de anidación vs. precipitación.

A las gónadas de las 30 crías muestreadas, se les aplicó la técnica histológica y debido a la temperatura de incubación durante el periodo termosensitivo por arriba

de los 32 °C se obtuvo el 100 % de hembras, pero en el nido con temperatura media en el periodo termosensitivo de 31.88 °C se obtuvo 1 macho, como lo muestra la Tabla 2.

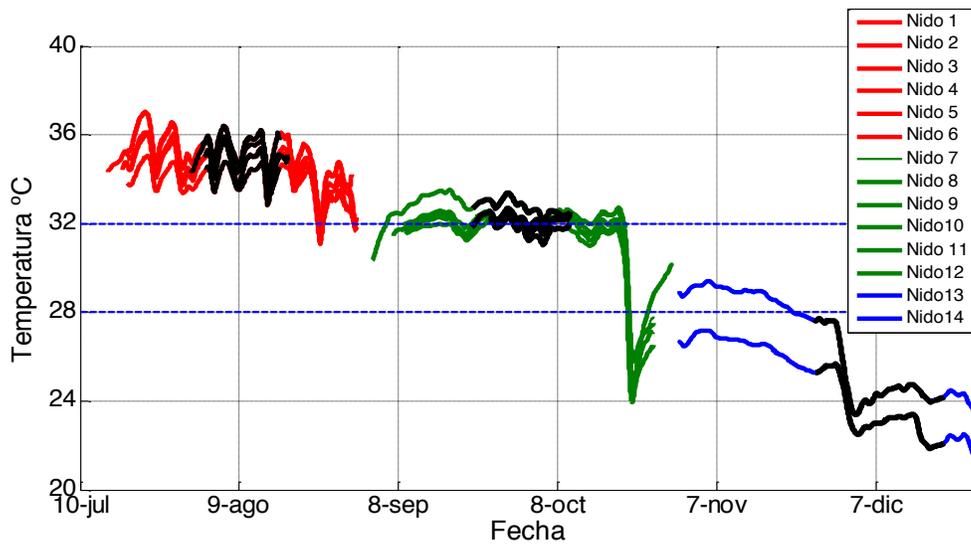
Tabla 2. Proporción sexual en las 30 crías analizadas con la técnica histológica H-E.

| Nido | Número de crías | Temperatura promedio durante el periodo termosensitivo (°C) | Proporción sexual por medio de la curva de Girondot | Proporción sexual por histología en gónadas machos/hembras |
|--------|-----------------|---|---|--|
| Nido 1 | 10 | 32.01 | 0.37 | 0/10 |
| Nido 2 | 10 | 32.02 | 0.36 | 0/10 |
| Nido 3 | 10 | 31.88 | 0.44 | 1/10 |

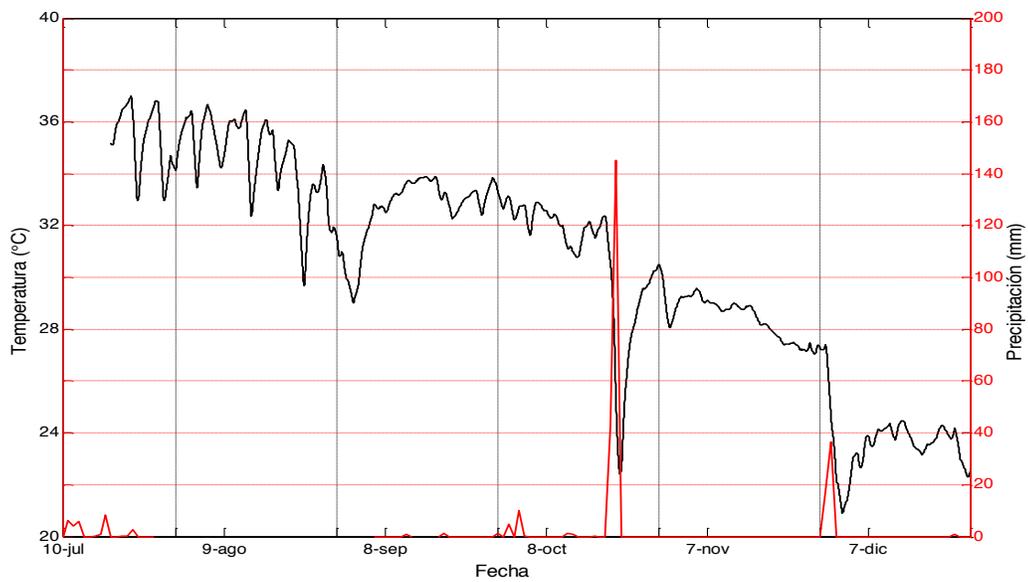
En cada uno de los siete nidos registrados durante la temporada 2009 y 2010, se aplicó el modelo de Sandoval (2008) para pronosticar la temperatura de los huevos a partir de la temperatura registrada con el sensor a 10 cm de profundidad en la arena (Apéndice 2, Tabla A2.1) mostrando sus respectivos desfases óptimos con datos crudos o con promedios móviles, así como su probabilidad de error (Apéndice 2, Tabla A2.2). Dado que con las pruebas realizadas se obtuvieron buenos pronósticos de la temperatura de los nidos, cuando no se registró la temperatura de los nidos, se utilizó la temperatura pronosticada, a partir de la temperatura de la arena en el corral de incubación.

8.1.2 CAMPAMENTO DE SINALOA

En el campamento de Sinaloa durante la temporada 2009 se cuentan con datos de 14 nidos registrados. Al inicio de la temporada (huevos sembrados en los meses de julio y agosto) la temperatura fluctuó por arriba de los 33 °C, y durante el segundo tercio del periodo de incubación se registró por arriba de los 34 °C, esperando un 100% de hembras. La temperatura descendió a partir del mes de septiembre de 32 °C a 24 °C, pero durante el periodo termosensitivo estuvo arriba de los 32 °C por lo que se marca un sesgo hacia las hembras. Para los huevos sembrados en el mes de noviembre, la temperatura descendió por debajo de los 28 °C y durante el segundo tercio del periodo de incubación se mantuvo alrededor de los 24 °C, entendiéndose así, que a partir de noviembre para este campamento tortuguero hubo un sesgo hacia los machos y en los meses de julio a octubre hacia las hembras (Fig. 18).



(a)

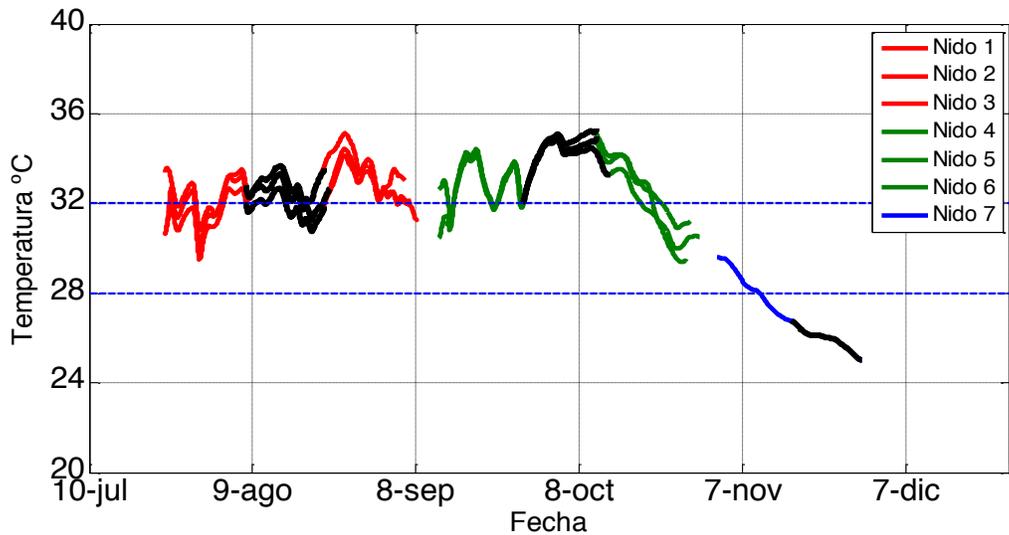


(b)

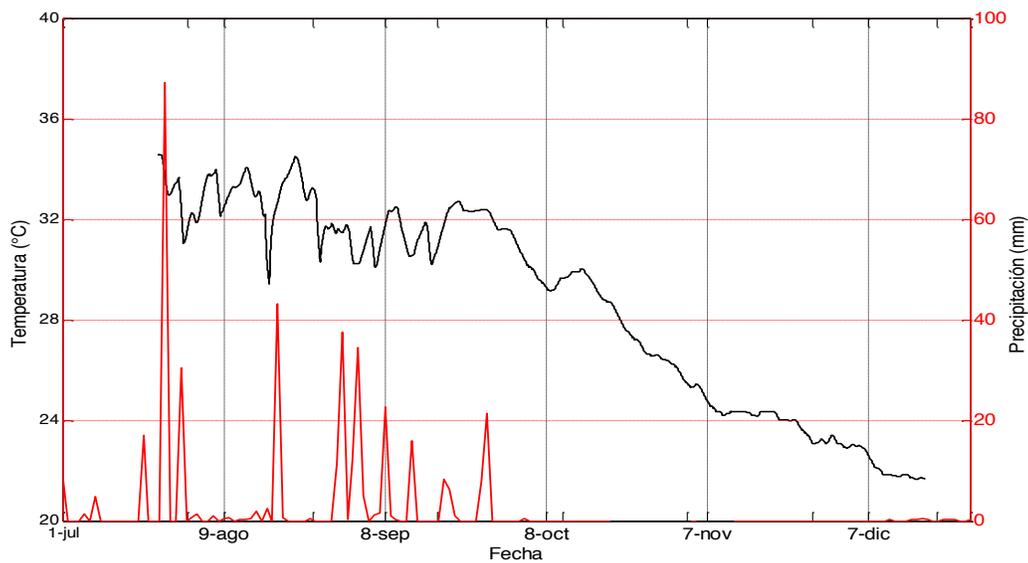
Figura 18. (a) Temperatura en nidos del campamento de Sinaloa, temporada 2009, las líneas negras muestran el periodo termosensitivo de cada uno de los nidos registrados; (b) Temperatura en la arena en toda la temporada de anidación vs. precipitación.

Durante 2010 se analizaron siete nidos y se encontró que al inicio de la temporada la temperatura fluctuó alrededor de los 32 °C, a media temporada hubo altas temperaturas fluctuando durante el periodo termosensitivo entre los 32 y 34 °C. Al fin de temporada, al igual que en la temporada 2009, se registró por debajo de los

24 °C debido a las fuertes lluvias, por lo que la temperatura se desplomó de una manera muy marcada y se retrasó la eclosión de las crías (Fig. 19).



(a)



(b)

Figura 19. (a) Temperatura en nidos del campamento de Sinaloa, temporada 2010, las líneas negras muestran el periodo termosensitivo de cada uno de los nidos registrados; (b) Temperatura en la arena en toda la temporada de anidación vs. precipitación.

Al aplicar el modelo estadístico (Sandoval, 2008) a cada uno de los 15 nidos registrados de la temporada 2009 y 2010, se obtuvieron pronósticos aceptables,

ya que los valores calculados fueron muy similares a los observados en todos los casos (Apéndice 2, Tablas A2.7- A2.11). Con esto se comprueba que el modelo no se restringe a las playas de Baja California Sur, sino que también es aplicable a otras playas aún teniendo condiciones ambientales diferentes. Con los datos del sensor colocado en una esquina del corral, se tuvo un buen pronóstico a pesar de la presencia de más lluvias. El método también fue útil, solo colocando un sensor en el corral durante toda la temporada de anidación (julio-diciembre) (Apéndice 2, Tabla A2.10).

Con los datos de la temperatura ambiental de la estación más próxima al área de estudio del estado de Sinaloa, que se encuentra en el Obispo ($24^{\circ}15'04$ N, $107^{\circ}11'17$ W) y aplicando el modelo estadístico (Sandoval, 2008), se encontró un buen pronóstico del promedio observado en los nidos del corral de incubación (Apéndice 2, Tabla A2.13).

Al inicio de la temporada se pronosticaron altas temperaturas entre los 32 y 34°C , a media temporada el modelo subestimó en casi dos grados los datos reales, debido al cambio tan brusco entre temperaturas que estaban entre los 30°C y 35°C . Al final de la temporada el modelo sobreestimó las temperaturas unas décimas de grado (Apéndice 2, Tabla A2.14).

8.1.3 CAMPAMENTO DE COLIMA

Para el inicio de la temporada de anidación en playas de Cuyutlán (Colima) la temperatura mostró un calentamiento que fluctuó entre los 31 y 39 °C por lo que el éxito de eclosión fue bajo. La temperatura en el segundo tercio del periodo de incubación fluctuó entre los 32 y 38 °C por lo que se esperó el sexo de las crías un tendencia hacia las hembras (Fig. 20). En nidos sembrados en el mes de septiembre la temperatura descendió entre los 35 y 29 °C debido a la presencia de lluvias, en el segundo tercio del periodo de incubación la temperatura estuvo por arriba de los 32 °C por lo que se pronosticó predominio de hembras. Para noviembre, la temperatura permaneció por debajo de los 30 °C y durante el segundo tercio del periodo de incubación fluctuó entre los 28 y 29 °C, temperaturas en las que se producen tanto hembras como machos.

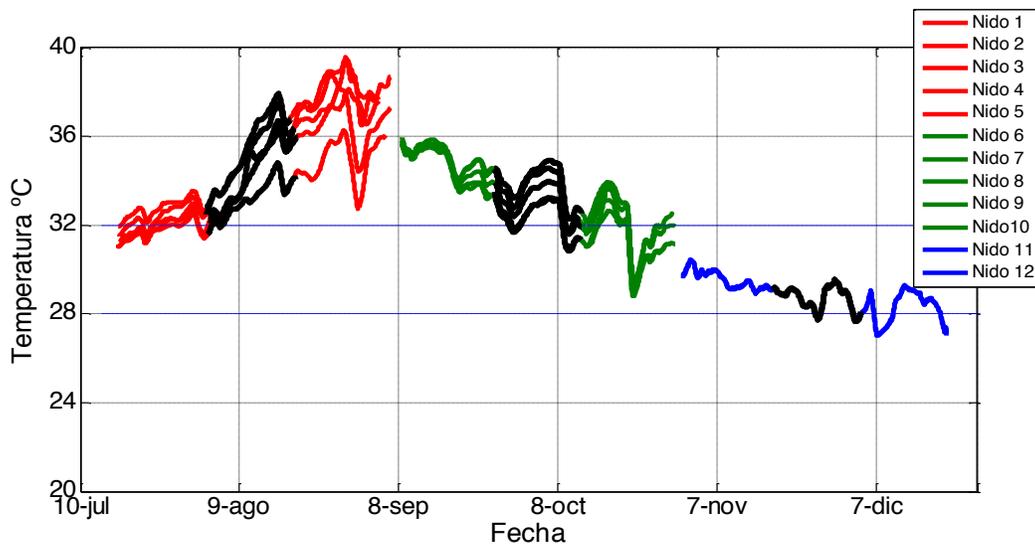


Figura 20. Temperatura en nidos del campamento de Colima, temporada 2009, las líneas negras muestran el periodo termosensitivo de cada uno de los nidos registrados

En la temporada 2010 las temperaturas fluctuaron al inicio de temporada entre 32 y 38 °C, las temperaturas se mantuvieron bajas a causa del viento y por la colocación de tela malla sombra en el campamento. Durante el tiempo de la determinación sexual la temperatura aumentó bruscamente y por esta razón disminuyó el éxito de eclosión en los nidos. La temperatura a media temporada también fue aumentando hasta llegar a un máximo de 40 °C. En las otras áreas de

estudio durante la media temporada, la temperatura es menor que al inicio de temporada y en esta área se observó lo contrario, debido principalmente a que la arena es de color oscuro por lo que acumula más calor que en arenas claras. A fin de temporada la temperatura disminuyó marcadamente entre 28 y 30 °C, por lo tanto se esperó que hasta estas fechas se produjeran machos en las nidadas (Fig. 21).

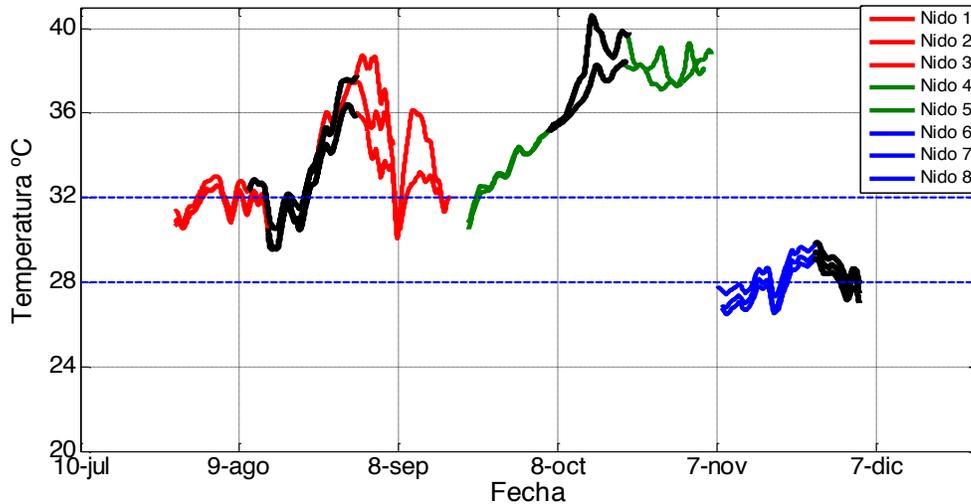


Figura 21. Temperatura en nidos del campamento de Colima, temporada 2010, las líneas negras muestran el periodo termosensitivo de cada uno de los nidos registrados.

Con los datos de la temperatura del corral (10 cm de profundidad) y de los nueve nidos monitoreados en la temporada 2009, en este campamento en particular no se obtuvieron buenos pronósticos de la temperatura a 30 cm (Apéndice 2, Tabla A2.16), debido a tres razones: la primera, que es la única playa con constitución mineralógica diferente, ya que cuenta con un mayor porcentaje de fragmentos de roca, anfíboles, piroxenos y minerales metálicos, contrario a la granulometría de las otras playas, las cuales muestran cuarzo y fragmentos de roca en mayor proporción (Apéndice 5); la segunda razón es por el color de la arena, que en playas de Cuyutlán es muy oscura y por lo tanto actúa como acumulador de calor a lo largo del día. La tercera razón por la que no hubo un buen pronóstico, fue que el sensor se colocó en un lugar sombreado por una estructura y no registró el comportamiento normal de la temperatura.

En esta área de estudio se pronosticó durante 2010 la temperatura de los nidos a partir de la temperatura ambiental, encontrándose mejores resultados que en la temporada 2009 (Apéndice 2, Tabla A2.17).

8.1.4 CAMPAMENTO DE GUERRERO

En el campamento de Guerrero ocurre lo contrario que en Colima, ya que en nidos de inicio de temporada, la temperatura se registró entre los 32 y 36 °C, hubo abundante lluvia durante toda la incubación y en el segundo tercio del periodo de incubación la temperatura se observó por arriba de los 34 °C, por lo tanto se pronosticó un sesgo hacia las hembras. Para los nidos de septiembre abundaron nuevamente las lluvias intensas y durante el segundo tercio del periodo de incubación la temperatura fluctuó entre los 30 y 35 °C, por lo que en nidos sembrados durante este tiempo presentan una aproximación cercana a la temperatura pivote, alrededor de los 30.8 °C (Fig. 22).

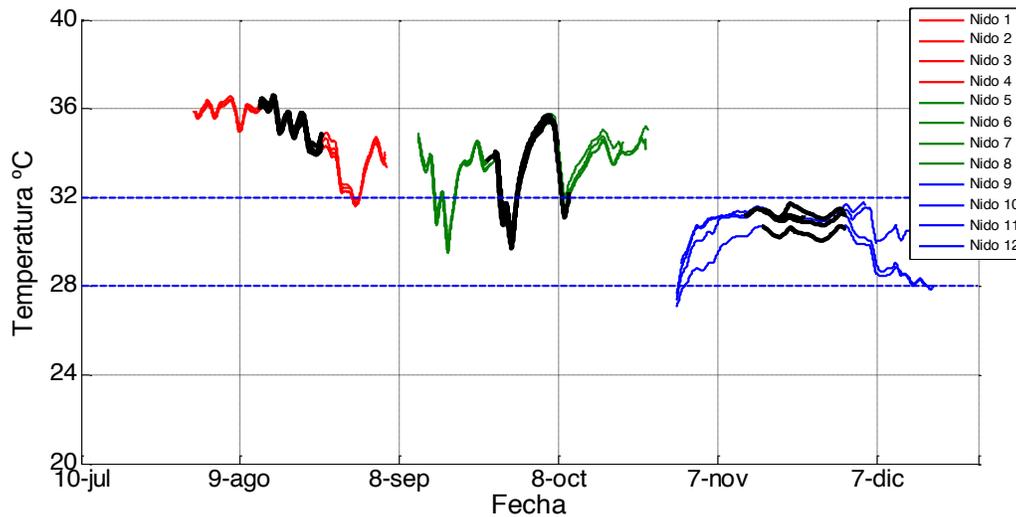


Figura 22. Temperatura en nidos del campamento de Guerrero, temporada 2009, las líneas negras muestran el periodo termosensitivo de cada uno de los nidos registrados.

Durante la temporada 2010 se observó una fluctuación de temperatura entre los 26 y 34 °C, debido a las lluvias que se presentaron durante ese periodo, lo cual ocasionó un enfriamiento de los nidos. A media temporada de anidación la temperatura de los nidos, durante el segundo tercio del periodo de incubación, se mantuvo alrededor de los 30 °C, también esperando una mezcla de hembras y machos. La temperatura al final de la temporada de anidación (noviembre y diciembre), fluctuó entre los 28 y 32 °C, notándose un descenso hacia el final de la temporada (Fig. 23).

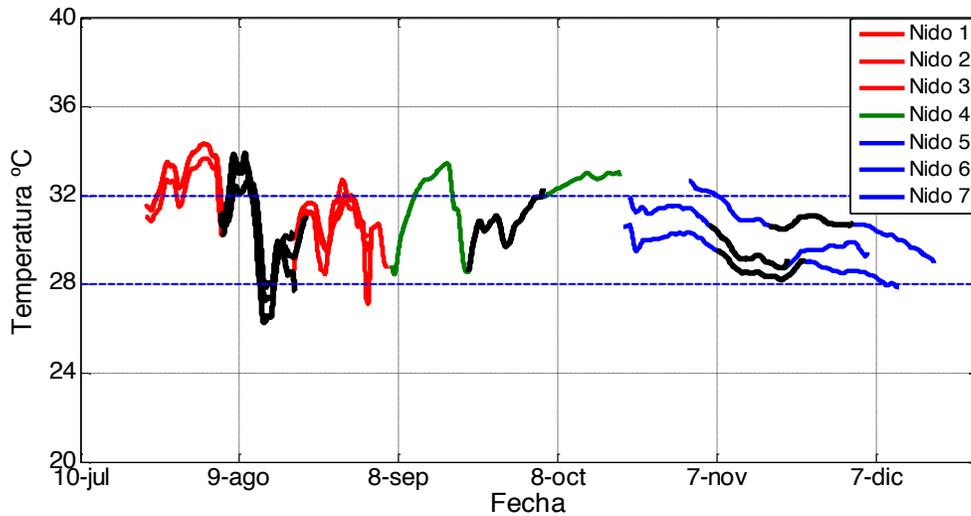


Figura 23. Temperatura en nidos del campamento de Guerrero, temporada 2010, las líneas negras muestran el periodo termosensitivo de cada uno de los nidos registrados.

Al aplicar el modelo estadístico (Sandoval, 2008) en los 18 nidos de las temporadas 2009 y 2010, de este campamento se obtuvo un buen pronóstico (Apéndice 2, Tabla A2.18), a pesar que hubo demasiada precipitación. También se observó que su granulometría y composición mineralógica son muy similares a las de Baja California Sur y Sinaloa (Apéndice 5).

Para este campamento el pronóstico de temperatura a partir del sensor en el corral fue exitoso, aunque esta área comparada con las otras tres zonas de estudio, fue la que registró más precipitación. El pronóstico de la temperatura a partir de los datos ambientales en la mayoría de los casos el modelo subestima la temperatura de los nidos a altas temperaturas. Sólo al final de la temporada cuando las temperaturas descienden el modelo sobreestima unos grados centígrados como en todos los casos antes mencionados, teniendo una R^2 significativa de 0.81 (Apéndice 2, Tabla A2.20).

Se observaron buenas estimaciones al aplicar el modelo entre el sensor de la arena a 10 cm de profundidad y el promedio en nidos al inicio de la temporada de anidación, y se nota que al fin de la temporada la temperatura estimada y la temperatura de los nidos se comportaron de una forma muy similar. También

durante la media temporada de anidación, cuando no se contó con el registro de la temperatura en nidos, gracias al modelo se pudo pronosticar la temperatura en nidos, notando descensos bruscos de temperatura debido a la presencia de lluvias en la zona de estudio, con una R^2 significativa de 0.89 (Apéndice 2, Tablas A2.21 y A2.22).

8.2 EXPERIMENTO DE INCUBACIÓN

El propósito de la incubación de huevos a diferentes temperaturas fue para conocer la proporción sexual de las crías a diferentes temperaturas constantes y de esa forma construir la curva que se necesita para aplicar el modelo de Girondot (1999), con el cual es posible conocer la proporción sexual de la nidada dentro del periodo termosensitivo a partir de la temperatura; con datos de proporción sexual a diferentes temperaturas constantes se ajusta la curva del modelo de Girondot para *Lepidochelys olivacea* en playas del Pacífico mexicano.

Se registró la temperatura ambiente en el cuarto de incubación para conocer la fluctuación por día y por mes en el área acondicionada para el experimento y de esa forma tener un mejor conocimiento de su influencia sobre las temperaturas de control (Fig. 24).

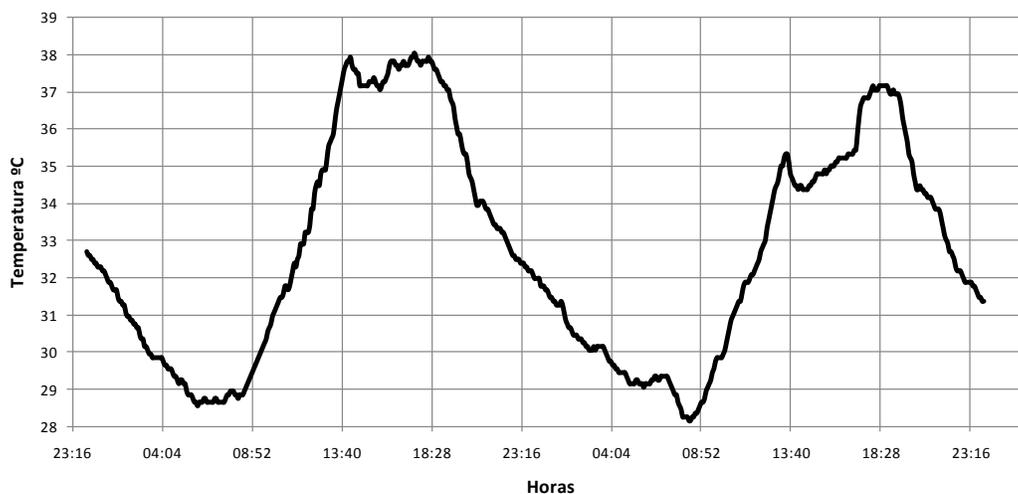


Figura 24. Fluctuación de la temperatura ambiente en el cuarto de incubación en el día 14 y 15 de agosto del 2009.

Se comprobó que aun teniendo las cajas de poliestireno (capacidad de 26 litros y con zonas de aireación) llenas con un 90 % de arena, la temperatura ambiente influía en la temperatura de la arena. Como se necesitaba incubar una caja a 28 °C se tuvieron que hacer experimentos para saber a que temperatura máxima tenía que estar la temperatura ambiente. Se encontró que como máximo la temperatura ambiente tenía que estar a 33 °C. Por lo tanto no fue sino hasta el 6 de octubre que la temperatura había descendido (Fig. 25).

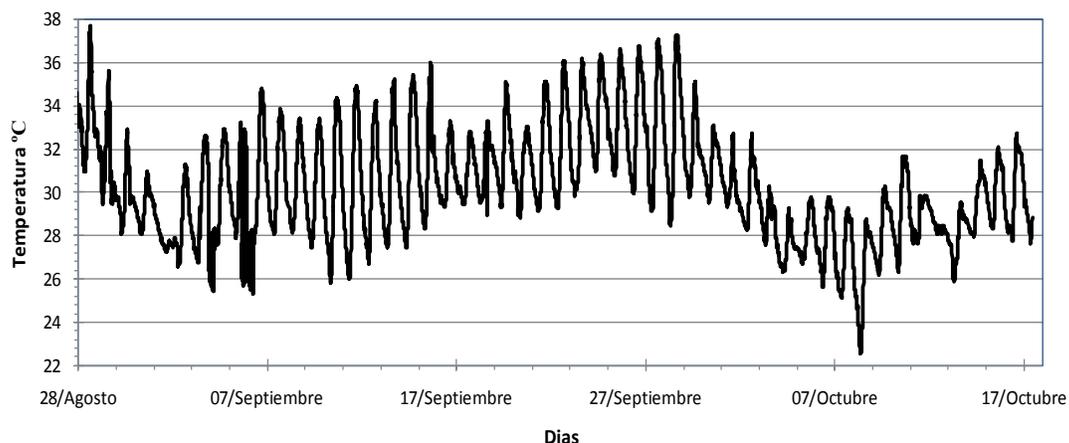


Figura 25. Fluctuación de la temperatura ambiente en el cuarto de incubación durante los meses agosto- octubre del 2009.

8.3 EXPERIMENTOS DE CONTROL

Para mantener los huevos de tortuga a diferentes temperaturas constantes, las cajas se mantuvieron con una placa calefactora la cual regulaba la temperatura dentro de la caja, pero debido a la influencia de la temperatura ambiente, se necesitaron hacer pruebas para su control.

Se procedió a realizar pruebas a temperatura ambiente controlada a 27 °C, se colocó la placa a una distancia de 10 cm donde estarían los huevos, y se programó a una temperatura de 33 °C, esto con el fin de mantener la temperatura de los huevos alrededor de los 28 °C. Con la placa a 36 °C la temperatura se mantuvo cerca de los 30 °C. Manteniendo la placa a 34.5 °C se obtiene algo similar, debido a que la arena de la caja donde la placa estuvo a 36 °C tenía menos humedad, lo que disminuyó su conductividad térmica.

Una vez conocidos los valores a los que se necesitaba controlar las cinco cajas para la incubación del nido se procedió a la recolecta de 120 huevos de la zona de anidación de San José del Cabo, BCS, el 10 de octubre de 2009. Los huevos fueron transportados en cajas de poliestireno al área acondicionada para el experimento y se dividieron entre las cinco cajas para incubarlos a 28, 29, 30, 31 y 32 °C respectivamente. La arena de las cajas se obtuvo de la misma área donde se recolectaron los huevos y se mantuvo al 7 % de humedad.

8.4 INCUBACIÓN A DIFERENTES TEMPERATURAS DEL NIDO

Al día 50 de incubación comenzó la eclosión de la caja incubada a 32 °C. La figura 26 muestra la temperatura de todo el periodo de incubación. Debido a que la temperatura ambiente estuvo baja, hubo dificultad para mantener la temperatura constante de cada caja y se retrasó la eclosión. En cada caja se hacían como mínimo dos controles de temperatura de las placas durante un día debido a las variaciones ambientales. Se registro la temperatura cada 10 minutos (h/6).

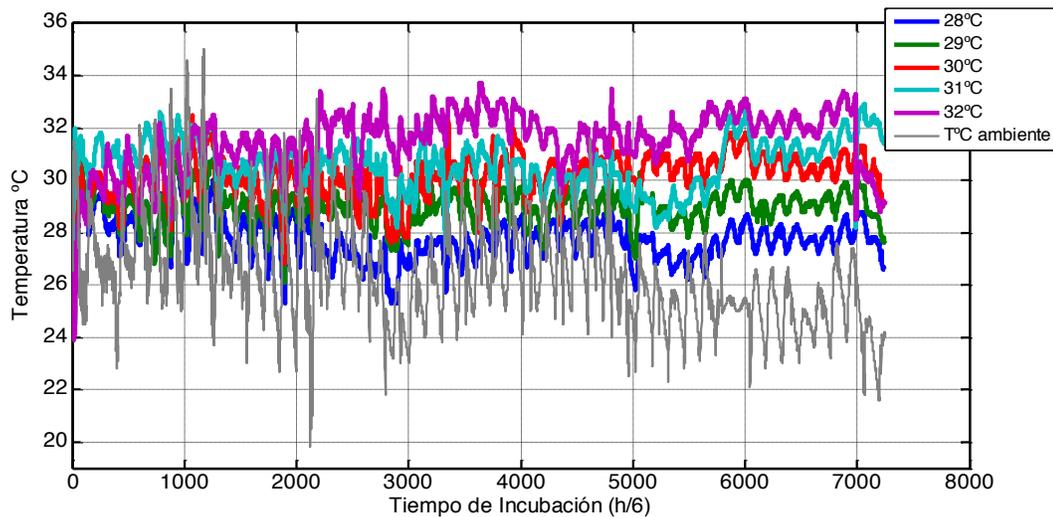


Figura 26. Temperatura de las cajas de incubación con huevos.

La figura 27 muestra el promedio móvil de la temperatura de los huevos de cada una de las cinco cajas de incubación. En la caja 1 donde tenía que ser controlada la temperatura a 28 °C, se nota que durante el periodo termosensitivo se pudo controlar por debajo de los 28 °C aunque con oscilaciones. La caja 2 se tenía que controlar la temperatura ambiente a 29 °C, la gráfica denota control de la temperatura, aunque no constante como se pretendía. A pesar de las constantes visitas al cuarto de incubación y modificación de las placas no se pudieron obtener resultados constantes.

En la caja 3 hubo una mayor fluctuación en la temperatura de la que se deseaba (30 °C) presentándose, en la parte central del periodo termosensitivo, una mayor oscilación.

