



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

**“Frecuencia de paternidad múltiple y simetría en los
escudos del caparazón de *Lepidochelys olivacea* en
Ixtapilla; Michoacán, México.”**

TESIS

Que para obtener el grado de Maestra en Biología.

PRESENTA

Hidrobióloga Odette Amilpa Castro

Dr. Omar Chassin Noria.

Dra. Alejandra Serrato Díaz.

Dr. Luis Mendoza Cuenca.

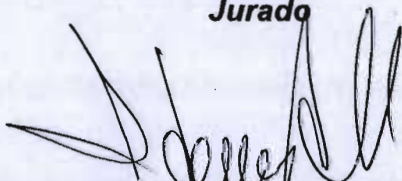
**"La Maestría en Biología de la Universidad Autónoma Metropolitana
pertenece al Padrón Nacional de Posgrados de Excelencia del
CONACyT".**

**El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la
Unidad Iztapalápa aprobó la tesis que presentó.**

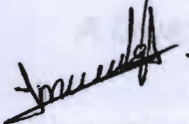
ODETTE AMILPA CASTRO

El día 30 de Julio del año 2015.

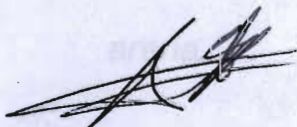
Jurado



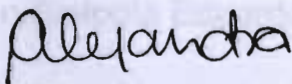
Presidente. Dr. Isaias H. Salgado Hugarte.



Secretario Dr. Luis Guevara Chumacero



Sinodal Dr. Antonio Zoilo



Sinodal Dra. Alejandra Serrato Díaz

DEDICATORIA

A mi Madre

María Guadalupe Castro Parédes (1950-2005).

A las compañeras de viajes eternos:

Pranke, Ñu y Kukurumbe.

A Dios:

*Por mantenerme a tu lado cuando sólo veía un par de huellas en la
arena.*

A mí amado amigo M. en Biología Eduardo Laurent Olivares (1982-2015).

Universo y Pachamama, gracias por el tiempo y el amor a la vida.

AGRADECIMIENTOS

A CONACyT ciencia básica por el apoyo al proyecto ECOLOGÍA MOLECULAR DE TORTUGAS MARINAS: SISTEMA DE APAREAMIENTO Y GENÉTICA DE LA CONSERVACIÓN. 79857CB-2007-01.

A CONACyT por el apoyo económico No. de becario 268498/224672.

A mi casa de estudios, la UAM – Iztapalápa; ¡La mejor, siempre!

Al Laboratorio Divisional de Biología Molecular, por su apoyo y entrenamiento.

Al Dr. Omar Chassin-Noria por haberme aceptado como parte de su equipo de trabajo.

A la comunidad de Ixtapilla por permitirnos trabajar, convivir, cuidarnos y aprender de ustedes.

A los Maestros que han estado en este proceso, en específico a la Dra. Alejandra Serrato Díaz, por su apoyo y presencia incondicional, que ha permitido mi crecimiento personal como profesional.

Al Dr. Luis Mendoza por su tiempo, conocimiento y apoyo en todo este proceso.

Al Dr. Isaías Hazarmabeth Salgado H. por la revisión de los análisis estadísticos.

A mis sinodales Dr. Luis M. Guevara, Dr. Antonio Zoilo Dr. Isaías Salgado y Dra. Alejandra Serrato.

A mis compañeros de la Maestría en Biología de la UAM-I, a mis compañeros del Laboratorio Divisional de Biología Molecular y del laboratorio en el CMEB; a los compañeros de campo Elpis y Elliot.

A mis amig@s, en especial, Ingrid C. Novelo, Karina Maldonado & familia, Berenice Murillo, Lety Gaspar y Nalle Martínez.

A mis compañeras, maestras, alumnas y amigas de Belly-Dance.

A mis alumnos de HaTha Yoga- Yoga Restaurativo.

A Holiken “El corazón del cielo”. A CEHiT por enseñarme a sanar mi alma.

A Israel M. Reyna por los buenos momentos y enseñanzas, que al estar juntos aprendimos.

A mí familia, en especial a mis Tíos Fernando Ramírez Carrillo, Rosa María Castro Parédes y mis primos Janice y Fernando.

Y a mis hermanos, Laríza Hazél Ramírez Castro e Ignacio Amilpa Castro, recuerden que LOS AMO y que me inspiran a ser mejor.

Al Sr. Roberto Amilpa Núñez por haber cuidado la semilla, haberla enseñado a nadar, bucear y haberme transmitido el amor por la biología marina.

Al Sr. Roberto Soriano Columba por la semilla.

A Oscar, aunque ya no estés aquí.

A Michoacán, por las experiencias.

Gracias a todos por estar y no permitirme claudicar.

RESUMEN

La presencia o ausencia de la paternidad múltiple tiene implicaciones importantes para la conservación de las tortugas marinas ya que podría afectar los niveles de diversidad genética de cada nidada y por extensión la diversidad genética de la población (Chassin, 2004).

En este estudio se realizó un análisis de la frecuencia de paternidad múltiple a 107 crías de tortuga marina de la especie *Lepidochelys olivacea* (Eschscholtz 1829) correspondientes a 5 nidos, con tres *loci* de microsatélites Or1, Or2 y Cm84. Se obtuvo la probabilidad de paternidad correspondiente al 0.90. En dos de los cinco nidos se encontró que la fertilización fue correspondiente a cinco padres, uno a cuatro, uno a tres y otro a dos padres. En los cinco nidos se conservó el orden de postura hasta el día de la eclosión y se observó que no existe numeración consecutiva al asignar los padres a las crías, sugiriendo que no existe un mecanismo que posibilite conservar separadas las diferentes descargas espermáticas en el oviducto de la hembra, apoyando la hipótesis que sugiere que el semen utilizado para la fertilización es una mezcla de fluido seminal dentro del tracto genital de la hembra.

La simetría tiene implicaciones evolutivas, dado que está relacionada con la estabilidad genética y la adecuación (Lara 2010). En el análisis de simetría de los escudos del caparazón se determinó que existen diferencias significativas entre las dos temporadas de crías analizadas observando en la segunda temporada los

individuos con mayor simetría. Inferimos que la simetría en los escudos del caparazón no favorece la sobrevivencia ya que las hembras anidadoras (que ya pasaron por un proceso de selección) no presentan diferencias significativas entre simetría/asimetría; pero si las favorece en su reproducción (las crías tienden a la simetría).

Además se observó que las crías de ambas temporadas como las hembras anidadoras presentan una mayor proporción en los siguientes escudos: 5 escudos ventrales, combinación 6–6 en escudos costales y 13-13 en los marginales.

Respecto a la comparación de la frecuencia de paternidad múltiple y simetría de escudos entre la playa de Maruata *versus* playa de Ixtapilla se observó que la paternidad múltiple en los sitios de anidación en arribada es de 100 %. En donde se presenta anidación en arribada se encontró una mayor proporción de nidos que son fertilizados por más machos que en las tortugas que anidan en solitario (5 y 4 machos respectivamente). Con respecto al patrón en los escudos del caparazón las hembras de Ixtapilla y las crías presentan una mayor proporción en la combinación de escudos ventrales (cinco), la combinación 6–6 en los escudos costales y 13-13 en los marginales

ABSTRACT

The presence or absence of multiple paternity has important implications for the conservation of sea turtles because it could affect the levels of genetic diversity of each clutch and by extension the genetic diversity of the population (Chassin, 2004).

In this study an analysis of the frequency of multiple paternity 107 baby sea turtle species *Lepidochelys olivacea* (Eschscholtz 1829) corresponding to 5 nests, three microsatellite loci or R1, R2 and CM84 was performed. Corresponding to the probability of paternity 0.90 was obtained. In two of the five nests it was found that fertilization corresponding to five parents, one to four, one to three and one to two fathers. In the five nests stance order was preserved until the day of hatch and found that there is no sequential numbering to assign parents to offspring, suggesting that there is no mechanism that enables different sperm retain separate downloads in the oviduct female, supporting the hypothesis that semen used for fertilization is a mixture of seminal fluid into the female genital tract.

Symmetry has evolutionary implications, since it is related to the genetic stability and adequacy (Lara 2010). In the analysis of symmetry of the shields of the carapace it was determined that there are significant differences between the two seasons of offspring analyzed watching in season two individuals with greater symmetry. We infer that the symmetry in the shields of the carapace does not favor the survival since the nesting females (who have gone through a selection process) no significant

differences between symmetry / asymmetry; but if favors reproduction (pups tend to symmetry).

It was also observed that the offspring of two seasons as nesting females have a higher proportion in the following shields 5 shields ventral, costal scutes combination 6-6 and 13-13 in the marginals.

Regarding the comparison of the frequency of multiple paternity and shields symmetry between the beach beach Maruata versus Ixtapilla it was observed that multiple paternity nesting sites in arribada is 100%. Where nesting occurs in arribada a higher proportion of nests that are fertilized by more males found in turtles that nest alone (5 males and 4 respectively). With respect to the pattern on the shell shields Ixtapilla females and offspring have a higher proportion in the combination of ventral shields (five), the 6-6 combination in the costal scutes and 13-13 in marginal.

RESÚMEN	7
ABSTRACT	9
ÍNDICE GENERAL	11
INTRODUCCIÓN GENERAL	14
OBJETIVOS GENERALES	16
HIPÓTESIS GENERALES	17
CAPÍTULO I.	
PATERNIDAD MÚLTIPLE	
1. INTRODUCCIÓN	18
1.1. GENERALIDADES DE LAS TORTUGAS MARINAS	20
1.1.1. BIOLOGÍA DE LAS TORTUGAS MARINAS	20
1.1.2. CICLO DE VIDA DE LAS TORTUGAS MARINAS	22
1.2. CLASIFICACIÓN DE <i>Lepidochelys olivacea</i>	22
1.2.1. MORFOLOGÍA EXTERNA DE <i>Lepidochelys olivacea</i>	23
1.3. DISTRIBUCIÓN	25
1.4. SISTEMA DE APAREAMIENTO	25
1.5. ANATOMÍA GENITOURINARIA DE LA HEMBRA	27
1.6. ALMACÉN DE SEMEN, ELECCIÓN FEMENINA Y ACOSO MASCULINO	32
1.7. MARCADORES MOLECULARES.	34
1.7.1. VENTAJAS DE LOS MARCADORES	35
1.7.2. CLASIFICACIÓN DE LOS MARCADORES MOLECULARES	36
1.8. MICROSATÉLITES	36
1.8.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS MICROSATÉLITES	36
1.8.2. CLASIFICACIÓN DE LOS MICROSATÉLITES.. . . .	38

1.8.3.DEFICIENCIAS DE LOS MICROSATÉLITES.	38
2. OBJETIVOS	39
3. HIPÓTESIS	39
4. ÁREA DE ESTUDIO	40
5. MATERIAL Y MÉTODOS	
5.1. MÉTODO DE MUESTREO EN CAMPO Y TRATAMIENTO DE MUESTRAS	41
5.1.1.EXTRACCIÓN DE ADN	42
5.1.2.AMPLIFICACIÓN DE MICROSATELITES	43
6. RESULTADOS Y DISCUSIONES	45
7. CONCLUSIONES	54
8. APENDICES	55
9. REFERENCIAS	57

CAPITULO II

SIMETRIA EN LOS ESCUDOS DEL CAPARAZÓN EN *Lepidochelys olivacea*

1. INTRODUCCIÓN	64
1.1. VARIACIÓN EN LOS ESCUDOS DEL CAPARAZÓN	64
1.2. DESARROLLO EMBRIONARIO DEL CAPARAZÓN	66
1.3. MALFORMACIONES EN TORTUGAS MARINAS	69
2. OBJETIVOS	71
3. HIPÓTESIS	71
4. MATERIAL Y MÉTODOS	72
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	74
5.1. HEMBRAS	74
5.2. CRÍAS.	78
5.2.1. Temporada Uno: Febrero-Marzo2008	78
5.2.2. Temporada Dos: Octubre 2008	82

6. CONCLUSIONES	91
7. APENDICES	92
8. REFERENCIAS	103

CAPITULO III

ANIDACIÓN EN ARRIBADA y ANIDACIÓN EN SOLITARIO	105
1. INTRODUCCIÓN	105
1.1. ANIDACIÓN EN ARRIBADA Y ANIDACIÓN EN SOLITARIO	105
2. OBJETIVOS	109
3. HIPÓTESIS	109
4. ÁREA DE ESTUDIO	110
5. MATERIAL Y MÉTODOS	111
5.1. MÉTODO DE MUESTREO EN CAMPO Y TRATAMIENTO DE MUESTRAS	111
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	112
7. CONCLUSIONES	117
8. CONCLUSIONES GENERALES	118
9. REFERENCIAS	119
10. ANEXO	122
10.1. ÍNDICE DE TABLAS	122
10.2. ÍNDICE DE FIGURAS.	126

INTRODUCCIÓN GENERAL

De las siete especies de tortugas marinas existentes en el mundo, seis anidan en las costas mexicanas, y tres en la costa del estado de Michoacán: la tortuga verde (*Chelonia mydas*), la tortuga laúd (*Dermochelys coriácea*) y la tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*).

En la tortuga marina *Lepidochelys olivacea* se ha observado la llegada masiva sincrónica de hembras anidadoras; fenómeno conocido como “arribada” o “la arribazón”. A nivel mundial existen sólo seis países en donde esta especie presenta este fenómeno, entre ellos México (IUCN, 2008).

Particularmente, la localidad de “La Ixtapilla”, Municipio de Aquila en la costa de Michoacán (México), es considerado el sitio de anidación en arribada más reciente (IUCN, 2008) (proceso de anidación en el que una alta densidad de hembras desovan en un periodo espacial y temporal corto) de *Lepidochelys olivacea*. La paternidad múltiple influye en los niveles de diversidad genética. La existencia o ausencia de paternidad múltiple tiene implicaciones importantes ya que a mayor frecuencia de paternidad múltiple, mayor será la diversidad genética, mayor la diversidad de alelos y genotipos presentes en la progenie (Palacios, 2012), confiriéndoles así características (estructuras o patrones conductuales) para el futuro y que les sean favorables en términos estadísticos en su reproducción y sobrevivencia.

La frecuencia de paternidad múltiple es influenciada por dos tipos de procesos, 1) Procesos precopulatorios como la proporción sexual operacional y 2) Procesos postcopulatorios que incluyen almacén de semen, elección críptica y competencia espermática (Palacios 2012)

Se ha observado que existe almacén de semen en reptiles y su duración es muy variable, las tortugas marinas tienen el potencial de almacenar semen en sus oviductos (magnum) y en las zonas aglandulares (porción inicial del oviducto), se ha encontrado semen almacenado dentro del tracto reproductivo de la tortuga verde (*C. mydas*), de la tortuga lora (*L. kempii*) y de la tortuga golfina (*L. olivacea*), aunque se sugiere que únicamente lo almacenen en una temporada reproductiva (Lara, 2010).

Las tortugas marinas presentan una morfología con muchas adaptaciones para la vida marina. Todas las especies presentan glándulas lacrimales alargadas que han sufrido modificaciones para extraer el exceso de sales de los fluidos corporales que se acumulan por ingerir agua salada (Lara, 2010). La estructura protectora de las tortugas marinas está conformado por el caparazón y el plastrón, resultado de una adaptación evolutiva que apostó por la “defensa pasiva” (Merchán, 1992).

Se sugiere que la simetría es un indicador confiable de la calidad fenotípica y tal vez genotípica y puede servir como indicador de la estabilidad en el desarrollo a pesar de perturbaciones ambientales (Lara, 2010)

El desarrollo de anomalías en las tortugas marinas puede ser resultado de factores bióticos o abióticos que tienen el potencial de disminuir la adecuación individual

(adecuación= supervivencia + reproducción), con lo que podemos decir que la presencia de malformaciones, anomalías, adición-reducción en el número de escudos son indicadores de cambios negativos en la biología de estos organismos (Ibarra y Gasca, 2009).

OBJETIVOS GENERALES

- I. Determinar la frecuencia de paternidad múltiple de *Lepidochelys olivacea* en Ixtapilla, Michoacán.
- II. Inferir si la hembra tiene algún mecanismo que posibilite la separación de las distintas descargas espermáticas de los machos con los que se aparee.
- III. Calcular la proporción de individuos adultos y de crías de *Lepidochelys olivacea* que presentan simetría en los escudos del caparazón y determinar el patrón de escudos en el caparazón.
- IV. Determinar las diferencias entre paternidad múltiple y en el patrón de los escudos del caparazón entre una colonia con anidación en arribada y otra con anidación en solitario.

HIPOTESIS GENERALES

- I. Si existe una fertilización consecutiva en los nidos en donde se conservó el orden de ovoposición entonces se infiere que la hembra presenta algún mecanismo que permite el almacén de semen de los distintos machos con los que se aparea.

- II. Si la simetría en los escudos del caparazón es un indicador confiable de la calidad fenotípica y tal vez genotípica e indica la estabilidad en el desarrollo a pesar de perturbaciones ambientales entonces se verá reflejada en términos estadísticos de reproducción y sobrevivencia.

- III. Si la paternidad múltiple se ve afectada por las condiciones demográficas, entonces en la población donde se observa anidación en arriada se presentará mayor frecuencia de paternidad múltiple que en una población con anidación en solitario.

CAPITULO I. PATERNIDAD MULTIPLE

1. INTRODUCCIÓN

La tortuga marina *Lepidocelys olivacea* está catalogada en la Red List of Threatened Species como vulnerable, y en peligro de extinción según la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 de Protección Ambiental-Especies Nativas de México de flora y fauna silvestres–Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio. (NOM-059-SEMARNAT-2010, IUCN, 2008)

En esta especie se observa la llegada masiva sincrónica de hembras anidadoras; fenómeno conocido como “arribada” o “la arribazón”; este no es un fenómeno permanente ya que puede presentarse y desaparecer en ciclos de por lo menos varias décadas. (Lutz y Musick 1996)

Jensen (2006), reportó que la paternidad múltiple en *Lepidochelys olivacea* depende de las condiciones ecológicas -demográficas-, es decir, en poblaciones numerosas y con anidación en arribada se presenta mayor frecuencia de paternidad múltiple con porcentajes desde 58% hasta 92%, mientras que en poblaciones con anidación en solitario la frecuencia de paternidad múltiple es menor, con porcentajes de 9% hasta 62%.

Las tortugas marinas presentan un sistema de apareamiento poliándrico. En este sistema los machos no defienden un territorio y no presentan cuidado parental; se ha

sugerido que las hembras tienen beneficios como garantizar la fecundación de sus huevos al tener semen como un recurso abundante, incremento en la diversidad genética de la prole, disminución del riesgo de mala elección de un solo genotipo paterno para fertilizar a la prole y competencia espermática (cuando los espermatozoides de dos o más machos se encuentran en el tracto genital), que aumenta las oportunidades de “buenos genes” (Uller y Olsson 2008). (Un “buen gen” es aquél que le confiere al individuo y por extensión a la población, características estructurales o conductuales- que aumenten su adecuación (sobrevivencia y reproducción))

Los análisis de paternidad múltiple nos permiten identificar la contribución de más de un macho en una prole con una certidumbre mayor al 99% (Chassin 2004).

En el presente proyecto se realizó un análisis de la frecuencia de paternidad múltiple en la población de *L. olivacea* en la playa de Ixtapilla municipio de Aquila en la Costa Michoacana, en donde se presenta la anidación en arribada. También se realizaron análisis de escudos supernumerarios en la misma población y análisis sobre el orden de fertilización para inferir si la hembra presentaba algún mecanismo que posibilite la separación de las distintas descargas espermáticas de los machos.

1.1 GENERALIDADES DE LAS TORUGAS MARINAS

1.1.1 *Biología de las Tortugas Marinas.*

Existen varias regiones de las zonas oceánicas y costeras potencialmente aptas para los anidamientos y la alimentación de las tortugas marinas. Por las características del ciclo de vida de las tortugas marinas; la mayor información acerca de su biología se ha obtenido en la fase adulta, típicamente en hembras reproductoras que permanecen en tierra. Esta característica, limita nuestro conocimiento sobre la biología de cada una de las especies de tortugas marinas.

Lo que se conoce sobre el comportamiento migratorio de las tortugas marinas a partir de las recapturas de tortugas marcadas se ha enriquecido en años recientes gracias a la telemetría satelital y al empleo de la genética molecular. La primera ha arrojado información sobre el curso real de su recorrido en vez de un conocimiento circunscrito al sitio de origen y de destino como el que resulta de estudios de marcaje; el segundo ha permitido identificar las colonias de origen de tortugas capturadas en el mar abierto así como aspectos sobre la biología particular de los machos e incrementando el conocimiento de procesos biológicos que se realizan en el mar, como la cópula (Eckert *et al*, 2000).

El estudio de los sistemas de apareamiento hasta hace un par de décadas tenía como base metodológica, para obtención de información, la observación directa o indirecta de la actividad reproductiva de los organismos vivos; sin embargo en las últimas décadas, con el desarrollo de nuevos marcadores moleculares, modelos teóricos y métodos estadísticos se han logrado avances que han ampliado nuestra comprensión sobre la diversidad y biología de los organismos acuáticos, han fortalecido las líneas de investigación tradicionales, han permitido plantear nuevas hipótesis y actualizar ideas predominantes en torno a la ecología y evolución (Serrato *et al.* 2013).

1.1.2 CICLO DE VIDA DE LAS TORTUGAS MARINAS.

Las tortugas marinas son organismos que dependen del medio acuático y terrestre para completar su ciclo de vida (Figura 1). Las tortugas realizan movimientos migratorios entre la playa de anidación y las áreas de alimentación en donde se presume permanecen hasta que alcanzan la madurez sexual, proceso que demora entre 12-26 años (Frazer y Ladner, 1986).

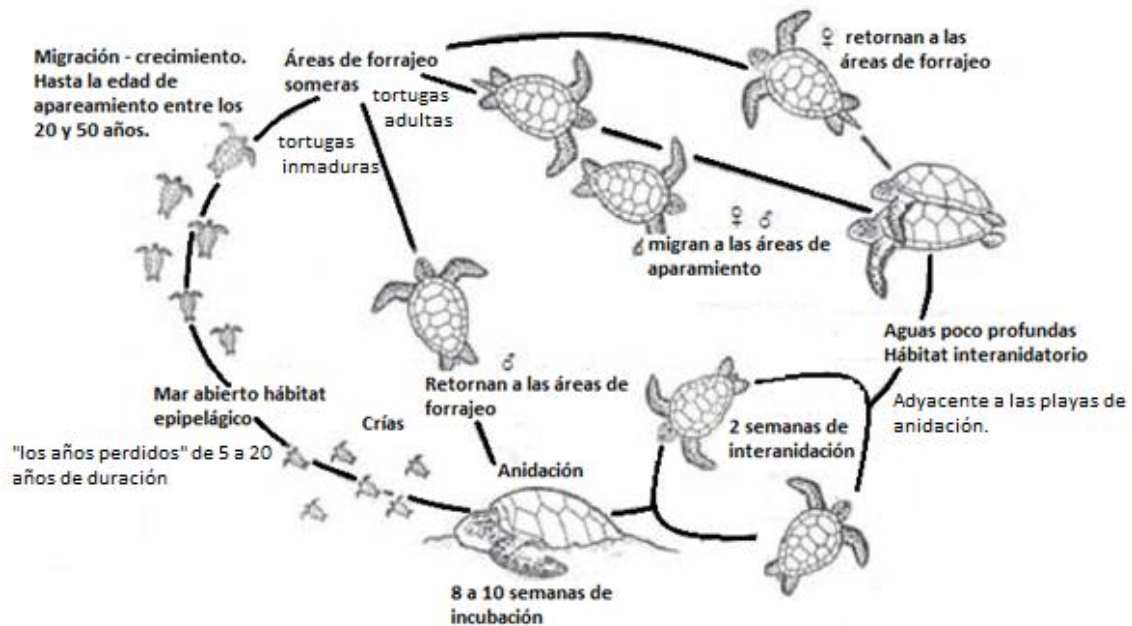


Figura 1. Ciclo de vida generalizado de las tortugas marinas, en las distintas especies varían la duración de las fases. *Dermochelys coriácea* y al menos algunas poblaciones de *Lepidochelys olivacea* permanecen en zonas pelágicas durante toda su vida. (Lutz y Musick, 1997).

Después del apareamiento los machos regresan a las zonas de forrajeo y las hembras se dirigen a los sitios de anidación. Después de ovopositar, las hembras retornan a las áreas de forrajeo para el siguiente periodo reproductivo (Palacios, 2012)

1.2 CLASIFICACIÓN DE *Lepidochelys olivacea*

Pertence al REINO: Animalia, PHYLUM: Chordata, SUBPHYLUM: Vertebrata, CLASE: Reptilia, SUBCLASE: Anápsidia, ORDEN: Testudinata, SUBORDEN: Cryptodira, FAMILIA: Chelonidae, GÉNERO: *Lepidochelys*,

ESPECIE: *Lepidochelys olivacea*.

Nombre Común: Tortuga golfina, frijolilla, carpintera, parlama, mulato, oliva, manila y olive ridley

1.2.1 MORFOLOGÍA EXTERNA DE *Lepidochelys olivacea*.

La identificación de las tortugas marinas, usando características externas, se basa en las escamas de la cabeza, la forma de las mandíbulas (ramphoteca), el número de dedos en las aletas, y el número y arreglo de las placas o escudos en el caparazón. Los escudos del caparazón (concha superior) se numeran de frente hacia atrás. Los principales escudos usados como características claves son los marginales, laterales (costales), vertebrales, nucales, y también los inframarginales (Wyneken, 2004).

Carapacho: Corto y ancho, pero más angosto y más alto que en *L. kempi*; alta proyección vertebral en los juveniles, liso, elevado y ligeramente tectiforme (en forma de tienda de campaña) en adultos (especialmente en el Pacífico oriental); cinco a nueve pares de escudos costales (comúnmente seis a ocho) frecuentemente con una configuración asimétrica; escudos del carapacho ligeramente traslapados en inmaduros y sin traslape en adultos; longitud recta del carapacho (LRC) hasta 72 cm. (Figura 2) (Eckert *et al*, 2000).

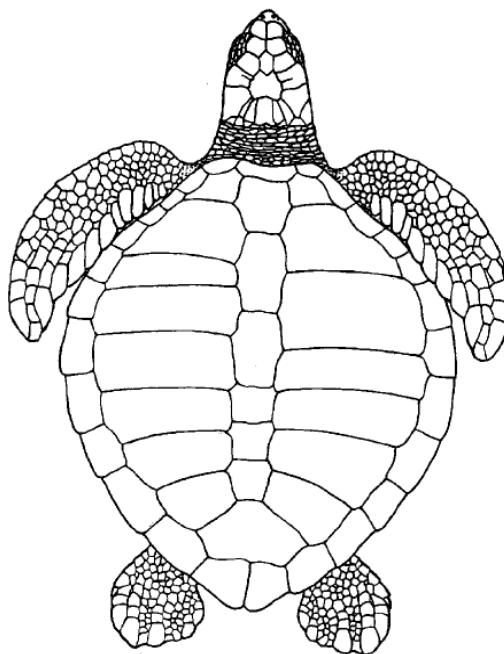


Figura 2. Morfología del caparazón de la especie *Lepidochelys olivacea*. (Eckert *et al.* 2000).

Cabeza: Relativamente grande, ligeramente triangular; ancho hasta 13 cm; dos pares de escamas pre frontales.

Extremidades: Dos uñas en cada aleta (algunos adultos pueden perder la uña secundaria en las aletas delanteras).

Coloración: Dorso gris en inmaduros; color verde olivo intermedio a oscuro en adultos; ventralmente blanca en inmaduros, amarillo crema en adultos.

Plastrón: Con poro pequeño y distintivo cerca del margen posterior de cada uno de los cuatro escudos infra marginales.

Peso: 35-50 kg.

1.3 DISTRIBUCIÓN.

Como consecuencia de sus requerimientos alimenticios se distribuyen a través de la región circuntropical y subtropical (Lutz y Musick, 1997)

Atlántico occidental, Este atlántico, Mar Rojo, Océano Índico occidental, Océano Índico oriental, Pacífico occidental, Pacífico oriental (IUCN, 2008) (Figura 3)

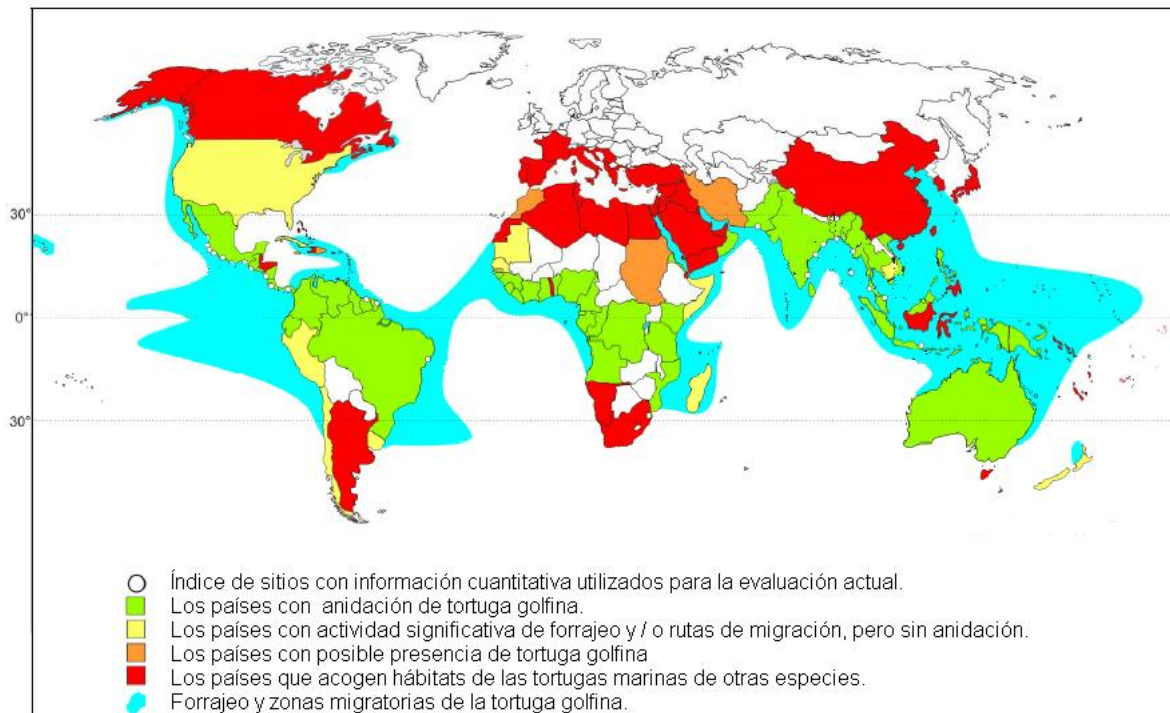


Figura 3. Rangos geográficos utilizados por *Lepidochelys olivacea*. (IUCN, 2008)

1.4 SISTEMA DE APAREAMIENTO

El estudio de los sistemas de apareamiento hasta hace un par de décadas tenía como base metodológica, para obtención de información, la observación directa o indirecta de la actividad reproductiva de los organismos vivos.

Las tortugas marinas presentan un sistema de apareamiento poliándrico, sistema en el que se observa que la hembra se aparee con más de un macho durante el periodo de reproducción. Este comportamiento puede ser explicado de acuerdo a ciertas características biológicas de las tortugas marinas: los machos no protegen un territorio ni tampoco exhiben cuidado parental; no hay monopolización de recursos que sean atractivos para las hembras (alimento, sitios de anidación, refugios); tampoco se evidencia un regalo nupcial; por lo tanto los machos únicamente ofrecen la cópula, la cual se presenta en función de la disponibilidad de machos para las hembras, la receptividad y el proceso de elección de los machos por parte de las hembras (Chassin, 2004).

Martínez (2003) observó en el estado de Michoacán, la conducta reproductiva del género *Ch. mydas* durante la temporada de anidación. Observó a las hembras adultas flotando en la superficie por largos periodos de tiempo en los que se van agregando varios machos adultos. Registraron hasta 10 machos cortejando una hembra (machos satélite) hasta que uno de ellos logra la cópula

Se menciona que la cantidad de machos en un grupo de cortejo modifica las pautas de comportamiento. Cuando se presenta un macho solitario que intenta aparearse con una hembra, la mitad de su tiempo lo dedica al cortejo mientras que la hembra lo invierte más en el rechazo; conforme aumenta el número de machos satélite la cantidad de tiempo invertido en el cortejo aumenta. El tiempo de cortejo se reduce cuando se presentan más de cuatro machos, al igual que el tiempo de rechazo y de monta.

Lo anterior se puede explicar debido a que con el aumento de los machos satélite (machos alrededor de la hembra que se encuentran cortejándola), éstos invierten mayor tiempo en conductas de interrupción de la mancuerna, como morder las aletas tanto a los machos como a las hembras que están copulando, nadar alrededor y por debajo de la mancuerna, intento de desmontar al macho de la mancuerna y enfrentamiento con el macho que se encuentra montado en la hembra (Lara, 2010)

1.5 ANATOMIA GENITOURINARIA DE LA HEMBRA

El sistema genitourinario de las tortugas marinas está conformado por los riñones, uréteres, las gónadas con sus conductos la vejiga urinaria y los derivados de la papila genital (clítoris) en el piso de cloaca. Las gónadas (ovarios) son las estructuras reproductoras que producen gametos, y sus conductos transmiten los huevos a la cloaca (figura 4).

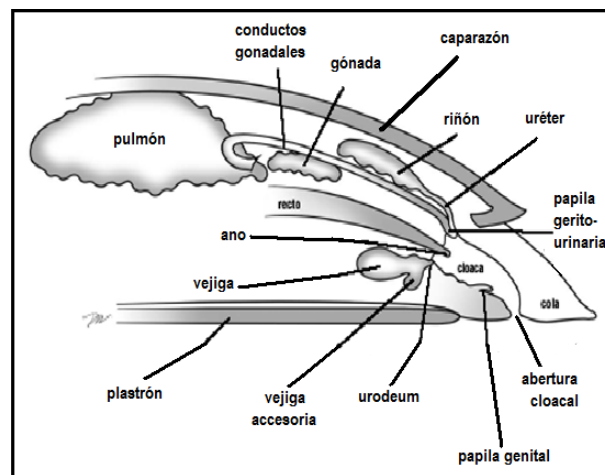


Figura 4. Diagrama del sistema genitourinario de tortuga marina (Wyneken, 2004).

Las gónadas en ambos sexos se sitúan de manera dorsal en la cavidad corporal, posterior a los pulmones y ventral a los riñones y a la pared del peritoneo (figura 5 y 5.a.).

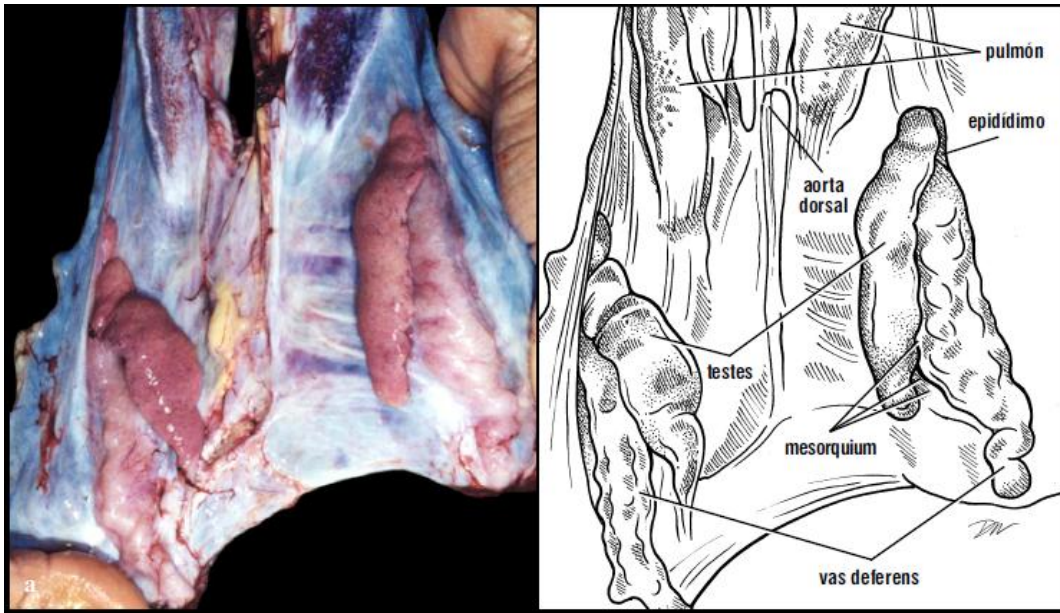


Figura 5. Testes de una tortuga verde inmadura. Los testes están conectados a la pared peritoneal por sus superficies dorsales planas. Lateral y ligeramente dorsal a cada teste hay un epidídimo, el cuál conduce a un conducto deferente (*vas deferens*). La superficie del teste es lisa en tortugas inmaduras (Wyneken, 2004).

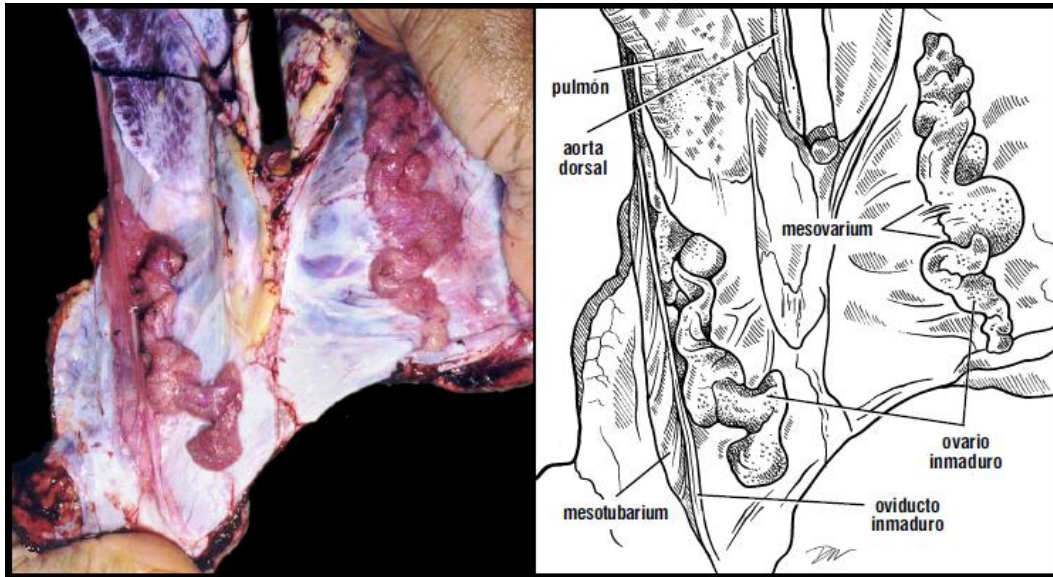


Figura 5.a) Ovarios de una tortuga verde inmadura. Los ovarios están adheridos a la pared peritoneal por sus bordes laterales. La superficie del ovario es granulada. Lateral al ovario se encuentra el oviducto inmaduro, suspenso por el mesotubarium (Wyneken, 2004).

El tracto reproductor de las hembras se compone de un par de ovarios y oviductos (conductos de Muller). El ovario y el oviducto cambian en tamaño y composición tanto con la edad como entre temporadas reproductivas y no-reproductivas.

El oviducto en tortugas inmaduras es un tubo de paredes delgadas. A medida que las hembras van madurando, las paredes se vuelven más gruesas y el lumen crece en diámetro. Cuando está inactivo, tiene apariencia de estar doblado por toda su longitud (figura 6).