Para la caja incubada a 31 °C tuvo una mayor variación de temperatura que la caja anterior, de igual manera se observó un descenso de la temperatura durante el periodo termosensitivo, en consecuencia disminuyó la temperatura en el centro de los huevos. El día 50 se revisó la caja y se encontró una tortuga bien formada pero muerta y aún con la placenta, por lo que se le extrajeron las gónadas y se le realizó el análisis histológico correspondiente.

La caja incubada a 32 °C fue la de mayor temperatura de las cinco cajas incubadas, por lo que se esperaba una eclosión de las crías a partir del día 45 por lo que al día 50 se encontraron cuatro crías vivas, a las que se les extrajeron las gónadas. En total las crías eclosionadas fueron 20, mediante la histología de las gónadas se encontraron 16 machos y cuatro indiferenciadas. En la caja de 32 °C nacieron cuatro crías machos posiblemente debido a que al inicio y al final del segundo tercio de incubación la temperatura estuvo por debajo de los 32 °C, a pesar de que en la parte central de ese periodo sí se pudo controlar la temperatura por arriba de los 32 °C.

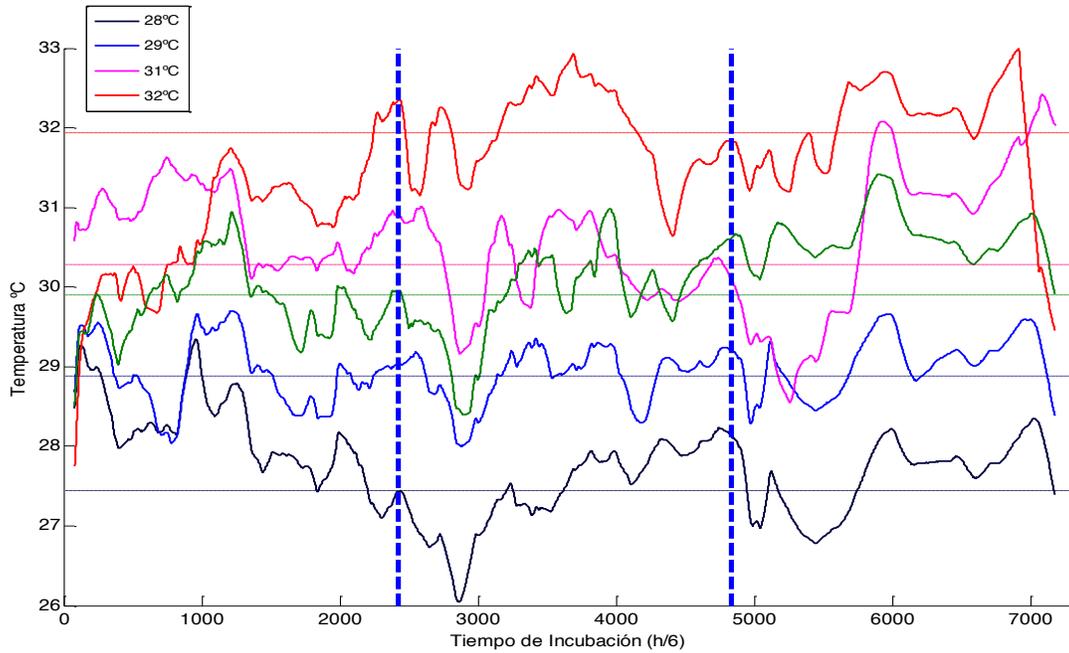


Figura 27. Promedios móviles de la temperatura en las cajas de incubación y temperatura promedio en el segundo tercio del período de incubación (datos dentro de líneas azules punteadas).

8.5 ANÁLISIS GEOMÉTRICO DEL MODELO DE GIRONDOT

Antes de aplicar el modelo de Girondot para conocer la proporción sexual fue necesario conocer cómo funcionaba la curva obtenida y sus parámetros, por lo tanto se realizó un análisis de sensibilidad, modificando un parámetro y dejando constante el otro. Al aumentar la temperatura pivote se observó que la curva se desplaza rígidamente de izquierda a derecha (Fig. 28).

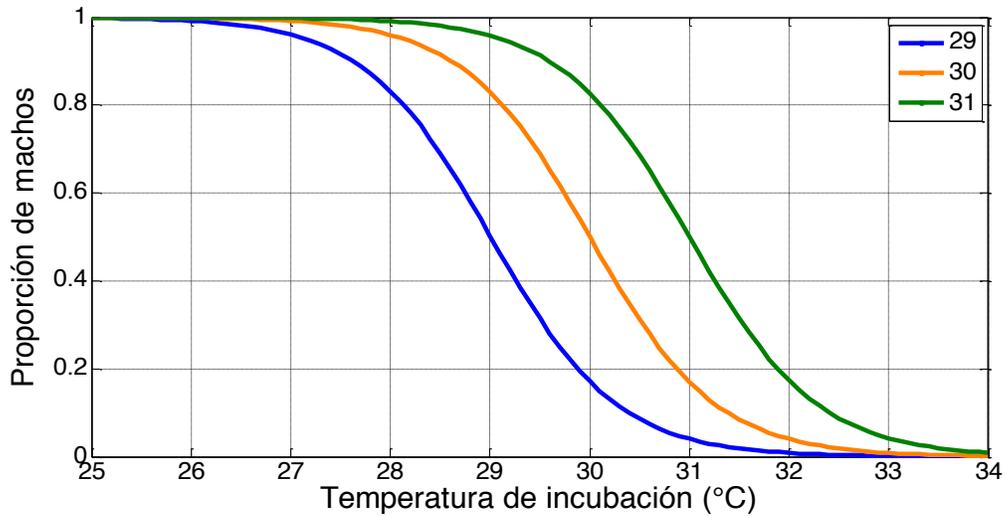


Figura 28. Sensibilidad de la curva al modificar la pivote, manteniendo el factor de forma constante ($S=-0.63$).

El análisis del factor de forma (S) muestra como se inclina la curva al aumentar el factor de forma cercano a uno y si el factor de forma se acerca a cero la curva se nota más pronunciada. Un factor de forma muy cercano a cero estima un cambio abrupto de la proporción de machos alrededor de la temperatura pivote (Fig. 29).

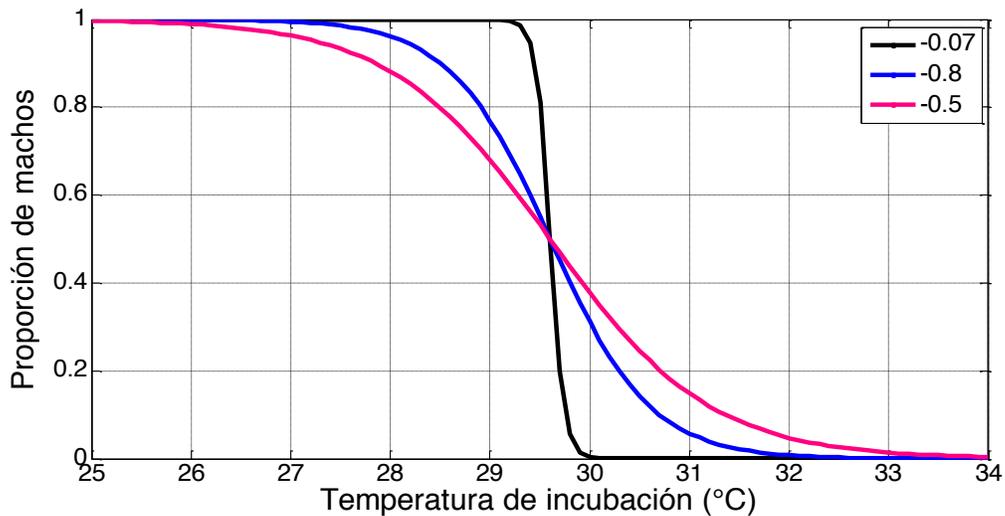


Figura 29. Sensibilidad de la curva al modificar el factor de forma, manteniendo la temperatura pivote constante ($P=29.60$).

8.6 AJUSTE DEL MODELO DE GIRONDOT

Bajo la suposición de que la curva generada por el modelo de Girondot es intrínseca de la especie, se propuso un método estandarizado, para la determinación de los umbrales de temperatura. Girondot (1999) describe una relación entre la temperatura media durante el segundo tercio del periodo de incubación y la proporción de machos producida.

Mrosovsky (1988) llevó a cabo varios experimentos de incubación para *C. caretta* entre los cuales hay dos conjuntos de datos que pueden ser utilizados para comparar el efecto latitudinal en la determinación del sexo. En Carolina del Norte, durante la temporada de 1984, las temperaturas de anidación en el tercio medio del período de incubación fueron 27.5, 28, 28.5, 28.8, 29.2, 30 y 30.5 °C, lo que produjo proporciones sexuales de hembras de 14.3, 10.3, 31.3, 20.8, 50 , 66.7, 62,5 y 100 % respectivamente. En Florida, durante la temporada de 1986, las temperaturas de anidación fueron de 28.5, 28.8, 29.5 y 30.4 °C con proporciones de hembras de 26.5, 35.3, 64.9 y 92.3 % respectivamente. El éxito de eclosión fue del 42 % en general, no hubo eclosiones a 23 °C, se obtuvo el 100 % de machos a 25 °C, y a 32 °C se produjo el 100 % de hembras.

Al aplicar la ecuación 8 ($N=12$, $K=2$) se concluye que no hubo diferencias significativas entre los ajustes no lineales de la curva de Girondot de la temperatura y la proporción de sexo de los datos de *C. caretta* del Norte de Carolina y Florida ($F = 0.30$, $p > 0.74$), y sólo una curva Girondot es necesaria para describir esta relación para las dos regiones (Fig. 30). El parámetro S y el pivote fueron obtenidos a partir de datos combinados, $Piv= 29.2$ °C y $S= -0.62$, respectivamente. Este resultado refuerza la hipótesis de que la temperatura pivote es un parámetro conservador, e independiente de las nidadas y de la zona geográfica. Con base a esto, se propone que una curva única de Girondot podría aplicarse a todos los datos disponibles de *L. olivacea*.

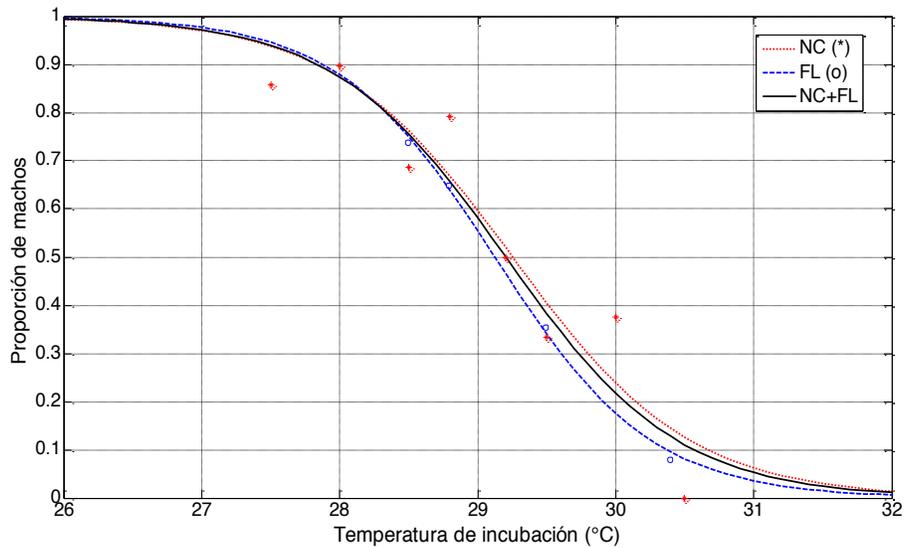


Figura 30. Curvas de ajuste a los datos de *Caretta caretta* de Carolina del Norte (NC), Florida (FL) y los datos combinados de las dos regiones (NC + FL). Los datos observados se indican con un asterisco (NC) y círculos (FL).

Posteriormente se procedió a una búsqueda bibliográfica sobre datos de proporción sexual a temperaturas de incubación controladas en la tortuga *Lepidochelys olivacea*, que junto con los datos de los experimentos de incubación descritos en la sección anterior, se usaron para el ajuste del modelo. Se encontraron datos en Wibbels *et al.* (1998), Paukstis & Janzen (1990) con anidaciones procedentes de Costa Rica, y de López-Correa (2010) con nidos de Baja California Sur, así como los encontrados en los experimentos de incubación descritos anteriormente.

Por medio de una regresión no lineal se obtuvo un ajuste significativo ($R^2= 0.84$, $p= 1.97e -06$) para la construcción de la curva, encontrándose una temperatura pivote de 29.95 °C, con un factor de forma de - 0.63 (Fig. 31).

Los umbrales de temperatura fueron 27.03 y 32.86 °C respecto a los valores conocidos de temperaturas masculinizante y feminizante de 28 y 32 °C, respectivamente (Mc Coy, 1983), ampliando el rango del periodo termosensitivo.

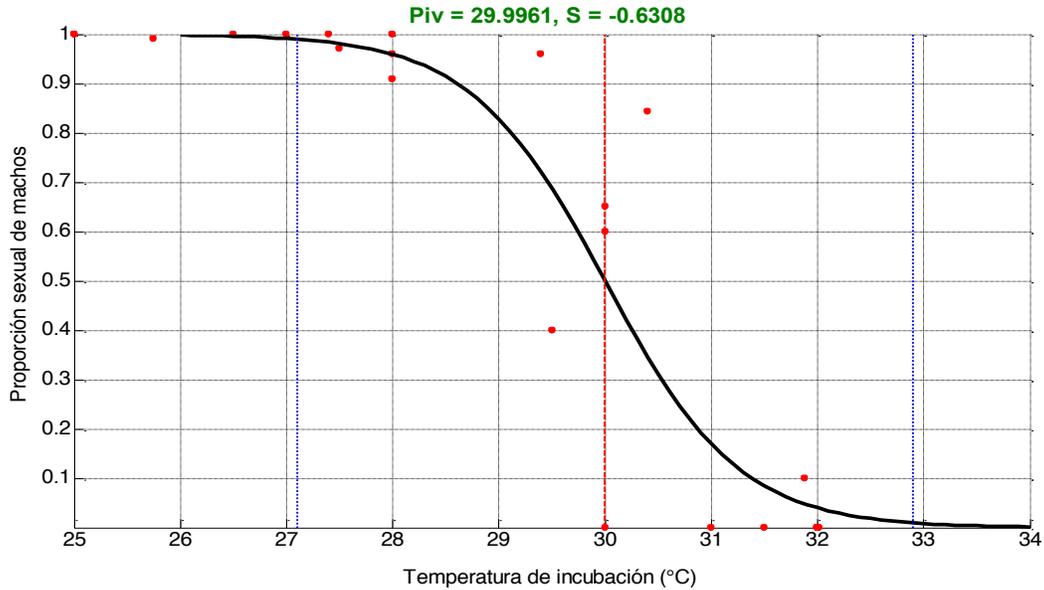


Figura 31. Curva ajustada a los datos de proporción sexual a temperatura controlada de Wibbels *et al.* (1998); Paukstis & Janzen (1990); López-Correa (2010) así como los de esta investigación, las líneas azules muestran la temperatura masculinizante y feminizante, la línea roja identifica la temperatura pivote.

La distribución estadística de la frecuencia observada de los 10,000 valores de proporción de machos (en incrementos de 0.04) obtenidos a partir de la simulación de 100 valores del factor de forma combinados con los 100 valores de temperatura pivote (ambos escogidos al azar bajo una distribución normal, ver sección 7.6), indicó que a bajas y altas temperaturas la desviación estándar de la proporción de machos es menor, alcanzando un máximo a 30 °C, lo que quiere decir que alrededor de la temperatura pivote, aumenta la incertidumbre de la estimación (Fig. 32).

Los datos observados de temperatura en el área de Los Cabos durante el período termosensitivo estuvieron lejos del pivote por lo que la incertidumbre de estas predicciones fue menor. A temperaturas más bajas la desviación estándar de las proporciones estimadas fue menor a 0.127 y para las temperaturas más altas menor a 0.157 (Tabla 3).

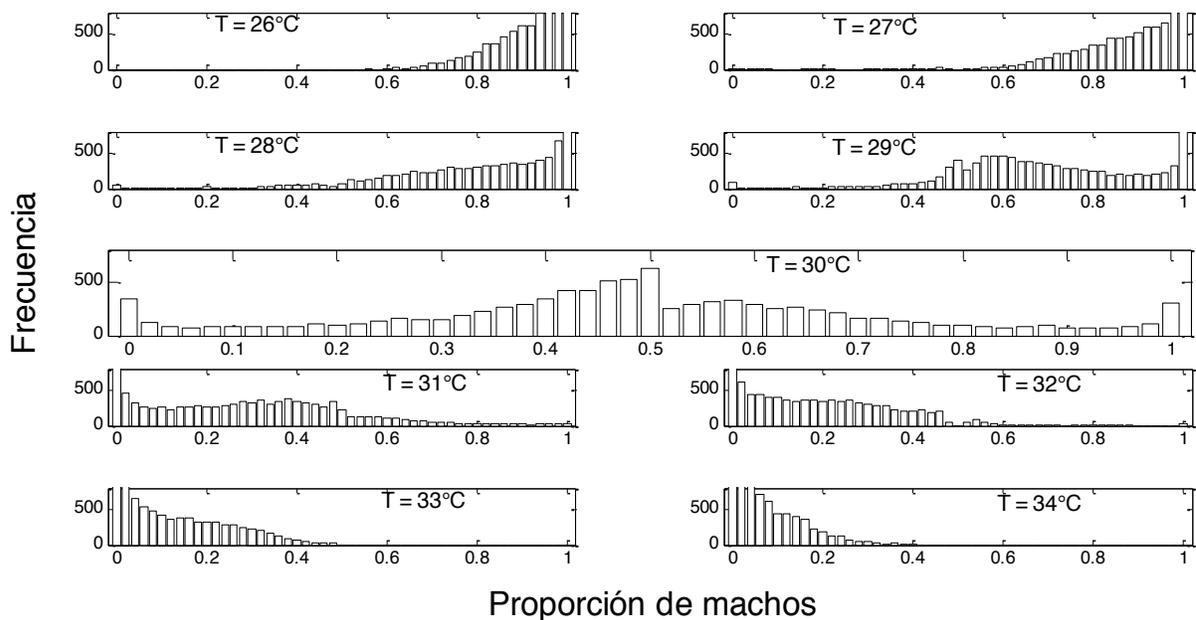


Figura 32. Simulación de las proporciones sexuales de machos, modificando la temperatura pivote y el factor de forma.

Tabla 3. Datos de temperatura y proporción sexual de los nidos en el área de Baja California Sur.

| Nido | Temperatura promedio (°C) | Proporción estimada de machos |
|------|---------------------------|-------------------------------|
| 1 | 27.53 | 0.98 |
| 2 | 27.17 | 0.98 |
| 3 | 27.69 | 0.97 |
| 4 | 27.59 | 0.97 |
| 5 | 27.40 | 0.98 |
| 6 | 33.96 | 0.002 |
| 7 | 32.09 | 0.035 |
| 8 | 32.31 | 0.025 |
| 9 | 32.69 | 0.014 |

En la figura 33 se presenta de manera resumida el resultado de la simulación para evaluar la incertidumbre de las estimaciones. Se observa que el modelo sobreestima el número de machos y hembras a temperaturas masculinizantes y feminizantes, en el centro de la curva el sesgo es menor pero con mayor variación, ya que el ancho de la banda definida por las desviaciones estándar es mayor en el centro que en las orillas. Es decir, en el centro el sesgo de la estimación es menor

pero la variabilidad es mayor y en las orillas el sesgo es mayor y la variabilidad es menor.

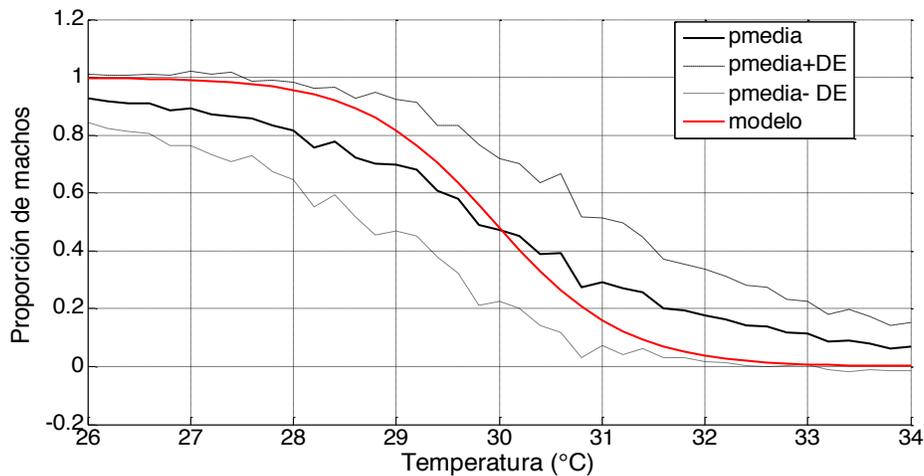


Figura 33. Desviación estándar a diferentes temperaturas durante la simulación de la proporción sexual.

8.7 ESTIMACIÓN DE LA PROPORCIÓN SEXUAL

A partir de los promedios de temperatura durante el segundo tercio del periodo de incubación de cada uno de los 76 nidos de las cuatro áreas de estudio correspondientes a las temporadas 2009 y 2010, se aplicó el modelo de Girondot (Ec. 4) para estimar la proporción sexual de machos en cada nido.

En la temporada 2009 para el área de Baja California Sur sólo se tienen registros de octubre a diciembre y se obtuvo un 100 % machos (Apéndice 3, Tabla A3.1). En Sinaloa se notó que de julio a septiembre la proporción sexual fue 100 % hembras y a partir de octubre se encontró una proporción sexual sesgada a machos (Apéndice 3, Tabla A3.2). En Colima durante julio a octubre se presentó un sesgo hacia las hembras y no fue sino hasta el mes de noviembre, que se obtuvo un 100 % de machos (Apéndice 3, Tabla A3.3). En el campamento tortuguero de Guerrero, de julio a septiembre se encontró una proporción de 100 % de hembras y hasta noviembre un 60 % de hembras (Apéndice 3, Tabla A3.4).

En la temporada 2010, en Baja California Sur, al final se obtuvo un 100 % machos, y a media temporada de incubación, un 100 % de hembras. Para el área de Sinaloa se obtuvo casi el 100 % de machos al fin de temporada, ya que la temperatura promedio de los nidos fluctuó alrededor de los 27 °C, al inicio de la temporada de incubación así como a la mitad de esta, se presentó una temperatura promedio por alrededor de los 32 °C encontrándose solo hembras. En el estado de Colima hubo hasta un 90% de machos a fin de temporada y al inicio un 100 % de hembras. En el estado de Guerrero hubo una temperatura menor que en la temporada 2009, donde se encontró sólo un máximo de 30 % de machos, contrario a lo encontrado en la temporada 2010, de un máximo de 90 % de machos a fin de temporada y 80 % de hembras para el inicio de temporada, tal vez debido a que los nidos fueron colocados en área sombreada y se disminuyó la temperatura en el período de incubación. Se concluye que de los cuatro campamentos tortugueros analizados el que se encuentra con mayor proporción de hembras es el de Guerrero, seguido del campamento de Colima para la temporada 2010 (Apéndice 3).

Con el registro de temperaturas de julio a diciembre para cada área de estudio y la bitácora de las anidaciones en cada campamento tortuguero, se procedió a utilizar los datos de día de desove, día de eclosión, número de huevos y temperatura media durante el segundo tercio de incubación (ver sección 7.7) por lo que se amplió el número de muestra de 76 nidos analizados a 5,358 nidos, con un total de 479,279 huevos. Se aplicó la ecuación 8 para calcular la proporción sexual final en toda la temporada de anidación en cada campamento tortuguero.

Se decidió añadir a los resultados el área de Platanitos Nayarit, ya que en el año 2008 se realizó el registro de temperatura de toda la temporada de anidación (julio-diciembre) y se contaba también con la bitácora de anidación, debido también a que no se conto con la bitácora del campamento de Colima.

En cuanto a la distribución estadística de la proporción de machos, lo más frecuente fue el obtener un máximo de 10 % de machos por nido en todas las áreas de estudio excepto en Nayarit, en la cual se encontró una frecuencia del 20 % de machos. Por ejemplo en el área de BCS de un total de 768 nidos, se obtuvieron 392 con 100% de hembras por nido y 179 nidos en la frecuencia de 10 % y solamente 94 nidos mostraron una frecuencia de 100% de machos por nido. Para que en Sinaloa, de un total de 232 nidos, 125 se concentraron en la frecuencia del 0 %, 32 nidos en la de 10% de machos y solo 29 nidos mostraron un 100% de machos. El área de Guerrero fue en la que menos machos se obtuvieron, ya que de los 955 nidos, 952 se concentraron en la frecuencia del 0 % de machos por nido, esto debido a que no se tienen datos de la bitácora a partir de noviembre. Finalmente Nayarit fue el área con más variación en la frecuencia de machos, ya que de un total de 2652, 1004 tuvieron un 20 %, 867 nidos un 30 % y 123 nidos un 100 %. Esta área fue en la que se encontraron más nidos con un 100 % de machos (Fig. 34).

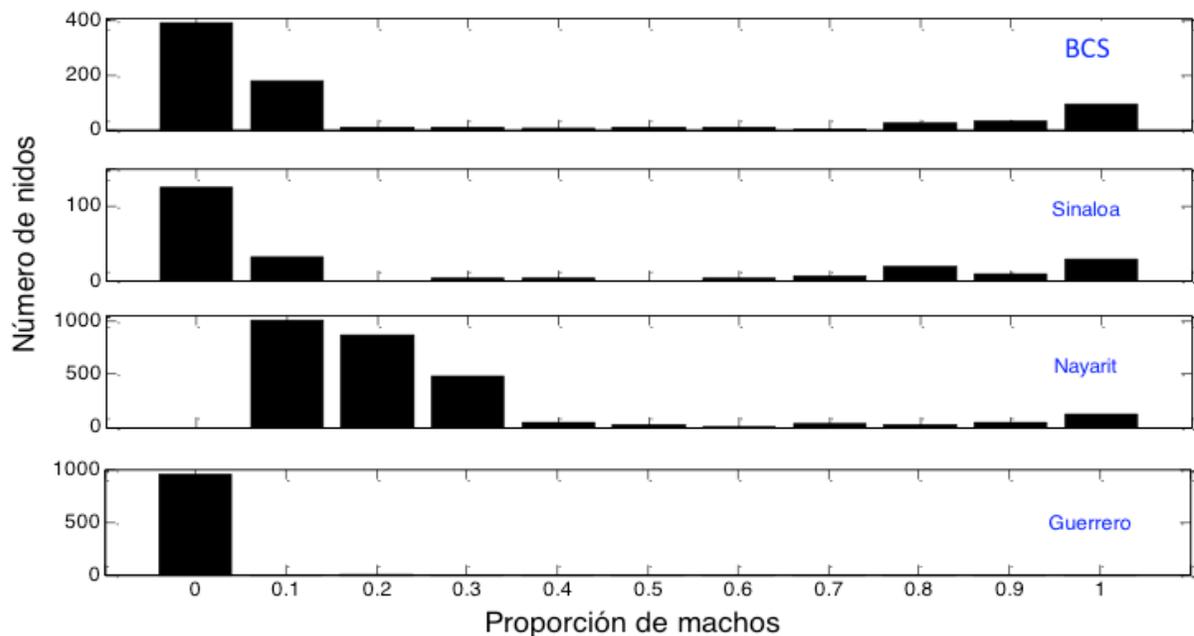


Figura 34. Distribución estadística de la proporción de machos para los campamentos tortugueros de Los Cabos, BCS, Playa Ceuta, Sin., Platanitos, Nay. y Tecpan de Galeana, Gro.

La distribución del número de huevos de toda la temporada de anidación, indica que la moda fue el intervalo de 0 a 10 machos por nido excepto Nayarit, que mostró una moda en el intervalo de 10 a 20 machos por nido (Fig. 35).

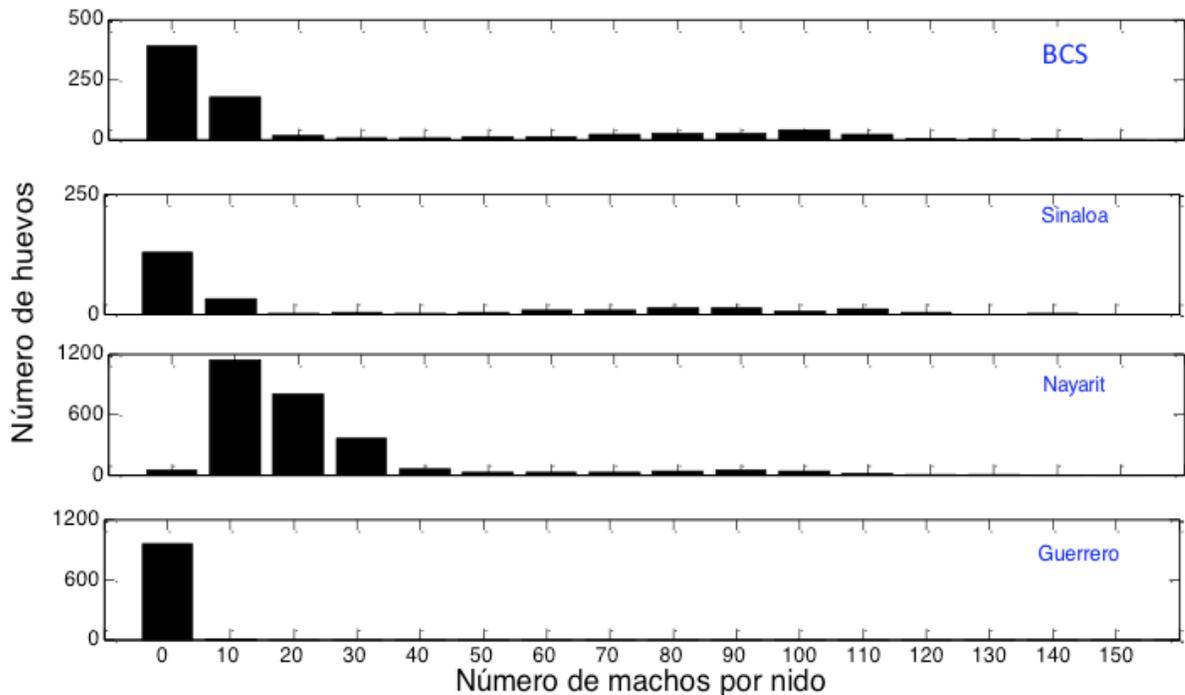


Figura 35. Distribución del número de machos a lo largo de la temporada de anidación en cada campamento tortuguero. Se indica el extremo izquierdo de cada intervalo (i.e. 20: indica el intervalo de 20 a 30).

Al graficar la distribución mensual de nidos en los campamentos tortugueros en cada área de estudio se encontró que septiembre es el mes con más nidos. Se ha observado que al inicio de temporada (junio-julio) y como a fin de temporada de anidación (diciembre o enero) es cuando menos hembras se presentan en las playas de anidación (Fig. 36), por lo tanto aunque la proporción de machos es alta a fin de temporada, debido al bajo porcentaje de nidos en esa época, la proporción final total del número de machos es baja (Tabla 4). Para el área de BCS sólo en agosto se concentró un 27 %, en septiembre un 38 % de los nidos y en octubre un 30 %. En Sinaloa, mostró un 23 % de los nidos durante agosto, en septiembre un 35 % y octubre un 25 %. El área de Guerrero, en agosto se encontró el 46 % de los nidos y en septiembre el 51 %. En Nayarit hubo un 26 % de nidos en agosto, 45 % en septiembre y sólo se tuvo un 15 % de nidos durante el mes de octubre.

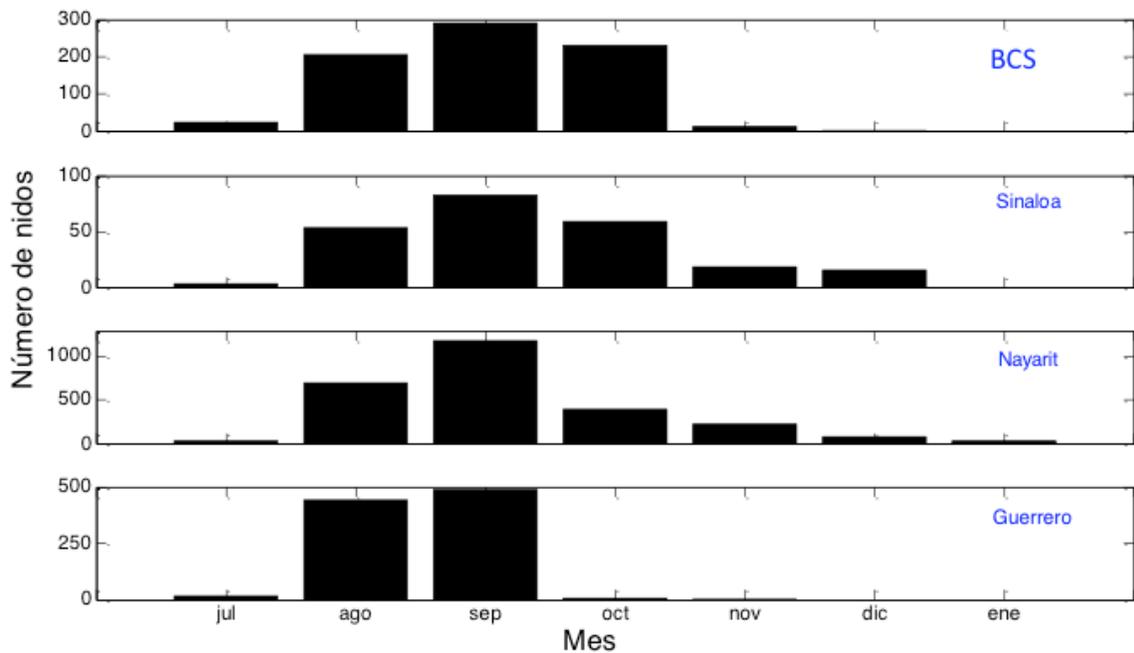


Figura 36. Distribución mensual de nidos en los campamentos tortugueros de Los Cabos, BCS., Playa Ceuta, Sin.; Platanitos, Nay. y Tecpan de Galeana, Gro.