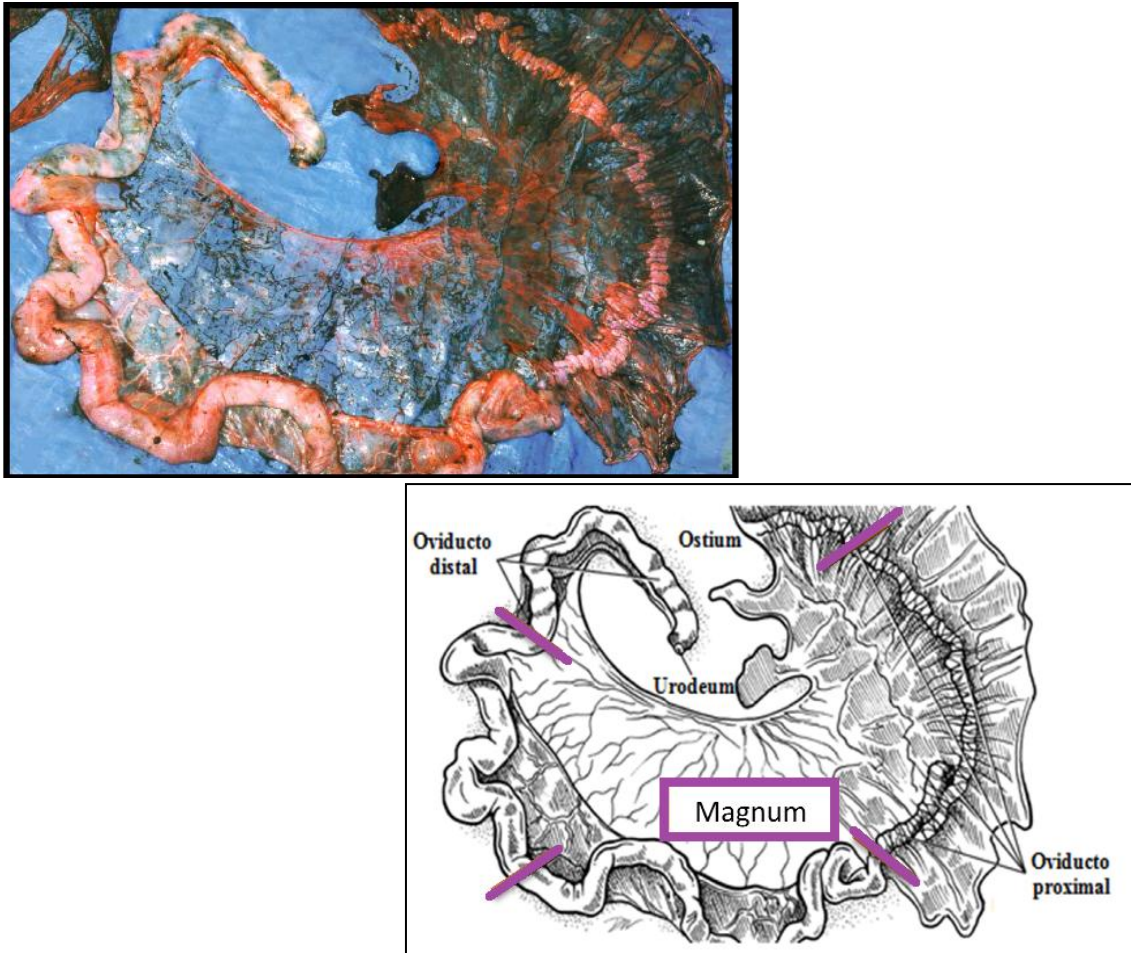


Figura 6. Oviducto maduro de una tortuga marina (Wyneken, 2004).

El oviducto puede describirse funcionalmente (pero no estructuralmente) en 5 regiones: ostium (porción más distante al urodeum), segmento no-glandular, mágnum, glándula de calcificación y vagina.

El oviducto de las hembras maduras es musculoso y móvil. Se asume que el ostium migra a lo largo de la superficie del ovario, colectando los folículos ovulados. Durante la preparación para anidar, una postura entera de los folículos madura y es ovulada

en conjunto. Una vez que llegan al ostium, cada folículo pasa por el segmento no glandular y entra al magnúm (región glandular anterior) donde recibe capas de albúmina. Al cabo de aproximadamente tres días, los folículos pasan a la glándula de calcificación donde se secreta la capa de proteína y carbohidratos (corión) y la matriz de aragonita de la cáscara. El proceso de calcificación demora entre 6 y 7 días (Figura 7). De este modo, los huevos pasan a la vagina, donde permanecerán hasta su disposición varios días más tarde. Durante el desove, el oviducto posterior deja pasar los huevos a la cloaca, y luego a través de la abertura los huevos son depositados en el nido. En tortugas que están anidando la cloaca forma un orificio tubular.

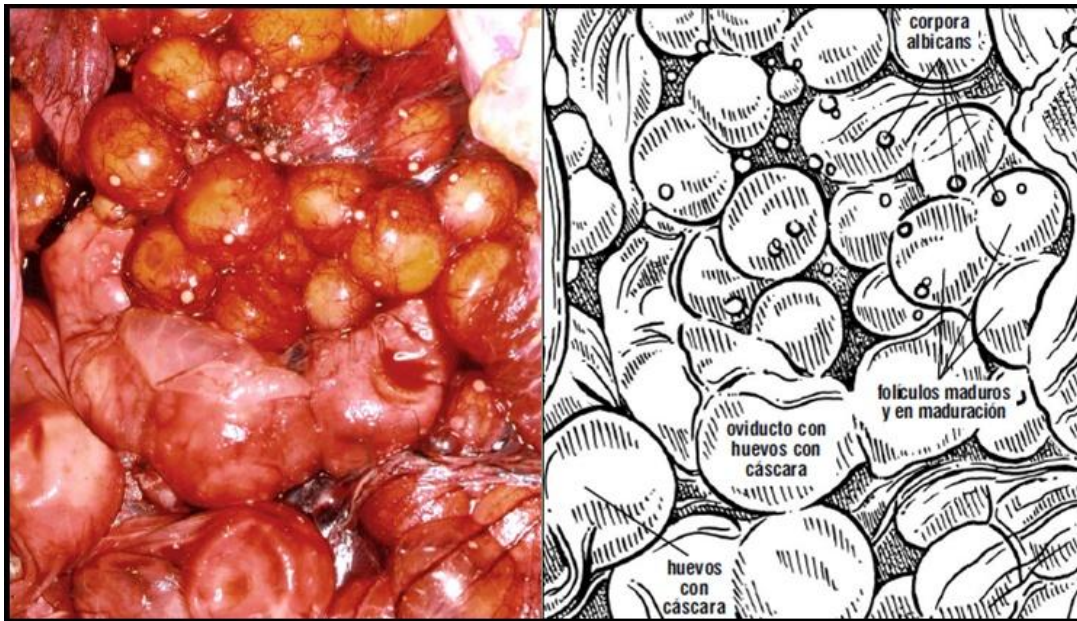


Figura 7. Huevos, folículos y *corpora albicans* en una tortuga caguama en estado reproductivo. Este oviducto contiene huevos con cáscara. Encima del oviducto hay folículos de varios tamaños en proceso de maduración, y las cicatrices (*corpora albicans*) que quedan en los sitios de folículos ovulados.

1.6 ALMACÉN DE SEMEN, ELECCIÓN FEMENINA Y ACOSO MASCULINO.

Las tortugas marinas tienen la potencial capacidad de almacenar semen en sus oviductos (en la región conocida como mágnium, así como en las zonas aglandulares en la porción inicial del oviducto), aunque se ha determinado que lo hacen en la misma temporada reproductiva (Chassin, 2004), la fecundación tiene lugar en estas zonas aglandulares al mismo tiempo en que los óvulos van entrando al mágnium, donde se secretan las capas de albúmina

La paternidad múltiple puede variar entre especies y entre poblaciones de una misma especie de tortuga. En Tortuguero, Costa Rica, Peare (1998), encontró que algunos nidos de *C. mydas* fueron fertilizados hasta por cuatro machos mientras que FitzSimmons (1996) encontró que en Australia la paternidad múltiple en la misma especie es baja o ausente. Harry (1988) reporta que en el 30% de los nidos de *Caretta caretta* de la costa de Australia se presenta paternidad múltiple. En poblaciones de tortuga laúd *Dermochelys coriacea* de Costa Rica menos del 10% de los nidos presentan paternidad múltiple, en la tortuga lora, *Lepidochelys kempii*, la paternidad múltiple se presenta en más del 50% de los nidos (Kichler *et al.* 1999). Esto sugiere que los múltiples machos que participan en las cópulas pueden o no fertilizar los huevos.

La selección sexual favorece un comportamiento indiscriminado de cópula en los machos, pero un comportamiento selectivo en las hembras. Esta diferencia entre

ambos sexos es tan intensa que en muchas especies los machos recurren a forzar el apareamiento, y en consecuencia, las hembras responden con mecanismos para evitar esas cópulas forzadas. Sin embargo el hecho de que una hembra acepte aparearse con un determinado macho no significa necesariamente que lo acepte como padre para su progenie.

Se ha dado una nueva hipótesis que indica que los apareamientos múltiples no son beneficiosos para las hembras, si no que más bien son el resultado del daño causado por las estrategias reproductivas de los machos y las hembras optan por aparearse múltiples veces ya que les resulta energéticamente menos costoso que el mantenerse alejada de ellos (Lee y Hays, 2004).

William Eberhard (1996), ha descrito mecanismos (de comportamiento y fisiológicos) que las hembras pueden utilizar para sesgar la probabilidad de fertilización de los machos con los que se ha apareado. Por ejemplo, la hembra podría solicitar el apareamiento a otro macho inmediatamente después de la cópula con un macho de “baja calidad”. También podría utilizar mecanismos fisiológicos mucho más complejos, como por ejemplo evitar la implantación de los embriones en el caso de los mamíferos, expulsar la mayoría del esperma que ha recibido, no ovular, no poner huevos o poner menos de lo habitual, abortar o terminar la cópula prematuramente.

Martínez (2003) describió que frente a los sitios de anidación, puede observarse a las hembras flotando en la superficie por largos periodos en los que se agregan varios

machos adultos. Se han llegado a observar hasta diez machos cortejando a una hembra, hasta que un macho logra la cópula.

Los machos que no acceden a la cópula se mantienen cercanos a la “mancuerna” (pareja de tortugas copulando), buscando activamente el desplazamiento del macho copulante para acceder a la hembra. Este periodo puede prolongarse por periodos de más de 50 minutos con una relación inversa entre el número de machos involucrados en el cortejo y la duración de la cópula

El hecho de que las hembras puedan aparearse con más de un macho determina que los espermatozoides de cada uno de los machos continúen la competencia dentro de la hembra cuando los machos ya no están presentes. Esta competencia interna se conoce como competencia espermática.

1.7 MARCADORES MOLECULARES

Las herramientas moleculares constituyen un instrumento universal, sin precedentes, que ha revitalizado el estudio del origen y la evolución de la diversidad biológica de los complejos sistemas acuáticos. Estas herramientas, han ayudado a revelar patrones y procesos sobre biodiversidad, genética de poblaciones, filogeografía y evolución de los organismos que habitan estos sistemas, lo cual anteriormente no era posible hacer con las herramientas clásicas (Serrato *et al.* 2013).

La revolución se inició con el descubrimiento y utilización de los marcadores isoenzimáticos, el número de marcadores fue ampliado y la aplicación de esta

técnica se expandió. Surgieron diversos métodos de detección de polimorfismo genético directamente a nivel del DNA, los llamados marcadores moleculares.

Un marcador molecular es cualquier fenotipo molecular originario de la expresión de un gen o de segmentos específicos de DNA, que puede ser detectado y su herencia monitoreada. Un marcador molecular recibe el nombre de marcador genético cuando su comportamiento se rige de acuerdo con las leyes básicas de la herencia mendeliana.

1.7.1 VENTAJAS DE LOS MARCADORES

1. Nivel de Polimorfismo: En los marcadores moleculares es generalmente alto para cada locus estudiado facilitando la construcción de mapas genéticos.
2. En general son neutros con relación a los efectos fenotípicos, con efecto epistático o pleiotrópico mínimo o nulo.
3. En su mayoría son codominantes y contienen mayor cantidad de información genética por locus que los marcadores morfológicos, los cuales en su mayoría, son dominantes o recesivos.

1.7.2. CLASIFICACIÓN DE LOS MARCADORES MOLECULARES

La mayoría de los marcadores moleculares se incorporan en alguna de estas tres categorías de técnicas que usan la hibridación o están basados en la PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa):

- a) Técnicas basadas en la hibridación: Incluye a los RFLPs (Restriction Fragment Length polymorphism), donde las sondas son hibridadas a membranas que contienen DNA fragmentado por enzimas de digestión.
- b) Técnicas basadas en PCR que se usan iniciadores arbitrarios o amplifican multi-locus. Los microsatélites usados como iniciadores también caen dentro de esta categoría como los Inter SSR o ISSR en el cual se amplifica la región flanqueada por los microsatélites.
- c) Técnicas basadas en PCR de secuencia específica: en las cuales un requisito necesario es el conocimiento de la secuencia de las zonas flanqueantes para la obtención de iniciadores

1.8 LOS MICROSATELITES

1.8.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS MICROSATELITES

El incremento del uso de los microsatélites como una herramienta molecular se debe a que proveen la más alta incidencia de polimorfismo en comparación con otras técnicas, así mismo poseen muy valorables atributos que incluyen:

- a) Altamente informativos: presentan herencia codominante y muchos alelos son encontrados entre individuos estrechamente relacionados.
- b) Son técnicamente simples: la tecnología del PCR puede fácilmente y rápidamente ser utilizada para la automatización en el uso de estos marcadores.
- c) Es una técnica sensible sólo pequeñas cantidades de DNA son requeridas
- d) Ser analíticamente simples: los datos son producidos de forma confiable y altamente reproducibles.
- e) Son muy abundantes: los microsatélites están uniformemente dispersos a través del genoma, aproximadamente cada 10 Kpb.
- f) Son altamente aplicables, los *loci* son frecuentemente conservados entre especies relacionadas y algunas veces entre géneros.
- g) Fácil intercambio de datos entre laboratorios, la información puede ser comunicada por la simple secuencia de los iniciadores, sin la necesidad de la transferencia física de los iniciadores.

Una vez que las secuencias de los iniciadores son diseñadas y publicadas, el análisis de los *loci* microsatélites es práctico para cualquier laboratorio capaz de realizar las técnicas del PCR y electroforesis. El desarrollo inicial de los microsatélites puede ser simplificado utilizando técnicas más avanzadas como el uso de librerías enriquecidas para uno o más motivos. El ahorro en tiempo y recursos puede ser mejorado desarrollando “PCR multiplex”, el cual permite la amplificación y recolección de datos simultánea, de múltiples *loci* SSR con una sola muestra de ADN

en una simple reacción de PCR solamente en una línea del gel de electroforesis (Brown, *et al.* 1996)

1.8.2 CLASIFICACION DE LOS MICROSATELITES.

Se ha propuesto utilizar los términos de puro (o perfecto), compuesto y complejo para especificar que uno, dos o más tipos de motivos respectivamente, se encuentran presentes a lo largo de un *locus* microsatélite dado, y el término interrumpido (o imperfecto) como un descriptor jerárquico adicional que implica una o más unidades no repetitivas en el interior de los microsatélites

1.8.3. DEFICIENCIAS DE LOS MICROSATELITES

La limitación más significativa del uso de los microsatélites puede ser la inversión inicial del recurso económico y la experiencia técnica requerida para el clonamiento y secuenciación de los *loci* SSR. (Yáñez, 2002)

Otras limitaciones, se presentan en el caso que mutaciones, ocurridas en el sitio de apareamiento de los iniciadores, que dan como resultado alelos nulos. La presencia de “bandas tartamudas” son productos de la amplificación por PCR que difieren en una unidad de repetición con respecto a la longitud del alelo original. La ocurrencia de estos artefactos dificulta la lectura de los geles e inclusive son confundidos con alelos, interfiriendo en el análisis genotípico.

2. OBJETIVOS

- I. Determinar la frecuencia de paternidad múltiple de *Lepidochelys olivacea* en Ixtapilla, Michoacán.
- II. Determinar el orden de fertilización en nidos con paternidad múltiple en donde se conservó el orden de ovoposición para inferir si la hembra tiene la capacidad para separar y seleccionar el semen de los distintos machos.

3. HIPÓTESIS

- I. Si la densidad poblacional tiene influencia en la variación de la frecuencia de paternidad múltiple, entonces la frecuencia de paternidad múltiple en la playa de Ixtapilla (anidación en arribada) será del 100%.
- II. Si existe un patrón ordenado de fertilización, se sugiere la existencia de algún mecanismo fisiológico que posibilite la elección femenina críptica.

4. ÁREA DE ESTUDIO

La playa de Ixtapilla mide mil metros de longitud y está ubicada en el Km 180 de la carretera Manzanillo-Lázaro Cárdenas en el estado de Michoacán, México. Se encuentra a $18^{\circ}24'59.17''\text{N}$ de Latitud y $103^{\circ}32'8.39''\text{O}$ de Longitud (Figura 8).

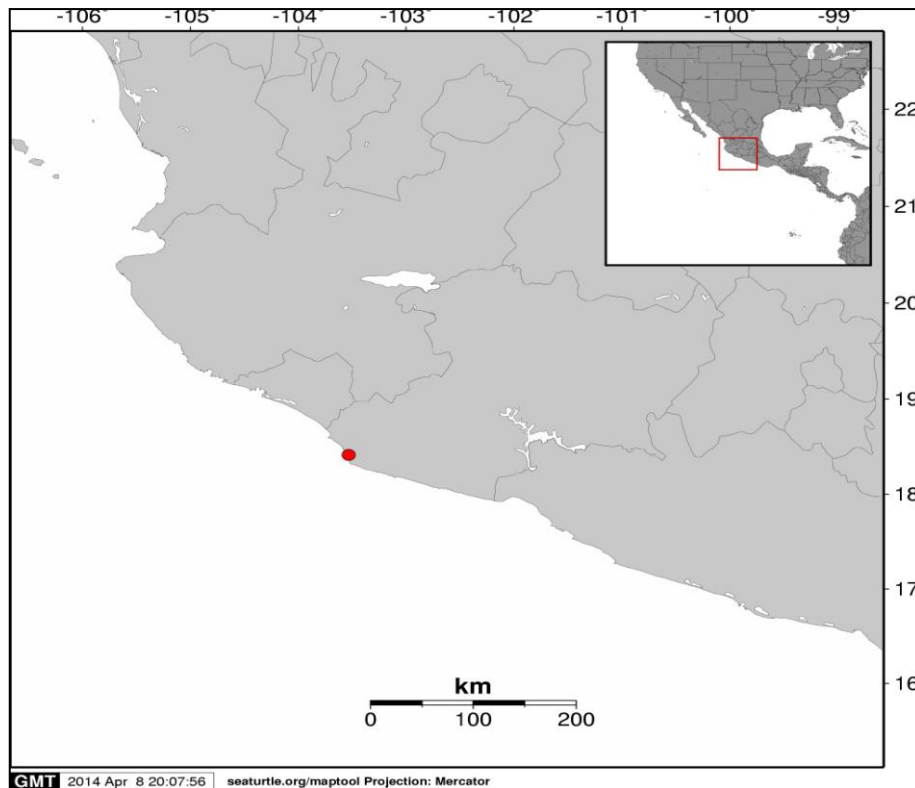


Figura 8. Ubicación de la playa de Ixtapilla, Michoacán (Realizado con seaturtle.org, 2002).

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 MÉTODO DE MUESTREO EN CAMPO Y TRATAMIENTO DE MUESTRAS

Para determinar la frecuencia de paternidad múltiple, sería ideal tener el genotipo de la madre, de la progenie y de los potenciales padres; sin embargo por la dificultad para la obtención de sangre o tejido de los potenciales padres, en este trabajo solamente se analizaron muestras de hembras anidadoras y de las crías. Aún sin contar con el genotipo de los potenciales padres, es posible estimar la frecuencia de paternidad múltiple (Chassin, 2004).

Para el desarrollo de este trabajo se contó con un permiso de colecta científica expedido por la Subsecretaría De Gestión Para La Protección Ambiental, Dirección General De Vida Silvestre el día 06 de agosto de 2008 (Oficio Núm. SGPA / DGVS / 05134/08).

Se realizaron recorridos nocturnos a lo largo de la playa y se extrajo sangre de 37 hembras que se encontraron en la playa en proceso de anidación durante el periodo de septiembre a noviembre de 2008; empleando el protocolo propuesto por Owens y Ruiz (1980), el cual no compromete la integridad de los individuos, para realizar un análisis de distribución de frecuencias alélicas.

Así mismo se colectó sangre de 107 crías de tortuga correspondientes a 5 nidos. De estos ejemplares se colectaron entre 500 y 1000 μ l de sangre empleando una jeringa

estéril de 5ml con aguja de 18-2 2x 38mm. La sangre fue colocada en viales de plástico de 1.5ml y suspendida en una solución amortiguadora lítica (100mM Tris-HCl (pH 8), 100mM EDTA (pH8), 10mM NaCl, 2% SDS; Dutton, 1997), la cual permite el almacén de las muestras por un período de seis meses a temperatura ambiente sin degradación del ADN. En el laboratorio las muestras se almacenaron a -70°C para su posterior análisis.

Los huevos colectados fueron transportados y sembrados en un vivero conservando el orden en que fueron depositados por la hembra y siguiendo las recomendaciones de Mortimer (2000).

Las muestras de sangre de las crías se obtuvieron inmediatamente después de su emergencia en el vivero, 45 a 60 días después de la siembra de los huevos; para la colecta de las muestras en las crías, se tomaron de 5 a 20 μ l de sangre de las crías. Además de los ejemplares que se encontraron muertos, se colectaron fragmentos de tejido (piel o músculo) de aproximadamente 0.5 g y se preservaron en una solución saturada sal-DMSO en un volumen que cubriera toda la muestra (Dutton, 1996). Así mismo se obtuvo una fotografía digital (cámara digital, Sony, 7.2 mega pixeles, zoom óptico 3x) y se corroboró mediante estas fotografías el conteo de escudos del caparazón.

5.1.1 Extracción de ADN

A partir de ~20 μ l de sangre o de ~50 μ l de sangre en solución amortiguadora lítica. La sangre es mezclada con 300 μ l de solución de extracción y proteínasa K para

obtener una concentración final de 150 µg/ml en un vial de 1.5 ml; se incubaba de una a tres horas a 60° C realizando inversiones ocasionales de los viales. Las proteínas son precipitadas con la adición de 150 µl de acetato de amonio 7.5 M y refrigeración a -70° C por 20 minutos; se centrifugó a 13,000 rpm durante 20 minutos a 4° C; se transfirió el sobrenadante a un vial limpio; el DNA se precipitó adicionando 1 ml de etanol al 95 % frío y se refrigeró a -70° C por 20 minutos (o toda la noche). La muestra se centrifugó a 13,000 rpm durante 20 minutos a 4° C y el etanol fue eliminado por inversión, evitando perder la pastilla (ésta no siempre es visible). Finalmente se adicionaron 600 µl de etanol frío al 70 % y se centrifugó a 13,000 rpm durante 20 minutos a 4° C. El etanol se eliminó por inversión de los viales, y la pastilla se dejó secar a temperatura ambiente y se resuspendió en 50 µl de agua bidestilada desionizada. Se realizó una electroforesis de 8µl de DNA en mini geles de agarosa al 1.4 %, teñidos con bromuro de etidio, y analizados en un transiluminador de luz ultravioleta.

5.1.2 Amplificación de microsatélites.

Se analizaron ocho microsatélites diseñados para las tortuga verde *Ch. Mydas* (Cm84, Cm72 y Cm3) para *C. caretta* (Cc117), para la tortuga golfina (Or1, Or2, Or8), y para la tortuga *E. imbricata* (Ei8), mediante el software Peak Scanner (Applied Biosystems); para evaluar el polimorfismo de las poblaciones en estudio y descartar a los oligonucleótidos monomórficos (FitzSimmons *et al.* 1995, Fitzsimmons, 1997, Aggarwal *et al.* 2004).

Se obtuvo las frecuencias genotípicas de las hembras (madres) mediante el software Peak Scanner (Applied Biosystems) y se determinó la probabilidad de exclusión mediante el software Gerud 2.0; (capacidad de detección de paternidad con tres *loci*: Or1, Cm84, Or2).

Se calculó la capacidad de detección de paternidad múltiple para cada *locus* (d) y con tres *loci* (D).

Se estimó el número de progenitores involucrados en la progenie por medio del programa Kinalyzer. El programa Kinalyzer (Berger *et al*, 2007) es un conjunto de software desarrollado para reconstruir grupos de hermanos utilizando genotipos de marcadores codominantes como los microsatélites. Actualmente hay dos algoritmos disponibles para reconstruir grupos de hermanos completo para los casos en los genotipos de los padres no están disponibles. Kinalyzer utiliza la optimización combinatoria basada en las reglas de herencia mendeliana para encontrar el menor número de grupos de hermanos que contienen todos los individuos de la muestra. También está disponible un método de "consenso" que reconstruye sub-groups utilizando subconjuntos de *loci* y encuentra el consenso de estas diferentes soluciones.

6. RESULTADOS Y DISCUSIONES

De los ocho oligonucleótidos propuestos únicamente se utilizaron 3 *loci* de microsatelites que resultaron ser los únicos altamente polimórficos para esta población (Tabla 1).

Tabla 1. Microsatélites probados para la población de hembras.

LOCUS	TAMAÑO (PB)	SECUENCIA REPETIDA	ESPECIE	TIPO
Or1	148-190	(CAAA) ₁₆	<i>L. olivacea</i>	Polimórfico
Or2	153-189	(GT) ₈ GCC(GT) ₅	<i>L. olivacea</i>	Polimórfico
Or8	140-170	(TC) ₂₃	<i>L. olivacea</i>	Sin amplificación
Cm3	138-202	(CA) ₁₃	<i>Ch mydas</i>	Monomórfico
Cm72	237-295	(CA) ₃₃	<i>Ch mydas</i>	Monomórfico
Cm84	319-355	(CA) ₁₅	<i>Ch. mydas</i>	Polimórfico
Cc117	228-266	(CA) ₁₄	<i>C. caretta</i>	Monomórfico.
Ei8	184-266	(CA) ₁₉	<i>E. imbricata</i>	Sin Amplificación

Para el locus Or1 se encontraron 10 alelos, para el Or2 son 11 alelos y para el locus Cm84 14 alelos. (Figura 9).

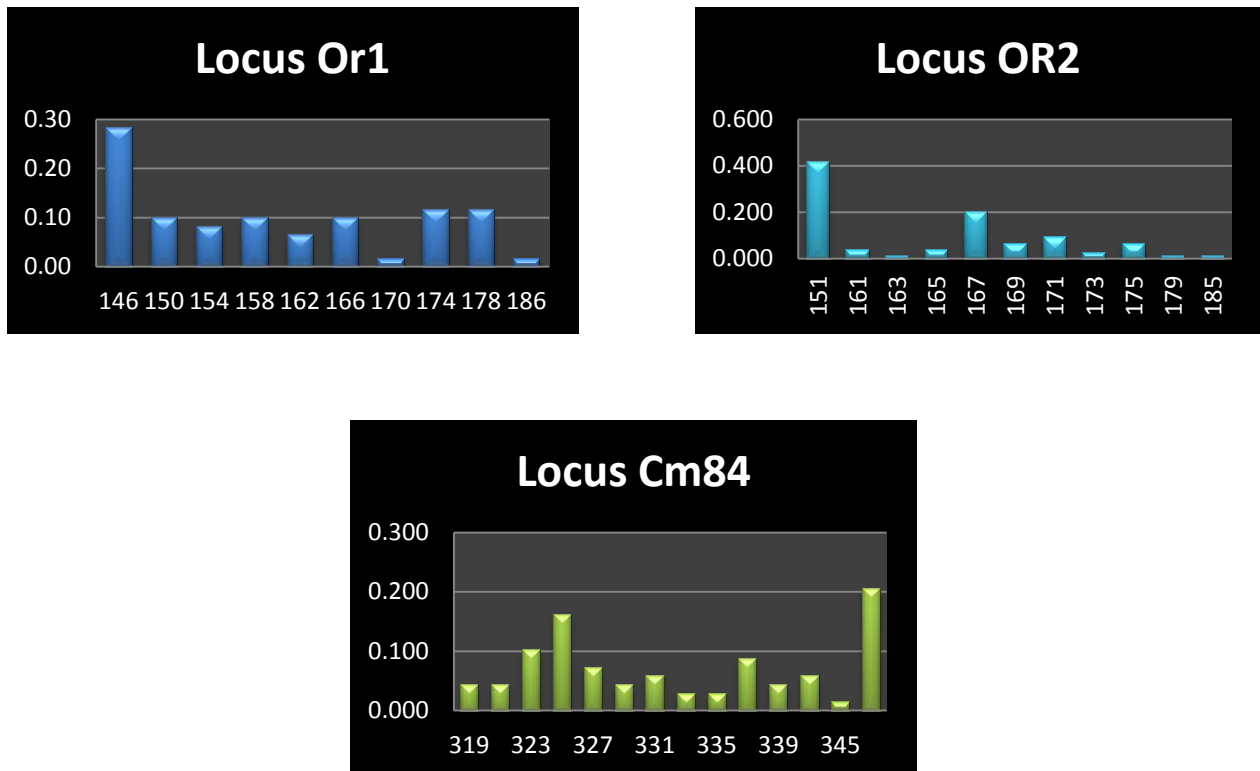


Figura 9: Frecuencias alélicas para los 3 microsatélites de *Lepidochelys olivacea*. El número de individuos muestreados por locus fue: para OR1 - 32 hembras, para Or2 - 37 hembras y para Cm84 - 33 hembras.

Con respecto a los microsatélites utilizados en este trabajo se puede observar que con respecto a trabajos anteriores los oligonucleótidos utilizados resultaron ser menos polimórficos ya que se reporta para Cm84 20 alelos, Cm3 38 alelos en la

población de *Ch. mydas* que anida en Colola, Michoacán; mientras que para la población de tortuga verde Australiana se reporta 19 alelos para Cm3, 22 para cm84 y 20 para Cc117 (Chassin, 2004; FitzSimmons 1995, 1998).

Sin embargo se ha observado con respecto a trabajos de paternidad múltiple de localidades cercanas a la población de Ixtapilla que las frecuencias alélicas son muy similares, Lara (2010) determinó para Cm3, Cm84, y Cc117 12, 14 y 10 alelos respectivamente, mientras que Palacios (2012) reporta 10 alelos para Or1, para Or2 11 alelos, para Or8 11 alelos y para Or7 12 alelos.

Los valores de heterocigosis observada (H_o) y heterocigosis esperada (H_e) se muestran en la tabla 2. La probabilidad de exclusión de cada locus (d) y de los 3 loci (D) se muestra en la tabla 3.

Tabla 2: Alelos encontrados de 3 loci de microsatélite y valores de heterocigosis observada (H_o) y esperada (H_e)

LOCUS	Alelos	Rango	H_o	H_e
Or1	10	146 - 186	0.966	0.859
Cm84	14	319 - 349	0.939	0.895
Or2	11	151 - 185	0.865	0.761
Promedio	11.6		0.923	0.838

Tabla 3: Probabilidad de exclusión de cada locus (d) y de los 3 loci (D)

LOCUS	Alelos	Probabilidad de exclusión
Or1	10	0.54
Cm84	14	0.64
Or2	11	0.39
Loci		D= 0.90

El análisis de datos de los 3 microsateles mostraron que todos presentaron desviaciones no significativas del equilibrio Hardy-Weinberg ($Or_1 = 0.174$, $Or_2 = 0.087$ y $Cm_{84} = 0.688$). A partir de las distribuciones de frecuencias alélicas de las hembras y con los alelos de cada progenie el programa Kinalyzer realizó la reconstrucción de genotipos con una certeza del 90 %

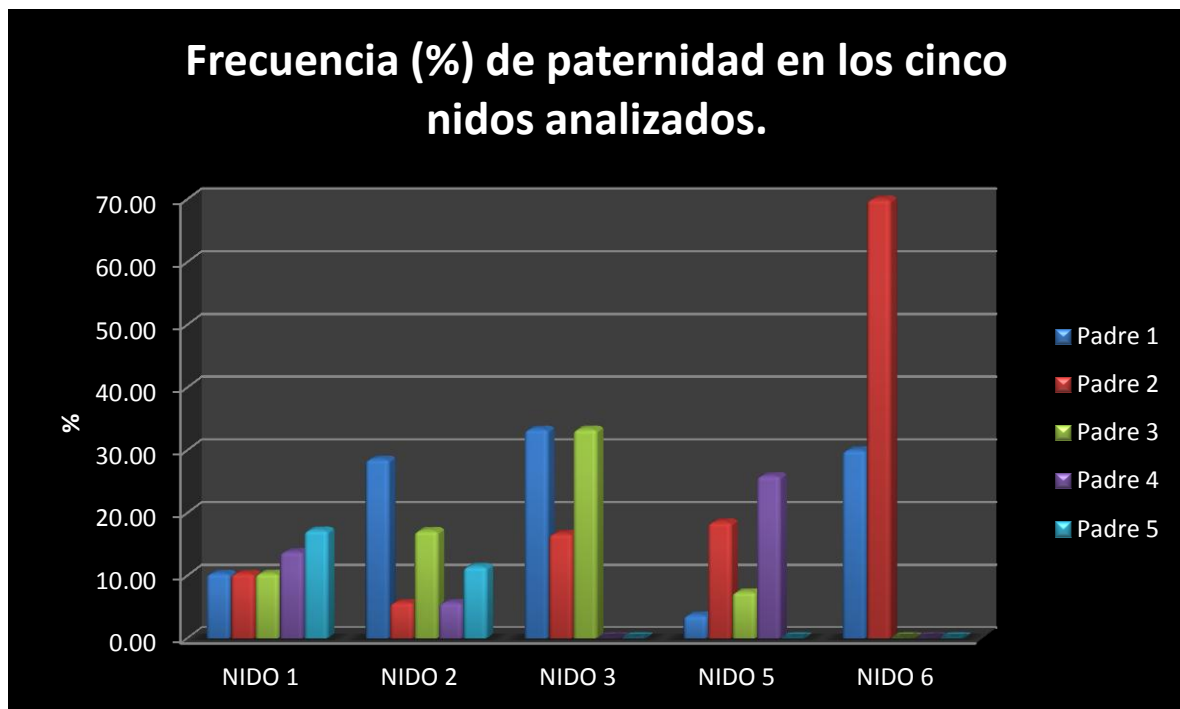


Figura 10: Nidos analizados de *Lepidochelys olivacea*, en donde se observa el porcentaje de la progenie correspondiente a cada macho.

Se obtuvo la frecuencia del número total de crías de cada macho (Figura 11 a Figura 15), porcentaje analizado del nido y porcentaje de crías del macho dominante de

acuerdo con la formula descrita por Sivinsky (1984), es decir, el porcentaje de crías de cada padre en cada nido (Palacios, 2012) Tabla 4. Observándose con esto que siempre hay un macho dominante en la fertilización de los huevos.

Tabla 4: Cantidad y porcentaje del número total de crías, porcentaje analizado del nido y porcentaje de crías del macho dominante.

Nido	Total de Crías	No. crías total p/pm	% analizado del nido p/pm	% crías del macho dominante	No. crías macho dominante
1	76	29	36.70%	17.24%	5
2	88	35	39.80%	28.57%	10
3	89	6	6.70%	33%	2
5	89	27	30.34%	25.93%	7
6	103	10	9.70%	70%	7

Se observó un orden de fertilización desordenado (Tabla 10 a Tabla 14 en APÉNDICES), lo que representa que no existe un mecanismo fisiológico directo que posibilite conservar separadas las diferentes descargas espermáticas en el oviducto conforme la hembra copuló con los machos (padres de las crías).

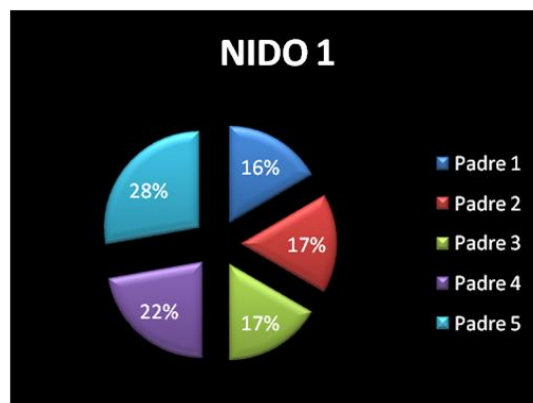


Figura 11. Frecuencia expresada en porcentaje de crías perteneciente a cada macho del nido uno

Tabla 5. Orden de fertilización del nido uno (orden de izquierda a derecha).

Nido 1																
Orden de fertilización (No. macho):																
2	4	4	4	5	5	2	3	3	1	1	5	1	3	5	4	5
inicio																final

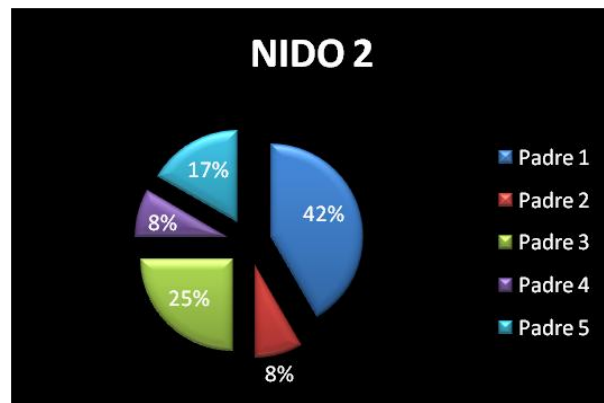


Figura 12. Frecuencia expresada en porcentaje de crías perteneciente a cada macho del nido dos

Tabla 6. Orden de fertilización del nido dos (orden de izquierda a derecha).

Nido 2																							
Orden de fertilización (No. macho):																							
1	1	3	1	1	3	3	5	5	1	4	5	1	1	3	3	3	2	1	4	1	1	5	
inicio																							final

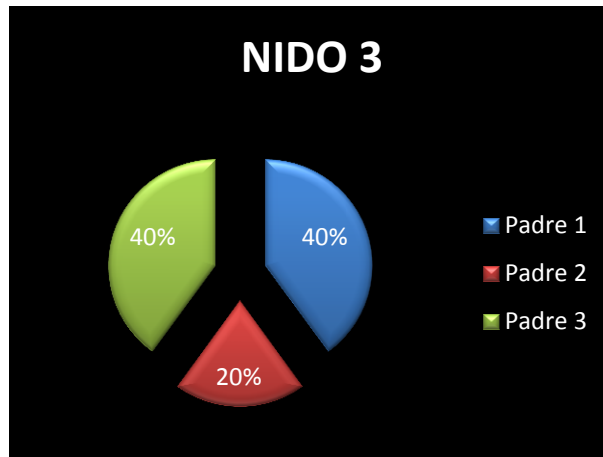


Figura 13. Frecuencia expresada en porcentaje de crías perteneciente a cada macho del nido tres

Tabla 7. Orden de fertilización del nido dos (orden de izquierda a derecha).

Nido 3									
Orden de fertilización (No. macho):									
3	2	2	1	1					
inicio	final								

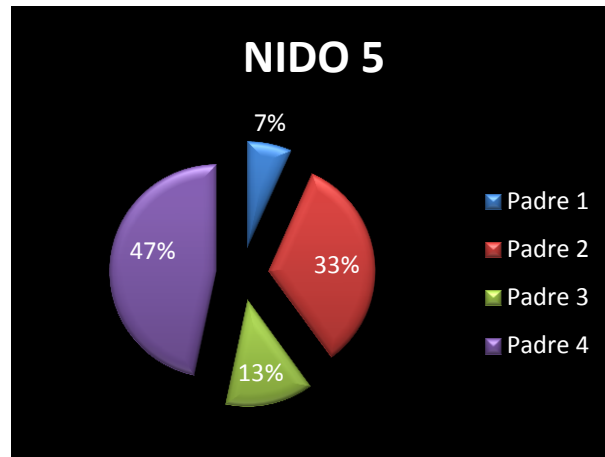


Figura 14. Frecuencia expresada en porcentaje, de crías perteneciente a cada macho del nido cinco

Tabla 8. Orden de fertilización del nido cinco (orden de izquierda a derecha).

Nido 5															
Orden de fertilización (No. macho):															
	2	2	2	4	4	4	4	2	3	4	4	3	2	4	1
inicio															final

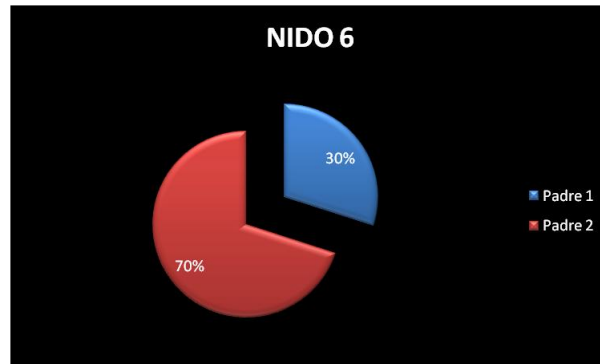


Figura 15: Frecuencia expresada en porcentaje de crías perteneciente a cada macho del nido seis

Tabla 9. Orden de fertilización del nido seis (orden de izquierda a derecha).

Nido 6									
Orden de fertilización (No. macho):									
2	1	2	1	2	3	3	3	3	1
inicio								final	

Los resultados indican que el tamaño de los nidos analizados es pequeño y se pensaría que son datos sesgados, sin embargo un estudio con la misma especie con número de muestra más grande y mayor número de loci analizados (329 crías de 8 nidos con 4 loci de microsatélites) reporta también un patrón desordenado de fertilización (Palacios ,2012). Lara (2010) en un estudio realizado con *Ch. mydas* reporta también un patrón desordenado y sugiere que el semen utilizado es una mezcla de fluido seminal dentro del tracto reproductor de la hembra.

7. CONCLUSIONES

I. La frecuencia de paternidad múltiple encontrada fue del 100% para la población de Ixtapilla que presenta anidación en arribada. El número de machos máximos implicados en la fertilización de un nido se observó que fue de cinco padres.