La distribución mensual de la proporción de machos reflejó que a partir de octubre fue encontrado un alto porcentaje en cada una de las diferentes áreas de estudio. Para BCS a partir de octubre se encontraron 63 % de machos, en noviembre, 98 % y finalmente a partir de diciembre, 100 %. Para el área de Sinaloa en hubo 50 % de machos, noviembre un 98 % y hasta el mes de diciembre un 100 %. En Guerrero se encontró en noviembre un 17 % de machos, y no hubo datos de anidación para el resto de la temporada. En Nayarit se obtuvo un 18 % de machos en octubre, 62 % en noviembre, 98 % en diciembre un y 99 % en enero. A fin de año es cuando menos hembras anidaron en todas las áreas de estudio (Fig. 37). En general se observa que de altas a bajas latitudes, hubo machos hacia fin de temporada, por ejemplo, en latitudes de BCS y Sinaloa se encontraron machos a partir de octubre y en Nayarit a partir de noviembre. En Guerrero se esperarían a partir de diciembre, debido a las temperaturas debajo de 30 °C.

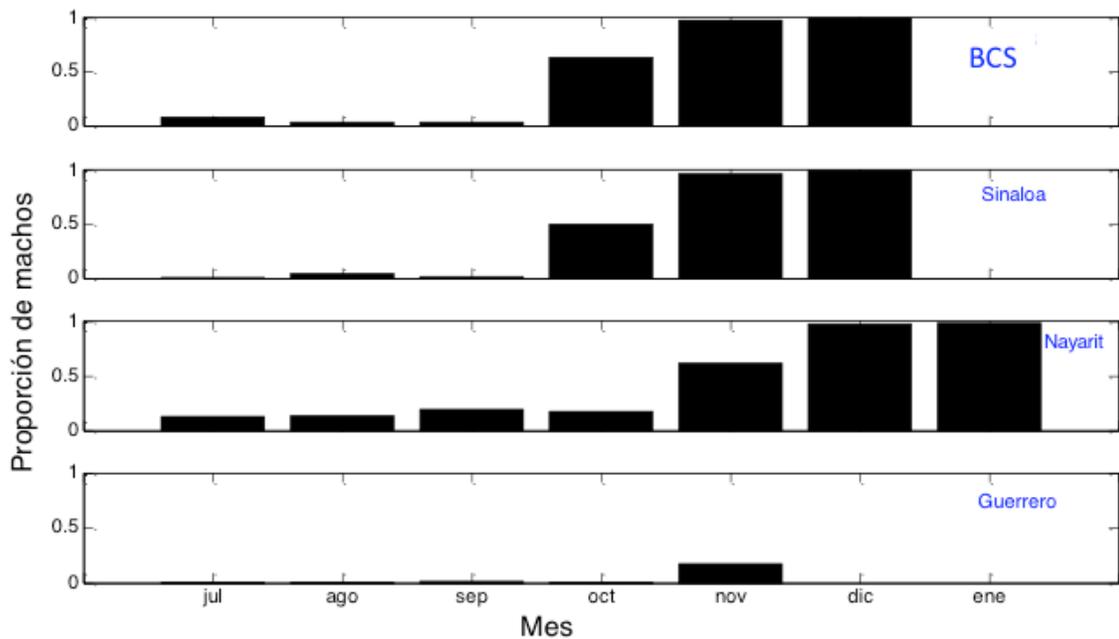


Figura 37. Distribución mensual de la proporción de machos en el tortuguero de Los Cabos, BCS., Playa Ceuta, Sin., Platanitos, Nay. y Tecpan de Galeana, Gro.

La distribución mensual del número de machos muestra que a partir de octubre en el área de BCS y Sinaloa hubo un gran porcentaje de machos, mientras que para las áreas de Guerrero y Nayarit se presentan a partir de agosto y septiembre (Fig. 38). El número total de machos para el estado de BCS fue de 17,837, a partir de octubre se encontró 81% de machos por nido, y el restante 19 %, a partir de agosto. Para Sinaloa de un total de 6,432 machos, octubre fue el mes con mayor número de machos con el 43 %, noviembre 25 % y diciembre 26 %. En esta área se encontraron a partir de de agosto con sólo un 3 %. En Guerrero hubo un total de 462 machos en nidos, y se observó a partir de agosto un 31 % de machos en los nidos y en septiembre un 62 %. Se esperaría que a partir de noviembre hubiera una mayor cantidad de machos, debido al descenso de las temperaturas.

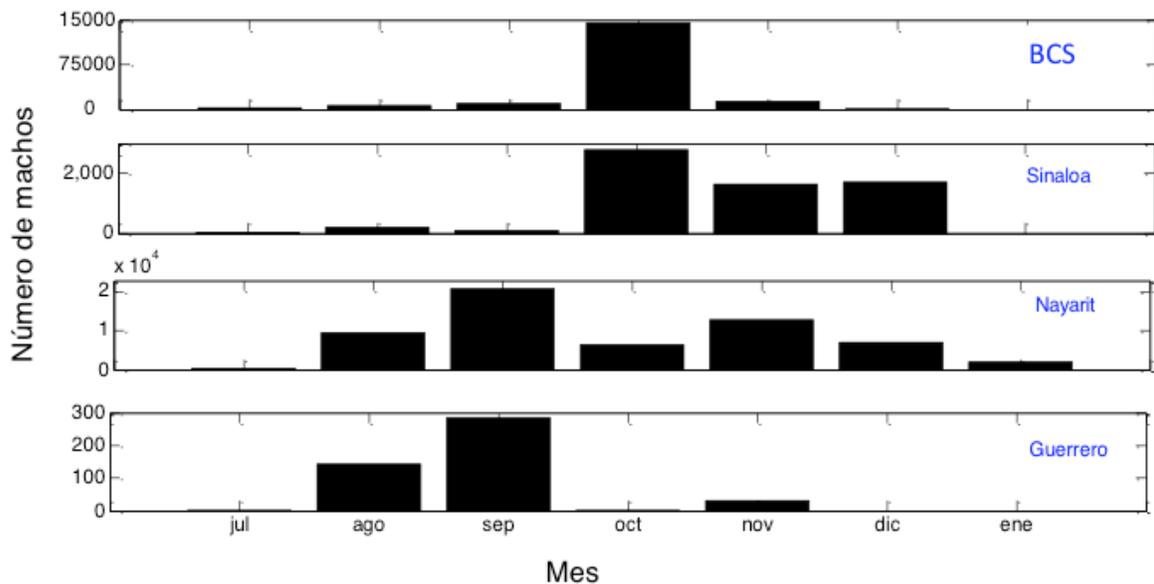


Figura 38. Distribución mensual del número de machos en los diferentes campamentos tortugeros estudiados.

Se calculó la proporción sexual total de la temporada de anidación (julio-diciembre), correspondiente al año 2009 para cada área de estudio. En BCS se obtuvo un 22 % de machos a lo largo de toda la temporada de anidación, para Sinaloa un 29 %, en el campamento de Platanitos, en Nayarit un 24 % de machos y finalmente en el área de Guerrero sólo un 0.08 %, debido a que sólo se contó con información durante agosto y septiembre, fue por ello que se obtuvo casi un 100 % de hembras durante la temporada (Tabla 4).

Para la temporada 2010 no se contó con las bitácoras de anidación de algunos campamentos tortugeros, por lo que sólo se hizo el análisis de las proporciones sexuales del área de BCS y Sinaloa.

La distribución de machos, indica que la frecuencia en BCS fue de 0 % de machos por nido, diferente a Sinaloa con una frecuencia de 10 % de machos por nido. En BCS hubo un total de 415 nidos y se obtuvo un 51 % de nidos en el grupo de 0 % de machos por nido. En Sinaloa hubo un total de 336 nidos en toda la temporada de anidación, un 24 % de nidos agrupados en la frecuencia de 0 % y un 40 %

concentrados en tener un 10 % de machos por nido, cabe señalar que en esta área tuvo un 16 % de nidos con un 100 % de machos (Apéndice 4, Tabla A4.1).

La distribución del número de machos de toda la temporada de anidación indica que la moda en BCS fue de 0 a 10 machos por nido, mientras que en Sinaloa de 10 a 20 (Apéndice 4, Tabla A4.2).

La distribución mensual de nidos en las áreas de estudio de 2010 mostró que como en el 2009, septiembre es el mes con más nidos, y en segundo lugar octubre. En BCS desde julio se encuentran machos en comparación con Sinaloa, donde sólo se encontraron nidos a partir de agosto. Con un 42 % de machos durante septiembre y un 31 % para el mes de octubre para el área de BCS, en Sinaloa se encontró un 42 % de machos en y un 25 % en octubre (Apéndice 4, Tabla A4.3).

La distribución mensual de la proporción de machos muestra que a partir de agosto en Sinaloa y desde julio en BCS, el mes con un cercano 100 % de machos es a partir del mes de noviembre para las dos áreas de estudio (Apéndice 4, Tabla A4.4).

La distribución mensual del número de machos, muestra que a partir de octubre hubo un gran porcentaje de machos para ambas áreas, cerca de 6,000 machos por temporada. En BCS los machos fueron encontrados a partir de octubre y en Sinaloa el mayor porcentaje de machos se obtuvo desde noviembre (Apéndice 4, Tabla A4.5).

Con el fin de tener un mejor y rápido entendimiento de las proporciones sexuales de la temporada de anidación por área de estudio, número de nidos y temporada de anidación se creó la Tabla 4.

Podemos analizar que para BCS, en los dos años hubo 22 y 23 % de machos durante las temporadas de anidación, pero cabe señalar que en la temporada

2009 hubo un total de 768 nidos y en el siguiente año sólo 415, es decir un 54 % menos de nidos. Aún así se conservó la proporción de machos. En Sinaloa hubo un 28 % y 32 %, respectivamente, y en 2010 hubo más nidos que en 2009, contrario a lo encontrado en BCS.

Tabla 4. Proporción sexual por temporada en diferentes áreas de estudio del Pacífico mexicano.

| Área de estudio | Año | Número de nidos | Total de huevos | Proporción sexual de machos, en la temporada de anidación |
|--------------------------------|------|-----------------|-----------------|---|
| Los Cabos, Baja California Sur | 2009 | 768 | 79, 675 | 0.22 |
| | 2010 | 415 | 43, 513 | 0.23 |
| Playa Ceuta, Sinaloa | 2009 | 232 | 22, 498 | 0.28 |
| | 2010 | 336 | 32, 037 | 0.32 |
| Platanitos, Nayarit | 2008 | 2652 | 246,215 | 0.24 |
| Tecpan de Galeana, Guerrero | 2009 | 955 | 55, 341 | 0.008 |

Se concluye que las proporciones sexuales aplicando la ecuación 17, representan una relación M:F para el área de BCS tanto para la temporada 2009 como la 2010 de 2M:7F. Para el área de Sinaloa en la temporada 2009, fue de 2M:5F y durante la temporada 2010 de 2M:4F, y para el área de Nayarit de 2M:4F.

8.8 PROPORCIÓN SEXUAL EN 15 CAMPAMENTOS TORTUGUEROS DEL PACÍFICO MEXICANO

A partir de los datos proporcionados por la CONANP de 15 campamentos tortugueros del Pacífico mexicano desde Las Barrancas, BCS, hasta Chacahua, Oaxaca (Fig. 39), se aplicaron los métodos anteriores para estimar la proporción sexual de machos, usando los datos de temperatura ambiental de la CONAGUA de la estación meteorológica más cercana a cada campamento. Las proporciones mostradas están normalizadas ya que consideran el total de nidos en cada caso.

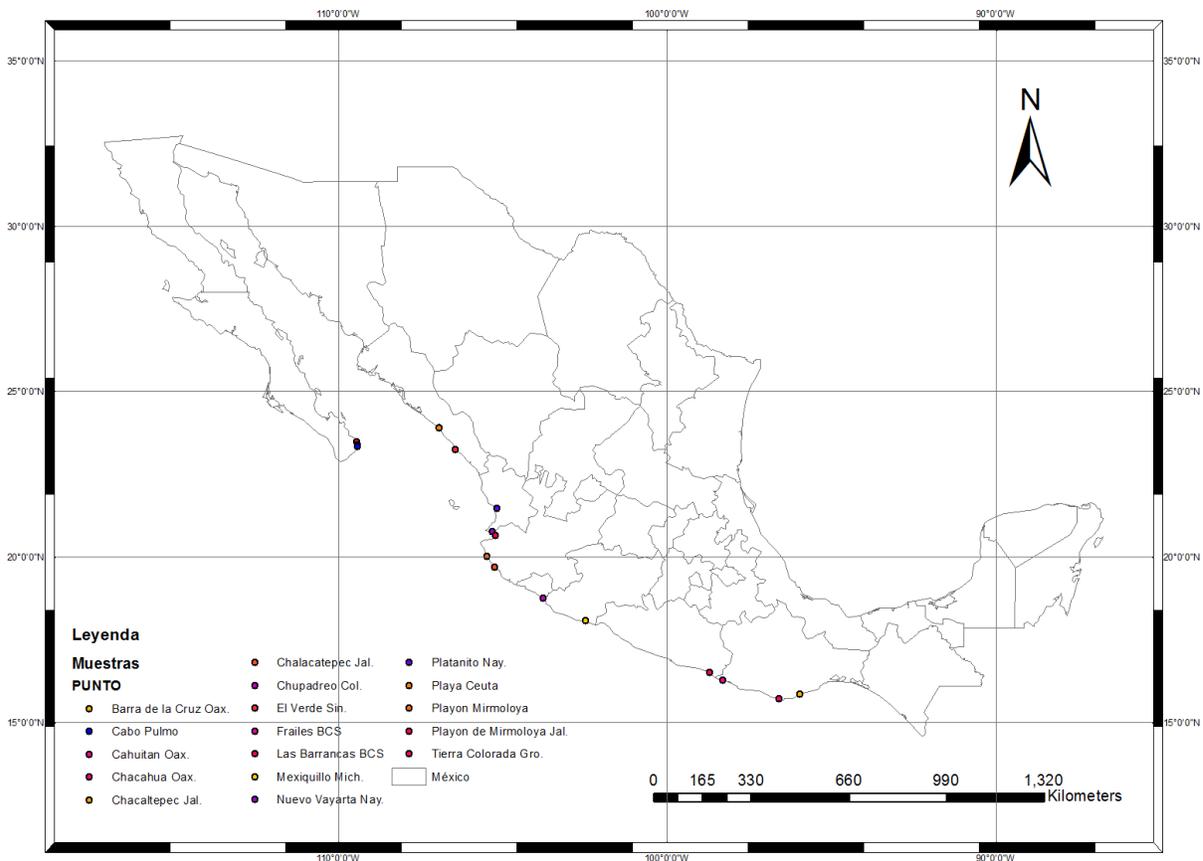


Figura 39. Áreas de anidación del Pacífico Mexicano, a cargo de la CONANP (Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas). 1. Barrancas, BCS; 2. Frailes, BCS; 3. Cabo Pulmo, BCS; 4. Playa Ceuta, Sinaloa; 5. El Verde, Sinaloa; 6. Platanitos, Nayarit; 7. Nuevo Vallarta, Nayarit; 8. Playón de Mismaloya, Jalisco; 9. Chalacatepec, Jalisco; 10. Chupadero, Colima; 11. Mexiquillo, Michoacan; 12. Tierra Colorada, Guerrero; 13. Cahuitán, Oaxaca; 14. Chacahua, Oaxaca; 15. Barra de la Cruz, Oaxaca.

Dado que se comprobó el pronóstico de la temperatura de la arena a partir de la temperatura ambiental fue satisfactorio, se aplicó la metodología mostrada de la sección 7.9. La gráfica mostró que son obtenidos los machos a partir la localidad de El Verde, Sinaloa, hasta Barra de la Cruz, Oaxaca. El campamento que más genera machos es Tierra Colorada, Guerrero, con un total de 1,310 nidos en la temporada 2009, de los cuales el 30 % fueron machos. El área con mayor número de nidos durante la temporada fue Nuevo Vallarta con 6,164 nidos, pero sólo tuvo un 18 % de machos. En los sitios que no muestran barras se debe a que no hay datos disponibles de anidación (Fig. 40).

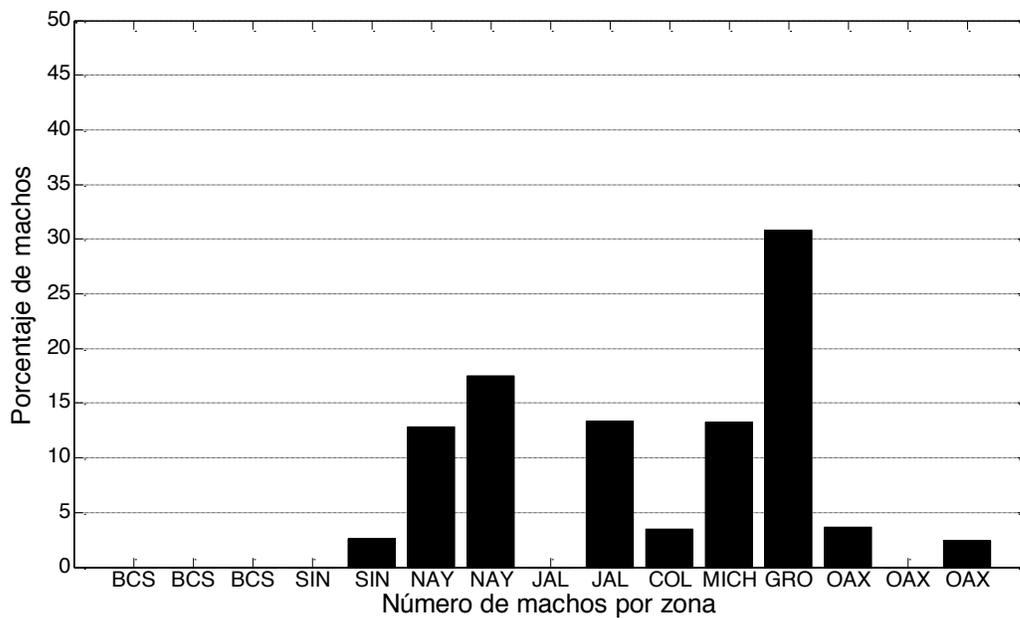


Figura 40. Proporción de machos en cada una de las 15 áreas de anidación del Pacífico mexicano en la temporada 2009 (Barrancas, BCS; Frailes, BCS; Cabo Pulmo, BCS; Playa Ceuta, Sinaloa; El Verde, Sinaloa; Platanitos, Nayarit; Nuevo Vallarta, Nayarit; Playón de Mismaloya, Jalisco; Chalacatepec, Jalisco; Chupadero, Colima; Mexiquillo, Michoacan; Tierra Colorada, Guerrero; Cahuitán, Oaxaca; Chacahua, Oaxaca).

En cuanto a la proporción de machos por mes, se observó que durante el verano el máximo se presentó en agosto, y en otoño durante noviembre, siendo las mayores proporciones las de fin de año (Fig. 41).

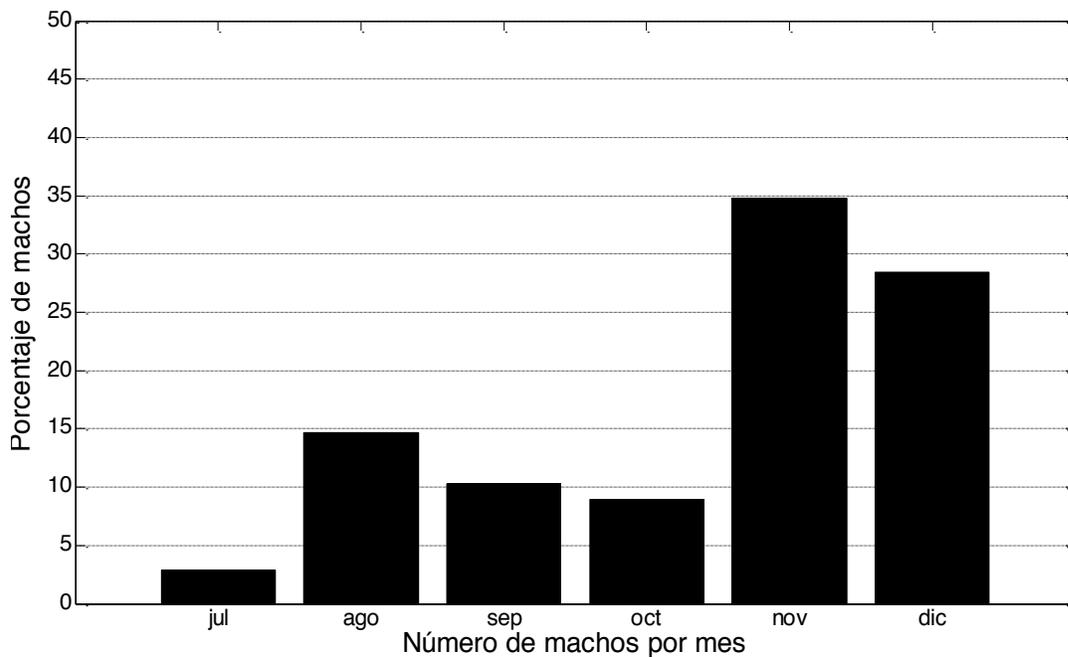


Figura 41. Proporción de machos por mes en playas de anidación del Pacífico mexicano en la temporada 2009, Barrancas, BCS; Frailes, BCS; Cabo Pulmo, BCS; Playa Ceuta, Sinaloa; El Verde, Sinaloa; Platanitos, Nayarit; Nuevo Vallarta, Nayarit; Playón de Mismaloya, Jalisco; Chalacatepec, Jalisco; Chupadero, Colima; Mexiquillo, Michoacan; Tierra Colorada, Guerrero; Cahuitán, Oaxaca; Chacahua, Oaxaca.

En el año 2010 se cuenta con menos datos de anidación, pero se observa un mayor porcentaje de machos a partir de Jalisco con un 23 % de machos pero conforme se avanza a menores latitudes se obtienen menos machos. El mayor número de nidos con 4,482 lo obtuvo Chalacatepec, Jalisco, en 2º lugar con 4,397 nidos fue Playón de Mismaloya, Jalisco. y por último en 3er lugar, Tierra Colorada con 1,058 nidos (Fig. 42).

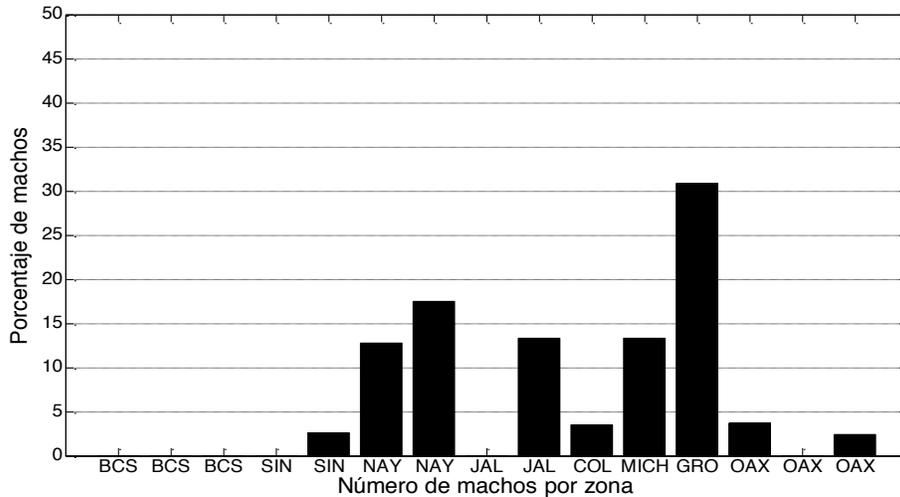


Figura 42. Proporción de machos por zonas de anidación del Pacífico mexicano en la temporada 2010: Barrancas, BCS; Frailes, BCS; Cabo Pulmo, BCS; Playa Ceuta, Sinaloa; El verde, Sinaloa; Platanitos, Nayarit; Nuevo Vallarta, Nayarit; Playón de Mismaloya, Jalisco; Chalacatepec, Jalisco; Chupadero, Colima; Mexiquillo, Michoacan; Tierra Colorada, Guerrero; Cahuitan, Oaxaca; Chacahua, Oaxaca.

En relación a el número de machos por mes en las 15 áreas de anidación pronosticadas, en septiembre se pronosticó un 31 % de machos y a partir de julio un 11 %, agosto un 17 % y en octubre un bajo porcentaje, noviembre muestra un 20 % y diciembre un 19 % (Fig. 43).

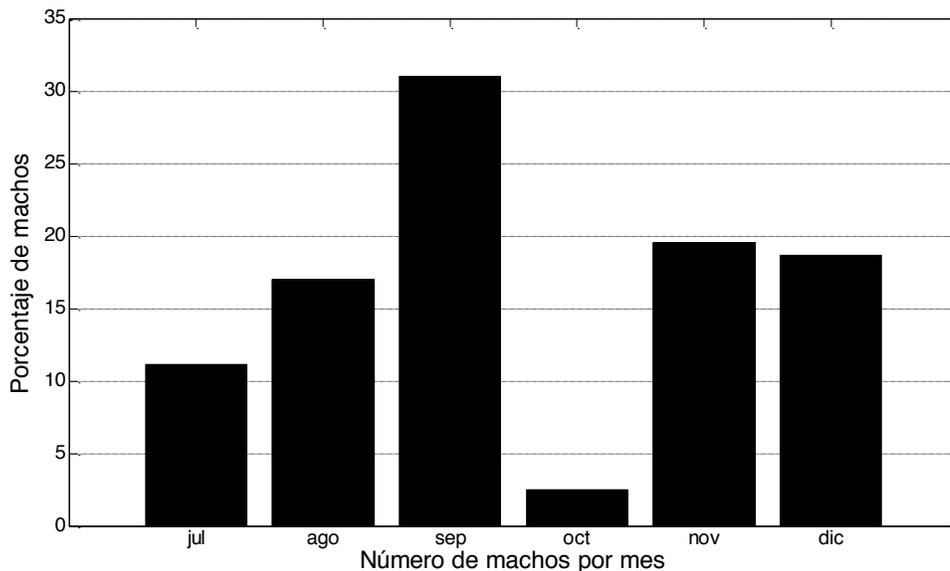


Figura 43. Proporción de machos por mes para el total de las áreas de anidación del Pacífico mexicano en la temporada 2010, Barrancas, BCS; Frailes, BCS; Cabo Pulmo, BCS; Playa Ceuta, Sinaloa; El verde, Sinaloa; Platanitos, Nayarit; Nuevo Vallarta, Nayarit; Playón de Mismaloya, Jalisco; Chalacatepec, Jalisco; Chupadero, Colima; Mexiquillo, Michoacan; Tierra Colorada, Guerrero; Cahuitan, Oaxaca; Chacahua, Oaxaca.

9. DISCUSIÓN

Además de las condiciones ambientales de las playas de anidación, es importante mantener: fluctuaciones moderadas de temperatura, baja salinidad, alta humedad, buen drenaje, buena aireación para favorecer el desarrollo embrionario, la supervivencia y lograr un mayor éxito de eclosión (Mortimer, 1995).

La temperatura de la arena es uno de los factores que influyen en la proporción de sexos y probablemente en la mortalidad de las crías (Mrosofsky & Yntema, 1980). Fueron registradas las temperaturas en 76 nidos de la tortuga marina *L. olivacea* en cuatro áreas del Pacífico mexicano, durante la temporada de anidación 2009 y 2010. Encontrándose para el área de Baja California Sur una temperatura máxima de 34 °C y una mínima de 25 °C, en Sinaloa de 37 y 21 °C, en Colima de 41 y 27 °C, y en Guerrero de 36 y 28 °C respectivamente.

Ackerman (1997) menciona que el rango de tolerancia óptimo para el desarrollo de los embriones en las tortugas marinas es de 25 a 35 °C, de acuerdo con esta información la única área de estudio en la que el rango de variación de temperaturas en los nidos es el adecuado para el buen desarrollo de los embriones es Baja California Sur. El área de estudio más crítica en cuanto a temperaturas letales se refiere, es Colima, ya que se encontraron temperaturas por arriba de los 40 °C, esto quiere decir una muerte masiva de los embriones. La problemática para Sinaloa es el fin de temporada, debido a que durante esta época es importante para la generación de machos, pero teniendo temperaturas debajo de los 20 °C, se esperan resultados letales. Para Guerrero, se encontraron pocos días con temperaturas letales altas aún a finales de temporada.

Mrosofsky (1980) menciona que la temperatura mínima requerida para el desarrollo es de aproximadamente 23 °C, a ésta temperatura el desarrollo embrionario es normal, pero lento, con más de 65 días para que las crías emerjan.

El embrión no puede eclosionar si la temperatura se mantiene por debajo de 22 °C durante un período prolongado cerca del momento de la eclosión. La temperatura máxima para el desarrollo es de aproximadamente 33 °C; en los extremos superiores de la temperatura el desarrollo es rápido y la posibilidad de anomalías en el desarrollo es mayor. Un cambio de 1 °C suma o resta aproximadamente 5 días para el periodo de incubación. En este estudio se encontraron temperaturas por arriba de los 34 °C así como por debajo de los 22 °C, por lo que se esperó un bajo éxito de eclosión para el área de Colima y fin de temporada en Sinaloa.

En cuanto al tiempo de incubación de toda temporada de anidación, se registraron para el área de BCS y Sinaloa, en los meses de julio a mediados de septiembre, eclosiones de 45 días, a partir de finales de septiembre hasta diciembre o enero de hasta 65-70 días. Para el área de Nayarit de julio a mediados de septiembre, los nidos eclosionaron en 50-52 días, y posteriormente con un máximo de 82 días. En Guerrero, a inicios de temporada empiezan a eclosionar los nidos desde 45 hasta 61 días de acuerdo a las bitácoras de anidación.

Valverde *et al.* (2010) en Playa Ostional, Costa Rica, encontraron temperaturas entre 31 y 38 °C en los nidos *in situ* de *L. olivacea*, analizados durante 2008 y 2009, una temperatura media de 35 °C con una baja tasa de eclosión. El tipo de arena de esta playa es oscura, similar a la encontrada en el área de Colima en la que se registraron las temperaturas de incubación más altas y una baja tasa de eclosión.

La anidación de tortugas marinas a lo largo de una playa elegida se piensa que es al azar para ciertas especies (Mrosovsky, 1983; Eckert, 1987) y no al azar para otras (Hays & Speakman, 1993; Hays *et al.*, 1995). Lo más probable es una combinación de factores que interactúan, incluyendo la temperatura de la arena, el tamaño del grano, el contenido de agua, la salinidad, la suavidad de arena, la presencia de alguna laguna, la longitud de la playa y la altura de la playa (Miller, 1985; Whitmore & Dutton, 1985). Los factores antropogénicos, tales como la

distancia de los asentamientos humanos, también pueden ser importantes (Kikukawa *et al.*, 1999).

El tamaño de las partículas de arena más común en las playas de anidación de la tortuga *C. caretta*, es entre 0.25 y 0.5 mm de diámetro, aunque también es frecuente la aparición de partículas mayores de 2 mm de diámetro (Hughes, 1974; Mann, 1977; Speakman *et al.*, 1998).

Yalçin-Özdilek & Sönmez (2006) en Samagdag, Turquía, encontraron el tamaño promedio de partícula de la arena de 350 μm en nidos de la tortuga *C. mydas*. Mortimer (1990) la analizó en Costa Rica, en el Atlántico, Índico y Pacífico e indica que las tortugas *C. mydas* anidan en arenas de tamaños muy variables por lo que este factor puede ser importante en la selección del sitio de anidación.

En este estudio, los tipos de arena encontrado en los corrales de incubación de las diferentes playas fueron: arena gruesa, moderadamente clasificada, asimétrica hacia arenas finas, principalmente compuesta de cuarzo, feldespatos y fragmentos de roca; en BCS: arena media a fina, cuarzo, fragmentos de roca y feldespato: en Sinaloa arena media a gruesa con fragmentos de roca, minerales metálicos y cuarzo en Colima y para Guerrero: arena media a gruesa, con cuarzo, fragmentos de roca y feldespato.

De acuerdo con varios autores el número de huevos en cada nidada varía entre nidadas, así como dentro y entre poblaciones. Sobre todo el rango es de 23 a 198 huevos por nido, con una media de 110 (Hirth, 1980; Dodd, 1988; Limpus *et al.*, 1985; Casas-Andreu, 1978). En este estudio el número promedio de huevos por nidada durante la temporada 2009 en Baja California Sur fue de 104 huevos por nido, con un total de 768 nidos en toda la temporada de anidación, y un total de 79,675 huevos, en la temporada 2010, un promedio de 105 huevos por nido, un total de 415 nidos y 43,513 huevos. En Sinaloa en 2009, se obtuvo un promedio de 97 huevos por nido, un total de 232 nidos con 22,498 huevos, para el 2010 un

promedio de 96 huevos por nido, un total de 336 nidos con 32,037 huevos. En Nayarit, con un total de 1137 nidos, un promedio de 91 huevos por nido y un total de 103,070 huevos en toda la temporada. Para Guerrero, se contaron con 193 nidos, un promedio de 58 huevos por nido y un total de 55,161 huevos.

Limpus *et al.* (1979) observó que existe un periodo crítico durante la incubación de huevos, causando la muerte de los embriones debido al movimiento de los huevos, en la tortuga *C. caretta*, al trabajar con cuatro nidos, se encontró que los huevos trasladados después de la ovoposición obtuvieron un 70-100% de éxito de eclosión, los trasladados 12 h después causó la disminución del 30% sobre el éxito de eclosión, los que se les aplicó un movimiento entre el día 1 y 8 después de la ovoposición, el éxito de eclosión se redujo a 67% o más, por lo tanto el periodo crítico es menos de 12 horas.

De acuerdo con Miller (1985) y Bellairs (1991) una vez que son colocados los huevos en la arena, la primera división comienza pocas horas después de la fecundación, sin embargo, el desarrollo se suspende en la gastrulación hasta la ovoposición. Sin embargo de acuerdo a información por Limpus *et al.* (1979) y Miller (1985) una vez ovopositado, el desarrollo se reanuda en unas pocas horas (4-8, dependiendo de la temperatura). La resiembra (o movimiento) de los huevos de reanudado el desarrollo, provoca la ruptura de las membranas delicadas y los resultados en la muerte del embrión. Parmarter (1980) encuentra que los embriones siguen siendo susceptibles a los movimientos inducidos por la mortalidad hasta que el embrión y sus membranas se han desarrollado a través de 20 a 25 días (aproximadamente 50%) de la incubación.