II. Se observó que no existe numeración consecutiva al asignar los padres a las crías en los nidos en donde se conservó el orden de ovoposición; con lo cual determinamos que existe un patrón desordenado de fertilización lo que puede sugerir que no existe un mecanismo que posibilite conservar separadas las diferentes descargas espermáticas en el oviducto, apoyando la hipótesis que menciona que el semen utilizado para la fertilización es una mezcla de fluido seminal dentro del tracto genital de la hembra.

8. APÉNDICES.

Tabla 10. Número de cría perteneciente a cada macho y orden de fertilización del nido uno (orden de izquierda a derecha).

Nido 1

Nido 1					
Macho 1	29	30	42		
Macho 2	2	22	65		
Macho 3	23	25	53		
Macho 4	4	13	19	70	
Macho 5	20	21	31	69	71

Nido 1

Orden de fertilización (No. macho):																
2	4	4	4	5	5	2	3	3	1	1	5	1	3	5	4	5

Tabla 11: Número de cría perteneciente a cada macho y orden de fertilización del nido dos.(orden de machos de izquierda a derecha)

Nido 2

Nido 2											
Macho 1	5	7	15	18	32	42	43	71	76	79	
Macho 2	35	70									
Macho 3	11	20	25	44	45	53					
Macho 4	33	72									
Macho 5	27	30	41	86							

Nido 2

Orden de fertilización (No. macho):																						
																		→				
1	1	3	1	1	3	3	5	5	1	4	5	1	1	3	3	3	2	1	4	1	1	5

Tabla 12: Número de cría perteneciente a cada macho y orden de fertilización del nido tres.(orden de los machos de izquierda a derecha)

Nido 3

Nido 3		
Macho 1	16	18
Macho 2	7	
Macho 3	2	8

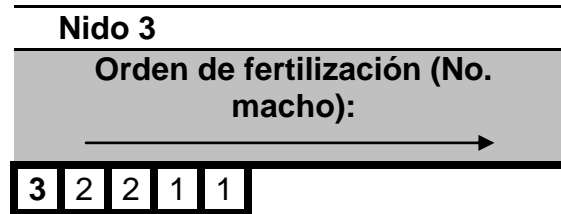


Tabla 13: Número de cría perteneciente a cada macho y orden de fertilización del nido cinco (orden de los machos de izquierda a derecha)

Nido 5

Nido 5							
Macho 1	44						
Macho 2	3	5	6	29	36		
Macho 3	30	35					
Macho 4	7	8	16	27	33	34	38

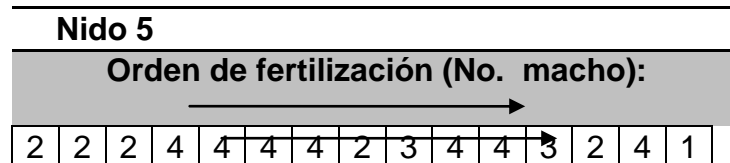


Tabla 14: Número de cría perteneciente a cada macho y orden de fertilización del nido seis.

Nido 6

Nido 6							
Macho 1	58	61	71				
Macho 2	3	60	62	63	67	69	70

Nido 6

Orden de fertilización (No. macho):										
2	1	2	1	2	3	3	3	3	1	

8. REFERENCIAS

- Aggarwal, R. K., T. P. Velavan, D. Udaykumar, P. S. Hendre, K. Shanker, L L. Singh. 2004. Development and characterization of novel microsatellite markers from the olive ridley sea turtle (*Lepidochelys olivacea*). *Molecular Ecology Notes*. 4: 77-79.
- Berger-Wolf, S.I. Sheikh, B. DasGupta, M.V. Ashley, I.C. Caballero, W. Chaovalitwongse, S.L. Putrevu, "Reconstructing Sibling Relationships in Wild Populations", *Bioinformatics* (2007), 23(13)
- Birkhead T R y Pizzari T. 2002. Postcopulatory sexual selection. *Nature reviews*. 3:262-273.
- Chassin N., O. 2004. Variabilidad genética y paternidad múltiple de la tortuga verde del pacífico oriental (*Chelonia mydas* Linnaeus 1758). Tesis de grado doctoral en Ciencias Biomédicas. Centro de Investigaciones en Ecosistemas. UNAM.
- Dutton, P. 1996. Methods for collection and preservation of samples for sea turtle genetic studies, p.17-24. In: B.W. Bowen y W. N. Witzell (Editores), *Proceedings of the International Symposium on Sea Turtle Conservation Genetics*. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-396. U.S. Dept. Commerce.

- Ewert, M. A. 1979. The embryo and its egg: development and natural history. In: Harless, M. y H. Morlock (Eds). Turtles: perspectives and research. New York. 333-413 pp.
- Eckert, K. L., K. A. Bjorndal, F. A. Abreu-Grobois y M. Donnelly (editores). 2000 (Traducción al español) Técnicas de investigación y manejo para la conservación de las tortugas marinas. Grupo de Especialistas en Tortugas Marinas UICN/CSE. Publicación No. 4.
- FitzSimmons, N., C. Moritz y S.S. Moore. 1995. Conservation and dynamics of microsatellite loci over 300 million years of marine turtle evolution. *Molecular Biology and Evolution* 12: 432-440 pp.
- FitzSimmons, N. 1996. Use of microsatellite loci to investigate multiple paternity in marine turtles. In: Proceedings of The International Symposium on Sea Turtle Conservation Genetics, edit. Bowen BW and Witzell WN (NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-396. 173 pp.).
- FitzSimmons N N (1997) Male marine turtles: gene flow, philopatry and mating systems of the green turtle *Chelonia mydas*. Ph D thesis, University of Queensland, Australia 241 pp.
- FitzSimmons, N. 1998. Single paternity of clutches and sperm storage in the promiscuous green turtle (*Chelonia mydas*). *Molecular Ecology* 7: 575-84.

- Frazer N B y Ladner R C (1986) A growth curve for green sea turtles *Chelonia mydas* in the U.S. virgin islands, 1913-1914. *Copeia* **1986**:798-802.
- Harry J L y Briscoe D A (1988) Multiple paternity in the loggerhead turtle *Caretta caretta*. *Journal of Heredity* **79**:96-99.
- Ibarra- Bárcenas, A. y A. Maldonado-Gasca. 2009. Malformaciones en embriones y neonatos de tortuga golfina (*Lepidochelys olivácea*) en Nuevo Vallarta, Nayarit, México. *Veterinaria México* 40: 371-380.
- IUCN 2008, Red List of Threatened Species. En: <http://www.iucnredlist.org>
- Jensen M.P, Abreu-Grobois F. A., Frydenberg J. & Loeschcke. 2006. Microsatellites provide insight into contrasting mating patterns in arribada vs. non-arribada olive ridley sea turtle rookeries. *Molecular Ecology*, 15, 2567-2575.
- Kichler K L; Holder M T; Davis S K; Marquez R y Owens D W (1999) Detection of multiple paternity in the Kemp's ridley sea turtle with limited sampling. *Molecular Ecology* **8**:819-830.
- Lara-De La Cruz, L.I. 2010. Paternidad múltiple y adecuación de *Chelonia mydas*. Tesis de maestría. Maestría en Ecología. UNAM. México.
- Lee Patricia y Hays Graeme. 2004. Poliandry in marine turtle. Females make the best of a bad Job. School of Biological Sciences, Institute of Environmental Sustainability, University of Wales Swansea, Swansea, United Kingdom. No 17. 101: 6530-6535.

- Lutz, P.L., y J.A. Musick. 1997. The biology of sea turtles. CRC Press, Inc. U.S.A. 432 pp.
- Marquez, R. 1996. Las tortugas marinas y nuestro tiempo. Fondo de Cultura Economica. Mexico. 197 pp.
- Martínez M M (2003) Repertorio del comportamiento y patrones sociales durante el cortejo y apareamiento de *Chelonia agassizii* Tesis. UMSNH. México 49 pp.
- Masayoshi Tokita and Shigeru Kuratani (2001) Normal Embryonic Stages of the Chinese Softshelled Turtle *Pelodiscus sinensis* (Trionychidae). *Zoological Science*, 18(5):705-715. 2001. Zoological Society of Japan
- Merchán 1992. El Maravilloso mundo de las tortugas marinas. p 41
- Mortimer, J.A. 2000. Reducción de las amenazas a los huevos y a las crías: Los viveros. En: Eckert, K.L, K.A. Bjorndal, F.A. Abreu-Grobois, M. Donnelly (Eds.). Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas. UICN/CSE Grupo Especialista en Tortugas Marinas. Publicación No. 4, 2000 (Traducción al español). 265 pp
- Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010. 2001. Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres, Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. SEMARNAT. México. En <http://www.ine.gob.mx>

- Owens W D y Ruiz G J (1980) New methods of obtaining blood and cerebrospinal fluid from marine turtles. *Herpetological* 36: pp 17-20.
- Peare, T.. 1998. Paternity analysis in the green sea turtle. Proceedings of the sixteenth annual Symposium of turtle biology and onservation. NOAA. NMFS-SEFSC- 412.
- Palacios M. Daisy. 2012. Frecuencia de paternidad múltiple y efecto paterno en *Lepidochelys olivacea* de Maruata, Michoacán. Tesis de Maestria. Maestria en Ciencias UMSNH. 69 psixteenth annua
- Pritchard, P.C.H. y J.A. Mortimer. 2000. Taxonomía, morfología externa e identificación de las especies. En: Eckert, K.L., K.A. Bjorndal, F.A. Abreu
- SEATURTLE.ORG Maptool. 2002. SEATURTLE.ORG, Inc. (<http://www.seaturtle.org/maptool>)
- Serrato D. A, Cornejo Romero A y Amilpa C. O. 2013. La biodiversidad y evolución en ambientes acuáticos analizadas con herramientas moleculares. *Hidrobiológica* 2013, 23 (3): 275-286
- Turkozan, O., C. Ilgaz y S. Sak. 2001. Carapatial scute variation in Loggerhead turtles, *Caretta caretta*. *Zoology in the Middle East* 24: 137-142.
- Uller, T. y Olsson, M. 2008. Múltiple paternity in reptiles: patterns and processes. *Molecular Ecology*. 17:2566-2580.
- Wyneken, J. 2004. La Anatomía de las Tortugas Marinas. U.S. Department of Commerce NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-470, 172 pp.

[Versión en español de Wyneken, J. 2001. The Anatomy of Sea Turtles. U.S. Department of Commerce NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC, 172 pp.]

- Yañez Amayo, V (2002). Aislamiento y caracterización de marcadores moleculares microsatélites a partir de la construcción de librerías genómicas enriquecidas de camote (*Ipomea batatas*). Publicación Tesis Digital. Lima. UNMS
- William Eberhard G..1996. Female control: Sexual selection by cryptic female choice. Princeton:Princeton University Press. 1996. 501 pp.

CAPITULO II. SIMETRÍA EN LOS ESCUDOS DEL CAPARAZÓN EN

Lepidochelys olivacea

1. INTRODUCCIÓN.

1.1 VARIACIÓN EN LOS ESCUDOS DEL CAPARAZÓN

La larga escala de placas óseas en el caparazón de todas las tortugas son llamados escudos Deraniyagala (1939) se refirió al número y arreglo de los escudos como escudación (scutation).

Las variaciones individuales han sido observadas por las especies de tortugas que poseen escudos. Trabajos previos han examinado esta variación y han sugerido como causantes varios factores como medioambientales y genéticos.

La típica escudación del caparazón de los quelonios consiste en una serie de elementos medios únicos nombrados como escudos vertebrales, estos están flanqueados por los escudos costales o laterales; que a su vez están rodeados por los escudos marginales. Los escudos del caparazón se numeran de frente hacia atrás (Figura 1)

El caparazón se compone de hueso cubierto por escudos queratinosos o grasa y piel en *Dermochelys*. Los márgenes de los escudos y las suturas de los huesos no están alineadas entre ellas (Wyneken 2004).

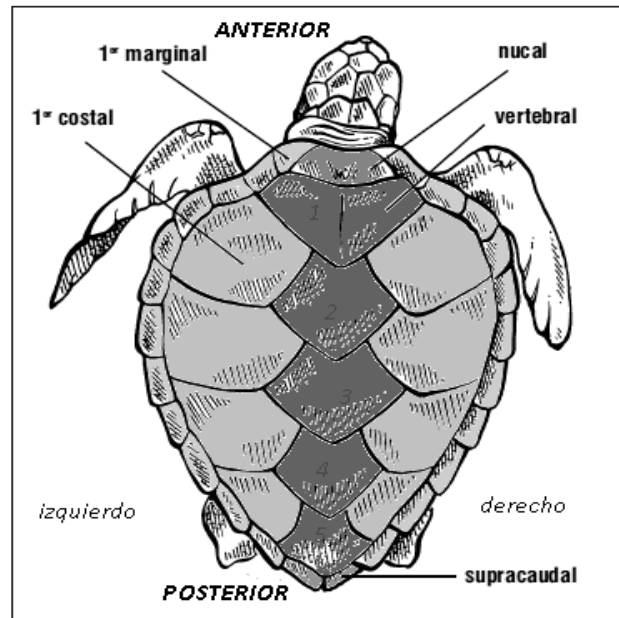


Figura 1. Escudos del caparazón (Modificado de Wyneken, 2004).

Los principales escudos usados como características claves son los marginales, laterales (costales), vertebrales, y nucales; también los inframarginales o escudos del puente.

La concha inferior se denomina plastrón. El plastrón también tiene características distintivas en los escudos (seis pares y un séptimo que es unitario), pero estos se usan más como localizadores de estructuras internas y no tanto para la identificación de especies (Figura 2). De anterior a posterior, el escudo intergular es el más cercano al cuello, luego siguen (en orden) el gular, humeral, pectoral, abdominal, femoral y anal. Algunos individuos tienen un escudo inter-anal, sin pareja, encontrado entre o posteriormente a los escudos anales.

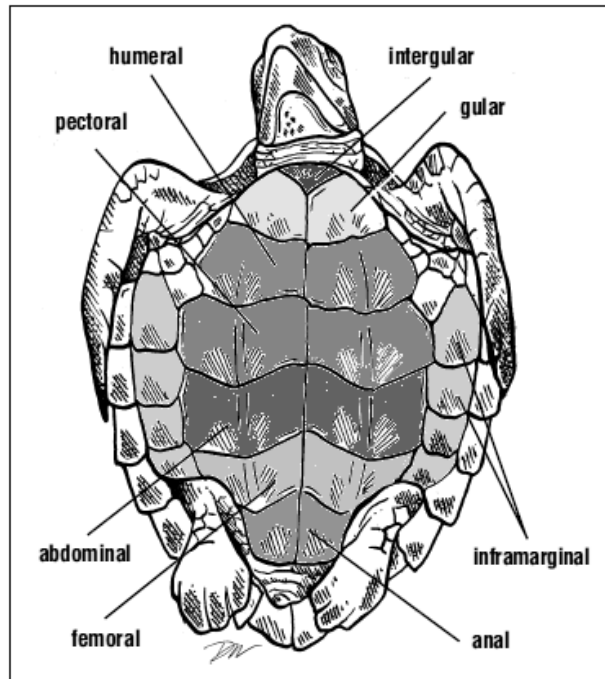


Figura 2 Escudos del plastrón y del puente. (Wyneken, 2004).

1.2 DESARROLLO EMBRIONARIO DEL CAPARAZON

El Dr. Kuratani Shigeru y Masayoshi Tokita del Departamento de Biología en la Universidad de Okayama en la Facultad de Ciencia en Japón; observaron y compararon el desarrollo del plastrón, las escamas corneas (caparazón) y la pigmentación del caparazón entre otras características, entre cinco especies distintas de tortugas, observando que estas se desarrollan en distinto orden, dependiendo de la familia a la que pertenece el embrión: *Chelonidae*, *Emydidae*, *Chelydridae*, *Carettochelydae* y *Trionychidae*.

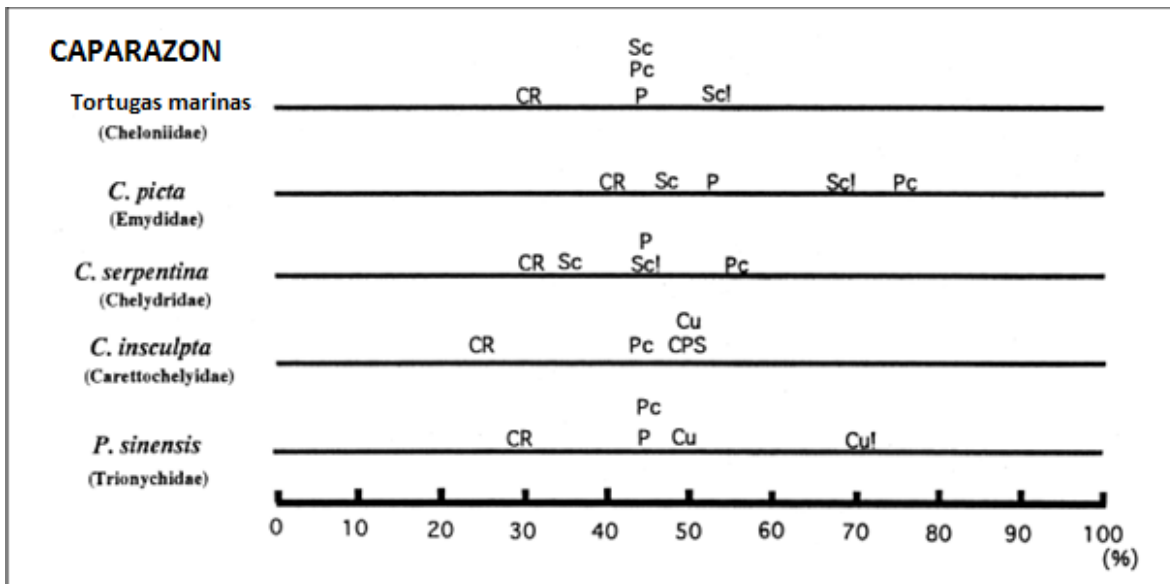


Figura 3. Comparación del desarrollo normal del caparazón de las cinco distintas familias representadas por cinco distintas especies. Están alineadas cerca de la ovoposición (0%) a la eclosión (100%). Las abreviaturas son: CR – caparazón, Sc- escamas corneas, Pc- pigmentación, P-plastrón. (Modificado de Masayoshi y Kuratan, 2001)

El desarrollo corporal en el embrión temprano se parece al de otros vertebrados, que comienza a diversificarse en algo único. Conforme progresa la incubación (1/3 periodo de incubación) las costillas viran hacia afuera. Entonces, la capa muscular se pliega al desplazarse, las costillas sobre los omóplatos (en los humanos crecen los omóplatos sobre las costillas). El caparazón al final se forma con las costillas fusionadas, fijadas a los omóplatos y en muchas especies una capa dura de queratina forma el caparazón. Las costillas crecen lateralmente para juntarse con los huesos periféricos (que yacen debajo de los escudos marginales) los huesos periféricos también se ensanchan con la edad y conforme al animal aumenta de tamaño (Wyneken, 2004). De acuerdo al estudio realizado por Masayoshi *et al.*

(2001) se observa (Figura 3) que la primer familia de tortugas que desarrolla el caparazón es *Carettochelydae*, seguida por tres familias en segundo lugar *Trionychidae*, *Chelydrae* *Cheloniidae*, la última familia según este estudio en desarrollar el caparazón es la *Emydidae*.

Siete años antes, el año 2008 en China se encontró un fósil de la tortuga *Odontocetis seistestacea* de 220 millones de años, con placa ventral pero con el caparazón incompleto.

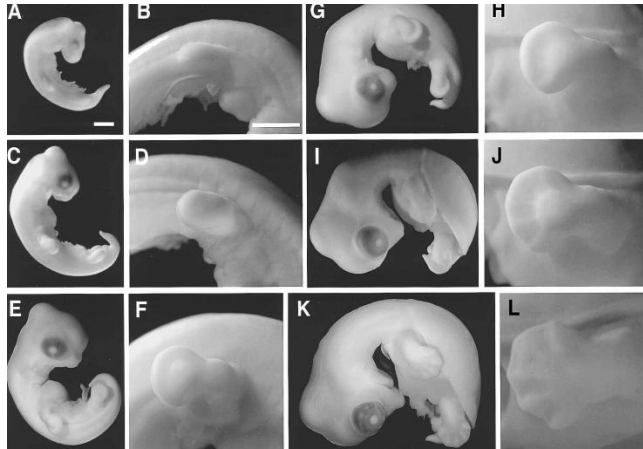


Figura 4. Fotografías de las etapas embrionarias de *Pelodiscus sinensis*. Vista lateral derecha.