Debido a lo anterior, al realizar los experimentos de incubación, hubo acciones críticas por lo que posiblemente se obtuvo un bajo éxito de eclosión en la nidada incubada a temperaturas constantes como: 1) la recolecta de la nidada al traslado y resiembra en cada una de las cinco cajas de poliestireno, pasaron alrededor de 8 horas, 2) debido a que no se mantuvo constante la temperatura ambiente, ésta

también afectó para mantener constante la temperatura en cajas, a pesar de tener la placa de calefacción, 3) al inicio del tercer tercio del período de incubación hubo un corte eléctrico en el área acondicionada y por lo tanto, disminuyó notablemente la temperatura en cuatro de las cinco cajas de incubación.

Diferentes autores han encontrado una temperatura pivote en la especie *L. olivacea* cercana a 30 °C, por ejemplo: Paukstis & Janzen (1990) encontraron en Costa Rica una temperatura pivote de 29.13 °C, Mohanty-Hejmadi y Dimond (1986) reportaron 29 °C en la India; Mc Coy *et al.* (1983) cercana a 30 °C y Wibbels *et al.* 1998 cercana a 31 °C, ambos autores en Costa Rica, y en el presente estudio se encontró de 29.99 °C,

Con los datos de Mrosovsky (1988) de la tortuga *C. caretta* en Florida y Carolina del Norte se ajustó la curva de Girondot (1999) con el fin de estimar la proporción de machos como función de la temperatura de anidación, para diferentes latitudes, se demostró estadísticamente con estos dos conjuntos de datos que la temperatura pivote es un parámetro conservador, independiente de la nidada y de la zona geográfica.

Los umbrales de temperatura calculados para la masculinización y la feminización con este método fueron de 27.1 y 32.9 °C, respectivamente, lo que amplió el rango conocido de transición de 28 y 32 °C encontrado por Mc Coy *et al.* (1983).

Desde el uso generalizado del modelo Girondot será posible simular cambios en la proporción de sexos de las tortugas marinas debido a los posibles eventos de calentamiento global que afectan a la temperatura de incubación. Las ecuaciones para estimar los umbrales de masculinización y feminización de las tortugas marinas representan un método estandarizado para utilizar la información experimental disponible y podría aplicarse a otras especies de tortugas marinas.

De acuerdo a Christensen *et al.* (2007) en el tema del posible calentamiento

global, los modelos predicen que la región de México y Centroamérica entre los años 2000 y 2100, será mayor que en el resto del globo, mientras que la precipitación decrecerá significativamente, por lo que las anomalías térmicas se incrementaran de 1.5 a 3 °C en el escenario más frío y de 3 a poco más de 5 °C, en el más cálido.

Las costas y mares mexicanos presentan cambios derivados de otros eventos naturales, tales como El Niño-La Oscilación del Sur (ENOS) y la Oscilación Decadal del Pacífico Norte (OPN) en el Pacífico mexicano. El Niño influye en la costa nororiental y oriental mexicana, a través de la intensificación de los vientos del norte (nortes); y en los años posteriores a este evento disminuye la frecuencia de los huracanes y tormentas tropicales en el Atlántico (Christensen *et al.*, 2007).

La tendencia de la temperatura ambiental durante el siglo XX en las diferentes playas de México presenta particularidades regionales. Por ejemplo, en Rancho Nuevo Tamaulipas, donde anida la tortuga *L. kempii*, hubo dos etapas en que las anomalías térmicas positivas fueron más frecuentes. La primera fue hacia finales de la década de los 40's, y la segunda a mediados de los años 70's. Las anomalías se intensificaron a partir de 1990, como en otras partes del mundo (Hildore, 1996), entre ese año y 2003 (Jiménez-Quiroz, 2003). Por otro lado, en la costa de Jalisco con la tortuga *L. olivacea*, también hubo dos periodos: el primero ocurrió alrededor de los años 50's, y el segundo entre 1970 y 2007. Los modelos AOGCM de Christensen *et al.* (2007) prevén que una de las regiones en donde los cambios serán más acusados es el Golfo de Tehuantepec (Playa La Escobilla y el Morro) donde son las anidaciones más importantes de *L. olivacea* en el mundo.

La etapa cálida del evento de El Niño-La Oscilación del Sur (ENOS) y la fase positiva de la Oscilación Multidecadal del Atlántico (OMA), en las cuales las masas de agua cálida arrastradas desde el Pacífico central durante El Niño modifican significativamente el clima y las características de la capa de mezcla, lo que

merma la producción del Pacífico; mientras que durante La Niña predomina la influencia de la corriente de California y la productividad se incrementa.

Uno de los efectos más evidentes del calentamiento que ocurre durante El Niño es la ampliación del área de distribución de las especies, por lo que se han observado ejemplares de *D. coriacea* y *C. caretta* hasta el Golfo de Alaska (Whiteford, 1999).

De acuerdo a Botello *et al.* (2010) el ENOS de mayo de 1997 a abril de 1998 produjo cambios significativos en las poblaciones de tortugas del Pacífico oriental. Por ejemplo en la Escobilla, Oaxaca, la anidación de la tortuga se mantuvo creciente desde 1989, mientras que en la temporada de 1998, cuando persistían las condiciones cálidas, decreció significativamente. La anidación se recuperó durante La Niña de 1999-2000, cuando alcanzó las abundancias más acusadas del periodo 1995-2005. Esta tendencia también se observó en la anidación de esta especie en playas de Colima y Jalisco. Cabe mencionar que estas variaciones sólo se presentaron durante los eventos más intensos, no así durante los débiles o moderados.

El efecto de El Niño también ha sido documentado en las colonias de Australia y Japón en la tortuga *C. caretta* del Pacífico (Chaloupka *et al.*, 2008). Durante éste evento se disminuye la cantidad de alimento, lo que a su vez repercute en la anidación y el reclutamiento; por el contrario durante La Niña se incrementa la productividad oceánica y la abundancia de las presas, lo que favorece la capacidad reproductiva de estas especies. Esto permite suponer que la cantidad de juveniles que lleguen a la costa occidental de Baja California en años posteriores a los eventos de El Niño, será menor que después de La Niña, sin embargo no hay evaluaciones al respecto, también de acuerdo a Lluch-Cota *et al.* (1999) las surgencias invernales que normalmente se producen en ese litoral disminuyen significativamente durante El Niño, lo que repercute en la productividad de la zona.

En el norte de Australia e Indonesia, Limpus y Nicholls (1988) encontraron que las variaciones de *C. mydas* estuvieron correlacionadas, aunque desfasadas en un lapso de dos años, con el índice de la Oscilación del Sur, evento atmosférico asociado con El Niño. Ellos encontraron que las variaciones de la temperatura, la biomasa de macroalgas en el área de forrajeo y la abundancia de la tortuga *C. mydas* en la playa de anidación estaban relacionados.

Es por eso y otros factores que se cree que las anidaciones en cada uno de los campamentos variaron de un año a otro, debido también a que sólo se analizaron dos temporadas de anidación, y que las hembras no anidan cada año sino en promedio cada tres años.

Durante los últimos 50 años, algunas de las playas son críticas para la anidación ya que han cambiado sus temperaturas, por lo que se producen solo crías hembras, presumiblemente como resultado de actividades antropogénicas como: los cambios en el hábitat de anidación y los aumentos globales más sutiles en la temperatura.

De acuerdo al Convenio sobre las especies migratorias (UNEP/CMS Convention on Migratory Species and DEFRA, 2006) mientras que las poblaciones de tortugas parecen funcionar con éxito aún con una mayor proporción de hembras (Macho:Hembra=1:2 o 1:3), probablemente debería haber preocupación si la proporción de sexos regional para la especie fuera de 4:1 (M:F)

Bhupathy y Karunakaran (2003) analizaron la proporción sexual en Nagapattinam, India, en la tortuga *L. olivacea* de 1:3 (M:F), Valadez-González *et al.* (2000) en La Gloria, Jalisco, una relación de 3:7 (M:F), ellos observaron que la proporción de sexo cambia a lo largo de la temporada de anidación, por lo tanto de agosto a principios de octubre encontraron 100% de hembras y a finales de octubre de 1:1 (M:F), por último en noviembre y diciembre un 100% de machos. Garcia *et al.*

(2003) con la misma especie pero en Cuixmala, Jalisco, se obtuvo un sesgo a hembras; Ruíz- Vallejo (2002) en Manzanillo, Colima, se obtuvo un porcentaje global de 90.49% de machos y 9.50% de hembras.

La relación Macho:Hembra en el presente estudio para el área de BCS durante la temporada 2009 y 2010 fue de 2:7 o 3:10; para el área de Sinaloa en la temporada 2009, de 2:5 y durante la temporada 2010 de 2:4, 2:4 y 3:6. Por último para el área de Nayarit de 1:2, 2:6 y 3:9. Por lo tanto se nota que existe variación entre los resultados obtenidos y los de los autores arriba mencionados, y esto muestra que no hay estudios completos de temperaturas de incubación en áreas del Pacífico mexicano, por lo que para hablar de una proporción sexual en una área de anidación debe cumplir ciertos requerimientos como: registro de la temperatura durante todo el día con un sensor digital, durante toda la temporada de anidación, no solo a ciertas horas del día y ciertos meses, por lo tanto tendrá que ser de (julio a diciembre) ya que en estos meses se presentan diferentes ambientes como: lluvias, huracanes, nubosidad, arroyos y vegetación, es por eso que se propone cubrir toda la temporada y como último punto analizar varios campamentos tortugeros a lo largo del Pacífico mexicano por varias temporadas de anidación.

Debido a que algunas playas ya exceden el límite letal de incubación (34 °C), en playas tropicales del norte de Australia, las tortugas marinas anidan en invierno, mientras que las mismas especies en el oeste de Australia anidan a mediados de verano pero en playas frías (Limpus, 2008).

Por el contrario, en el sur de la Gran Barrera de Coral, los estudios comenzaron en 1968, y nunca se registraron temperaturas en la arena letales de 34 °C. Pero desde diciembre del 1997 a enero del 1998, en Mon Repos (Australia) las temperaturas en la arena alcanzan los 36 °C durante la temporada de anidación. En respuesta a estas excesivas temperaturas, se ha incrementado el debilitamiento e incluso la muerte de huevos y crías. Esto quiere decir que con nuevos aumentos en las temperaturas de verano, habrá descensos significativos

en el éxito de eclosión y emergencia de las crías en las playas, que hasta hace poco eran buenas incubadoras de huevos de tortuga (Limpus, 2008).

En cuanto a la hipótesis de que las tortugas marinas vuelven a desovar en la playa a la donde nacieron (Limpus, 2008), esto implicaría una asociación de criaderos estáticos con específicas localidades. Sin embargo, se etiquetaron crías de *C. caretta*, en Mon Repos y regresaron a anidar alrededor de los 30 años de edad pero no sólo en el área de Mon Repos, sino vuelven a reproducirse en muchas playas de la región, y vinculando estos resultados y a las observaciones, se debe tener en cuenta una hipótesis alternativa en relación con la fidelidad a los sitios de reproducción ancestrales: las poblaciones de tortugas marinas pueden volver a la misma área de cría, mientras que el medio y las condiciones se mantengan estables, pero pueden cambiar a nuevos sitios de reproducción en respuesta a los cambios en las señales ambientales como la temperatura del mar, la estabilidad de la playa y la proximidad a las corrientes oceánicas adecuadas para la dispersión de las crías en etapa pelágica y de las zonas de alimentación.

La hipótesis de Limpus (2008) se puede confirmar en las playas del campamento tortuguero de Los Cabos. Del año 2006 al 2009 el campamento cubría sólo 35 km de playa de anidación a partir del corredor turístico y desde el 2009 cubren un total de 50 km posiblemente debido a que las tortugas se han estado alejando más hacia el norte de la península.

Posneonatos de las tortugas se alimentan de plancton en el océano abierto, pero el plancton no se distribuye uniformemente en los océanos. Se agrega a lo largo de las zonas de convergencia y surgencia. Esta fase pelágica oceánica es la menos entendida o investigada en la vida de la tortuga marina, por lo tanto es donde se produce la mayor incertidumbre en la comprensión de los impactos potenciales del cambio climático en las tortugas, ya que la ubicación de estas zonas ricas en plancton en el océano abierto se esperaran que varíen entre los años, en respuesta al cambio climático y al calentamiento global continuo. Después de la eclosión las migraciones deben cambiar en respuesta a cambios en

la distribución de masas de agua y plancton (Limpus, 2008).

Fuentes *et al.* (2010) mencionaron que a pesar de que las temperaturas están aumentando y que se espera en un futuro un sesgo hacia las hembras el modelo de predicción establece que se seguirán obteniendo machos, o como menciona Limpus (2008), hay una serie de variables de temperatura, que ejercen una presión selectiva sobre la biología de anidación de tortugas marinas: playas de arena blanca son más frías que las playas de arena oscura, playas templadas son más frías que las playas tropicales, las playas son más frías en invierno que en verano. No se puede afirmar en México que sucederá o está sucediendo, por lo que se debe poner énfasis en las áreas donde anteriormente no había anidaciones, en el registro de regímenes térmicos continuos, así como la toma de muestras genéticas para ver como se están moviendo las poblaciones de tortugas marinas en el Pacífico mexicano. También poner más empeño en el marcaje de las hembras anidantes, hacer una base de datos en Internet, donde cada encargado de los campamentos del país, pueda registrar las anidaciones en su campamento o si aparecieron en otro, esta técnica sirve más que la telemetría, primeramente por su bajo costo y segundo por su facilidad de manejo.

A pesar de que las tortugas marinas han estado entre los sobrevivientes de los cambios climáticos más dramáticos y en las fluctuaciones del nivel del mar, y se han expandido desde hace decenas de millones de años, desde la edad de los dinosaurios, en términos generales, el cambio climático no debe ser una amenaza para la supervivencia de las tortugas marinas.

10. CONCLUSIONES

- El pronóstico de la temperatura en los nidos al aplicar el modelo estadístico (Sandoval, 2008) funcionó adecuadamente a pesar de las variaciones en cada área de estudio del Pacífico mexicano.
- Con el pronóstico de la temperatura en el corral de incubación, a partir de la temperatura ambiental o de datos de temperatura de estaciones meteorológicas se cumple con el propósito de conocer la proporción sexual en cada área de estudio.
- A partir de Mrosovsky (1988) se demostró que la curva generada por el modelo de Girondot es intrínseca para la tortuga *C. caretta*, por lo que a *Lepidochelys olivacea* se aplicó el supuesto de que la curva es representativa de la especie, independiente del área geográfica.
- Las ecuaciones propuestas en este estudio para estimar los umbrales de masculinización y la feminización de las tortugas marinas representan un método estandarizado para utilizar la información experimental disponible y podría aplicarse a otras especies de tortugas marinas.
- Se encontró una temperatura pivote de 29.95 °C, para *L. olivacea* para el área del Pacífico mexicano.
- Los umbrales de temperatura se ampliaron a 27.1 y 32.9 °C, respecto a los valores conocidos de temperaturas masculinizante y feminizante de 28 y 32 °C anteriormente conocidos.
- A pesar de encontrar al inicio de la temporada (julio, agosto) y media temporada (septiembre, octubre) un cercano 100% de hembras, a fin de temporada se encontró un cercano 100% de machos para las áreas de

Sinaloa y Baja California Sur, aunque la proporción de machos es alta al final de temporada, es cuando menos incidencia de nidos se encuentran.

- Las relaciones M:F simplificadas (en valores enteros de M y F) para el área de BCS. tanto para la temporada 2009 como la 2010 presentó una proporción de 2:7, para el área de Sinaloa en la temporada 2009 de 2:5 y durante la temporada 2010 de 2:4, por último para el área de Nayarit fue de 2:4.

11. LITERATURA CITADA

- Ackerman, R.A. 1994. Temperature time and reptile egg water exchange. *Journal of Zoology*, 40:293-306.
- Ackerman, R.A. 1997. The nest environment and the embryonic development of sea turtles. En: Lutz, P.L. & J.A. Musick (Ed.) *The Biology of Sea Turtles*. CRC Press, Boca Raton, Florida, 83-106 p.
- Bellairs, R. 1991. Overview of early stages of avian and reptilian development. En: Demming D.C. & M.W.J. Ferguson (Ed.) *Egg incubation: Its effects on embryonic development in birds and reptiles*. Cambridge University Press, Cambridge, U.K., 371-383 p.
- Beltrán, M.A., A.C. Gallardo, A.S. Mendivil & M.S. Napsusiali. 1994. Contribución al conocimiento de la flora en Playa Ceuta. Escuela de Biología, Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, 130 p.
- Botello, A.V., S. Villanueva-Fragoso, J. Gutierrez & J.L. Rojas Galaviz. 2010. Vulnerabilidad de las zonas costeras mexicanas ante el cambio climático. Semarnat-INE, UNAM-ICMyL., Universidad Autónoma de Campeche. 514 p.
- Bowen, B.W., A.M. Clark, F.A. Abreu-Grobois, A. Chaves, H.A. Reichart, & R.J. Ferl. 1998. Global phylogeography of the ridley sea turtles (*Lepidochelys* spp.) as inferred from mitochondrial DNA sequences. *Genetica*, 101(3):179-189.
- Bhupathy, S. & R. Karunakaran. 2003. Conservation of olive Ridley sea turtle *Lepidochelys olivacea* (Reptilia/Chelonia) along the Nagapattinam coast, southeast coast of India. *Indian Journal of Marine Science*, 32(2)168-171.

- Bull, J.J. 1980. Sex determination in reptiles. *The Quarterly Review of Biology*, 55:3-21.
- Bull, J.J. & E.L. Charnov. 1988. How fundamental are Fisherian sex ratios?. *Oxford Surveys in Evolutionary Biology*, 5:96-135.
- Casas-Andreu, G. 1978. Análisis de anidación de las Tortugas Marinas del Género *Lepidochelys* en México. *Anales del Centro de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México*, 5(1):141-157.
- Chaloupka, M., N. Kamezaki & C. Limpus. 2008. Is climate change affecting the population dynamics of the endangered Pacific loggerhead sea turtle?. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 356(1-2):136-143.
- Charnier, M. 1966. Action de la température sur la sex-ratio chez l'embryon d'*Agama agama* (Agamidae, Lacertilien). *Comptes Rendus des Séances de la Société de Biologie, Paris*, 160:620-622.
- Charnov, E.L. 1975. Sex ratio selection in an age structured population. *Evolution*, 29 :366-368.
- Chen, Y., Jackson, D.A., Harvey, H.H., 1992. A comparison of von Bertalanffy and polynomial functions in modelling fish growth data. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 49:1228-1235.
- Christensen, J.H., B. Hewitson, A. Busuioc, A. Chen, X. Gao, I. Held, R. Jones, R.K. Kolli, W-T. Kwon, R. Laprise, V. Magaña Rueda, L. Mearns, C.G. Menéndez, J. Räisänen, A. Rinke, A. Sarr & P. Whetton. 2007. Regional Climate Projections. En: Solomon S., D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K.B. Averyt, M. Tignor & Millers H.L (Ed.) *Climate Change 2007. The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth*

- Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, USA. 847-940 p.
- Ciofi, C. & I.R. Swingland. 1997. Environmental sex determination in reptiles. *Applied Animal Science Behavior*, 51:251-265.
- Cogger, H.G. & D.A. Lindner. 1969. Marine turtles in northern Australia. *Australian Zoologist*, 15:150-159.
- Cogger, H.G. 1992. Reptiles and Amphibians of Australia. Fifth edition. New South Wales, Australia, Reed International Books, 697-724 p.
- Conway, S. 1994. Diets and feeding biology of adult olive ridley (*Lepidochelys olivacea*) and loggerhead (*Caretta caretta*) sea turtles in Fog Bay, Northern Territory. Hons. Thesis. Darwin: Northern Territory University.
- Dalrymple, J.H., J.C. Hampp & D.J. Wellins. 1985. Male-biased sex ratio in a cold nest of a hawksbill sea turtle *Eretmochelys imbricata*. *Journal of Herpetology*, 19(1):158-159.
- Deeming, D.C. 2004. Prevalence of TSD in crocodylians, En: Temperature-Dependent Sex Determination in Vertebrates, N. Valenzuela & V.A. Lance (Ed.) Smithsonian Books, Washington, D.C, USA, 33-41 p.
- Dodd, C.K., Jr. 1988. Synopsis of the biological data on the loggerhead sea turtle *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758). USFWS *Biological Report*, 88:1-110.
- Eckert, K.L. 1987. Environmental unpredictability and leatherback sea turtle (*Dermochelys coriacea*) nest loss. *Herpetologica*, 43:315-323.

- Eschscholtz, J.F. 1829. Eintheilung der Elateriden in Gattungen. *Entomologisches Archiv*, 2:31-35.
- Ewert, M.A., D.R. Jackson & C.E. Nelson. 1994. Patterns of temperature-dependent sex determination in turtles. *Journal of Experimental Zoology*, 270:3-15.
- Ewert, M.A., C.R. Etchberger & C.E. Nelson. 2004. Turtle sex-determining models and some TSD patterns correlates. En: Valenzuela N. & V.A. Lance. *Temperature-Dependent Sex Determination in Vertebrates* (Ed.) Smithsonian Books, Washington, D.C., USA, 21-32 p.
- Folk, R.L. 1954. The distinction between grain size and mineral composition in sedimentary rock nomenclature. *Journal of Geology*, 62(4):344-359.
- Fuentes, M., M. Hamann & C.J. Limpus. 2010. Past, current and future thermal profiles of green turtle nesting grounds: Implications from climate change. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 383:56-64.
- Garcia, A., G. Ceballos & R. Adaya. 2003. Intensive Beach Management as an improved sea turtle conservation strategy in Mexico. *Biological Conservation*, 111:253-261.
- Girondot, M. 1999. Statistical description of temperature-dependent sex determination using maximum likelihood. *Evolutionary Ecology Research*, 1:479-486.
- Godfrey, M.H., R. Barreto & N. Mrosovsky. 1996. Sex ratios of sea turtles in Suriname: past and present. En: Keinath J., Barnard, D., Musik J. & B. Bell (Ed.) *Proceeding of the Fifteenth Annual Workshop on Sea Turtle Biology and Conservation*. NOAA Technical Memorandum, 100 p.

- Godfrey, 1997. Sex ratios of sea turtle hatchlings: direct and indirect estimates. Thesis for Doctor of Philosophy. University of Toronto. Canada, 181 p.
- Godfrey, M.H., A.F. D'Amato, M.A. Marcovaldi & N. Mrosovsky. 1999. Pivotal temperature and predicted sex ratios for hatchling hawksbill turtles from Brazil. *Canadian Journal of Zoology*, 77:1465-1473.
- Godley, B.J., A.C. Broderick & N. Mrosovsky. 2001. Estimating hatchling sex ratios of loggerhead turtles in Cyprus from incubation durations. *Marine Ecology Progress Series*, 210:195-201.
- Gross, T.S., D.A. Crain, K.A. Bjorndal, A.B. Bolten & R.R. Carthy. 1995. Identification of sex in hatchling loggerhead turtles (*Caretta caretta*) by analysis of steroid concentration in chorioallantoic/amniotic fluid. *General and Comparative Endocrinology*, 99:104-210.
- Harlow, P.S. 2004. TSD in Lizards, in Temperature-Dependent Sex Determination in Vertebrates, En: Valenzuela N. & V.A. Lance (Ed.) *Smithsonian Books*, Washington, DC, USA, 42-52 p.
- H. Ayuntamiento de Tecpan de Galeana, Secretaría General. 2009. *Centro Nacional de Desarrollo Municipal, Gobierno del Estado de Guerrero*. Enciclopedia de los Municipios de México.
- Hays, G.C. & J.R. Speakman. 1993. Nest placement by loggerhead turtles, *Caretta caretta*. *Animal Behavior*, 45:47-53.
- Hays, G.C., A. Mackay, C.R. Adams, J.A. Mortimer, J.R. Speakman & M. Boerema. 1995. Nest site selection by sea turtles. *Journal of the Marine Biology Association of the United Kingdom*, 75:66-674.

- Hewavisenthi, S. & C.J. Parmenter. 2002. Egg components and utilization of yolk lipids during development of the flatback turtle *Natator depressus*. *Journal of Herpetology*, 36:43-50.
- Hawkes, L.A., A.C. Broderick, M.H. Godfrey, & B.J. Godley, 2009. Climate change and marine turtles. *Endangered Species Research*, 7:137-154.
- Hildore, J. 1996. Global Environmental Change. Its nature and impact Hall, USA, 263 p.
- Hughes, G.R. 1974. The sea turtles of south-east Africa. II. The biology of the Tongaland loggerhead turtle *Caretta caretta* L. with comments on the leatherback turtle *Dermochelys coriacea* L. and the green turtle *Chelonia mydas* L. in the study region. Oceanographic Research Institute Investigational Report, 36:96.
- Humason, G.L. 1979. *Animal tissue techniques*. 4a ed. W.H. Freeman and Company. San Francisco, 661 p.
- Hirth, H.F. 1980. Some aspects of nesting behavior and reproductive biology of sea turtles. *American Zoologist*, 20:507-523.
- INEGI, 2003. Anuario de estadística por entidad federativa. Instituto Nacional de Geografía e Informática. México, 708 p.
- IUCN. 2012. IUCN Red List of Threatened Species. IUCN, Gland, Switzerland. [Http://www.redlist.org](http://www.redlist.org).
- Janzen, F.J. & G.L. Paukstis. 1991. Environmental sex determination in reptiles: ecology, evolution, and experimental design. *The Quarterly Review of Biology*, 66:149-179.

- Jiménez-Quiroz, M.C. 2003. Relación entre las variables ambientales y la reproducción de la tortuga lora (*Lepidochelys kempfi*, Garman, 1880) en la playa Rancho Nuevo, Tamps. Tesis de doctorado. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México, México, 320 p.
- Kikukawa, A., N. Kamezaki & H. Ota. 1999. Factors affecting nesting beach selection by loggerhead turtles (*Caretta caretta*): a multiple regression approach. *Journal of Zoology*, 249(4):447-454.
- Lance, V.A., N. Valenzuela & P. Von Hildebrand. 1992. A hormonal method to determine the sex of hatchling giant river turtles, *Podocnemis expansa*. Application to endangered species research. *American Zoologist*, 32:16A.
- Lang, J.W. & H.V. Andrews. 1994. Temperature-dependent sex determination in crocodylians. *Journal of Experimental Zoology*, 270:28-44.
- Limpus, C.J., V. Baker & J.D. Miller. 1979. Movement induced mortality of loggerhead eggs. *Herpetologica*, 35:335-338.
- Limpus, C.J., C.J. Parmenter, V. Baker & A. Fleay. 1983. The Crab Island sea turtle rookery in the northeastern Gulf of Carpentaria. *Australian Wildlife Research*, 10:173-184.
- Limpus, C.J., P. Reed & J.D. Miller. 1985. Temperature dependent sex determination in Queensland sea turtles: intraspecific variation in *Caretta caretta*. En: Grigg G., R. Shine & H. Ehmann (Ed.) *Biology of Australian Frogs and Reptiles*. Surrey Beatty and Sons, Sydney, Australia, 343-351 p.
- Limpus, C.J. & N. Nicholls, 1988. The southern Oscillation regulates the annual numbers of green turtles (*Chelonia mydas*) breeding around Northern Australia, *Australian Journal Wildlife Research*, 15:157-161.

- Limpus, C.J. 1992. Indo-Pacific marine turtle identification key. A biological review of Australian marine turtle species. 4. Olive Ridley turtle *Lepidochelys olivacea* (Eschscholtz). Environmental Protection Agency, Brisbane, 26 p.
- Limpus, C.J. 2008. A biological review of Australian marine turtles. 4. Olive Ridley turtle *Lepidochelys olivacea* (Eschscholtz). *Queensland Government, Environmental Protection Agency*, 26 p.
- Limpus, C.J. 2008. A biological review of Australian marine turtle species. Loggerhead turtle, *Caretta caretta* (Linnaeus), Environmental Protection Agency, Brisbane, 66 p.
- Lluch-Cota, D., D. Lluch-Belda, S. Lluch-Cota, J. López-Martínez, M. Nevárez-Martínez, G. Ponce-Díaz, G. Salinas-Zavala, A. Vega-Velazquez, J.R. Lara-Lara, G. Hamman & J. Morales. 1999. Las Pesquerías y El Niño. En: V.O. Magaña-Rueda (Ed.) Los impactos de El Niño en México. Universidad Nacional Autónoma de México-Secretaría de Gobernación. México, 137-178 p.
- López-Correa, J. 2010. Diferenciación gonádica en crías de tortuga *Lepidochelys olivacea* (Eschscholtz, 1829) (Testudinada: Cheloniidae). Tesis de Doctorado en Ciencias. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituto Politécnico Nacional. México, 96p.
- López-Correa, J., M.A. Porta-Gándara, J.Gutiérrez & V.M. Gómez-Muñoz. 2010. A novel incubator to simulate the natural thermal environment of sea turtle eggs. *Journal of Thermal Biology*, 35:138-142.
- Mann, T.M. 1977. Impact of developed coastline on nesting and hatchling sea turtles in southeastern Florida. M.S. Thesis, Florida Atlantic University, Boca Raton, 100 p.

- Marcovaldi, M.A., M. Godfrey, & N. Mrosovsky. 1997. Estimating sex ratios of loggerhead turtles in Brazil from pivotal incubation temperatures, *Canadian Journal Zoology*, 75(5):755-770.
- Marquardt D.W. 1963. An algorithm for least squares estimation of non-linear parameters. *Journal of the Society for Industrial and Applied Mathematics*, 11(2):431-441
- Márquez, R.M. 1996. *Las tortugas y nuestro tiempo*. Ed. Fondo de Cultura Económica. México, 197 p.
- Márquez, R.M. 1990. FAO Species Catalogue. Sea turtles of the world. An annotated and illustrated catalogue of sea turtle species known to date. *Food and Agriculture Organization of the United Nations, Fisheries Synopsis*, 11(125): 81.
- Merchant-Larios, H. 2000. Determinación del Sexo en Crías, Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas. *Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/CSE*, 4:8-13.
- Meza-Sánchez R. & Leyva-Corona J.C. 2009. Reporte Climatológico para Baja California Sur. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. 3:13 p.
- McCoy, C.J., R.C. Vogh & E.J. Censky. 1983. Temperature controlled sex determination in sea turtle *Lepidochelys olivacea*. *Journal of Herpetology*, 17(4):404-406.
- McGehee, M.A. 1979. Effects of moisture on eggs and hatchlings of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). Department of Biological Sciences, University of Central Florida. *Herpetology*, 3:251-258.

- Michelle-Morfin, J. 1995. Variabilidad fenotípica en crías de tortuga marina *Lepidochelys olivacea*. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituto Politécnico Nacional. México, 97 p.
- Miller, J.D. & C.J. Limpus. 1981. Incubation period and sexual differentiation in the green turtle, *Chelonia mydas* L. En: Banks C.B. & A.A. Martin (Ed.) *Proceedings of the Melbourne Herpetological Symposium*, The Zoological Board of Victoria, Melbourne, 66-73 p.
- Miller, J.D. 1985. Embriology of marine turtles. En: Gans, C.P., Billet C.P. & P.F. Maderson. (Ed.) *Biology of Reptilia*. Development John Wiley & Sons, New York, 269-328 p.
- Mohanty-Hejmadi, P. & M.T. Dimond. 1986. Temperature dependent sex determination in the olive ridley turtle. *Progress in Developmental Biology A*, 159-162.
- Morreale, S.J., G.J. Ruiz, J.R. Spotila & E.A. Standora. 1982. Temperature dependent sex determination: current practices threaten conservation of sea turtles. *Science*, 216:1245-1247.
- Mortimer, J.A. 1990. The Influence of Beach Sand Characteristics on the Nesting Behavior and Clutch Survival of Green Turtles (*Chelonia mydas*). *Copeia*, 3:802-817.
- Mortimer, J.A. 1995. Factors influencing beach selection by nesting sea turtles. En: Bjorndal K.A. (Ed.) *Biology and Conservation of Sea Turtles*. Smithsonian Institution Press, Washington, DC., USA. 45-51 p.

- Mrosovsky, N. 1980. Thermal biology of sea turtles. *American Zoologist*, 20(3):531-547.
- Mrosovsky, N. & C.L. Yntema. 1980. Temperature dependence of sexual differentiation in sea turtles: implications for conservation practices. *Biological Conservation*, 18:271-280.
- Mrosovsky, N. 1983. Ecology and Nest-site Selection of Leatherback Turtles *Dermochelys coriacea*. *Biological Conservation*, 26:47-56.
- Mrosovsky, N., P.H. Dutton & C.P. Whitmore. 1984. Sex ratios of two species of sea turtle nesting in Suriname. *Canadian Journal of Zoology*, 62:2227-2239.
- Mrosovsky, N. 1988. Pivotal temperatures for loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from northern and southern nesting beaches. *Canadian Journal of Zoology*, 66(3):661-669.
- Mrosovsky, N. & C. Pieau. 1991. Transitional range of temperature, pivotal temperatures and thermo-sensitive stages for sex determination in reptiles. *Amphibia-Reptilia*, 12(2):169-179.
- Mrosovsky, N., A. Bass, L.A. Corliss, J.I. Richardson & T.H. Richardson. 1992. Pivotal and beach temperatures for hawksbill turtles nesting in Antigua, *Canadian Journal of Zoology*, 70(10):1920-1925.
- Mrosovsky, N. & M.H. Godfrey. 1995. Manipulating sex ratios: Turtle speed ahead!. *Chelonian Conservation and Biology*, 1:238-240.
- Mrosovsky, N., S.J. Kamel, C.E. Diez & R.P. van Dam. 2009. Methods of estimating natural sex ratios of sea turtles from incubation temperatures and laboratory data, *Endangered Species Research*, 8:147-155.