Escala 1mm. Etapa 12 A-B. Etapa 13 C-D. Etapa 14 E-F. Etapa 15 I-J. Etapa 16 K-L. (Masayoshi y Kuratani, 2001)

Los huesos que conforman el esqueleto se forman de dos maneras diferentes (Merchán, 1992) y en base a las cuales se ubican en lugares de diversa funcionalidad. 1-El cráneo y la cintura escapular: proceden de la osificación del tejido conjuntivo y se produce durante el desarrollo embrionario. 2- El resto, vértebras, extremidades, etc.: es fruto de la osificación del tejido cartilaginoso.

Palacios (2012) realizó un estudio con *L. olivácea* en donde encontró diferencias significativas en la forma del caparazón con respecto a la simetría o asimetrías de los escudos en las crías, sugiriendo que la forma del caparazón podría variar de acuerdo con el número y disposición de los escudos; y en el análisis de morfometría geométrica en el caparazón mostró que esta guarda relación con un genotipo paterno en particular dentro de cada nido. Lara (2010) en un estudio realizado con *Ch. mydas* reportó diferencias significativas para los valores de asimetría de los diferentes padres.

1.3 MALFORMACIONES EN TORTUGAS MARINAS

Existen factores intrínsecos (genéticos y fisiológicos) y extrínsecos (físicos, químicos y edafológicos) que afectan el desarrollo embrionario y puede ser responsable de la aparición de cierto tipo de malformaciones.

En el desarrollo embrionario, los factores ambientales desempeñan un papel importante en la formación de las crías, no solamente en la determinación del sexo, sino también en el crecimiento y fisiología. Así también los contaminantes industriales y de la agricultura que son vertidos a canales de ríos, llegan al mar y son incorporados dentro de las cadenas tróficas, donde pueden afectar a las tortugas marinas. Las malformaciones se han considerado relativamente raras pero sin embargo nos pueden indicar cambios negativos en la biología de las tortugas marinas.

La presencia de malformaciones en las crías (albinismo, aletas bifurcadas, adición o reducción en el número de escudos) puede servir como un indicador de la inestabilidad en el desarrollo de los embriones y tener el potencial de disminuir la adecuación individual (adecuación = sobrevivencia + reproducción).

La presencia de malformaciones se describió por primera vez en 1857, pero sin embargo ha recibido atención limitada. Para la tortuga golfina se tienen registrados 87 tipos de malformaciones y para la caguama 15 tipos (Bárcenas y Maldonado 2009). De acuerdo a este estudio el caparazón es la región anatómica más afectada y el caparazón comprimido es el tipo de malformación más frecuente, en segundo lugar lo ocupa el albinismo, seguido por la quiofisis.

Basándose en la severidad de la malformación se han registrado tres tipos:

- 1) Malformaciones no letales
- 2) Malformaciones subletales
- 3) Malformaciones letales

Bishop *et al.* (1994), encontraron en su estudio una correlación significativa entre las malformaciones de embriones y concentraciones de PBC en los huevos de *Chelydra serpentina*.

Alam y Brim (2000) documentaron contaminantes como PBC y metales pesados en tortugas caguama, posteriormente en otro estudio se registró la presencia de malformaciones en dicho sitio. En tortugas dulceacuícolas, la presencia de malformaciones está asociada a los niveles de contaminación. Por ejemplo en

Chelydra serpentina incrementaron de 13 a 19 % las tasas anuales de malformaciones asociados con la presencia de altos niveles de hidrocarburos aromáticos policíclicos.

Observándose con esto que las malformaciones en tortugas marinas (letales, sub-letales o no letales) pueden ser consecuencia de factores genéticos, condiciones de incubación o niveles de contaminantes en los huevos.

2. OBJETIVOS

- I. Establecer la proporción de individuos adultos y de crías de *Lepidochelys olivacea* que presentan simetría
- II. Establecer el patrón de escudos en hembras y crías de *Lepidochelys olivacea*.

3. HIPÓTESIS

- I. Si la simetría en los escudos del caparazón es un indicador de calidad fenotípica y genotípica, entonces los organismos adultos serán significativamente más simétricos que las crías debido a que ya pasaron un proceso de selección.

- II. Si la simetría es un indicador de calidad, las crías de la primera temporada serán significativamente menos simétricas que las crías de la segunda temporada.

- III. Si la simetría es un indicador de calidad, los individuos simétricos serán más exitosos en la competencia inter e intra sexual; observándose estadísticamente para estos organismos una mayor reproducción y mayor sobrevivencia.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizaron recorridos nocturnos a lo largo de la playa de Ixtapilla y se realizó el conteo de escudos de 108 hembras en proceso de anidación en arribada, durante el periodo de septiembre a noviembre de 2009.

El conteo de escudos en las 1'051 crías se realizó en dos temporadas:

Primera temporada abarcando de Febrero a Marzo del 2008, en las que se realizó el análisis de simetría en los escudos a 825 crías de ocho nidos de la tortuga *Lepidochelys olivacea*.

Segunda temporada que abarca el mes de octubre del 2008 en las que se realizó el análisis de simetría en los escudos a 512 crías de ocho nidos de la tortuga *Lepidochelys olivacea*.

La simetría de los escudos del caparazón se determinó en hembras anidadoras y crías contemplando para ambas como organismos **simétricos** aquellas tortugas que tienen el mismo número de escudos costales izquierdos y costales derechos; así como el mismo número de escudos marginales tanto izquierdos como derechos. Los organismos **asimétricos** son aquellas tortugas que no tienen el mismo número de escudos marginales (Izq-Der) y/o costales (Izq-Der).

Para corroborar si existen diferencias significativas entre hembras, hembras-crías y entre crías se utilizó el programa Stata9 (<http://www.stata.com>).

5. RESULTADOS y DISCUSIÓN

5.1 HEMBRAS

De las 108 hembras de la tortuga *Lepidochelys olivacea* en las que se realizó el análisis de simetría en los escudos, se observó que la frecuencia entre hembras con simetría y asimetría es de 50.9 % y 49.1% respectivamente, los resultados se muestran en la Tabla 1 (ver APÉNDICE)

De acuerdo al número de escudos se tiene lo siguiente:

-Escudo nual. Se observa (Figura 5) que existe una alta frecuencia en las tortugas adultas con un solo escudo (88.89 %), los resultados desglosados se muestran en los APÉNDICES Tabla 2 .

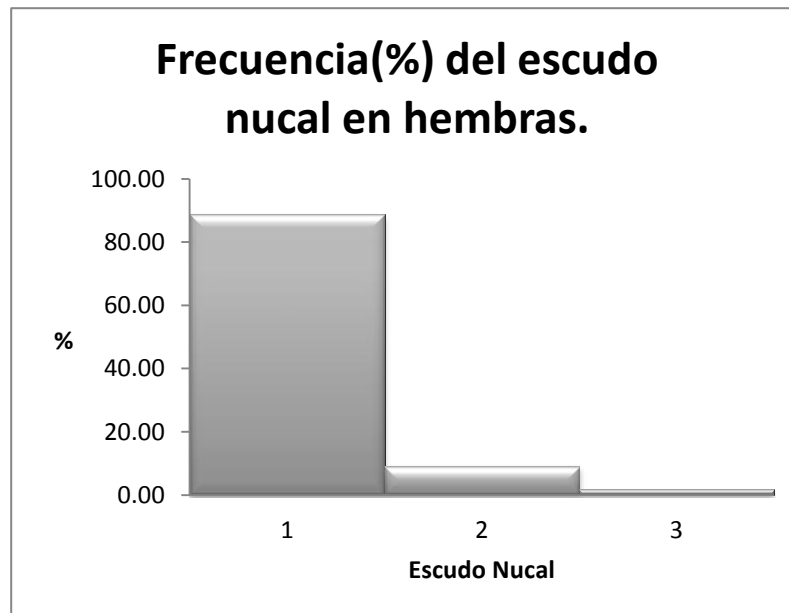


Figura 5. .Frecuencia expresada en porcentaje del patrón en el escudo nual en hembras

-Escudos vertebrales. Se observó (Figura 6) que existe una alta frecuencia de tortugas que presentaron 5 escudos vertebrales (50.93%) seguido de seis escudos y en tercer lugar la presencia de siete escudos vertebrales como se muestra en la Tabla 3 en los APÉNDICES.

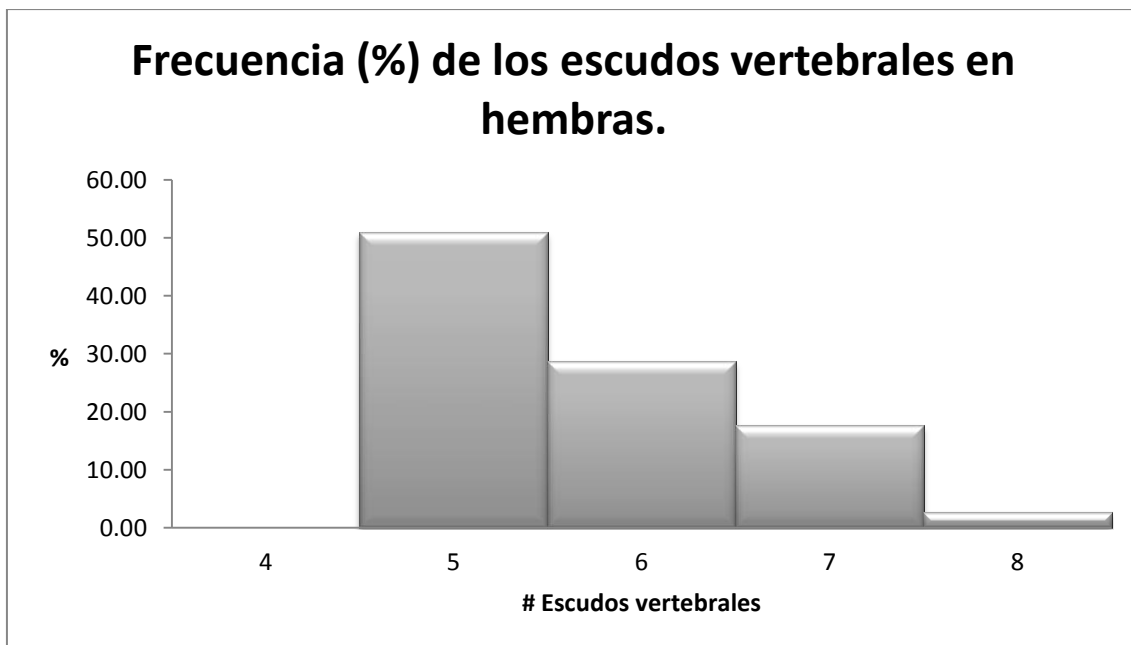


Figura 6. Frecuencia expresada en porcentaje del patrón en los escudos vertebrales en hembras

-Escudos marginales: Se observa (Figura 7) que la mayor frecuencia de escudos marginales es de la combinación 13-13 con 81.48% seguida de la combinación 14-13 con el 8.33% y en tercer lugar la combinación 14-14 con 4.63%.(Tabla 5 en APÉNDICES

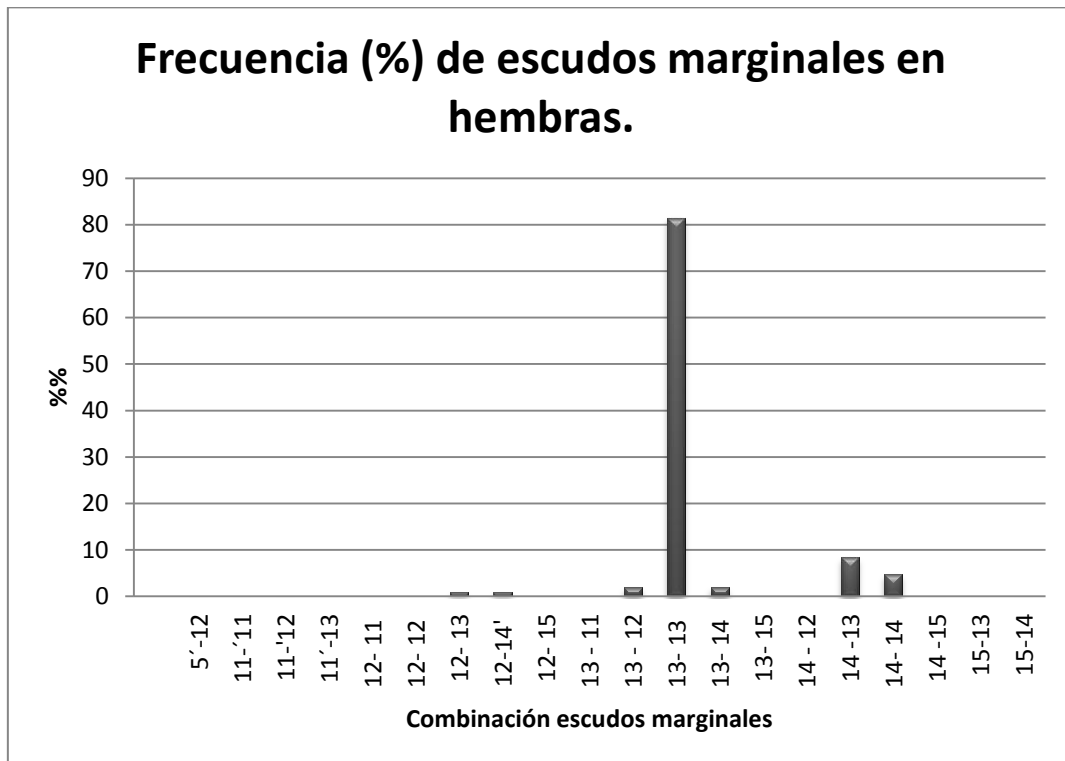


Figura 7. Frecuencia expresada en porcentaje del patrón en los escudos marginales en hembras.

-Escudos costales. Se observó (Figura 8) que la mayor frecuencia la obtuvo la combinación 6-6 con 38.89% seguida de la combinación 7-6 con el 12.04%, en tercer lugar la combinación 5-5 con el 9.26% (Tabla 4)

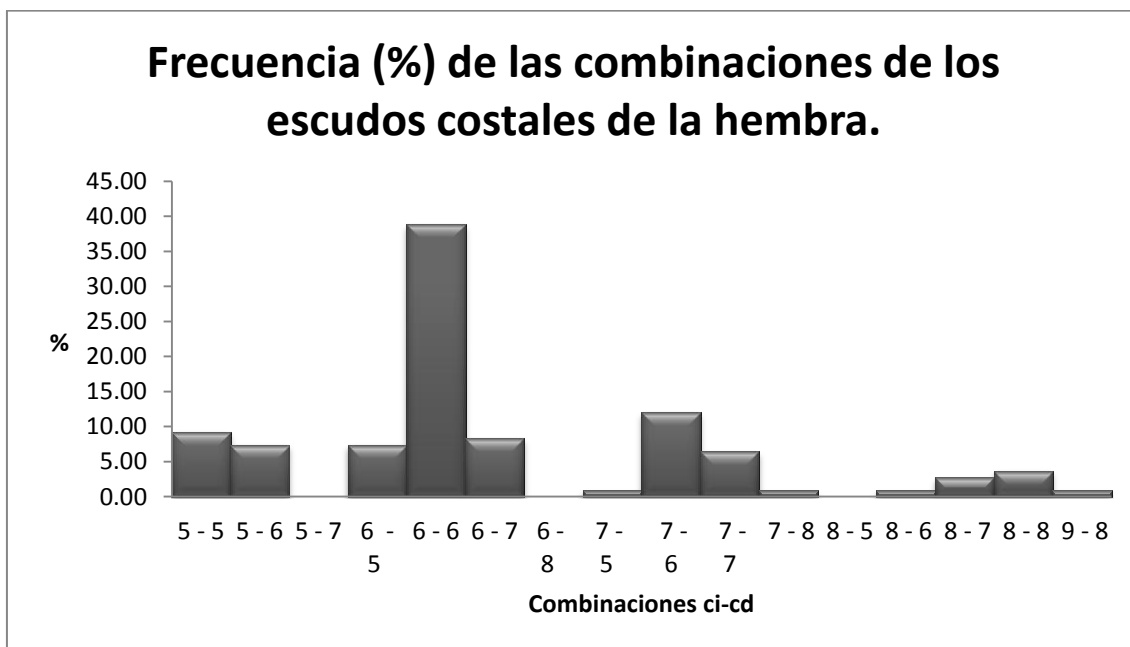


Figura 8. Frecuencia expresada en porcentaje del patrón en los escudos costales en hembras

5.2 CRIAS

5.2.1) 1ª Temporada: febrero-marzo2008

De las 825 crías de los ocho nidos de la tortuga *Lepidochelys olivacea* en las que se realizó el análisis de simetría en los escudos, se observó que el nido 11 es el que presenta mayor porcentaje de crías simétricas con el 51.1% seguido del nido 2 con 44.4%, con valores muy similares se observan el nido 6 y el nido 10 con valores de 42.9% y 42.5% respectivamente, como se muestra en la Tabla 6 (ver APÉNDICE).

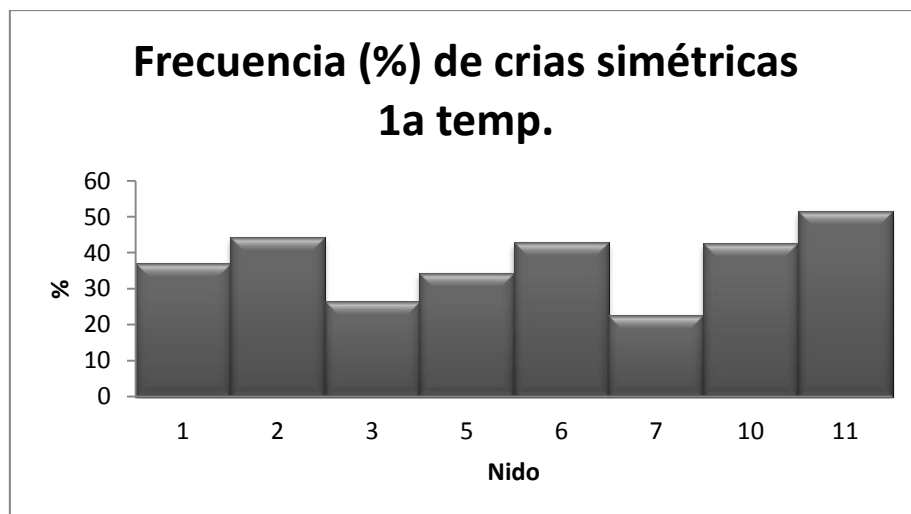


Figura 9. Frecuencia expresada en porcentaje crías simétricas en las crías de la primera temporada.

Para los valores de asimetría se puede observar que es el nido 7 el que presenta una mayor frecuencia de crías asimétricas con un 77.4% seguido del nido 3 con 73.6%, con el 65.5% de crías asimétricas se encuentra el nido 5 y en cuarto lugar el nido 1 con 63% (Tabla 6 ver APÉNDICE).

Con respecto al número de escudos se tiene lo siguiente:

-Escudo nucal. No se tienen datos del escudo nucal.

-Escudos vertebrales. De las 539 crías correspondientes a ocho nidos de *L. olivacea* en las que se contaron los escudos vertebrales se puede observar que la presencia de 5 placas vertebrales presenta mayor frecuencia con el 85.9% seguido de 6 placas con el 12.4% y en tercer lugar la presencia de 7 placas vertebrales (1.86%) como se observa en la Figura 10 (datos en la Tabla 7 ver APÉNDICE).

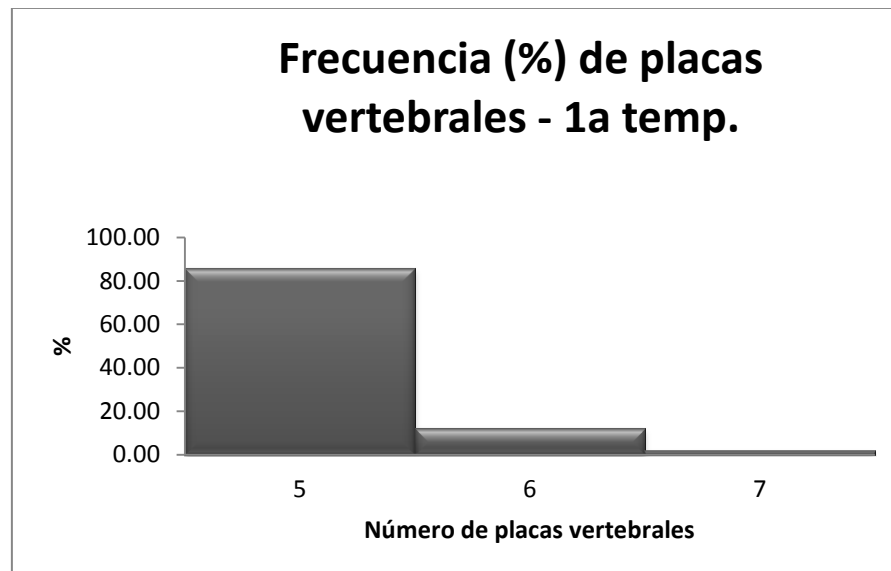


Figura 10. Frecuencia expresada en porcentaje del patrón de escudos vertebrales de las 539 crías analizadas de la primera temporada.