- Nelson, N.J., A. Cree, M.B. Thompson, S.N. Keall & C.H. Daugherty. 2004. Temperature-dependent sex determination in Tuataras. En: Temperature-Dependent Sex Determination in Vertebrates, N. Valenzuela & V.A. Lance (Ed.) *Smithsonian Books*. Washington, DC., USA, 53-58 p.
- Pandav, B. & C.S. Kar. 2000. Reproductive span of olive Ridley turtles at Gahirmatha Rookery, Orissa, India. *Marine Turtle Newsletter*, 87:8-9.
- Parmenter, C.J. 1980. Incubation of the eggs of the green sea turtle, *Chelonia mydas*, in Torres Strait, Australia: The effect of movement on hatchability. *Australian Wildlife Research*, 7:487-491.
- Paukstis, G.L. & F.J. Janzen. 1990. Sex determination in reptiles: summary of effects of constant temperature of incubation on sex ratios of offspring. *Smithsonian Herpetological Information Server*, 83:1-28.
- Reichart, H.A. 1993. Synopsis of biological data on the olive ridley sea turtle *Lepidochelys olivacea* (Eschscholtz, 1829) in the western Atlantic. *National Oceanic and Atmospheric Administration Technical Memorandum National Marine Fisheries Service Southeast Fisheries Science Center*, 336:1-78.
- Rzedowski, J. 2006. Vegetación de México. *Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad*, México, 504 p.
- Rimblot, F., J. Fretey, N. Mrosovsky, J. Lescure & C. Pieau. 1985. Sexual differentiation as function of the incubation temperature of eggs in the sea-turtle *Dermochelys coriacea* (Vandelli, 1761). *Amphibia- Reptilia*, 6(1):83-92.
- Salame-Méndez A. & I. Villalpando-Fierro. 1998. La diferenciación sexual en vertebrados: *Hipótesis y Teorías*. *Acta Zoológica Mexicana*, 73:89-110.

- Salame-Méndez, A., J. Herrera-Muñoz, N. Moreno-Mendoza & H. Merchant-Larios. 1998. Response of diencephalon but not gonad to female-promoting temperature with elevated estradiol levels in the sea turtle *Lepidochelys olivacea*. *Journal of Experimental Zoology*, 280:304-313.
- Sandoval, E.S. 2008. Pronóstico de la temperatura de los nidos de tortuga golfinia (*Lepidochelys olivacea*) en función de la temperatura ambiente, la profundidad y el calor metabólico. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituto Politécnico Nacional. México, 70 p.
- Shanker, K., J. Ramadevi, B.C. Choudhury, L. Singh & R.K. Aggarwal. 2004b. Phylogeography of olive ridley turtles (*Lepidochelys olivacea*) on the east coast of India: implications for conservation theory. *Molecular Ecology*, 13:1899-1909.
- Shaver, D.J., D.W. Owens, A.H. Chaney, C.W. Caillouet, P. Burchfield Jr. & R. Márquez. 1988. Styrofoam box and beach temperatures in relation to incubation and sex ratios of Kemp's ridley sea turtles. En: B.A. Schroeder (Ed.) *Proceedings of the Eighth Annual Workshop on Sea Turtle Conservation and Biology*. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFC-214. U.S. Dept. Commerce, 89:48-64.
- Speakman, J.R., G.C. Hayes & E. Lindbland. 1998. Thermal conductivity of sand and its effect on the temperature of loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*) nests. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 78:1337-1352.
- UNEP/CMS Conventios on Migratory Species and DEFRA. 2006. Migratory Species and Climate Change: Impacts of a Changing Environment on Wild Animals. UNEP/ CMS Secretariat, Bonn, Germany, 68 p.

- Valadez-González, C., F.A. Silva-Batiz & S. Hernández-Vázquez. 2000. Sex ratio of marine turtle (*Lepidochelys olivacea*) hatchlings in incubation corrals at La Gloria nesting beach, Jalisco, Mexico. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad de Zulia, Venezuela*, 34(3):305-313.
- Valverde, R.A., S. Wingard, F. Gómez, M. Tordoir & C.M. Orrego. 2010. Field lethal incubation temperature of olive Ridley sea turtle *Lepidochelys olivacea* embryos at a mass nesting rookery. *Endangered Species Research*, 12:77-86.
- Viets, B.E., M.A. Ewert., L.C. Talent & C.E. Nelson. 1994. Sex-determining mechanisms in squamate reptiles. *Journal of Experimental Zoology*, 270:45-56.
- Willingham, E., R. Baldwin, J.K. Skipper & D. Crews. 2000. Aromatase activity during embryogenesis in the brain and adrenal-kidneygonad of the red-eared slider turtle, a species with temperature-dependent sex determination. *General and Comparative Endocrinology*, 119:202-207.
- Whitmore, C.P. & P.H. Dutton. 1985. Infertility, embryonic mortality and nest site selection in leatherback and green turtles in Surinam. *Biological Conservation*, 34:251-272.
- Wibbels, T., D. Rostal & R. Byles. 1998. High Pivotal Temperature in the Sex Determination of the Olive Ridley Sea Turtle, *Lepidochelys olivacea*, from Playa Nancite, Costa Rica. *Copeia*, 4:1086-1088.
- Whiteford, R., 1999. A diversity of ecosystems-Alaska. *Endangered Species Bulletin*, 24(2):6-7.

- Yalçın-Özdilek, Ş. & B. Sönmez. 2006. Some properties of new nesting areas of sea turtles in north-eastern Mediterranean situated on the extension of the Samandağ Beach, Turkey. *Journal of Environmental Biology*, 27(3): 537-544.
- Yntema, C.L. & N. Mrosovsky. 1979. Incubation temperature and sex ratio in hatchling loggerhead turtles: a preliminary report. *Marine Turtle Newsletter*, 11:9-10.
- Yntema, C.L. & N. Mrosovsky. 1980. Sexual differentiation in hatchling loggerhead (*Caretta caretta*) incubated at different controlled temperatures. *Herpetologica*, 36:33-36.
- Zar, J.H. 2010. *Bioestatistical Analysis*. 5th edition. Pearson Education, London, 944 p.

TÉCNICA HISTOLÓGICA

Secuencia de la técnica histológica Hematoxilina-Eosina utilizada para la determinación sexual en crías de tortugas marinas.

| Tabla A1.1. Deshidratación | |
|-----------------------------------|---------------|
| ALCOHOL 70% I | Cambio rápido |
| ALCOHOL 70% II | Cambio rápido |
| ALCOHOL 70% III | Cambio rápido |
| ALCOHOL 80% | 1 h |
| ALCOHOL 96% I | 1 h |
| ALCOHOL 96% II | 1h |
| ALCOHOL 96% III | 1h |
| ALCOHOL 100% I | 1h |
| ALCOHOL 100% II | 1h |
| ALCOHOL 100% III | 1h |
| ALCOHOL ACLARANTE | 1h |
| ALCOHOL ABSOLUTO | 1h |
| PARAFINA I (54-56°C) | 45 min |
| PARAFINA II (56-58°C) | 45 min |
| PARAFINA III(58-60°C) | 45 min |

| Tabla A1.2. Desparafinación | |
|------------------------------------|-------|
| XILOL I | 5 min |
| XILOL II | 5 min |
| XILOL III | 5 min |
| ALCOHOL 96% I | 5 min |
| ALCOHOL 96% II | 5 min |
| ALCOHOL 96% III | 5 min |
| ALCOHOL 80% | 5 min |
| ALCOHOL 70% | 5 min |
| ALCOHOL 60% | 5 min |
| AGUA DESTILADA I | 5 min |
| AGUA DESTILADA II | 5 min |

| Tabla A1.3. Coloración | |
|----------------------------------|---------------|
| HEMATOXILINA | 1 min |
| LAVAR EN AGUA CORRIENTE | Cambio rápido |
| ALCOHOL ÁCIDO | 1min |
| LAVAR CON AGUA CORRIENTE | Cambio rápido |
| LAVAR CON AGUA CORRIENTE | Cambio rápido |
| DIRERENCIACIÓN EN AGUA AMONIACAL | 1 min |
| LAVAR EN AGUA CORRIENTE | 1 min |
| LAVAR EN AGUA DESTILADA | 2 min |
| EOSINA ACUOSA AL 1% | 1 min |
| LAVAR CON ALCOHOL 96% | Cambio rápido |
| LAVAR CON ALCOHOL 96% | Cambio rápido |
| ALCOHOL ABSOLUTO | 1 min |
| ALCOHOL ABSOLUTO | 1 min |
| ACETONA-CITRISOL V | 2 min |
| CITRISOL V | 5 min |
| CITRISOL V | 5 min |
| CITRISOL V | 5 min |

APÉNDICE 2

PRONÓSTICOS DE LA TEMPERATURA EN NIDOS

Explicación General: Pronósticos de la temperatura en nidos a partir de un sensor de temperatura colocado a 10 cm de profundidad en el nido, aplicando el modelo de Sandoval (2008), en cada uno de los campamentos tortugeros de las áreas de estudio. Se usaron los promedios móviles (pm) de orden 48 a los datos de 10 y 30 cm de profundidad y para la comprobación de los pronósticos se utilizó una recta de 45° (línea roja). La gráfica muestra el promedio móvil observado contra el promedio móvil estimado (línea azul). En cada figura se especifica el área, la temporada y el nido correspondiente.

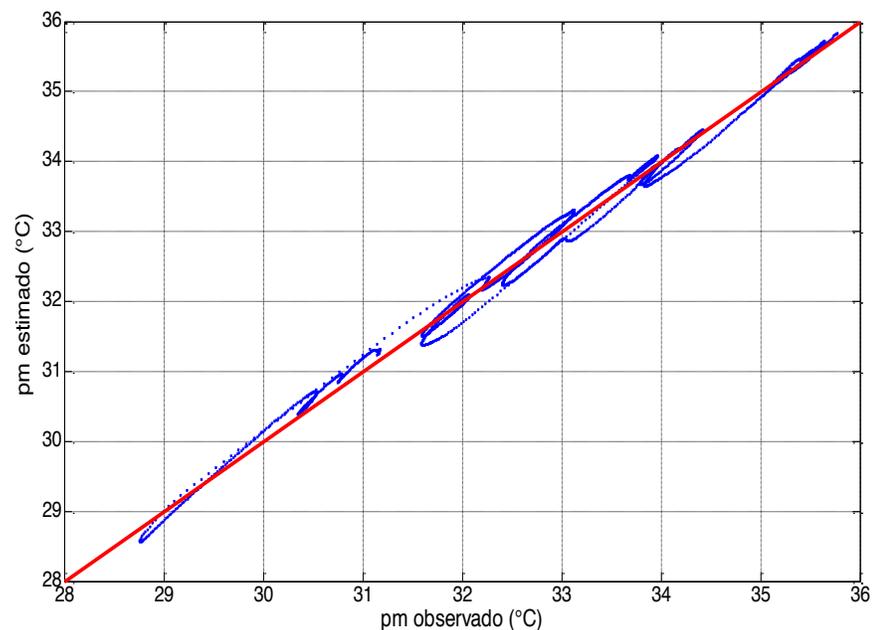
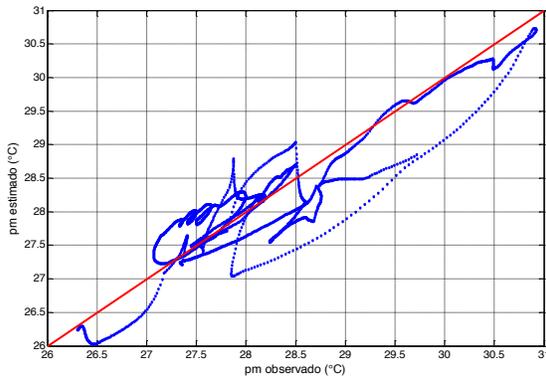


TABLA DE PARÁMETROS ESTADÍSTICOS

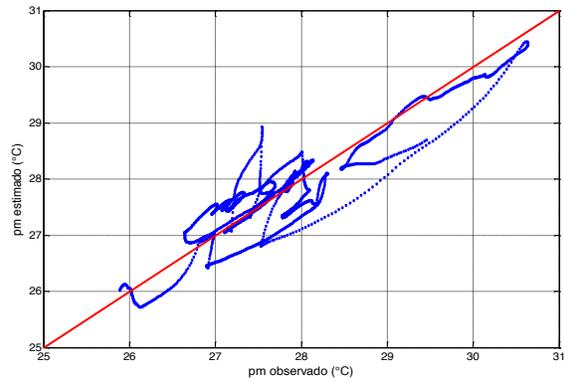
Explicación General: Parámetros estadísticos de las rectas de pronóstico correspondientes a la tabla anterior, donde a= ordenada al origen; b= pendiente, R^2 =Coeficiente de determinación, pcomb= Probabilidad de error de la comparación de la pendiente entre los datos observados y calculados. Todas las correlaciones son significativas con $p < 0.05$ y ninguna pendiente entre los datos observados y calculados es significativamente diferente de 1. En cada tabla se especifica el área, la temporada y el nido correspondiente con el siguiente formato:

| Tabla A2.n. Campamento y temporada | | | | | | |
|---|----------------|----------|----------|-------------------------|----------------|--------------|
| Nido | Desfase | a | b | R^2 | # Datos | pcomb |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |

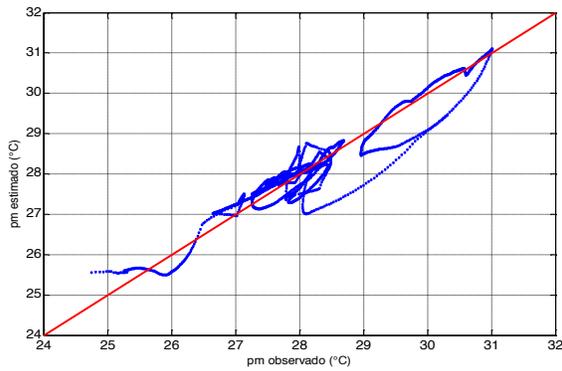
Tabla A2.1. Los Cabos, Baja California Sur. Temporada 2009.



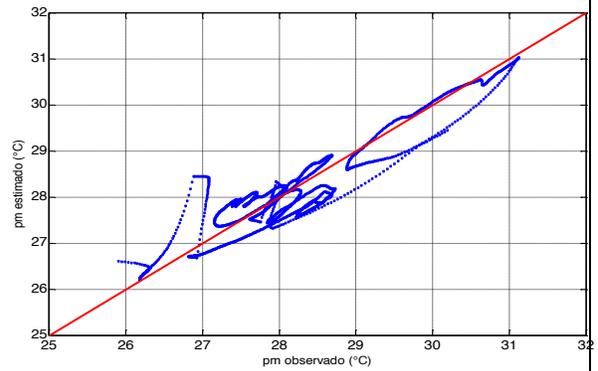
Nido 1



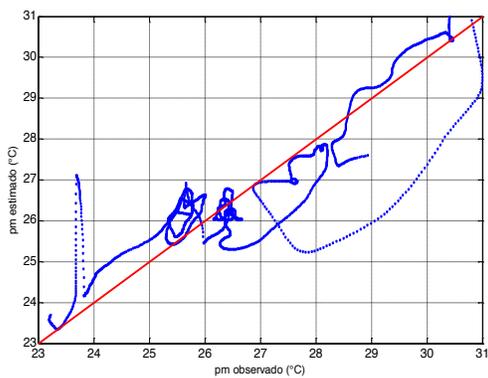
Nido 2



Nido 3



Nido 4

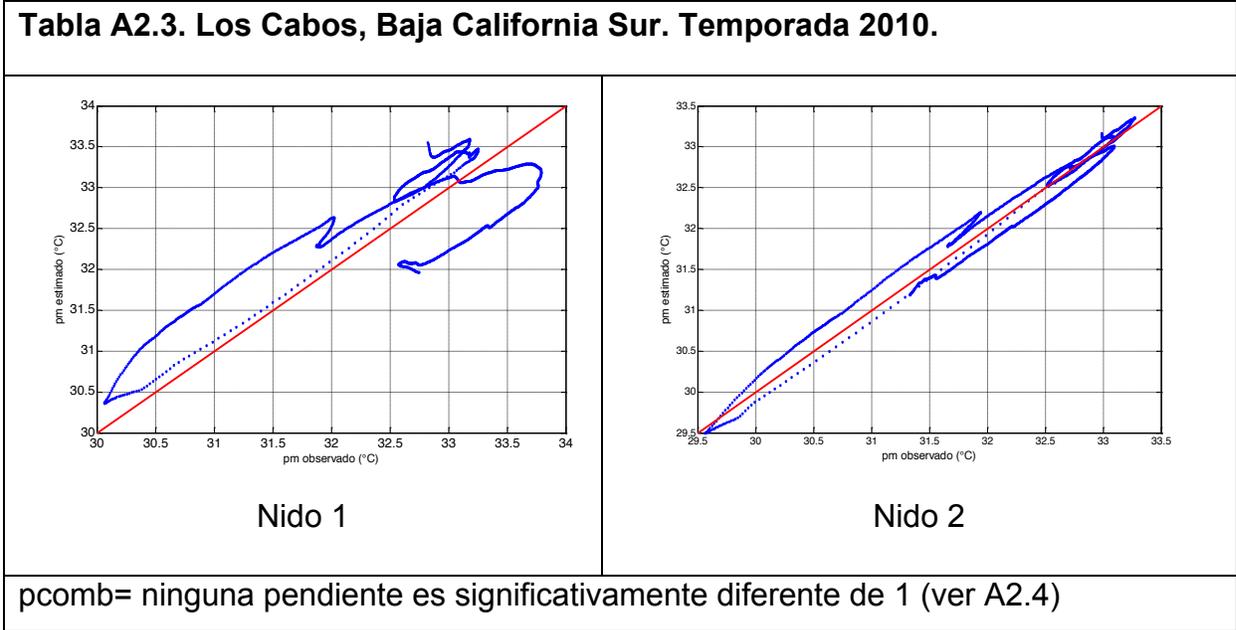


Nido 5

Ninguna pendiente es significativamente diferente de 1 (ver pcomb Tabla A2.2).

| Tabla A2.2. Los Cabos, Baja California Sur. Temporada 2009. | | | | | | |
|--|----------------|----------|----------|----------------------|----------------|--------------|
| | Desfase | a | b | R² | # Datos | pcomb |
| Nido 1 | 18.5 | 11.04 | 0.62 | 0.84 | 2711 | 0.314 |
| Nido 2 | 18.5 | 9.94 | 0.66 | 0.86 | 2713 | 0.330 |
| Nido 3 | 15 | 8.60 | 0.70 | 0.92 | 2698 | 0.393 |
| Nido 4 | 12 | 9.16 | 0.68 | 0.85 | 2681 | 0.328 |
| Nido 5 | 32.5 | -6.56 | 1.20 | 0.83 | 2639 | 0.118 |
| Corral-Nidos | 16.5 | 6.844 | 0.765 | 0.924 | 2805 | 0.411 |

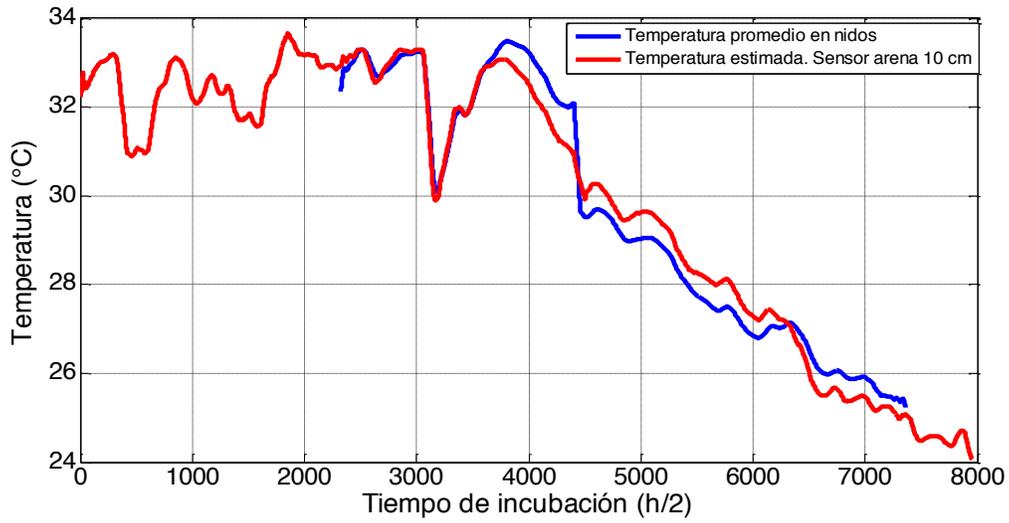
Todas las correlaciones son significativas con $p < 0.05$



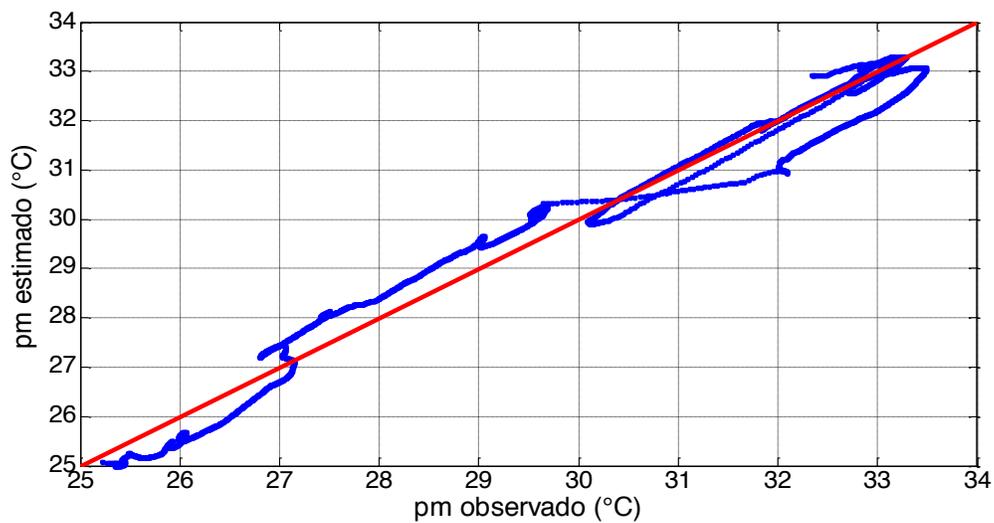
| Tabla A2.4. Los Cabos, Baja California Sur. Temporada 2010. | | | | | | |
|--|----------------|----------|----------|----------------------|----------------|--------------|
| | Desfase | a | b | R² | # Datos | pcomb |
| Nido 1 | 15.5 | 11.50 | 0.655 | 0.655 | 1949 | 0.240 |
| Nido 2 | 6.5 | 6.39 | 0.82 | 0.977 | 1949 | 0.484 |
| Corral-nidos | 10.5 | 6.483 | 0.804 | 0.971 | 4943 | 0.394 |

Todas las correlaciones son significativas con $p < 0.05$

Tabla A2.5. Los Cabos, BCS, Temporada 2010 (julio-diciembre).

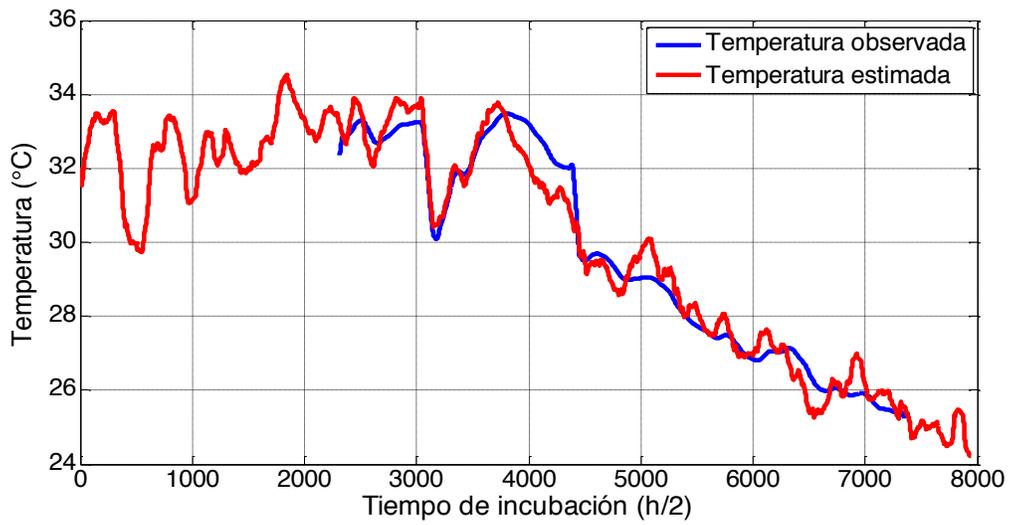


(a)

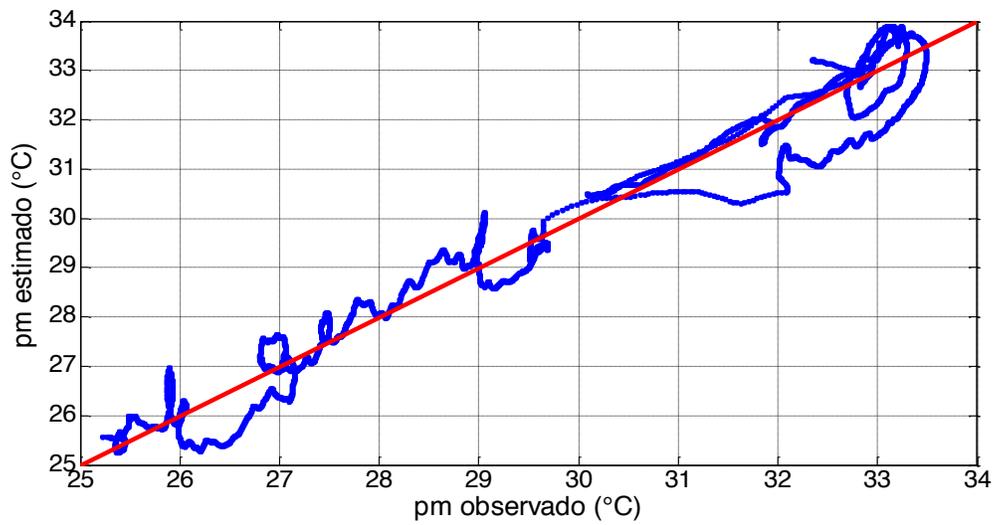


(b)

Tabla A2.6. Los Cabos, Baja California sur, Temporada 2010 (ambiental).

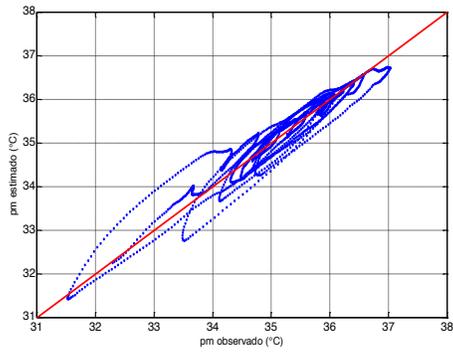


(a)

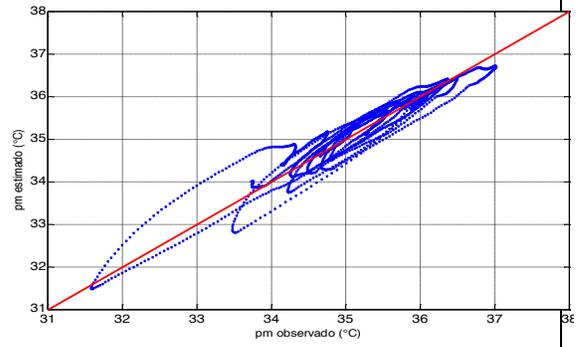


(b)

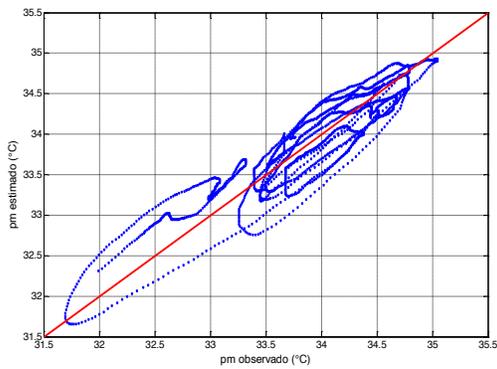
Tabla A2.7. Elota, Sinaloa, Temporada 2009.



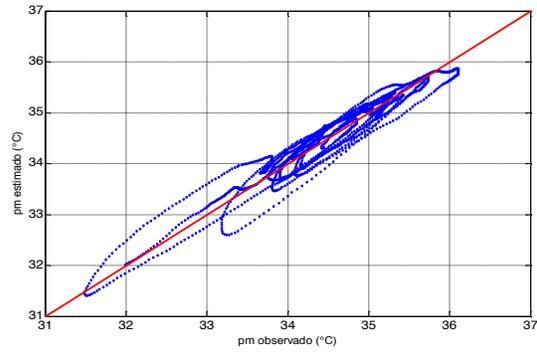
Nido 1



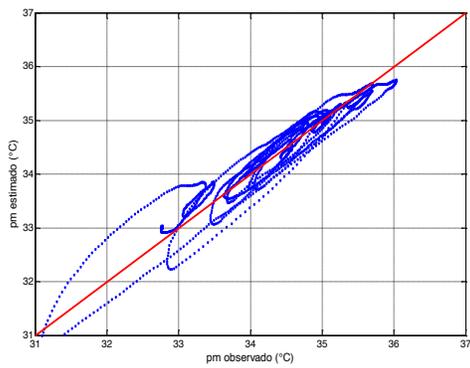
Nido 2



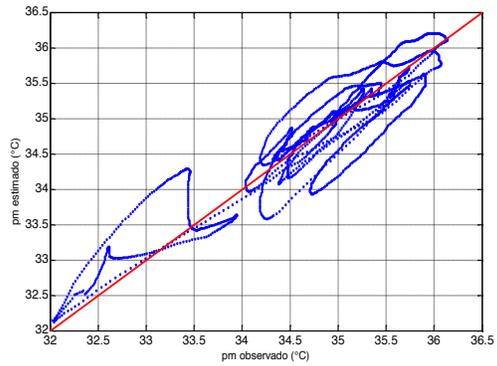
Nido 3



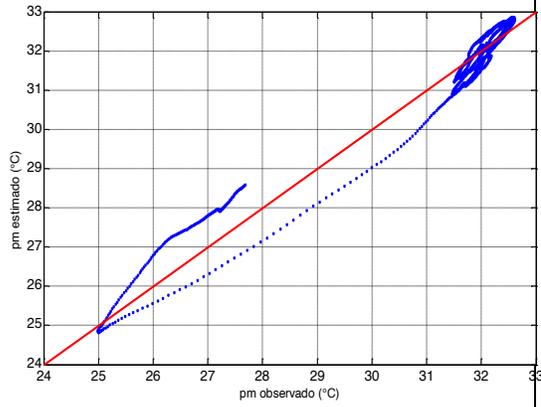
Nido 4



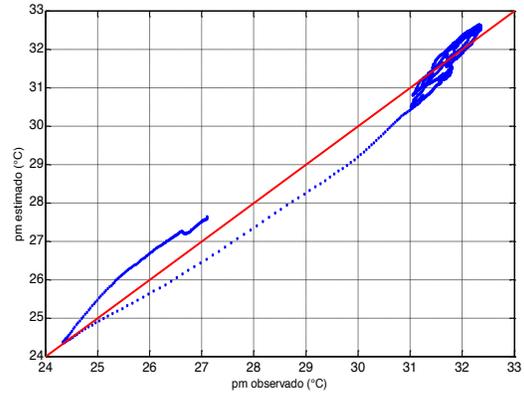
Nido 5



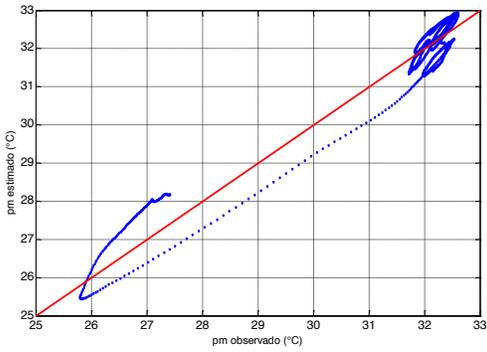
Nido 6



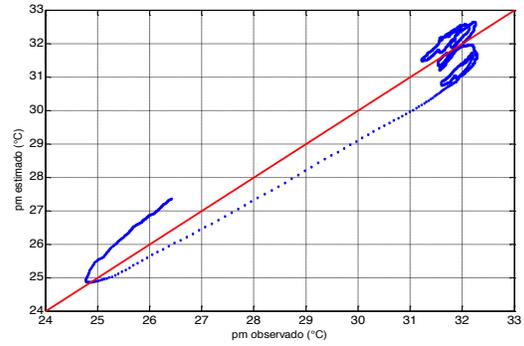
Nido 7



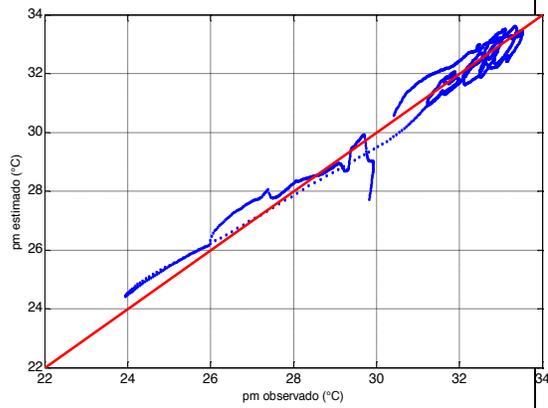
Nido 8



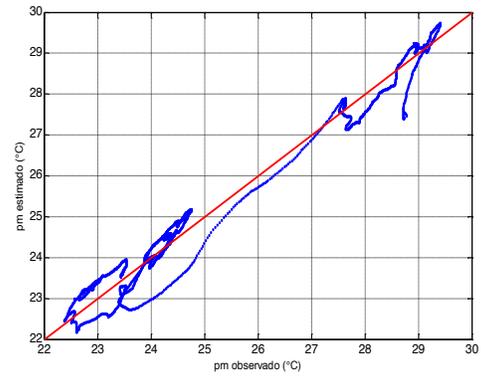
Nido 9



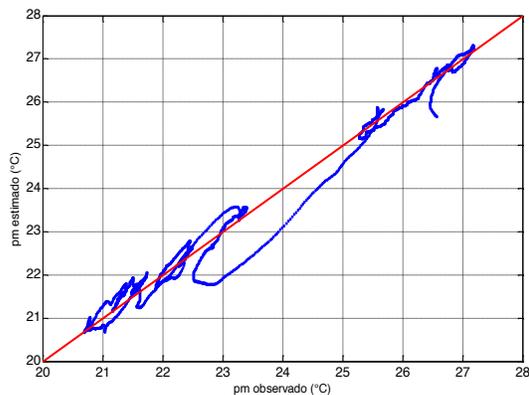
Nido 10



Nido 11



Nido 12



Nido 13

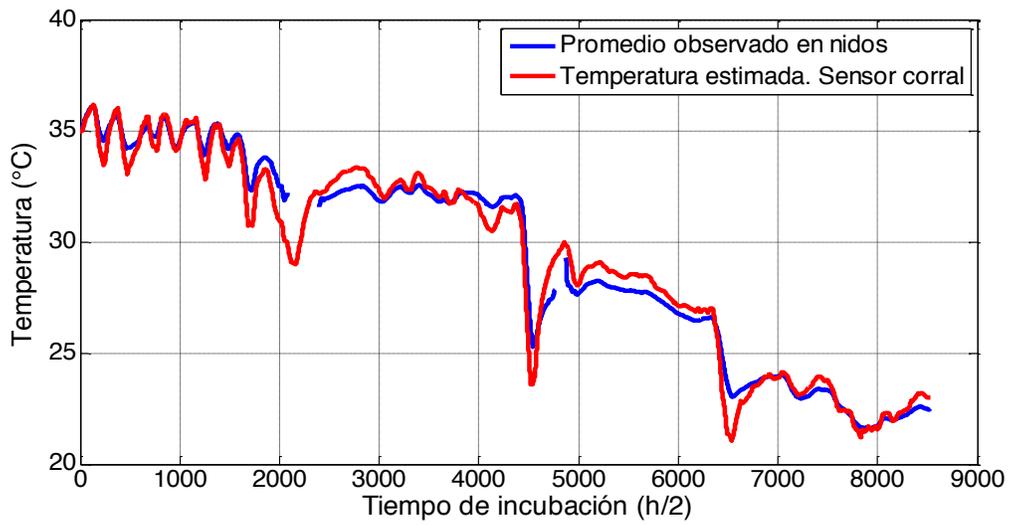
pcomb= ninguna pendiente es significativamente diferente de 1 (ver A2.8)

Tabla A2.8. Elota, Sinaloa, Temporada 2009.

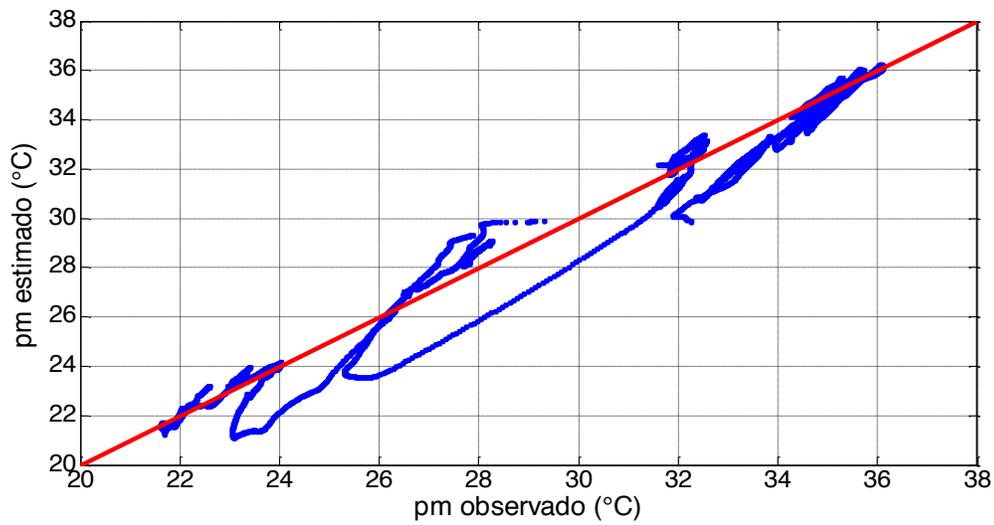
| | Desfase | a | b | R² | # Datos | pcomb |
|--------------|----------------|----------|----------|----------------------|----------------|--------------|
| Nido 1 | 9 | 9.878 | 0.715 | 0.951 | 2003 | 0.444 |
| Nido 2 | 9.5 | 9.827 | 0.715 | 0.947 | 2002 | 0.444 |
| Nido 3 | 13 | 13.747 | 0.594 | 0.878 | 2001 | 0.418 |
| Nido 4 | 9 | 9.883 | 0.717 | 0.959 | 2009 | 0.459 |
| Nido 5 | 10 | 9.958 | 0.704 | 0.954 | 2003 | 0.447 |
| Nido 6 | 10 | 10.772 | 0.695 | 0.879 | 2188 | 0.403 |
| Nido 7 | 13 | 7.078 | 0.786 | 0.957 | 2181 | 0.430 |
| Nido 8 | 10.5 | 6.313 | 0.816 | 0.968 | 2181 | 0.448 |
| Nido 9 | 13.5 | 5.240 | 0.843 | 0.941 | 2183 | 0.412 |
| Nido 10 | 13.5 | 6.344 | 0.807 | 0.912 | 2182 | 0.362 |
| Nido 11 | 7.5 | 4.239 | 0.899 | 0.975 | 2679 | 0.435 |
| Nido 12 | 18.5 | 3.236 | 0.894 | 0.990 | 3566 | 0.435 |
| Corral-nidos | 9.5 | 0.851 | 0.851 | 0.815 | 5895 | 0.033 |

Todas las correlaciones son significativas con $p < 0.05$

Tabla A2.9. Elota, Sinaloa, Temporada 2009 (ambiental).

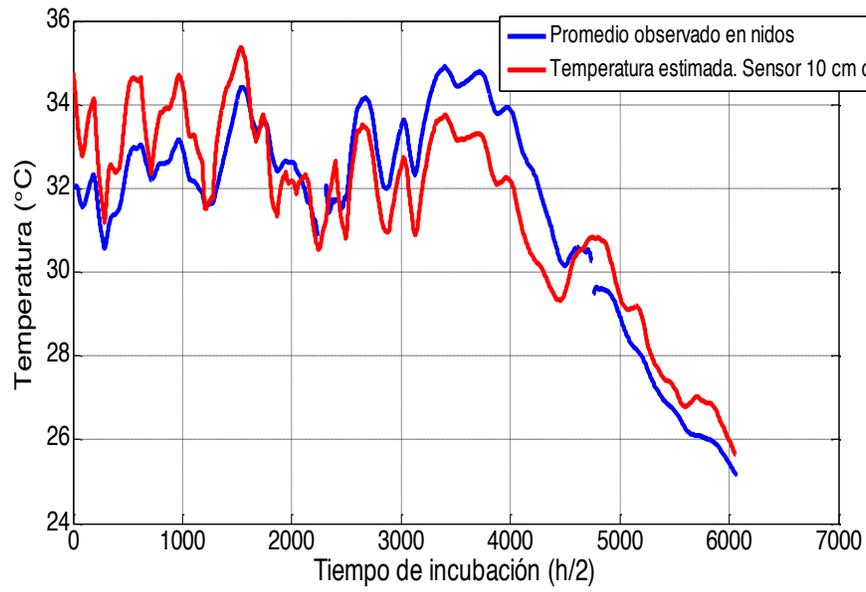


(a)

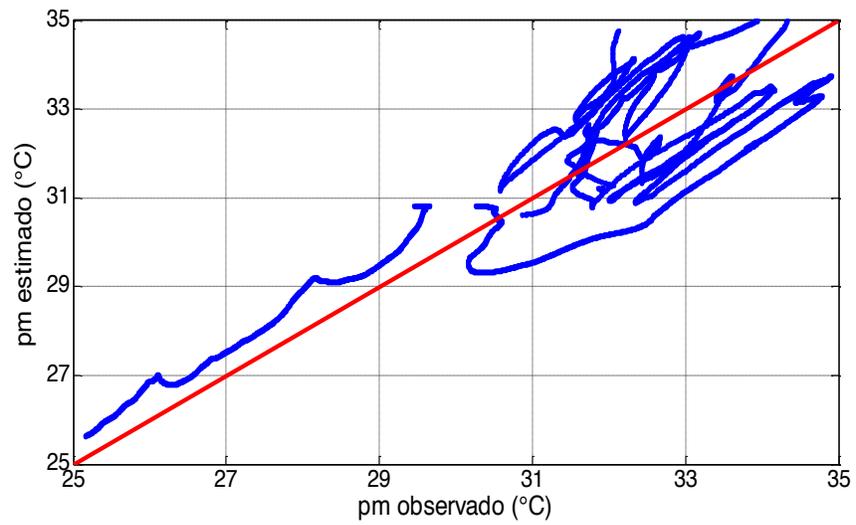


(b)

Tabla A2.10. Elota, Sinaloa, Temporada 2009 (julio-diciembre).



(a)



(b)

Tabla A2.11. Elota, Sinaloa, Temporada 2010.

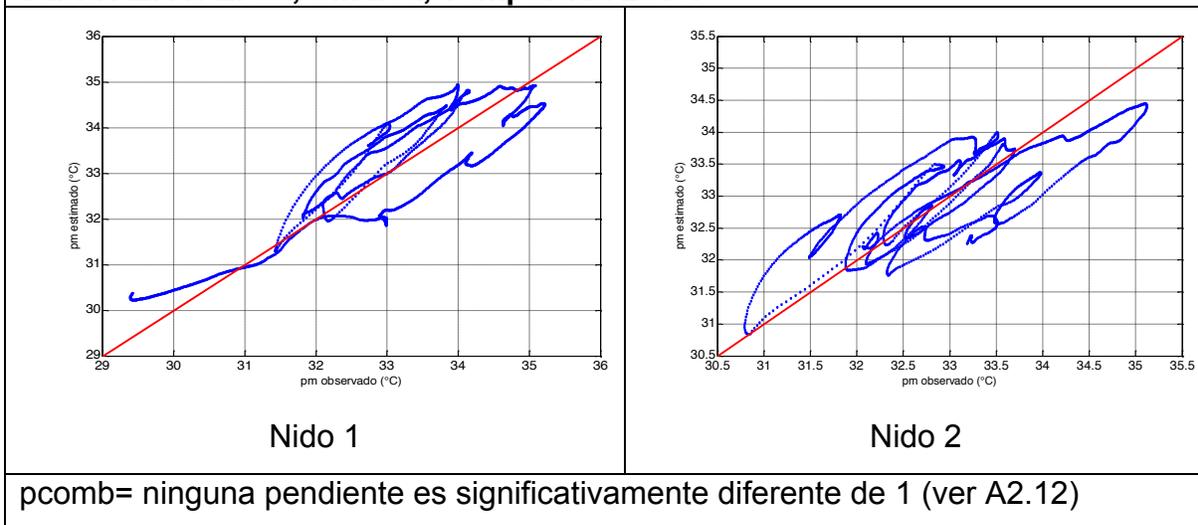
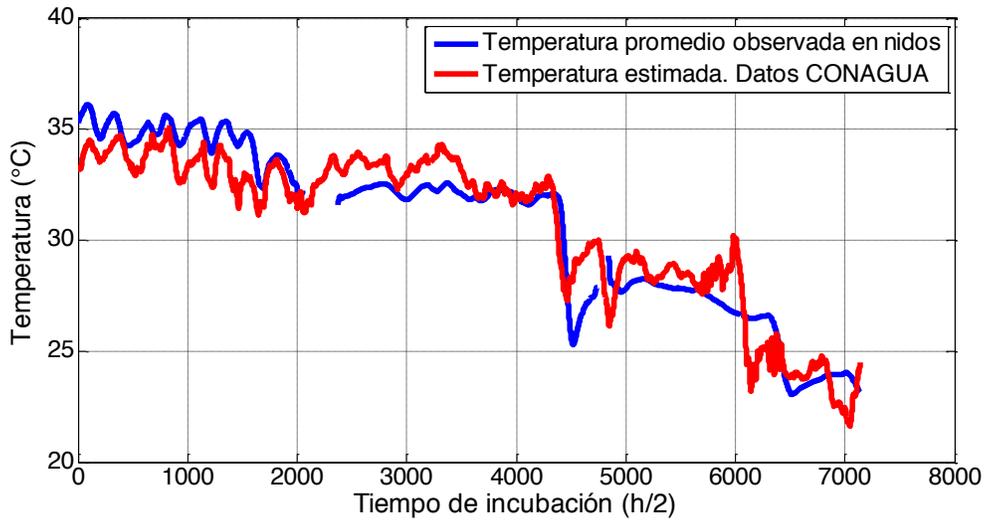


Tabla A2.12. Elota, Sinaloa, Temporada 2010.

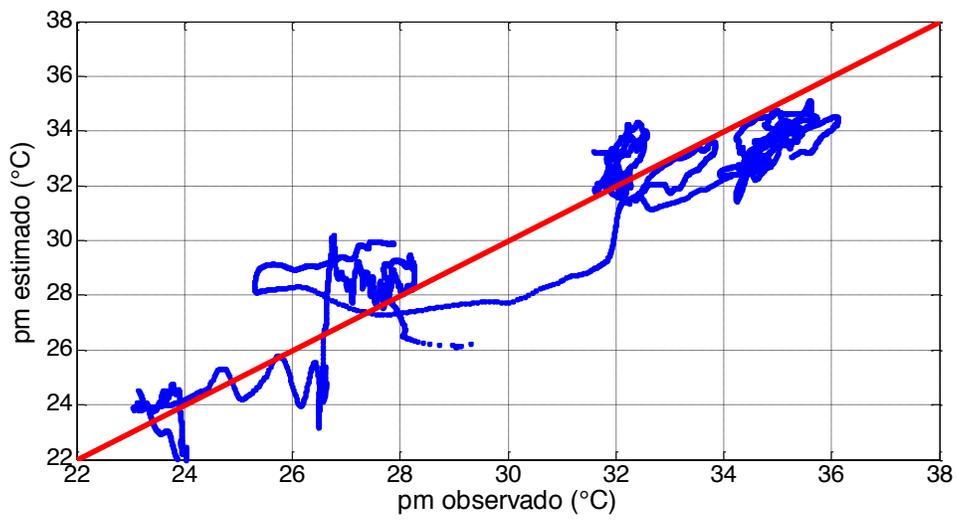
| | Desfase | a | b | R² | # Datos | pcomb |
|---------------|----------------|----------|----------|----------------------|----------------|--------------|
| Nido 1 | 15.5 | 11.52 | 0.66 | 0.659 | 2042 | 0.216 |
| Nido 2 | 22 | 10.21 | 0.76 | 0.817 | 2112 | 0.264 |
| Corral y nido | 9.5 | 5.58 | 0.85 | 0.815 | 5895 | 0.033 |

Todas las correlaciones son significativas con $p < 0.05$

Tabla A2.13. Elota, Sinaloa (estación meteorológica).

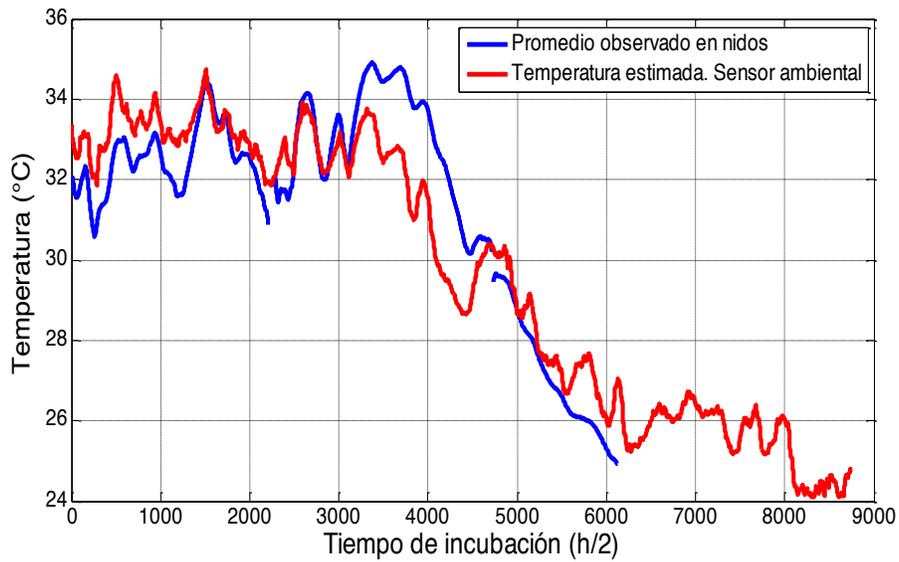


(a)

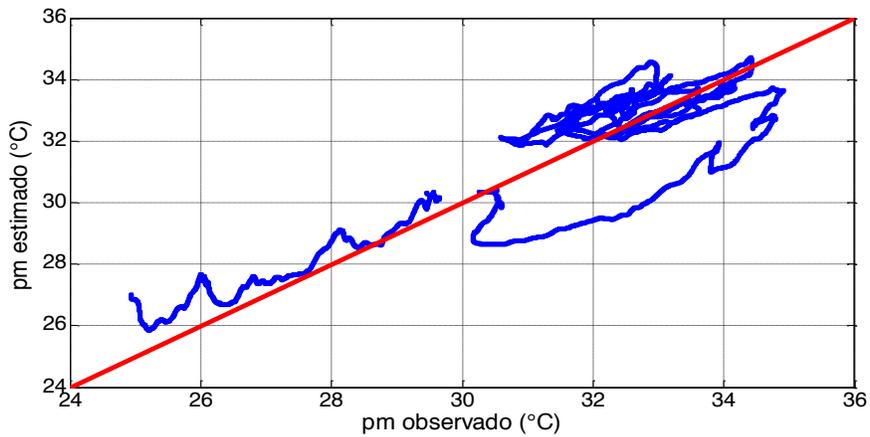


(b)

Tabla A2.14. Elota, Sinaloa, Temporada 2010 (ambiental).

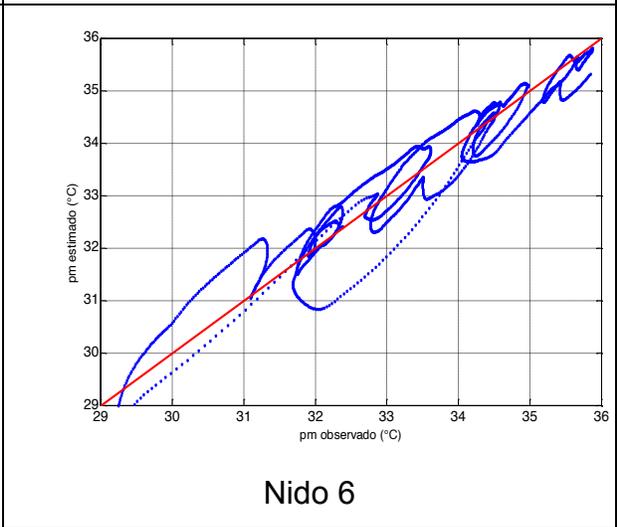
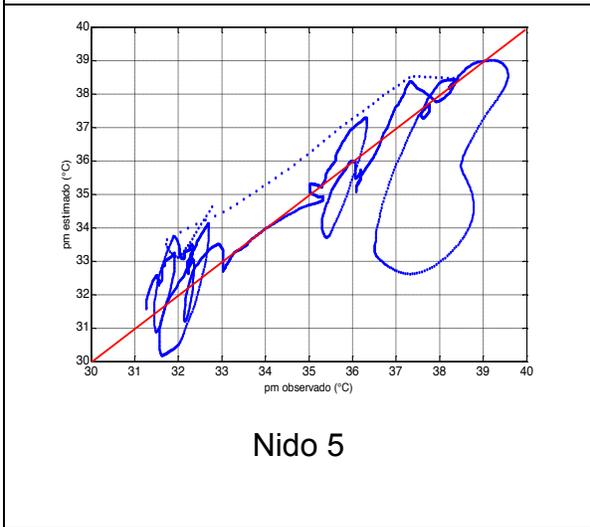
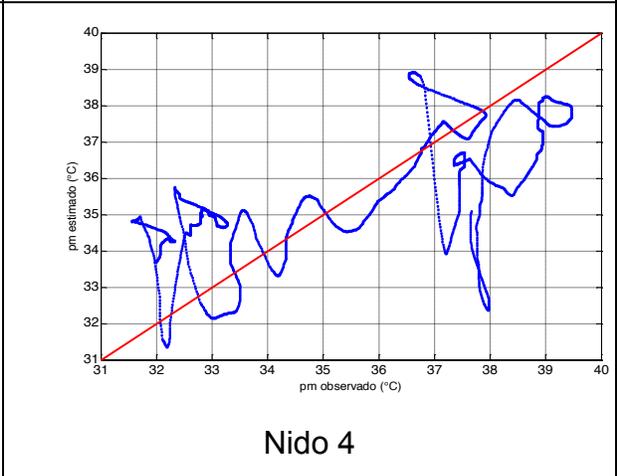
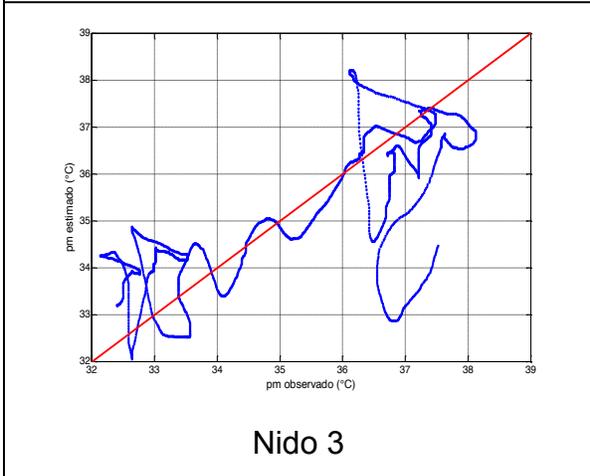
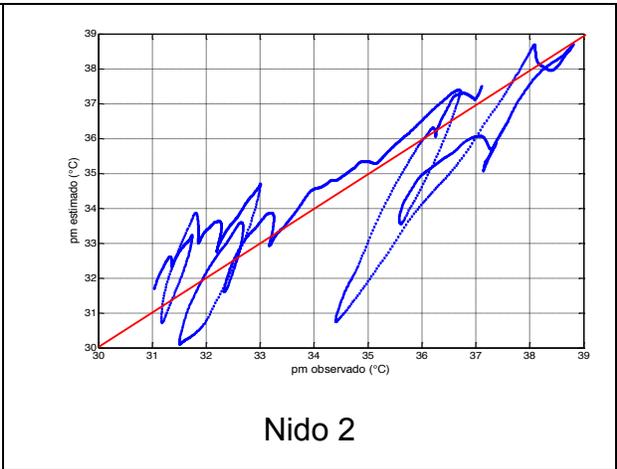
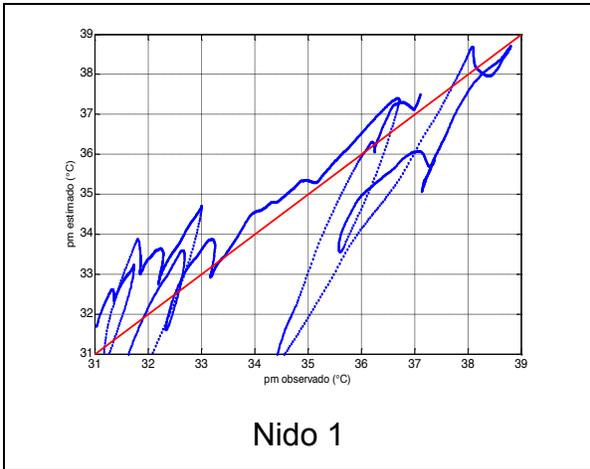


(a)



(b)

Tabla A2.15. Armería Colima, Temporada 2009.



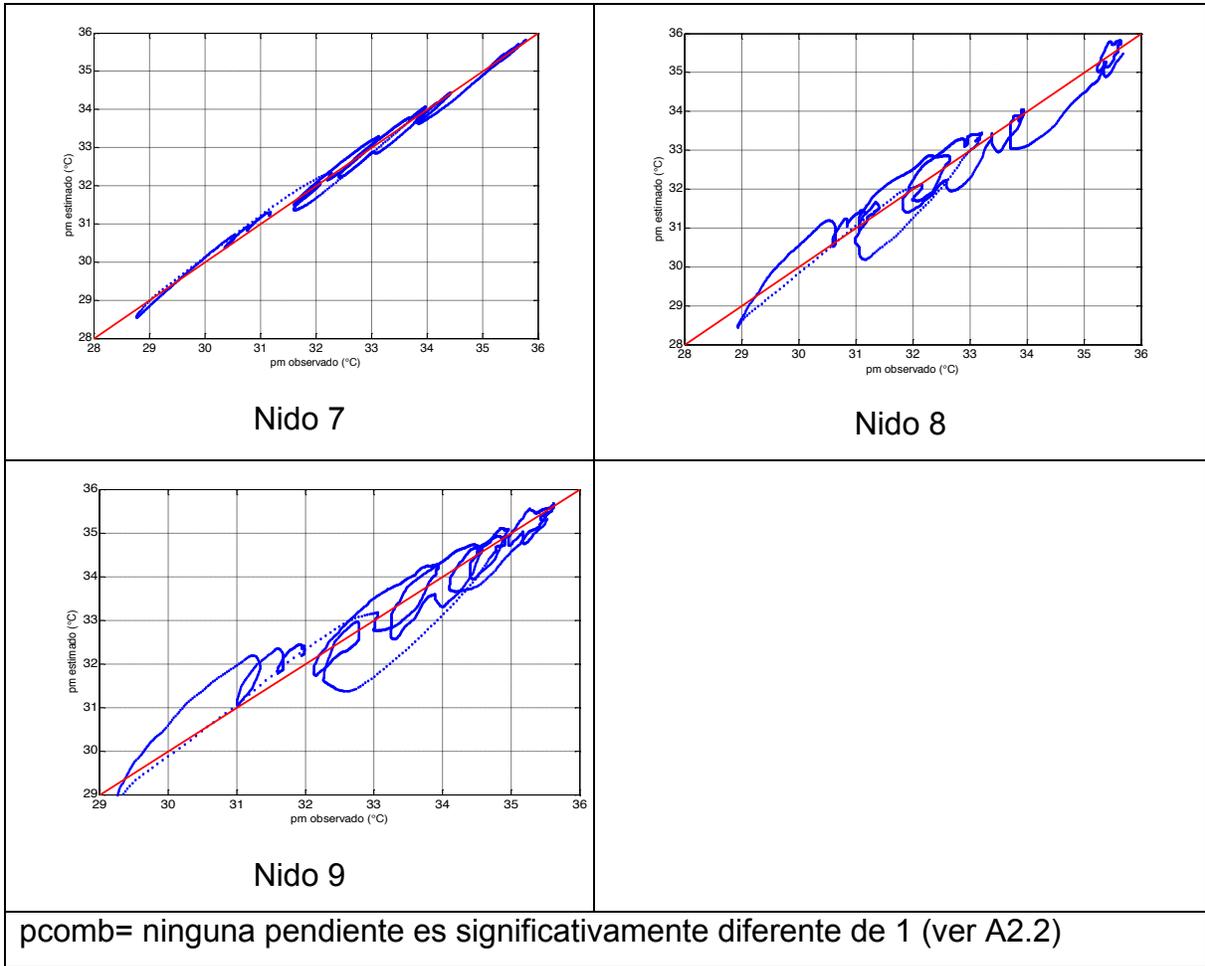
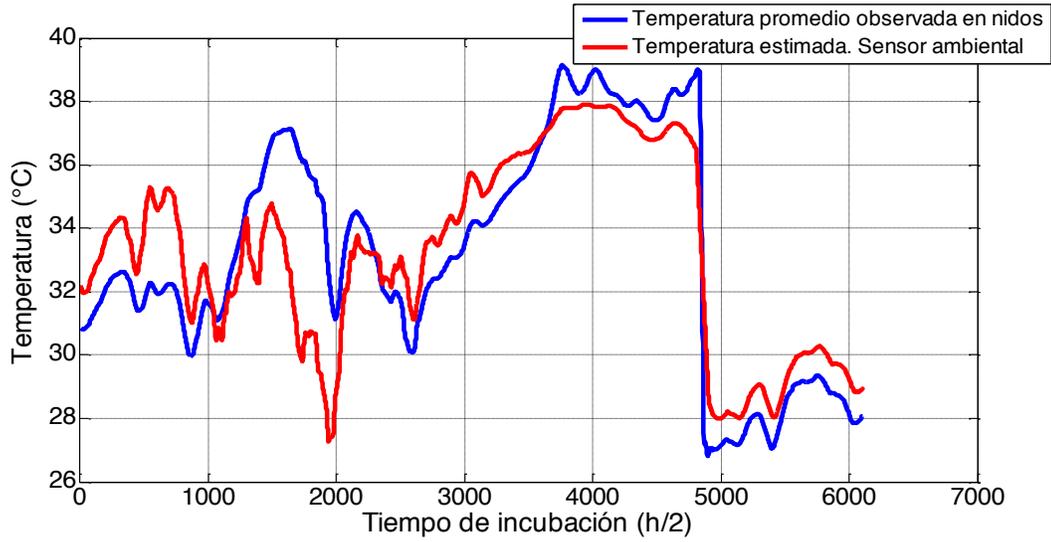


Tabla A2.16. Armería Colima, Temporada 2009

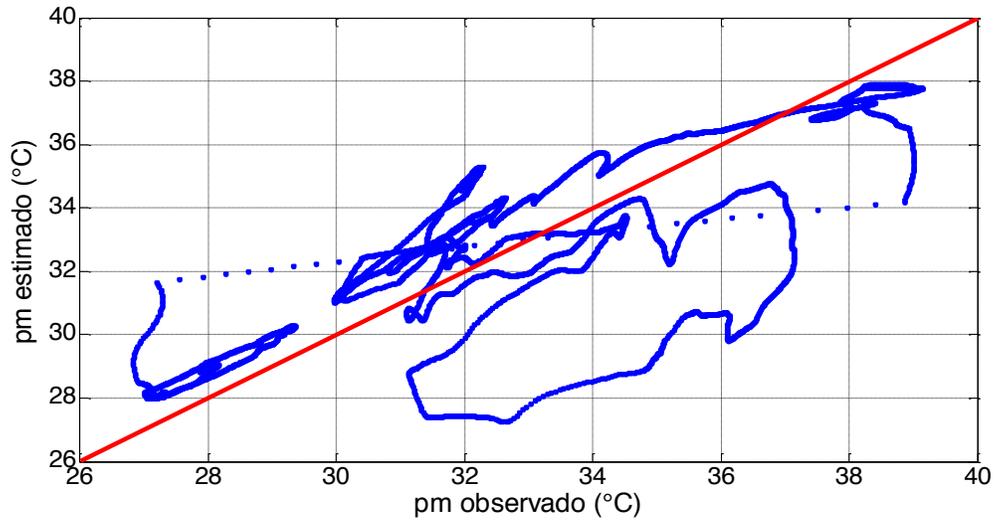
| | Desfase | a | b | R² | # Datos | pcomb |
|--------------|----------------|-------------|-------------|----------------------|----------------|--------------|
| Nido 1 | 9 | -2.552 | 1.750 | 0.797 | 2395 | 0.102 |
| Nido 2 | 8.5 | -7.388 | 1.252 | 0.793 | 2347 | 0.211 |
| Nido 3 | 101.5 | -0.494 | 1.293 | 0.666 | 2293 | 0.022 |
| Nido 5 | 7.5 | -18.538 | 1.602 | 0.775 | 2561 | 0.100 |
| Nido 6 | 11.5 | 7.823 | 0.781 | 0.962 | 2476 | 0.427 |
| Nido 7 | 2 | 1.209 | 0.962 | 0.996 | 2521 | 0.492 |
| Nido 8 | 12.5 | 8.045 | 0.777 | 0.952 | 2472 | 0.431 |
| Nido 10 | 11.5 | 7.51 | 0.78 | 0.934 | 2524 | 0.415 |
| Corral-nidos | 240 | 23.239 | 0.315 | 0.727 | 6174 | 3.648*10-66 |

Todas las correlaciones son significativas con $p < 0.05$

Tabla A2.17. Armería, Colima, Temporada 2010 (ambiental).