Escudos costales: Se puede observar (Figura 11) que el mayor porcentaje lo presenta la combinación 6-6 con el 62.71%, seguido por la combinación 6-5 con el 11.13% con valores muy cercanos encontramos la combinación 5-6 y 6-7 con valores del 8.72% y 7.24% respectivamente. (Tabla 8 en APÉNDICE)

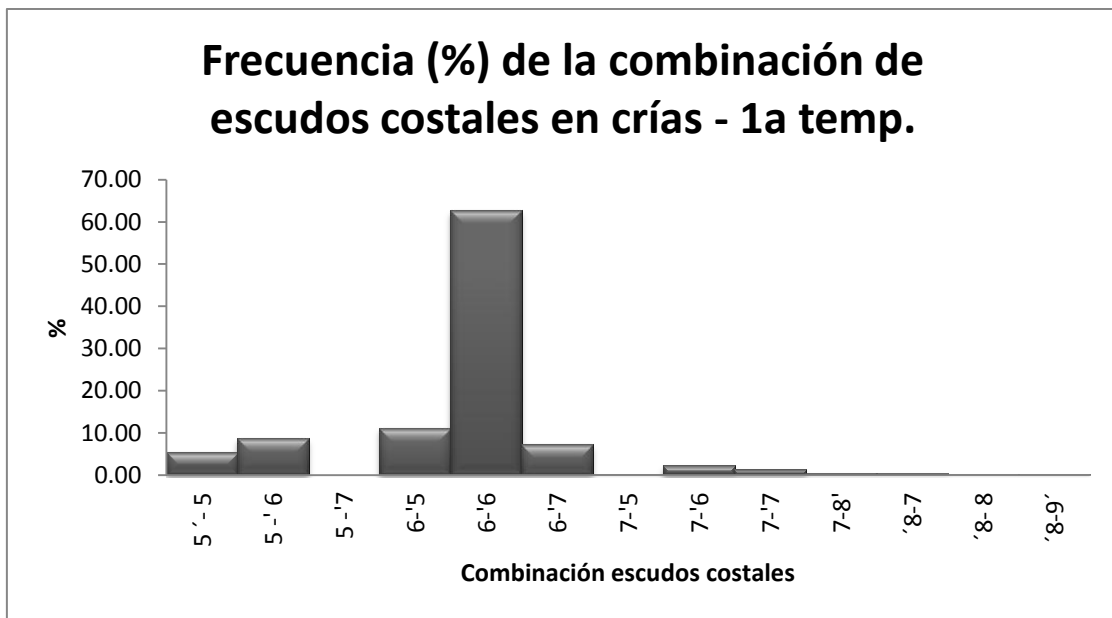


Figura 11. Frecuencia expresada en porcentaje de la combinación de escudos costales en las crías de la primera temporada.

-Escudos marginales. Se obtuvo que la combinación 13-13 es la más frecuente de todas con el 39.89% (Figura 12), seguida de la combinación 13-12 con el 25.60% en tercer lugar se observa la combinación 13-11 con el 8.16% y con valores muy similares 7.79% y 7.61% encontramos las combinaciones 12-12 y 12-13 respectivamente (Tabla 9 ver APÉNDICE)

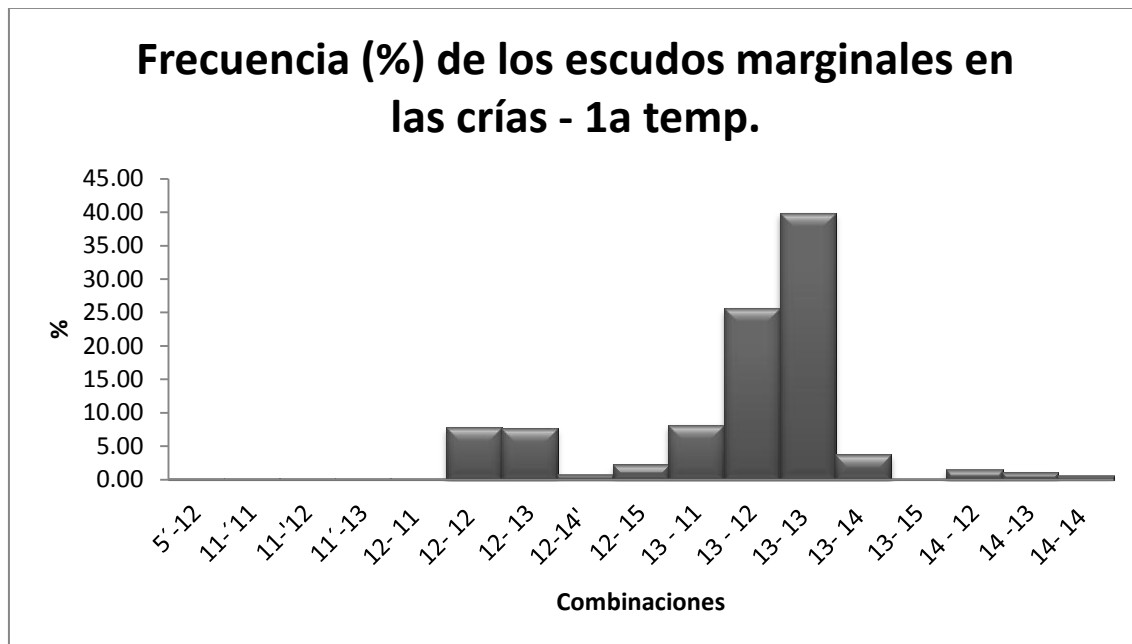


Figura 12. Frecuencia expresada en porcentaje de la combinación de escudos marginales en las crías de la primera temporada.

5.2.2) 2ª Temporada: Octubre 2008

De las 512 crías de los ocho nidos de la tortuga *Lepidochelys olivacea* en las que se realizó el análisis de simetría en los escudos, se observa que el mayor porcentaje de crías simétricas lo presenta el nido 14 con el 59.70%, seguido del nido 15 con el 54.12%, en tercer lugar encontramos al nido 17 con el 53.85% seguido de los nidos 18 y 13 con el 51.22% y 50% respectivamente, como se puede observar en la Figura 13.

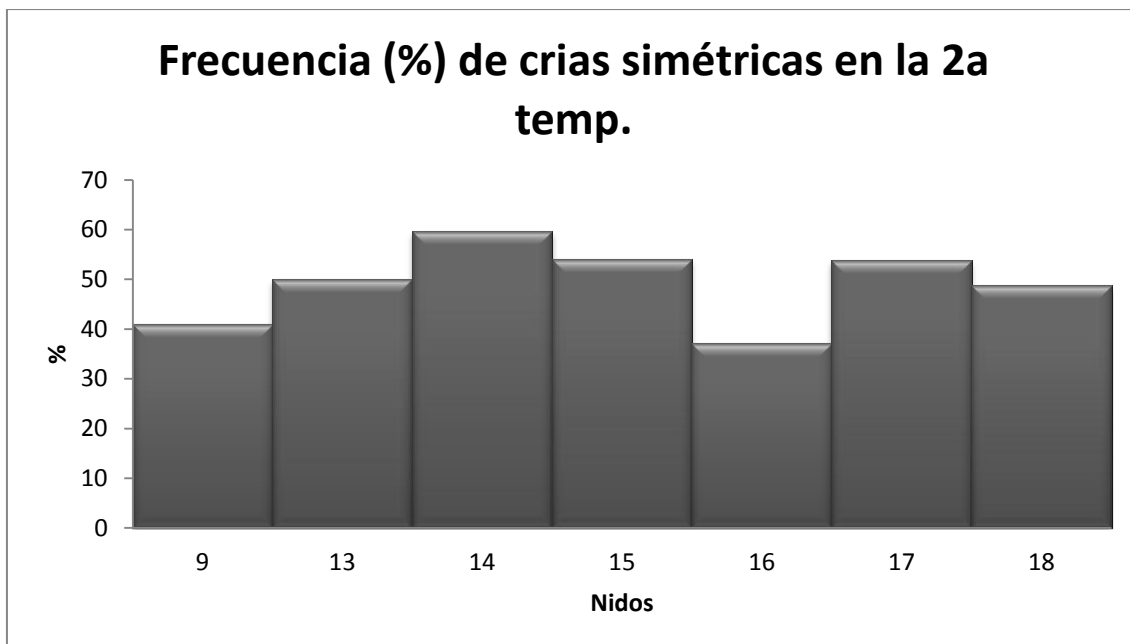


Figura 13. Frecuencia expresada en porcentaje de crías simétricas y asimétricas de la segunda temporada de crías analizadas

Con respecto a la asimetría (tabla 10 ver APÉNDICE) el nido 16 presenta un 62.96% de crías asimétricas, seguido del nido 9 con un 58.95%, en tercer lugar al nido 18 con un 51.22%, el nido 13 y 17 con valores del 50% y 46.15% respectivamente.

De acuerdo al número de escudos se tiene lo siguiente:

-Escudo nual. De las 512 crías correspondientes a siete nidos de *L. olivacea* no se tienen datos del escudo nual.

-Escudos vertebrales. De las 512 crías analizadas se puede observar (Figura 14) que el 70.51% presentan 5 escudos vertebrales, con el 25% seis escudos y con valores menores (4.10% y 0.39%) 7 y 8 escudos respectivamente (Tabla 11 en APÉNDICE).

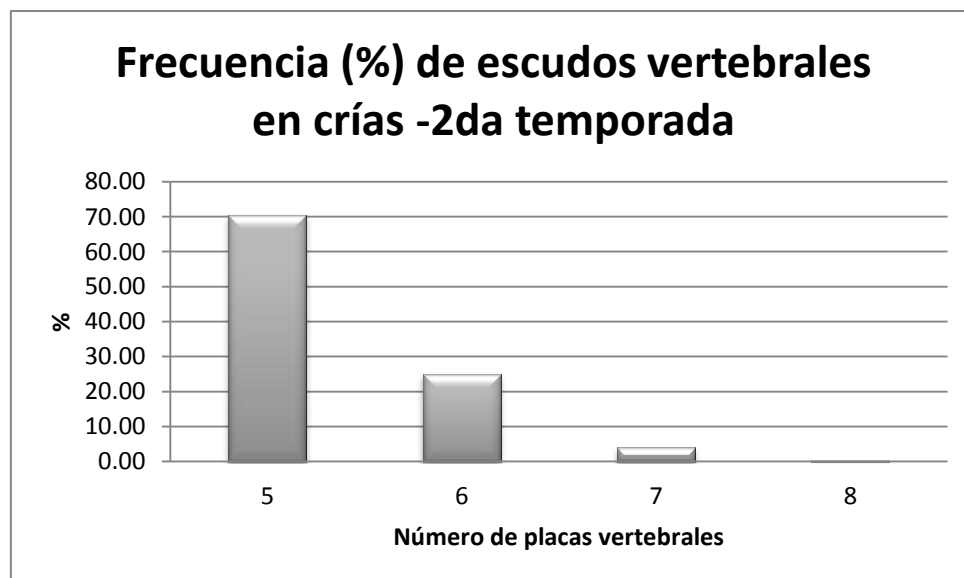


Figura 14. Porcentaje de las placas vertebrales en las crías de la segunda temporada.

-Escudos costales. Se puede observar (Figura 15) que la combinación más frecuente es 6-6 con 52.34%, seguida de la combinación 5-6 con el 11.33% , en tercer y cuarto lugar las combinaciones 5-5 y 6-5 con el 10.35% y el 8.59% respectivamente (Tabla 12 en APÉNDICE).

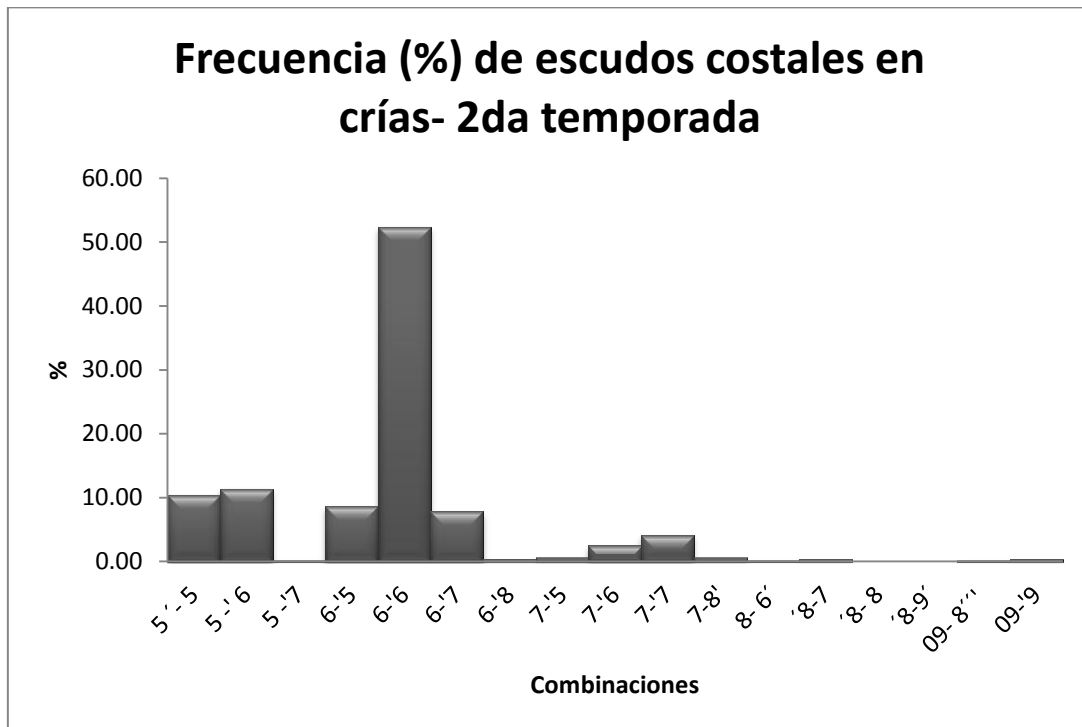


Figura 15. Frecuencia expresada en porcentaje del patrón en los escudos costales en las crías de la segunda temporada.

-Escudos marginales. La combinación más frecuente es 13-13 con el 49.80%, seguida de la combinación 14-14 con el 13.48%, con valores muy similares tenemos las combinaciones 12-12 y 13-14 con el 8.79% y el 8.01% respectivamente, por último se puede observar (Figura 16) que las combinaciones 13-12 y 12-13 presentan valores del 5.86% y el 3.71% respectivamente.(tabla 13 ver APÉNDICE)

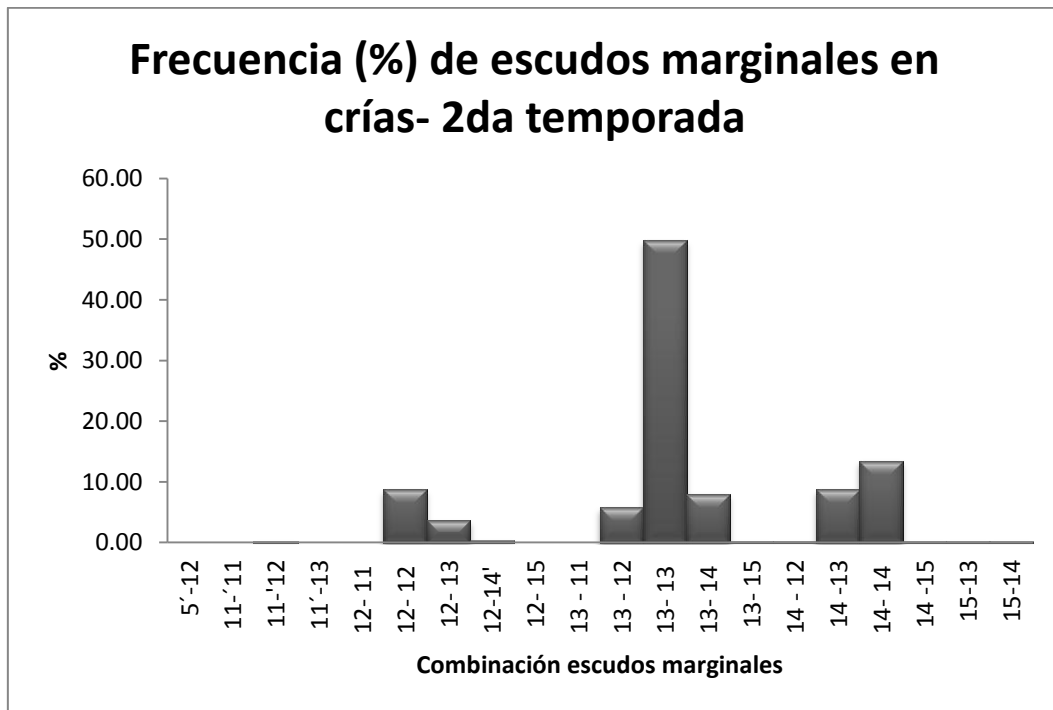


Figura 16. . Porcentaje de la combinación de escudos marginales en las crías de la segunda temporada.

De acuerdo con los análisis realizados a las 108 hembras adultas se determina que no hay diferencias significativas ($\chi^2=0.03702$ $P=3.841$) entre la simetría de hembras anidadoras Figura 18 (Tabla 14 en APÉNDICE), teniendo el supuesto que la simetría fuese un indicador confiable de calidad fenotípica y genotípica (Palacios, 2012) y teniendo la hipótesis en la que se espera una mayor cantidad de hembras adultas simétricas (ya que pasaron un proceso de selección, “los años perdidos” que oscilan de 5 a 20 años (Lutz y Musik 1997) para poder ser adultas y poder reproducirse (de 30-50 años (Lutz y Musick 1997)) y se determina que con el resultado de este estudio, los datos están sesgados únicamente al análisis de hembras adultas faltando el conteo de escudos en los machos adultos.

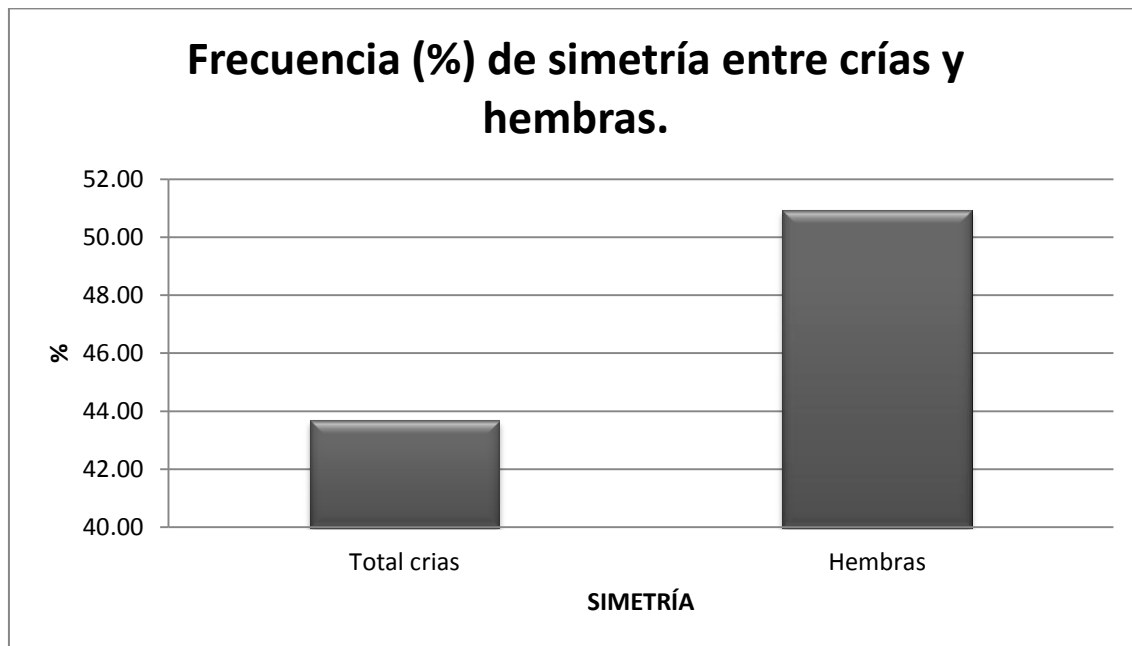


Figura 17. Frecuencia expresada en porcentaje de simetría en hembras y crías.