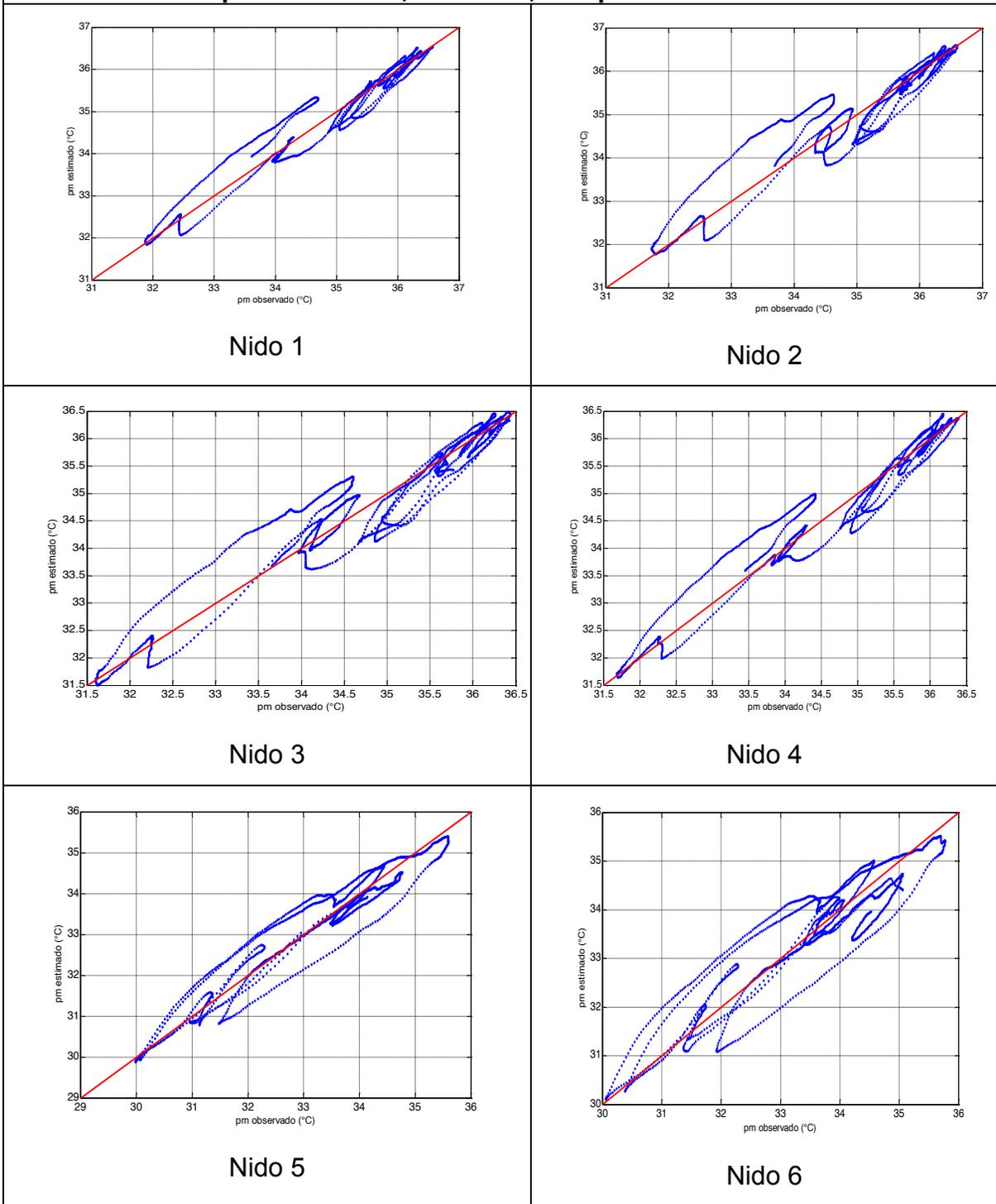


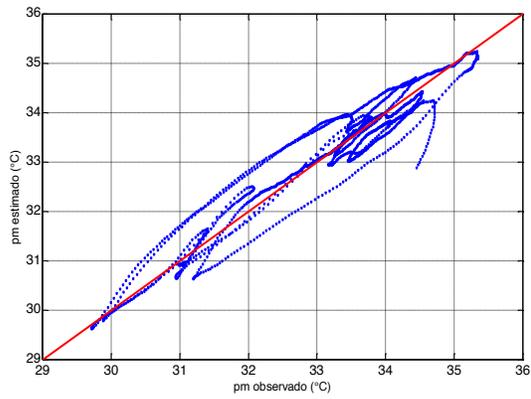
(a)



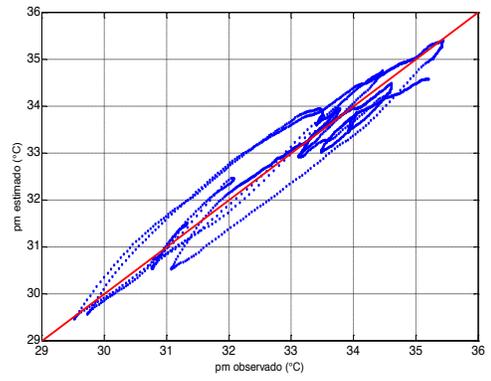
(b)

Tabla A2.18. Tecpan de Galena, Guerrero, Temporada 2009.

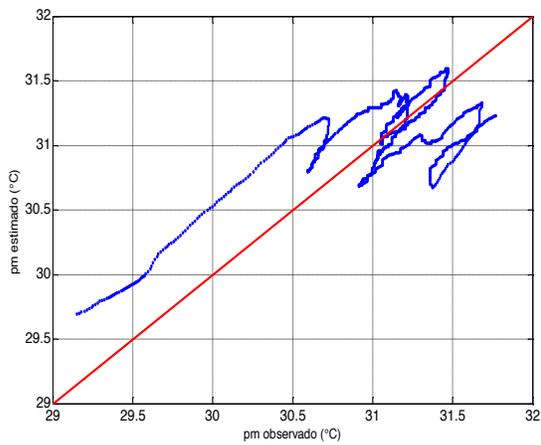




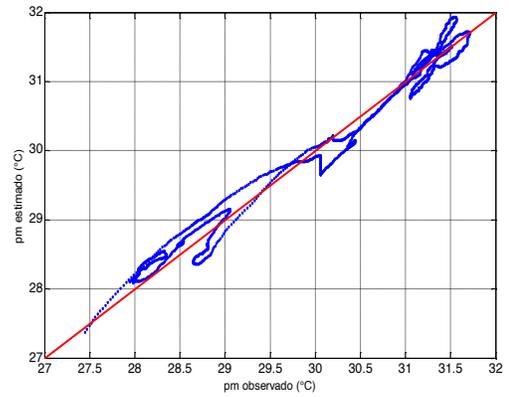
Nido 7



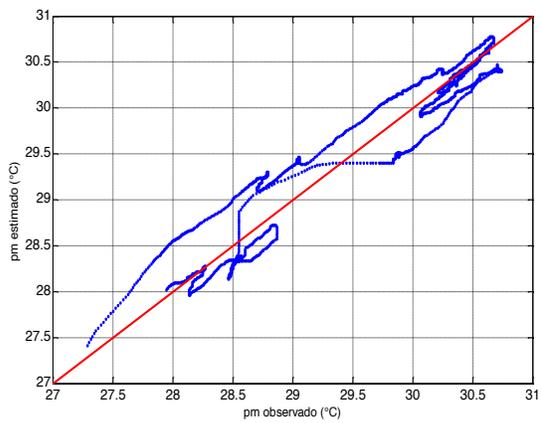
Nido 8



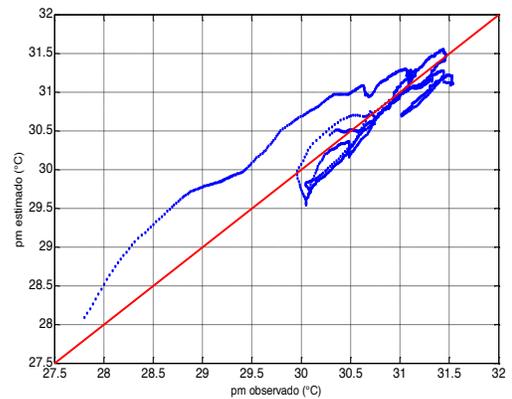
Nido 9



Nido 10



Nido 11



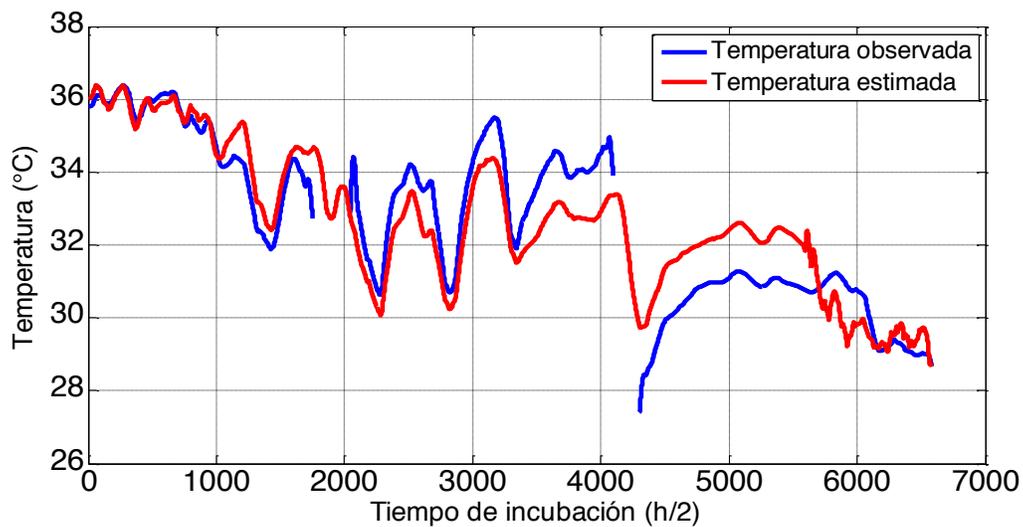
Nido 12

Tabla A2.19. Tecpan de Galena, Guerrero, Temporada 2009.

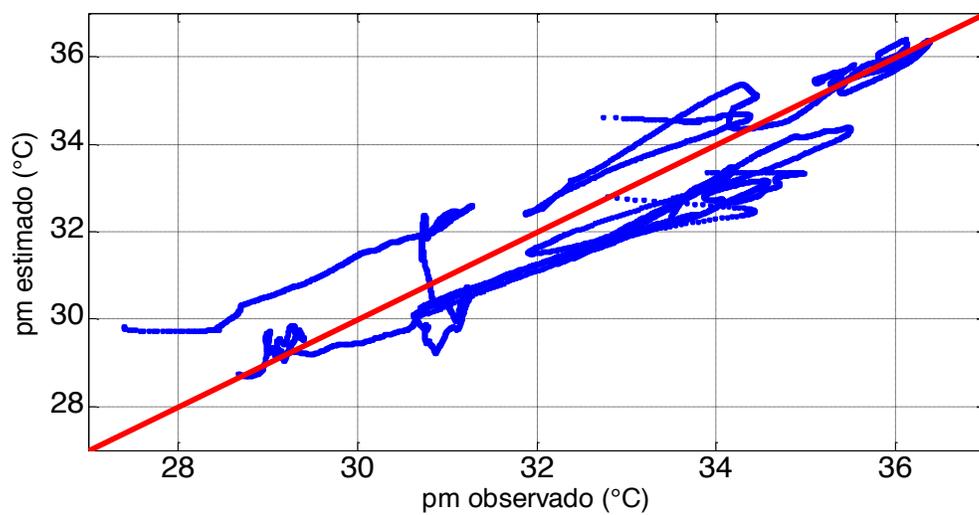
| | Desfase | a | b | R² | # Datos | pcomb |
|------------------|----------------|----------|----------|----------------------|----------------|--------------|
| Nido 1 | 11.5 | 7.048 | 0.800 | 0.957 | 1761 | 0.462 |
| Nido 2 | 9.5 | 8.386 | 0.760 | 0.938 | 1749 | 0.417 |
| Nido 3 | 20 | 12.080 | 0.633 | 0.765 | 9555 | 0.101 |
| Nido 4 | 8 | 7.662 | 0.774 | 0.958 | 1760 | 0.462 |
| Nido 5 | 8.5 | 10.121 | 0.705 | 0.927 | 1749 | 0.427 |
| Nido 6 | 9 | 9.904 | 0.719 | 0.870 | 1884 | 0.367 |
| Nido 7 | 7.5 | 8.634 | 0.747 | 0.924 | 2088 | 0.422 |
| Nido 8 | 5.5 | 7.210 | 0.789 | 0.942 | 2109 | 0.438 |
| Nido 9 | 7.5 | 7.923 | 0.741 | 0.576 | 1698 | 0.329 |
| Nido 10 | 3.5 | 1.021 | 0.504 | 0.977 | 2375 | 0.474 |
| Nido 11 | 16.5 | 7.574 | 0.754 | 0.920 | 2324 | 0.431 |
| Nido 12 | 10.5 | 9.666 | 0.692 | 0.800 | 2309 | 0.390 |
| Corral- nidos | 1 | -.120 | 1.025 | 0.817 | 5995 | 0.067 |

Todas las correlaciones son significativas con $p < 0.05$

Tabla A2.20. Tecpan de Galena, Guerrero, Temporada 2009 (ambiental)

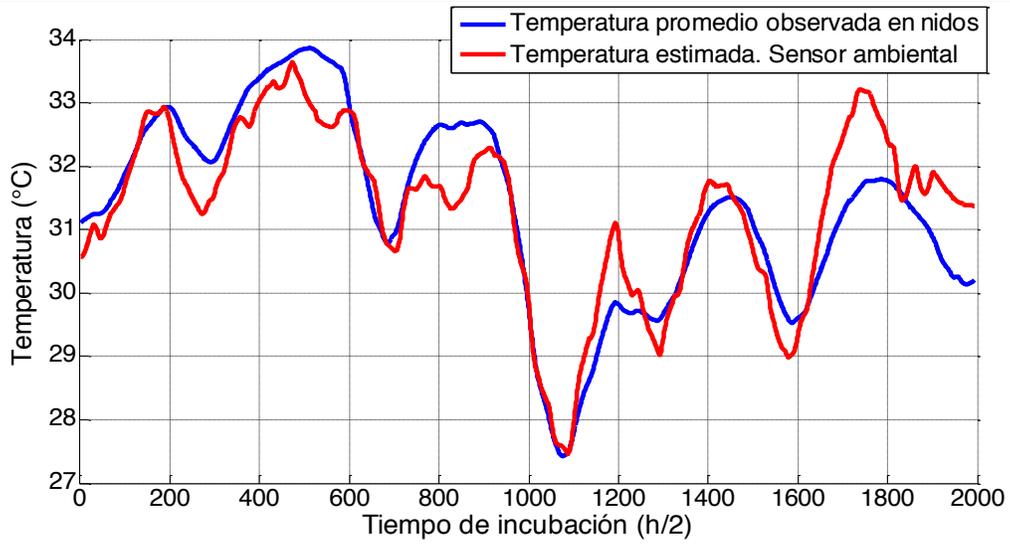


(a)

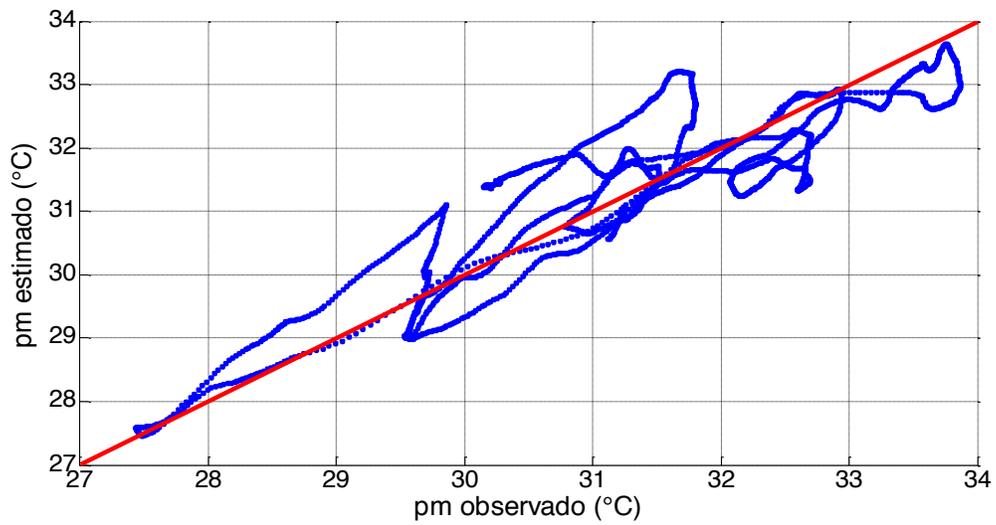


(b)

Tabla A2.21. Tecpan de Galena, Guerrero, Temporada 2009 (ambiental)



(a)



(b)

Tabla A2.22. Tecpan de Galeana, Guerrero, Temporada 2010.

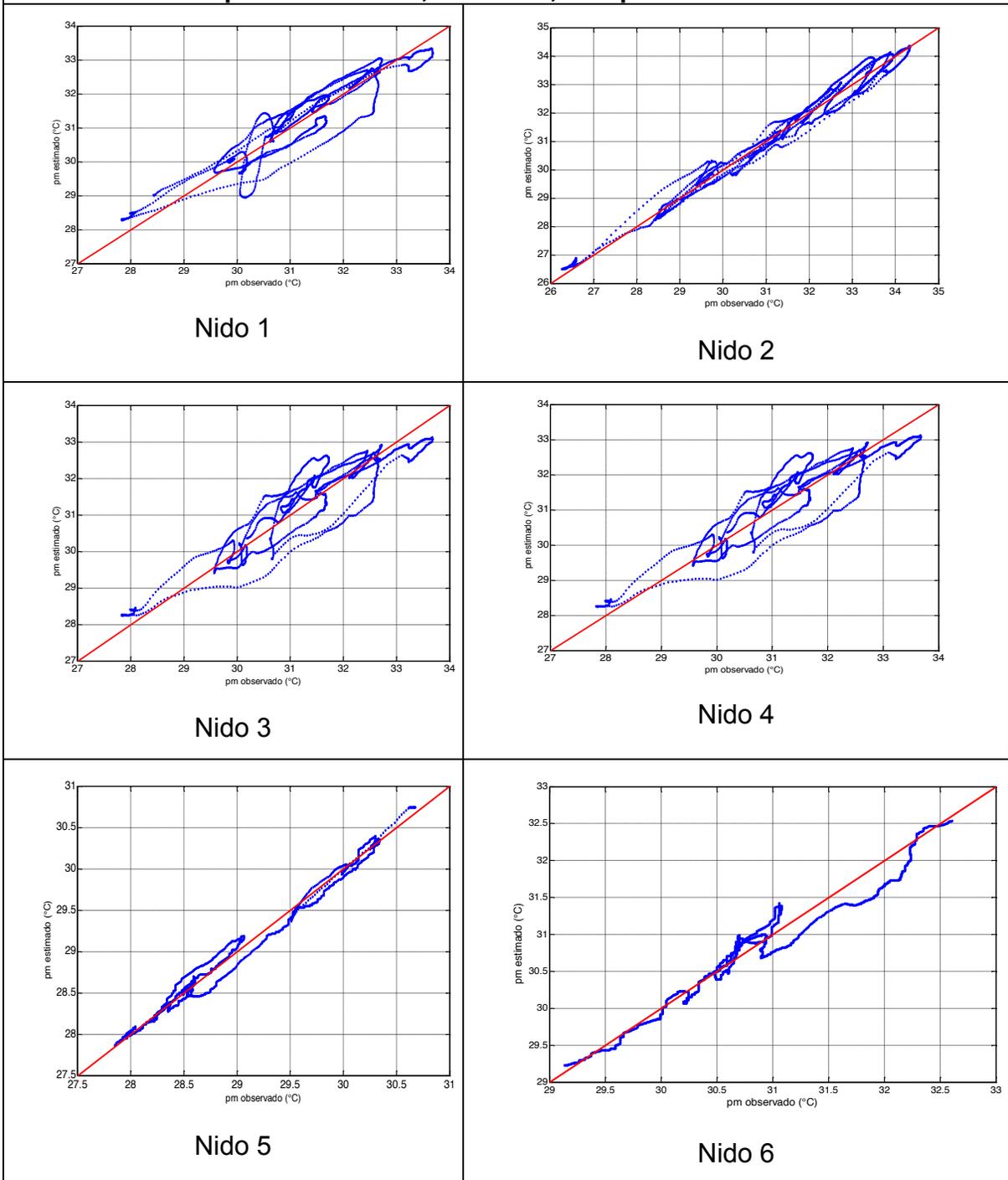
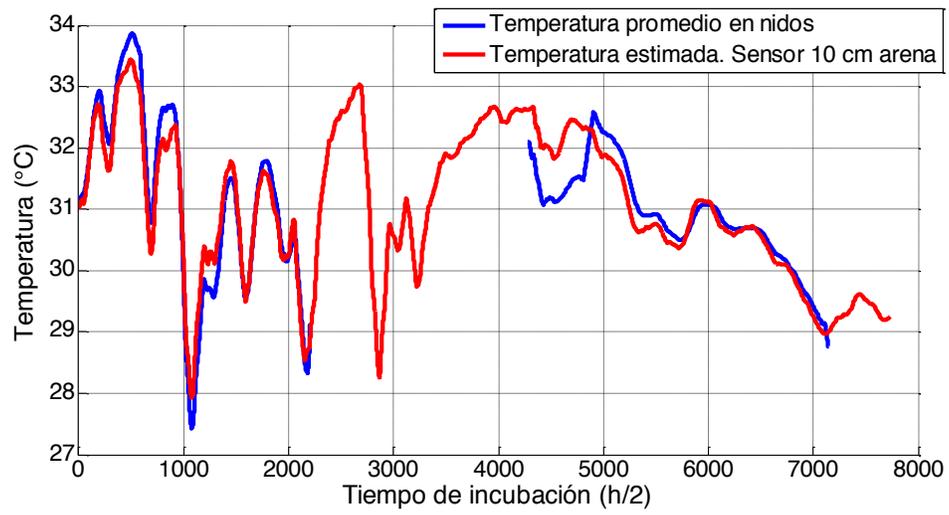


Tabla A2.23. Tecpan de Galena, Guerrero, Temporada 2010.

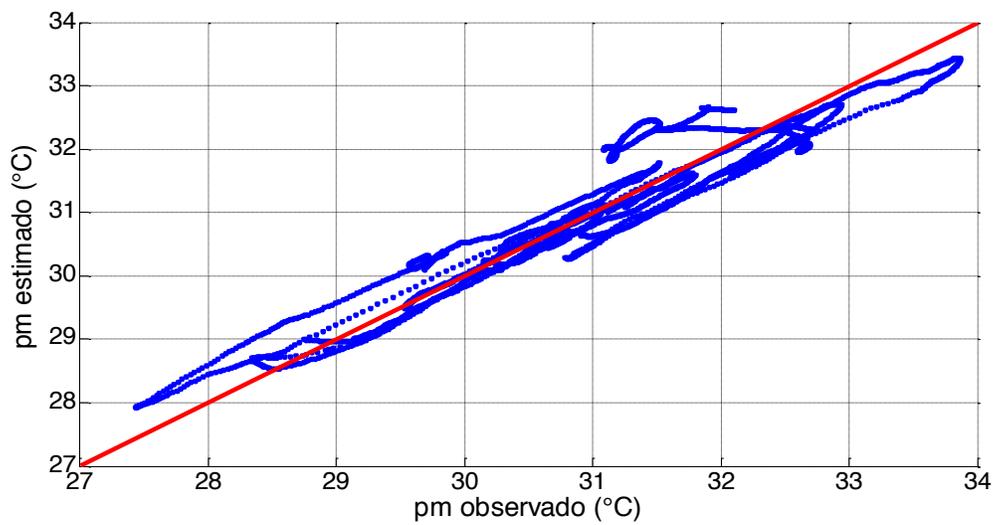
| | Desfase | a | b | R² | # Datos | pcomb |
|--------------------|----------------|----------|----------|----------------------|----------------|--------------|
| Nido 1 | 7.5 | 13.137 | 0.579 | 0.899 | 2213 | 0.381 |
| Nido 2 | 4.5 | 4.040 | 0.871 | 0.984 | 2071 | 0.473 |
| Nido 3 | 17 | 15.02 | 0.521 | 0.863 | 2037 | 0.345 |
| Nido 4 | 14.5 | 2.797 | 0.906 | 0.960 | 2180 | 0.466 |
| Nido 5 | 6.5 | 3.527 | 0.881 | 0.989 | 2543 | 0.492 |
| Nido 6 | 30 | 13.064 | 0.660 | 0.940 | 2246 | 0.462 |
| Ambiente- nidos | 5.5 | -7.338 | 1.341 | 0.768 | 2095 | 0.203 |

Todas las correlaciones son significativas con $p < 0.05$

Tabla A2.24. Tecpan de Galena, Guerrero. Temporada 2010 (julio-diciembre).



(a)



(b)

PROPORCIÓN SEXUAL EN NIDOS

Las siguientes tablas muestran la proporción sexual en cada uno de los 76 nidos monitoreados, en los cuatro campamentos tortugeros de las áreas de estudio. Los nidos se ordenan por fechas y en cada tabla se sombrea la parte media de la temporada.

| Tabla A3.1. Baja California Sur. | | | | |
|---|-----------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|
| | Temporada 2009 | | Temporada 2010 | |
| Numero de nido | Temperatura | Proporción sexual | Temperaturas | Proporción sexual |
| Nido 1 | 33.9647 | 0.0018 | 32.0109 | 0.0394 |
| Nido 2 | 32.0947 | 0.0347 | 31.9058 | 0.0462 |
| Nido 3 | 32.3104 | 0.0249 | 32.0207 | 0.0388 |
| Nido 4 | 32.6989 | 0.0136 | 31.8889 | 0.0474 |
| Nido 5 | | | 31.7406 | 0.0592 |
| Nido 6 | | | 27.2846 | 0.9866 |

| Tabla A3.2. Sinaloa. | | | | |
|-----------------------------|-----------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|
| | Temporada 2009 | | Temporada 2010 | |
| Numero de nido | Temperatura | Proporción sexual | Temperaturas | Proporción sexual |
| Nido 1 | 35.4172 | 0.0002 | 32.8666 | 0.0105 |
| Nido 2 | 35.3657 | 0.0002 | 31.7800 | 0.0558 |
| Nido 3 | 35.3934 | 0.0002 | 32.3699 | 0.0227 |
| Nido 4 | 34.7363 | 0.0005 | 34.4456 | 0.0009 |
| Nido 5 | 34.6225 | 0.0007 | 34.2532 | 0.0012 |
| Nido 6 | 35.1702 | 0.0003 | 34.1455 | 0.0014 |
| Nido 7 | 32.0890 | 0.035 | 25.9678 | 0.9983 |
| Nido 8 | 31.7635 | 0.0572 | | |
| Nido 9 | 32.2118 | 0.029 | | |
| Nido 10 | 31.9620 | 0.0424 | | |
| Nido 11 | 32.2086 | 0.0291 | | |
| Nido 12 | 32.7338 | 0.0129 | | |
| Nido 13 | 25.0129 | 0.9996 | | |
| Nido 14 | 23.4302 | 1 | | |

| Tabla A3.3. Armería, Colima. | | | | |
|-------------------------------------|-----------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|
| | Temporada 2009 | | Temporada 2010 | |
| Numero de nido | Temperatura | Proporción sexual | Temperatura | Proporción sexual |
| Nido 1 | 31.0228 | 0.1642 | 33.5761 | 0.0034 |
| Nido 2 | 33.1257 | 0.007 | 32.8543 | 0.0107 |
| Nido 3 | 35.1127 | 0.0003 | 32.1408 | 0.0323 |
| Nido 4 | 35.3456 | 0.0002 | 38.0097 | 0 |
| Nido 5 | 34.3426 | 0.001 | 36.7760 | 0 |
| Nido 6 | 33.5747 | 0.0034 | 28.1340 | 0.9504 |
| Nido 7 | 33.0538 | 0.0078 | 28.9968 | 0.8298 |
| Nido 8 | 32.4353 | 0.0205 | 28.5368 | 0.91 |
| Nido 9 | 32.3116 | 0.0248 | | |
| Nido 10 | 33.8589 | 0.0022 | | |
| Nido 11 | 28.6964 | 0.887 | | |
| Nido 12 | 28.7433 | 0.8793 | | |

| Tabla A3.4. Guerrero. | | | | |
|------------------------------|-----------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|
| | Temporada 2009 | | Temporada 2010 | |
| Numero de nido | Temperatura | Proporción sexual | Temperatura | Proporción sexual |
| Nido 1 | 35.3599 | 0.0002 | 30.45 | 0.3275 |
| Nido 2 | 36.4375 | 0 | 30.1754 | 0.4294 |
| Nido 3 | 35.2902 | 0.0002 | 30.6831 | 0.2518 |
| Nido 4 | 35.2166 | 0.0003 | 30.6723 | 0.255 |
| Nido 5 | 33.5004 | 0.0039 | 29.4501 | 0.7038 |
| Nido 6 | 33.6254 | 0.0032 | 28.7040 | 0.8858 |
| Nido 7 | 33.1875 | 0.0063 | 30.7817 | 0.2235 |
| Nido 8 | 33.1567 | 0.0066 | | |
| Nido 9 | 31.2161 | 0.1263 | | |
| Nido 10 | 31.3139 | 0.1102 | | |
| Nido 11 | 30.3943 | 0.3472 | | |
| Nido 12 | 31.0179 | 0.1652 | | |

CÁLCULO DE LA PROPORCIÓN SEXUAL EN LAS ÁREAS DE ESTUDIO, DURANTE LA TEMPORADA 2010.

Tabla A4.1. Distribución estadística de la proporción de machos para los campamentos tortugueros de Los Cabos, BCS y Playa Ceuta, Sin.

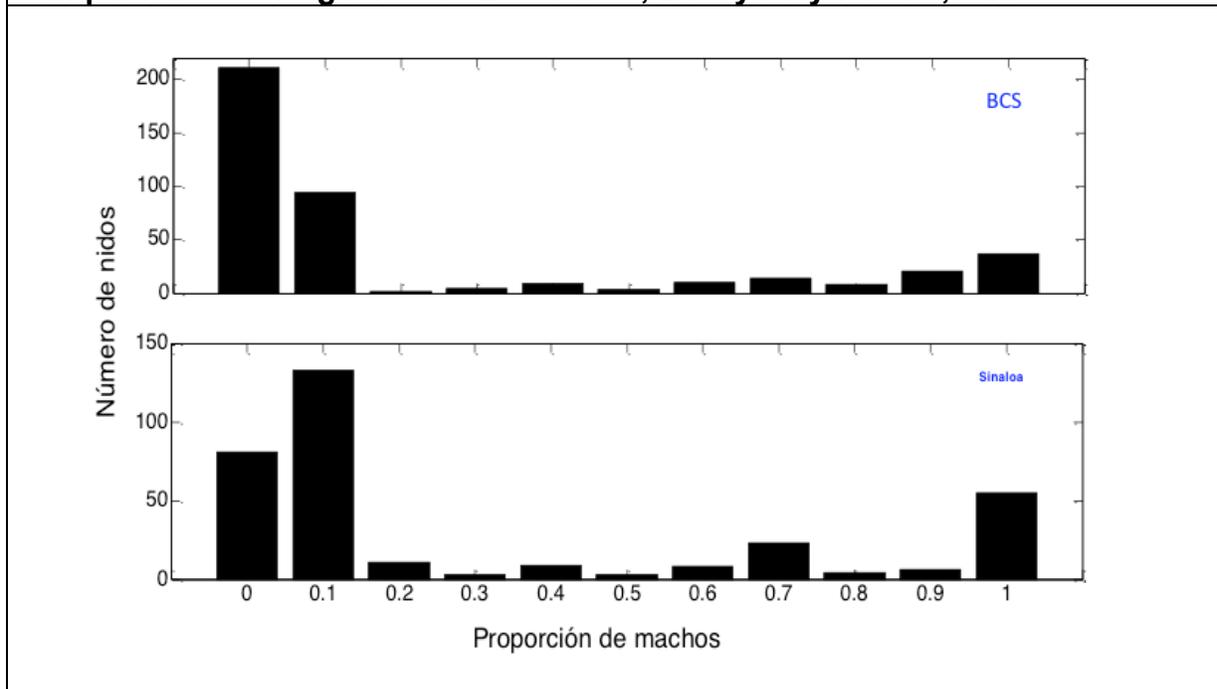


Tabla A4.2. Distribución del número de machos a lo largo de la temporada de anidación en cada campamento tortuguero.

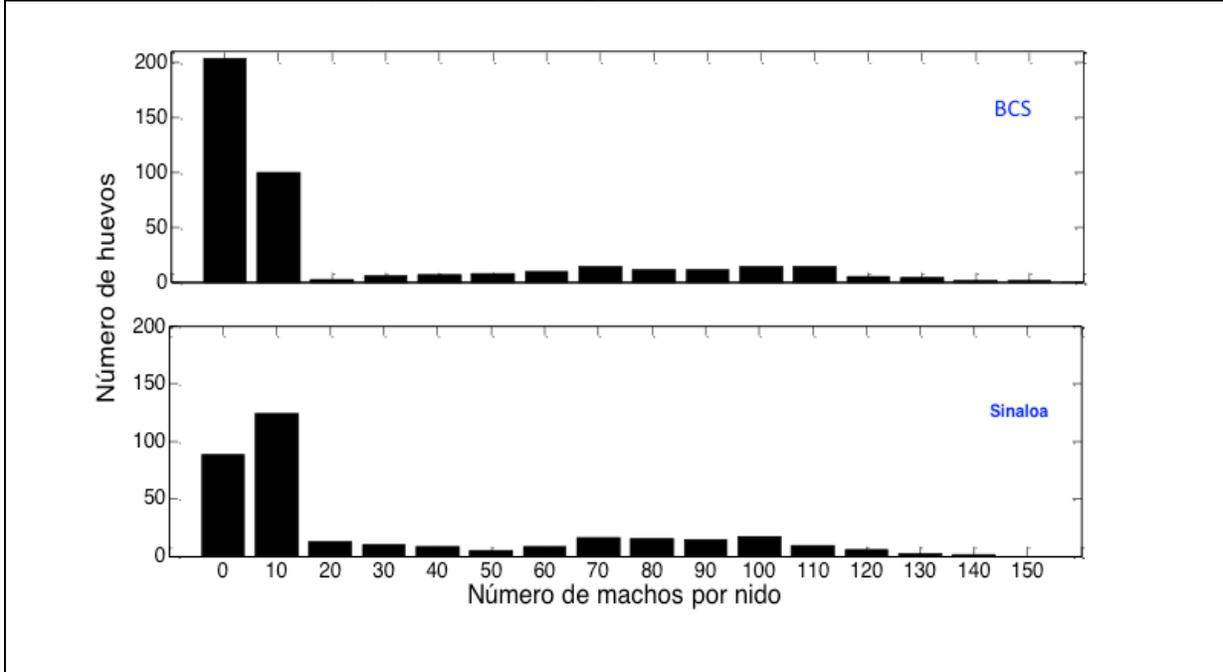


Tabla A4.3. Distribución del número de machos a lo largo de la temporada de anidación en cada campamento tortuguero.

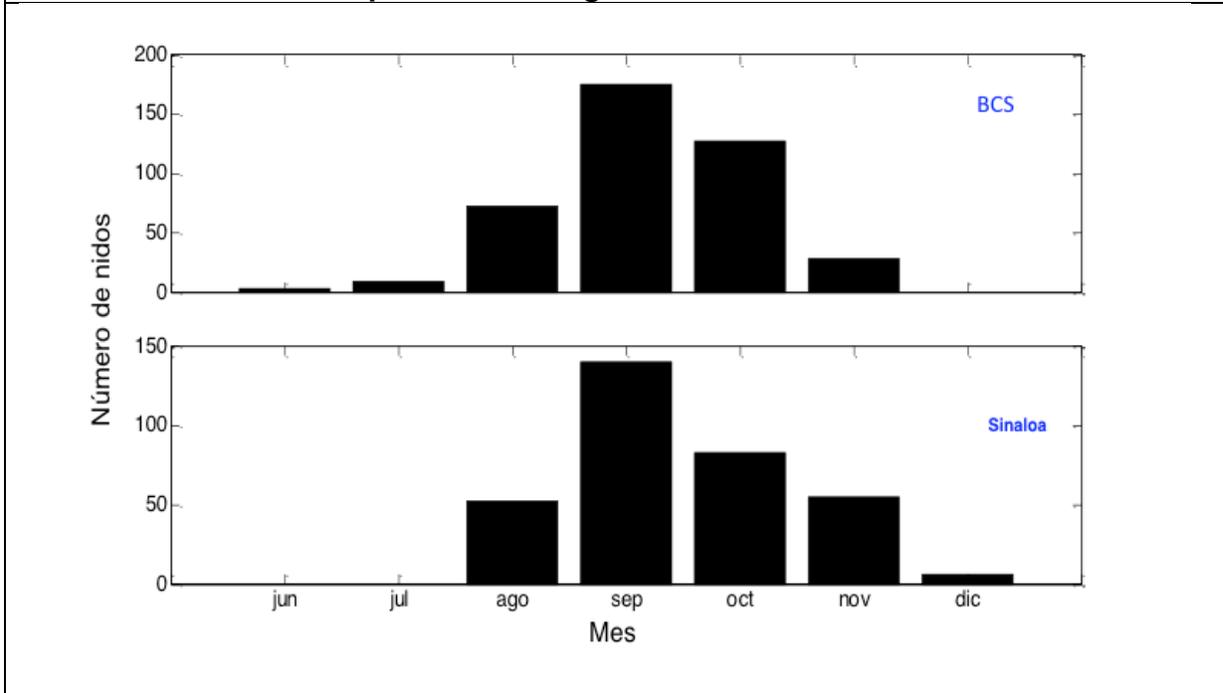


Tabla A4.4. Distribución del número de machos a lo largo de la temporada de anidación en cada campamento tortuguero.

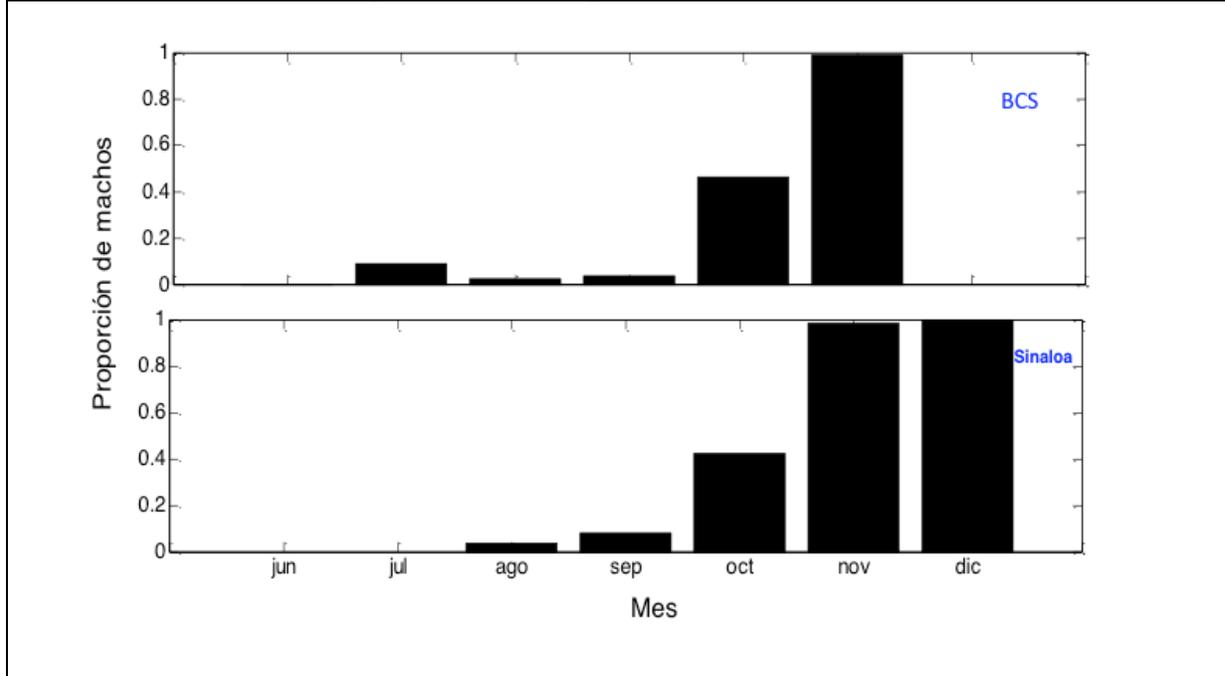
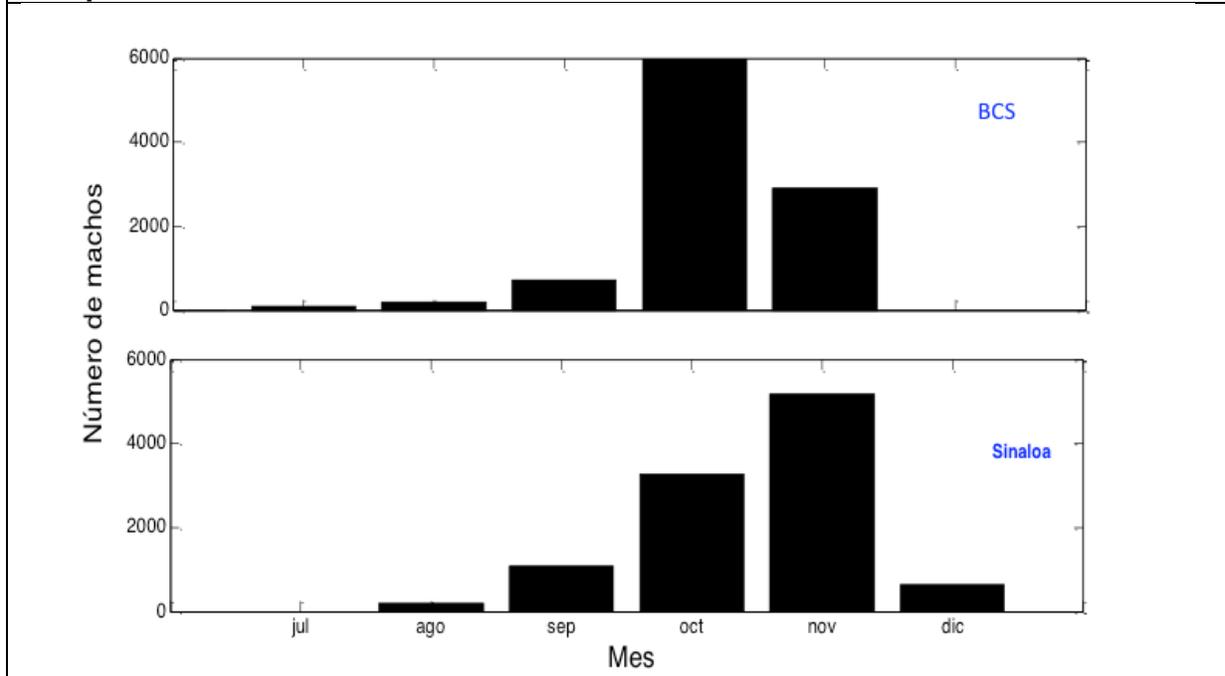


Tabla A4.5. Distribución mensual del número de machos en los diferentes campamentos.

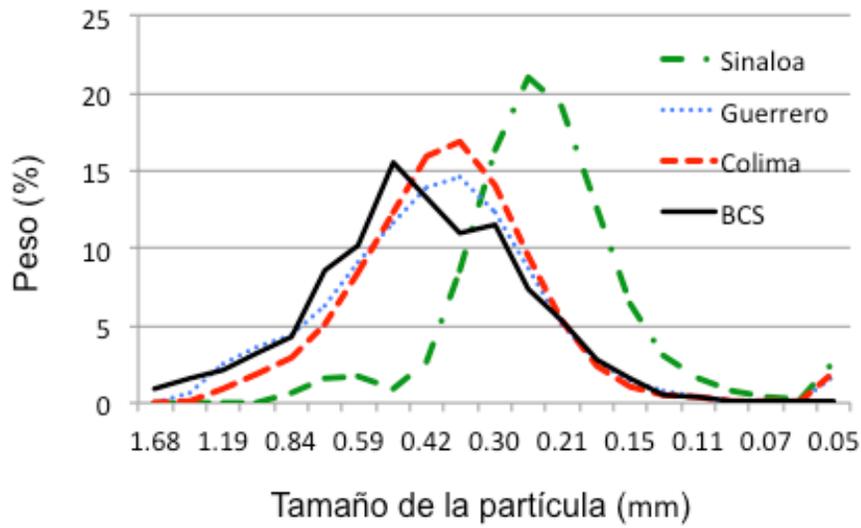


COMPOSICIÓN GRANULOMÉTRICA EN CADA UNA DE LAS ÁREAS DE ESTUDIO

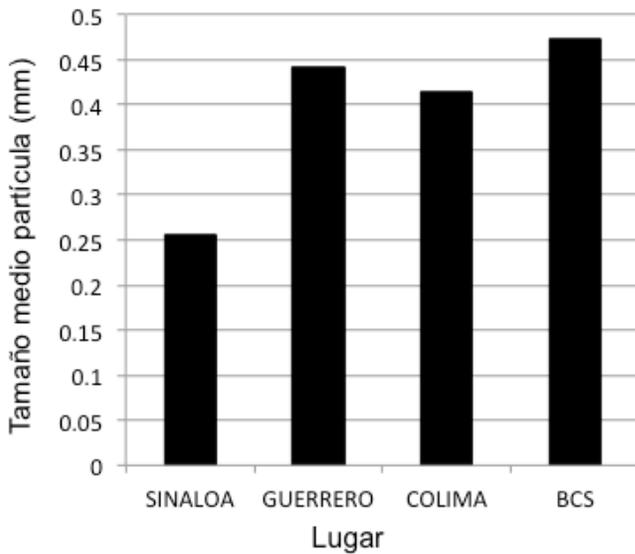
Análisis granulométrico y composición mineralógica, para el procesamiento de todas las muestras se llevo a cabo un análisis siguiendo los métodos convencionales descritos por Folk (1966).

| Tabla A5.1. Clasificación granulométrica | | | | |
|---|---------|----------|-------|--------|
| | Sinaloa | Guerrero | BCS | Colima |
| Grava | 0.0% | 0.0% | 0.4% | 0.0% |
| Arena | 97.3% | 98.3% | 99.5% | 97.9% |
| Lodo | 2.7% | 1.7% | 0.1% | 2.1% |
| Arena muy gruesa | 0.4% | 9.8% | 07.3% | 4.9% |
| Arena gruesa | 5.3% | 34.1% | 38.5% | 33.2% |
| Arena media | 50.6% | 44.5% | 42.9% | 50.7% |
| Arena fina | 37.8% | 9.0% | 10.2% | 8.4% |
| Arena muy fina | 3.2% | 0.9% | 0.6% | 0.7% |
| Limo muy grueso | 0.6% | 0.4% | 0% | 0.5% |
| Limo grueso | 0.5% | 0.3% | 0% | 0.4% |
| Limo medio | 0.4% | 0.3% | 0% | 0.4% |
| Limo fino | 0.3% | 0.2% | 0% | 0.3% |
| Limo muy fino | 0.2% | 0.1% | 0% | 0.2% |
| Arcilla | 0.7% | 0.3% | 0% | 0.3% |

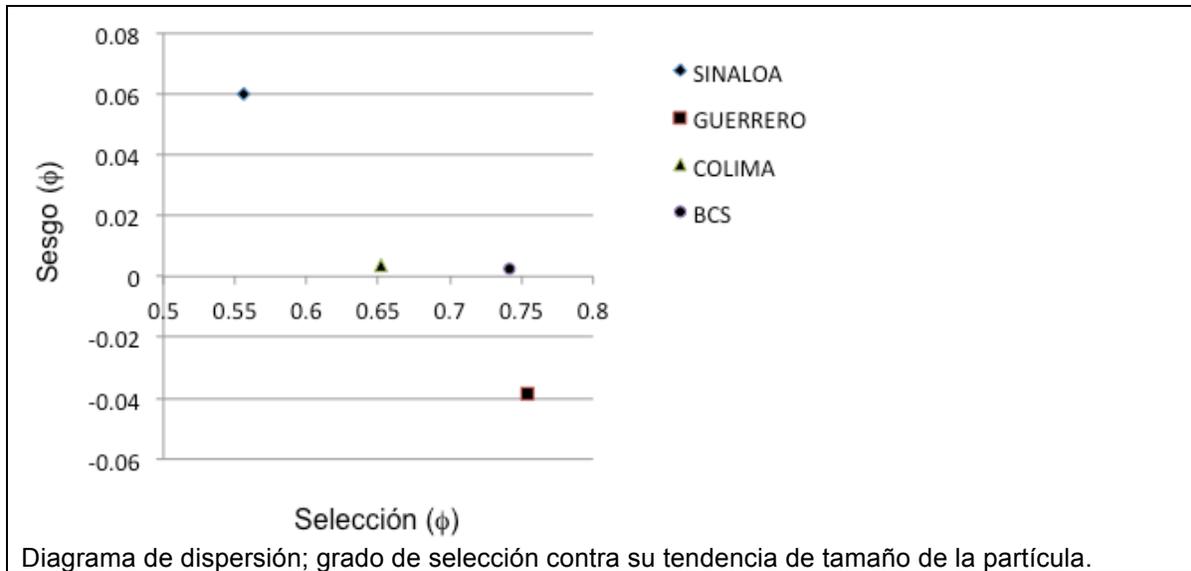
Tabla A5. 2. Tamaño de grano del sedimento en nidos de Sinaloa, Guerrero, Colima y BCS.



Histograma de frecuencia del peso por ciento (%) contra el tamaño de la partícula (mm) de sedimento



Tamaño medio de la partícula (mm)



| Tabla A5.2. Clasificación mineralógica | | | | |
|---|----------|---------|--------|-----|
| | Guerrero | Sinaloa | Colima | BCS |
| Cuarzo | 151 | 161 | 56 | 185 |
| Feldespato | 46 | 26 | 20 | 35 |
| Anfíboles y Piroxeno | 31 | 40 | 80 | 22 |
| Fragmentos de roca | 59 | 67 | 108 | 22 |
| Micas | 13 | 6 | 35 | 28 |
| Minerales metálicos | 20 | 40 | 60 | 8 |

APÉNDICE 6

ARTÍCULO PUBLICADO

Sandoval, E.S., Gómez-Muñoz V.M., Gutiérrez, J. & Porta-Gándara M.A. 2010. Metabolic heat estimation of the sea turtle *Lepidochelys olivacea* embryos. *Journal of Thermal Biology*, 36(2): 138-141.



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Thermal Biology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jtherbioMetabolic heat estimation of the sea turtle *Lepidochelys olivacea* embryosSarahi Sandoval^a, Victor Gómez-Muñoz^a, Joaquín Gutiérrez^b, Miguel Ángel Porta-Gándara^{b,*}^a CICIMAR – IPN, PO Box 592, La Paz, Baja California Sur 23000, Mexico^b Engineering Group, CIBNOR S.C., PO Box 128, La Paz, Baja California Sur 23000, Mexico

ARTICLE INFO

Article history:

Received 17 November 2010

Accepted 28 December 2010

Keywords:

Incubation temperature

Metabolic heat

Lepidochelys olivacea

ABSTRACT

Several studies have reported the importance of metabolic heat on the increment of temperature in the sea turtle nests; however, the metabolic heat has not been calculated for sea turtle eggs. In this study, the metabolic heat generated by embryos of the sea turtle *Lepidochelys olivacea* was estimated from a thermal balance model by means of three measured temperatures—one in the center of the nest, and the others in the sand above and beside the nest. An experiment was conducted with a sample of 100 eggs from a *Lepidochelys olivacea* nest collected in the Baja Peninsula, Mexico. The results showed that during the incubation period, no metabolic heat was detected before day 19 but it increased from that day until a maximum of 0.84 W at day 34, when the incubation process was interrupted due to rain. This value corresponds to 31 emerged hatchlings. The novel model is a suitable framework to predict the temperature and metabolic heat within the nest.

© 2011 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

The temperature of sea turtle nests during the middle third of the incubation period is critical for sex determination, and it also affects the rate of embryonic development (Ackerman, 1994) and phenotype of the offspring (Packard and Packard, 1988; McGehee, 1990). For *Lepidochelys olivacea*, temperatures below 28 °C produce males, above 32 °C females and between 28 and 32 °C both sexes can be obtained (McCoy et al., 1983). This process is known as temperature sex determination (TSD).

The temperature increase has been recorded within an incubating sea turtle clutch caused by the metabolic heat of the embryos in nests of *Chelonia mydas* (Kaska et al., 1998), *Eretmochelys imbricata* (Raj, 1976), *Caretta caretta* (Maloney et al., 1990) and *Dermochelys coriacea* (Godfrey et al., 1997). If the metabolic heating within the clutch is considerable, the average clutch temperatures will systematically differ from the sand temperatures at nest depth. It has been suggested for several sea turtle populations, that metabolic heating has a feminizing effect on hatchling sex ratios (Broderick et al., 2001; Glen and Mrosovsky, 2004).

Metabolic heat can only be important if the temperature of the nest increases considerably during the middle third of the incubation period. However the metabolic heat is negligible with regard to the TSD because in most previous investigations it has occurred after the critical thermosensitive period (Mrosovsky and Yntema, 1980). Broderick et al. (2000) studied incubation temperatures in 32 nests of *Chelonia mydas* in Ascension Island, UK, in relation to the sand temperatures. They found an increase in nest temperature

between 0.07 and 2.86 °C attributed to the metabolic heat, during the middle third of the incubation period, when the sex is determined. The metabolic heating accounted for an increase of up to 30% in the proportion of female hatchlings produced.

In five nests of *Chelonia mydas* in Heron Island, Australia, Booth and Astill (2001) detected a rise between 3 and 5 °C of metabolic heating after the sex-determining period, therefore having little effect on hatchling sex ratios. Godley et al. (2001) analyzed the metabolic heating in 15 *Caretta caretta* nests in the Mediterranean, finding that 14 clutches had an increase in temperature between 0.38 and 1.48 °C. However, the metabolic heating detected was significantly higher in the final third of the incubation period. Zbinden et al. (2006) measured temperatures within 20 nests of *Caretta caretta* population in Greece. During the last third of the incubation period, the metabolic heat produced a temperature increase of the nest about 1.6 °C regarding the surrounding sand. Metabolic heating was negligible in the middle third and it did not influence the hatchling sex ratio.

Nevertheless, the metabolic heat has not been calculated for sea turtle eggs, and the investigations described above only report the increment of the temperature in the nest due to metabolic heating and the TSD consequences. In this study, the thermal properties of sea turtle nests were considered by means of a numerical method to solve the thermal balance differential equation between the nest and the surrounding sand.

2. Theoretical model

A heat transfer model is derived from the thermal balance among the accumulated energy in the nest, the metabolic heat

* Corresponding author.

E-mail address: maporta@cibnor.mx (M.ndara).

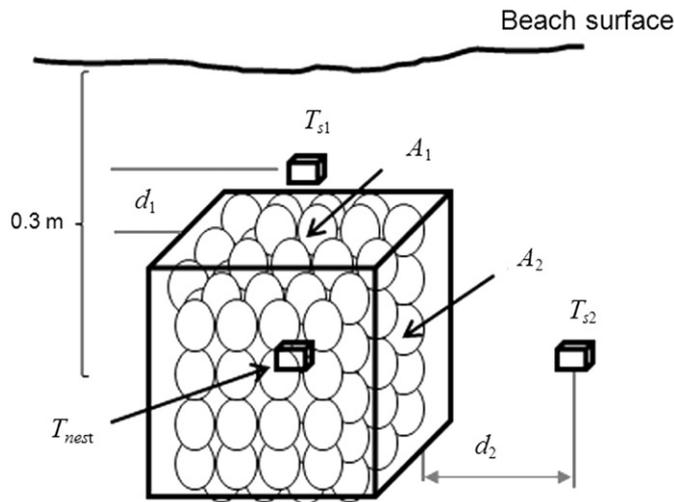


Fig. 1. Control volume for estimation of metabolic heat.

generated by the embryos and the heat flow from the nest to the surrounding sand. Considering a cubic control volume that represents the clutch (Fig. 1), the thermal balance model is

$$M_{nest}Cp_{nest}\frac{dT_{nest}}{dt} = Q_{met} - A_1U_{ns1}(T_{nest} - T_{s1}) - A_2U_{ns2}(T_{nest} - T_{s2}) \quad (1)$$

where M_{nest} is the mass of the nest (kg), Cp_{nest} the specific heat of eggs ($\text{kJ kg}^{-1} \text{K}^{-1}$), T_{nest} the temperature of the nest (K), Q_{met} the metabolic heat generated by the embryos (W), A_1 the top area of the nest (m^2), A_2 the lateral area of the nest (m^2), U_{ns1} the heat transfer coefficient between the nest and the sand above the nest ($\text{W m}^{-2} \text{K}^{-1}$), U_{ns2} the heat transfer coefficient between the nest and the sand beside the nest ($\text{W m}^{-2} \text{K}^{-1}$), T_{s1} the temperature of the sand above the nest (K), and T_{s2} the temperature of the sand beside the nest (K).

Since the thermal conductivities of the sand change at different depths due to variations in sand moisture, the heat transfer coefficients between the nest and the sand (surface and lateral respectively) are estimated by

$$U_{ns1} = \frac{K_1}{d_1} \quad \text{and} \quad U_{ns2} = \frac{K_2}{d_2}$$

where K_1 is the thermal conductivity between the nest and the sand above the nest ($\text{W m}^{-1} \text{K}^{-1}$), K_2 the thermal conductivity between the nest and the sand beside the nest ($\text{W m}^{-1} \text{K}^{-1}$), d_1 the distance between the nest and the sand above the nest (m), and d_2 the distance between the nest and the sand beside the nest (m).

3. Experimental design

The experiment to acquire nest temperature data *in situ* was conducted with a nest with 100 eggs of *Lepidochelys olivacea*, in the San Jose del Cabo nesting zone ($23^\circ 03' \text{N}$, $109^\circ 42' \text{W}$), in the Baja Peninsula, Mexico, during the 2007 turtle nesting season. A permit (SGPA/DGVS/06841/07) for the collection, transportation and incubation of the eggs was issued by the Mexican government, and the sampling was supported by the Conservation Program of Los Cabos Council.

In order to measure the temperatures, three data loggers were placed: one in the sand above the clutch at a distance (d_1) of 0.10 m, the second at the center of the nest at 0.3 m depth, and the third sensor in the sand at the same depth of the second, beside the nest at a distance (d_2) of 0.20 m (Fig. 1). The selected temperature HOBO data loggers model H08-004-02 were

calibrated with the mercury thermometer CT40, with 0.1°C of resolution. The data loggers were programmed to record data every 0.25 h, using an external sensor TMC6-HB with a resolution of 0.20°C at 20°C and an accuracy of $\pm 0.36^\circ \text{C}$ at 20°C .

3.1. Numerical solution

The metabolic heat of the nest was estimated using the nest temperatures provided by the solutions of Eq. (1), which was solved with the program odes45m of MATLAB software. Before applying the equation, however, some physical parameters must be established, as follows.

The physical parameters are as follows: the mass of the nest (M_{nest}) was 3 kg with two equivalent heat transfer areas (A_1 and A_2) of 0.04 m^2 each. The specific heat of the eggs was estimated from the Siebel empirical formula, which is used to measure the specific heat for organic compounds (Mohsenin, 1980)— $Cp_{nest} = 0.008M + 0.2$, where M is the water content percentage of the eggs as calculated from an incineration procedure (Radhakrishnan, 1997), after which a final value of $Cp_{nest} = 2.2 \text{ kJ kg}^{-1} \text{K}^{-1}$ was obtained.

The estimated nest temperatures given by Eq. (1) were used to estimate both the parameters K_1 and K_2 , as well as the metabolic heat of the nest. The procedure is described as follows.

The thermal conductivity of sand varies considerably with grain size (Speakman et al., 1998) and depth because of drastic changes in humidity, especially near the surface. In this work K_1 and K_2 were calculated when metabolic heat is absent during the first week of the incubation period ($Q_{met} = 0$).

In order to obtain the best values of U_{ns1} and U_{ns2} , the corresponding K_1 and K_2 were selected by an iterative method within the interval of real thermal conductivity values between 0.25 and $3.0 \text{ W m}^{-1} \text{K}^{-1}$, as suggested by Chen (2008). The distances d_1 and d_2 were 0.1 and 0.2 m, respectively. The optimal values of K_1 and K_2 were found by means of the criteria of minimal differences between calculated and observed nest temperatures (Eq. (2)) provided by the solutions of Eq. (1)

$$D = \frac{1}{n} \sum |T_{nest}^c - T_{nest}^o| \quad (2)$$

The resulting values of K_1 and K_2 corresponding to the first 10 incubation days were $K_1 = 0.5$ and $K_2 = 1.5 \text{ W m}^{-1} \text{K}^{-1}$. Similarly, from these optimal thermal conductivity values, the daily metabolic heat Q_{met} was calculated during the incubation period, exploring values in the interval from 0 to 5 W, with increments of 0.02 and choosing the one with minimal difference between the estimated and the registered nest temperatures (Eq. (2)).

4. Results and discussion

For each day of the incubation period, the metabolic heat of the nest was calculated from the described method above. To illustrate the process, the solutions for days 10 and 36 are exemplified in Fig. 2, where the measured temperatures (above, center and beside the nest) data along the day are shown together with the estimated nest temperature by Eq. (1). The estimated and the measured temperatures are almost coincident, with negligible temperature mean differences of less than one-tenth of a degree. In the absence of metabolic heat (day 10), the nest temperatures are between the temperatures above and beside the sand; in contrast, when metabolic heat is present (day 36), the nest temperatures are the highest of the three.

The resulting metabolic heat estimated is shown in Fig. 3, where it can be observed that after day 19 of the incubation

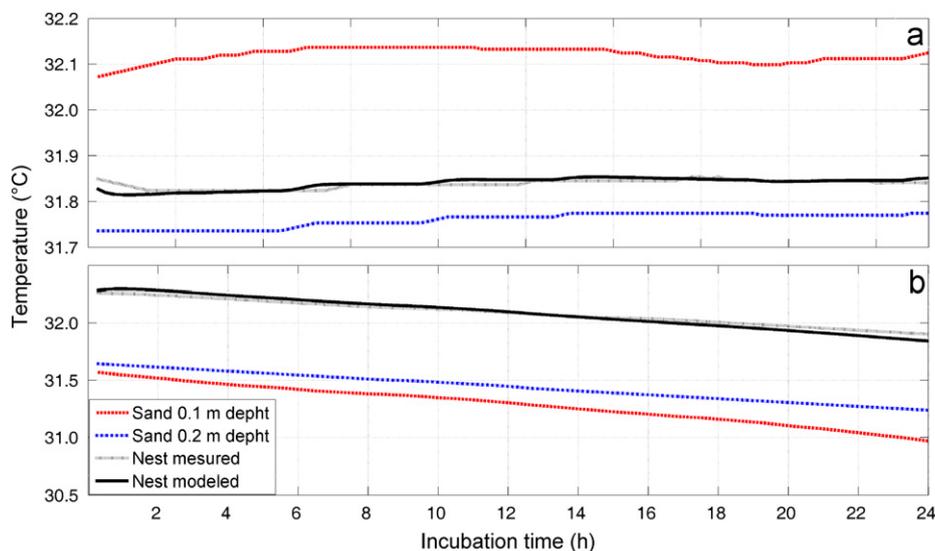


Fig. 2. Nest modeled temperature from Eq. (1). Estimated physical parameters: (a) for day 10— $K_1=0.5$, $K_2=3.5$ and $Q_{met}=0.0$ W, and (b) for day 36— $K_1=0.5$, $K_2=1.5$ and $Q_{met}=0.7$ W.

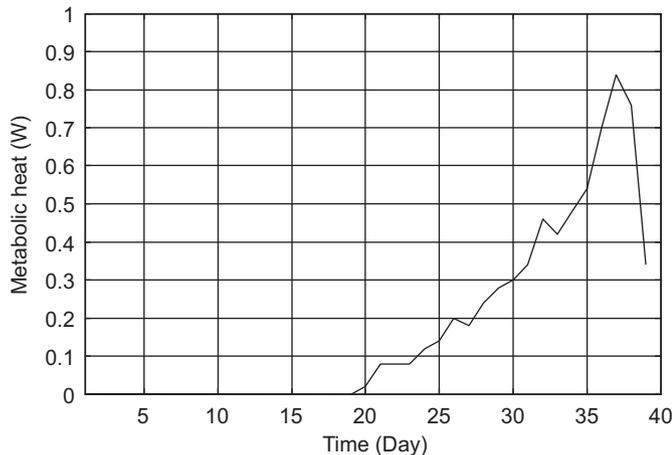


Fig. 3. Estimated metabolic heat produced by embryos of sea turtle, *Lepidochelys olivacea* as a function of time of incubation.

period, the metabolic heat appears. After this date, the metabolic heat was found to increase to a maximum of 0.84 W in the last week of incubation. Between days 19 and 31, the average increase in metabolic heat was 0.03 W per day, and after that, the rate increased gradually to a maximum of 0.15 W per day. Decreases in the metabolic heat less than 0.05 W at days 27 and 33 were observed possibly due to light rain or embryo mortality. At the final stage of the incubation period there was an abrupt decrease in the metabolic heat due to continuous heavy rain for several days, given the presence of a tropical storm, as reported by Houghton et al. (2007).

The maximum estimated metabolic heat corresponds to the 31 hatchlings that survived the end of the incubation period, which corresponds to an average value of 0.027 W per hatchling. It is not possible to know how many hatchlings generated the estimated metabolic heat in previous days, because daily survival is unknown. In either case, a more intense and detailed study of metabolic heat variation in sea turtle clutches is granted.

The metabolic heat calculations of *Lepidochelys olivacea* embryos that were found in this study allows us to understand the amount of energy load in a sea turtle clutch as an internal heating source. The results reveal that the iterative method developed in this work is adequate to calibrate the heat transfer

coefficients and to estimate the metabolic heat. The novel model is a suitable framework to predict the temperature and metabolic heat within the nest.

Acknowledgment

We are very grateful to Mr. Juan Francisco Villa Medina for his support in this work.

References

- Ackerman, R.A., 1994. Temperature, time, and reptile egg water exchange. *Isr. J. Zool.* 40, 293–306.
- Booth, D., Astill, K., 2001. Temperature variation within and between nest of the green sea turtle, *Chelonia mydas* (Chelonia: Cheloniidae) on Heron Island, Great Barrier Reef. *Aust. J. Zool.* 49, 71–84.
- Broderick, A.C., Godley, B.J., Hays, G.C., 2001. Metabolic heating and the prediction of sex ratios for green turtles (*Chelonia mydas*). *Physiol. Biochem. Zool.* 74 (2), 161–170.
- Broderick, A.C., Godley, B.J., Downie, S.J.R., 2000. Incubation durations and sex ratios of green turtles: highly female biased hatchling production in the Eastern Mediterranean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 202, 273–281.
- Chen, S.X., 2008. Thermal conductivity of sands. *Heat Mass Transfer* 44, 1241–1246.
- Glen, F., Mrosovsky, N., 2004. Antigua revisited: the impact of climate change on sand and nest temperatures at a hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*) nesting beach. *Global Change Biol.* 10, 2036–2045.
- Godfrey, M.H., Barreto, R., Mrosovsky, N., 1997. Metabolically generated heat in sea turtles nests and its potential effect on the sex ratio of hatchlings. *J. Herpetol.* 31 (4), 616–619.
- Godley, B.J., Broderick, A.C., Mrosovsky, N., 2001. Estimating hatchling sex ratios of loggerhead turtles in Cyprus from incubation durations. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 210, 195–201.
- Houghton, J.D.R., Myers, A.E., Lloyd, C., King, R.S., Isaacs, C., Hays, G.C., 2007. Protracted rainfall decreases temperature within leatherback turtle (*Dermochelys coriacea*) clutches in Grenada, West Indies: ecological implications for a species displaying temperature dependent sex determination. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 345, 71–77.
- Kaska, Y., Downie, R., Tippett, R., Furness, R., 1998. Natural temperature regimes for loggerhead and green turtle nests in the Eastern Mediterranean. *Can. J. Zool.* 76 (4), 723–729.
- Maloney, J.E., Darian-Smith, C., Takahashi, Y., Limpus, C.J., 1990. The environment for development of the embryonic loggerhead turtle (*Caretta caretta*) in Queensland. *Copeia*, 378–387.
- McCoy, C.J., Vogh, R.C., Censky, E.J., 1983. Temperature controlled sex determination in sea turtle *Lepidochelys olivacea*. *J. Herpetol.* 17 (4), 404–406.
- McGehee, M.A., 1990. Effects of moisture on eggs and hatchlings of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). *Herpetologica* 46, 251–258.
- Mohsenin, N.N., 1980. *Thermal Properties of Foods and Agricultural Materials*. Gordon and Breach, New York 407 pp.

- Mrosovsky, N., Yntema, C.L., 1980. Temperature dependence of sexual differentiation in sea turtles: implications for conservation practices. *Biol. Conserv.* 18, 271–280.
- Packard, G.C., Packard, M.J., 1988. The physiological ecology of reptilian eggs and embryos. In: Gans, C., Huey, R.B. (Eds.), *Biology of the Reptilia*, 16. Liss, New York, pp. 523–605.
- Radhakrishnan, S., 1997. Measurement of thermal properties of seafood. Masters of Science Thesis, Virginia Polytechnic Institute and State University, 83 pp.
- Raj, U., 1976. Incubation and hatching success in artificially incubated eggs of the hawksbill turtle, *Eretmochelys imbricata*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 22 (1), 91–99.
- Speakman, J.R., Hays, G.C., Lindblad, E., 1998. The role of thermal conductivity in influencing loggerhead sea turtle (*Caretta caretta* L) nest temperatures. *J. Mar. Biol. Assoc. UK* 78 (4), 1337–1352.
- Zbinden, J.A., Margaritoulis, D., Arlettaz, R., 2006. Metabolic heating in Mediterranean loggerhead sea turtle clutches. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 334, 151–157.