Lo anterior es debido a que se ha propuesto la posibilidad de dimorfismo sexual en los escudos (Hill, 1971; Turkozan *et al* 2001). Por lo que se recomienda realizar análisis de escudos supernumerarios tanto a hembras y machos. De ser posible en áreas de apareamiento ya que al estar presentes en esa área significaría que ya han pasado un proceso de selección, ya que se tiene registrado que el tiempo promedio para que una tortuga llegue a su etapa reproductiva por primera vez que oscilan entre los 11 y los 16 años (Palacios, 2012) a los 30 y 50 años (Lutz y Musick, 1997)

Entre hembras anidadoras y crías tampoco se observaron diferencias significativas ($\chi^2= 2.0867$, $P =3.841$) en la simetría figura 17, (presencia de escudos supernumerarios). (Tabla 14, ver APÉNDICE)

También se realizaron análisis de presencia-ausencia de escudos supernumerarios entre las 1'051 crías de las dos temporadas (Tabla 14, ver APÉNDICE) obteniendo *diferencias significativas* ($\chi^2=9.9836$, $P=3.841$) entre la simetría observando que las crías conforme pasan las temporadas reproductivas tienden a la simetría en los escudos del caparazón.

La variación en la simetría de los escudos se ha atribuido a diversos factores: diferenciación gonadal (Hill, 1971; Ewert 1979; Turkozan *et al* 2001) la formación de escudos en el proceso embrionario (Kuratani y Masayoshi, 2001) que de acuerdo al estudio embrionario, los escudos tanto del caparazón como del plastrón se forman antes de que se determine el sexo del individuo. La contaminación podrían un efecto marcado sobre la variabilidad del número de escudos.

En base a la simetría en los escudos vertebrales del caparazón se observó en las hembras anidadoras que principalmente se presentan 5 escudos (Figura 18). El mismo patrón se observa en ambas temporadas de las crías (Tabla 15 en APÉNDICE).

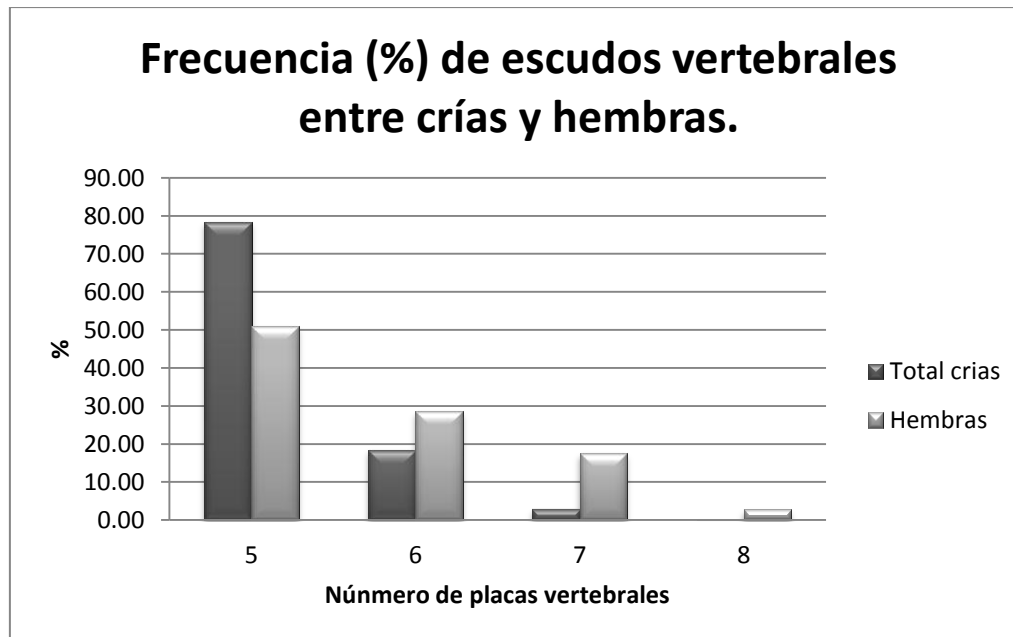


Figura 18. Frecuencia expresada en porcentaje de los escudos vertebrales en hembras anidadoras y en crías.

Con los escudos costales se observa (Figura 19) una combinación 6 – 6 en mayor porcentaje (Tabla 16 en APÉNDICE) tanto en hembras anidadoras como en crías.

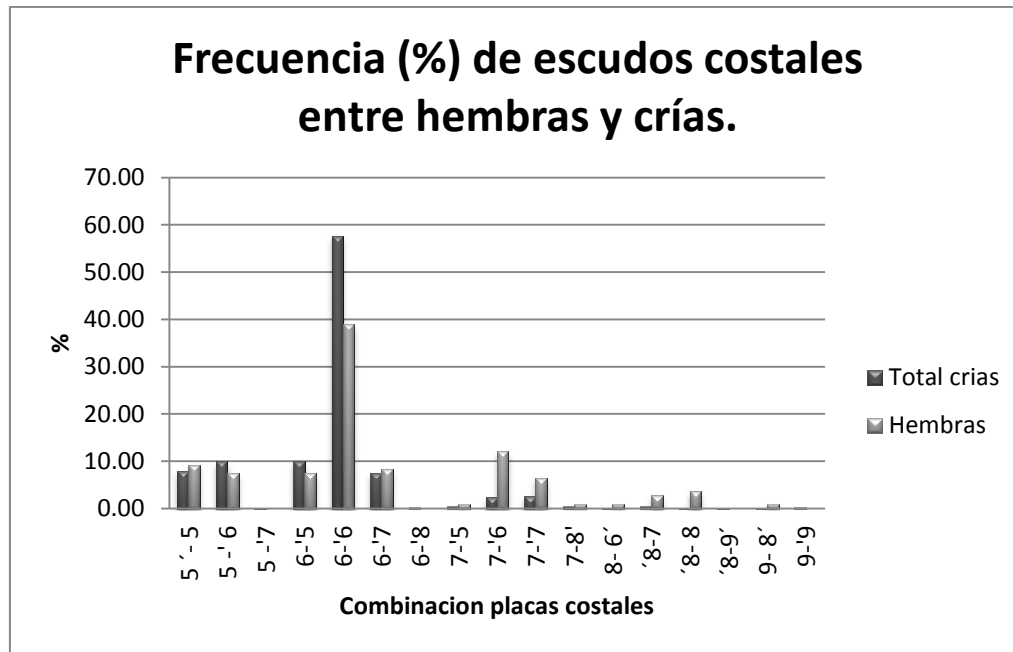


Figura 19. Frecuencia de escudos costales en hembras y crías. Se observa que la combinación 6 – 6 es la más alta en ambos casos.

La mayor frecuencia en los escudos marginales tanto en hembras como en crías es la combinación 13-13 (Figura 20, Tabla 17 en APÉNDICE)

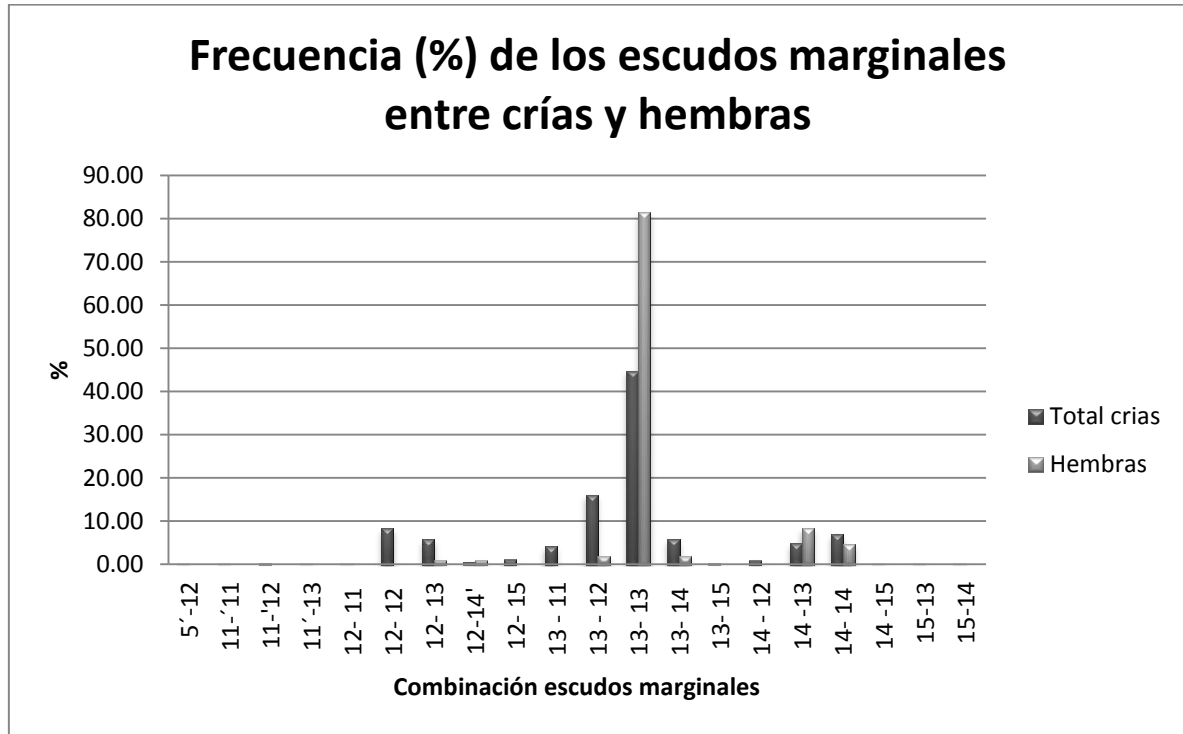


Figura 20. Frecuencia expresada en porcentaje de escudos marginales en hembras y crías Se observa que la combinación 13 – 13 es la más alta

Se ha reportado que el arreglo típico del caparazón es 1 nucal, de 5 a 7 vertebrales o centrales, de 6 a 9 pares de escudos costales y más de once pares de marginales (Pritchard y Mortimer, 2000; Wyneken, 2004). En este estudio fue de 5 escudos ventrales, combinación 6 – 6 en los escudos costales y 13 -13 en los marginales,

teniendo con esto un “arreglo típico” en el patrón de escudos en las tortugas de la localidad de Ixtapilla.

6. CONCLUSIONES

- I. Existen diferencias significativas en la simetría entre las dos temporadas de crías analizadas.
- II. En la segunda temporada de crías es donde se observan a los organismos más simétricos.
- III. Las crías de ambas temporadas y las hembras anidadoras presentan una mayor proporción en los siguientes escudos: 5 escudos ventrales, combinación 6 – 6 en los escudos costales y 13 -13 en los marginales. Estando dentro del patrón reportado de “arreglo típico” en los escudos del caparazón.

7. APÉNDICE.

CRIAS

1) 1ª Temporada: febrero-marzo2008

TABLA 1. Cantidad de tortugas hembras simétricas y asimétricas de la localidad de Ixtapilla, Michoacán.

Simetría	Número de Hembras	Frecuencia (%)
Simétricas	55	50.9
Asimétricas	53	49.1

TABLA 2. Frecuencia de escudos nucales de las 108 hembras analizadas.

Nucal	Frecuencia	%
1	96	88,89
2	10	9,26
3	2	1,85
Total	108	100

TABLA 3. Frecuencia de escudos vertebrales de las hembras anidadoras.

# Escudos vertebrales	Frecuencia	%
4	0	0,00
5	55	50,93
6	31	28,70
7	19	17,59
8	3	2,78
Total	108	100

TABLA 4. Frecuencia de las combinaciones de los escudos costales en las 108 hembras analizadas.

<i>Combinaciones ci-cd</i>	<i>Frecuencia</i>	<i>%</i>
5 - 5	10	9.26
5 - 6	8	7.41
5 - 7	0	0.00
6 - 5	8	7.41
6 - 6	42	38.89
6 - 7	9	8.33
6 - 8	0	0.00
7 - 5	1	0.93
7 - 6	13	12.04
7 - 7	7	6.48
7 - 8	1	0.93
8 - 5	0	0.00
8 - 6	1	0.93
8 - 7	3	2.78
8 - 8	4	3.70
9 - 8	1	0.93
Total	108	100.00

TABLA 5. Frecuencia de la combinación de escudos marginales en las hembras anidadoras.

<i>Combinaciones mi-md</i>	<i>Frecuencia</i>	<i>%</i>
12- 12	0	0.00
12- 13	1	0.93
13 - 12	2	1.85
13- 13	88	81.48

13- 14	2	1.85
14 - 12	0	0.00
14 -13	9	8.33
14- 14	5	4.63
Total	108	100.00

TABLA 6. Frecuencia de la simetría/asimetría en las crías.

Nido	# crías total	crías con escudos	crías simétricas	crías asimétricas	Σ	% Crías Sim	% crías asim	Simétricas + asimétricas
1	81	46	17	29	46	37.0	63.0	100
2	94	63	28	35	63	44.4	55.6	100
3	109	72	19	53	72	26.4	73.6	100
5	89	61	21	40	61	34.4	65.6	100
6	103	70	30	40	70	42.9	57.1	100
7	110	53	12	41	53	22.6	77.4	100
10	121	73	31	42	73	42.5	57.5	100
11	118	101	52	49	101	51.5	48.5	100
Total	825	539	210	329	539			

TABLA 7. Frecuencia en las placas vertebrales en las crías de la primera temporada.

# Placas vertebrales	FRECUENCIA ABSOLUTA								Total	%
	nido 1	nido 2	nido 3	nido 5	nido 6	nido 7	nido 10	nido 11		
5	37	49	70	55	68	40	48	96	463	85,90
6	8	14	2	3	2	11	21	5	66	12,24
7	1	0	0	3	0	2	4	0	10	1,86
Total	46	63	72	61	70	53	73	101	539	100,00

TABLA 8. Frecuencia en los escudos costales en las crías de la primera temporada.

Combinación escudos	FRECUENCIA								TOTAL	%
	Costales	nido 1	nido 2	nido 3	nido 5	nido 6	nido 7	nido 10		
5 - 5	1	4	12	1	1	1	7	2	29	5,38
5 - 6	4	8	13	1	6	4	3	8	47	8,72
5 - 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00
6 - 5	9	2	14	4	7	6	5	13	60	11,13
6 - 6	23	45	30	41	51	29	43	76	338	62,71
6 - 7	5	3	2	9	2	6	10	2	39	7,24
7 - 5	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0,19
7 - 6	3	1	1	2	2	2	1	0	12	2,23
7 - 7	1	0	0	2	1	2	1	0	7	1,30
7 - 8	0	0	0	1	0	1	0	0	2	0,37
8 - 7	0	0	0	0	0	1	1	0	2	0,37
8 - 8	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0,19
8 - 9	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0,19
Total	46	63	72	61	70	53	73	101	539	100

TABLA 9. Frecuencia en los escudos marginales en las crías de la primera temporada.

Combinación escudos marginales	FRECUENCIA								TOTAL	%
	nido 1	nido 2	nido 3	nido 5	nido 6	nido 7	nido 10	nido 11		
5 – 12	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0,19
11 – 11	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0,19
11 – 12	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0,19
11 – 13	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0,19
12 – 11	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0,19
12 – 12	2	12	4	6	9	3	5	1	42	7,79
12 – 13	2	4	9	6	3	6	8	3	41	7,61
12 – 14	0	0	0	0	0	4	0	0	4	0,74
12 – 15	1	0	0	0	0	0	11	0	12	2,23
13 – 11	1	0	0	0	0	1	41	1	44	8,16
13 – 12	9	24	31	23	19	14	4	14	138	25,60
13 – 13	27	21	25	25	31	17	0	69	215	39,89
13 – 14	2	0	0	0	4	2	4	8	20	3,71
13 – 15	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0,19
14 – 12	0	0	2	0	3	3	0	0	8	1,48
14 – 13	1	0	0	1	1	0	0	3	6	1,11
14 – 14	0	0	0	0	0	2	0	1	3	0,56
Total	46	63	72	61	70	53	73	101	539	100

2) 2ª Temporada.**TABLA 10.** Porcentaje de crías simétricas y asimétricas de la segunda temporada de crías analizadas.

Nido	# crías total	# crías con escudos	# crías simétricas	# crías asimétricas	Σ	% crías simétricas	% crías asimétricas	simétricas + asimétricas
9	111	95	39	56	95	41.05	58.95	100
13	78	78	39	39	78	50.00	50.00	100
14	67	67	40	27	67	59.70	40.30	100
15	86	85	46	39	85	54.12	45.88	100
16	81	81	30	51	81	37.04	62.96	100
17	66	65	35	30	65	53.85	46.15	100
18	42	41	20	21	41	48.78	51.22	100
Total	531	512	249	263	512	48.63	51.37	100

TABLA 11. Frecuencia en las placas vertebrales en las crías de la segunda temporada.

# Placas vertebrales	FRECUENCIA							TOTAL	%
	nido 9	nido 13	nido 14	nido 15	nido 16	nido 17	nido 18		
5	65	59	23	68	60	61	25	361	70,51
6	22	17	41	16	16	4	12	128	25,00
7	8	2	3	0	4	0	4	21	4,10
8	0	0	0	1	1	0	0	2	0,39
Total	95	78	67	85	81	65	41	512	100

TABLA 12. Frecuencia en los escudos costales en las crías de la segunda temporada.

Combinación escudos costales	FRECUENCIA							TOTAL	%
	nido 9	nido 13	nido 14	nido 15	nido 16	nido 17	nido 18		
5 - 5	11	13	1	8	3	8	9	53	10,35
5 - 6	11	16	2	8	10	7	4	58	11,33
5 - 7	0	0	1	0	0	0	0	1	0,20
6 - 5	5	13	0	5	10	9	2	44	8,59
6 - 6	50	28	30	58	41	39	22	268	52,34
6 - 7	14	2	11	4	4	2	3	40	7,81
6 - 8	0	0	0	0	2	0	0	2	0,39
7 - 5	0	0	0	0	3	0	0	3	0,59
7 - 6	2	4	3	0	3	0	1	13	2,54
7 - 7	1	2	16	2	0	0	0	21	4,10
7 - 8	0	0	2	0	1	0	0	3	0,59

8 - 6	0	0	0	0	1	0	0	1	0,20
8 - 7	1	0	1	0	0	0	0	2	0,39
8 - 8	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00
8 - 9	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00
9 - 8	0	0	0	0	1	0	0	1	0,20
9 - 9	0	0	0	0	2	0	0	2	0,39
Total	95	78	67	85	81	65	41	512	100

TABLA 13. Frecuencia en los escudos marginales en las crías de la segunda temporada.

Combinación escudos marginales	FRECUENCIA								TOTAL	%
	nido 9	nido 13	nido 14	nido 15	nido 16	nido 17	nido 18			
5 - 12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00
11 - 11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00
11 - 12	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0,20
11 - 13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00
12 - 11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00
12 - 12	45	0	0	0	0	0	0	45	8,79	
12 - 13	15	1	2	0	0	0	1	19	3,71	
12 - 14	1	0	0	0	0	1	0	2	0,39	
12 - 15	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00	
13 - 11	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00	
13 - 12	14	6	5	1	1	0	3	30	5,86	
13 - 13	17	67	57	48	42	9	15	255	49,80	
13 - 14	0	3	1	13	11	10	3	41	8,01	
13 - 15	0	0	0	0	0	1	0	1	0,20	
14 - 12	1	0	0	0	0	0	0	1	0,20	
14 - 13	1	1	1	10	18	9	5	45	8,79	
14 - 14	0	0	1	13	9	35	11	69	13,48	
14 - 15	0	0	0	0	0	0	1	1	0,20	
15 - 13	0	0	0	0	0	0	1	1	0,20	
15 - 14	0	0	0	0	0	0	1	1	0,20	
Total	95	78	67	85	81	65	41	512	100	

Hembras y Crías**TABLA 14.** Frecuencia expresada en porcentaje de la simetría entre hembras y crías.

FRECUENCIA (%) DE SIMETRIA				
	crías 1	crías 2	Total crías	Hembras
simétricas	38.96	48.63	43.67	50.93
asimétricas	61.04	51.37	56.33	49.07

TABLA 15. Frecuencia expresada en porcentaje del patrón de escudos vertebrales entre hembras y crías.

FRECUENCIA (%) ESCUDOS VERTEBRALES				
# Placas vertebrales	crias 1	crias 2	Total crias %	Hembras
5	85.90	70.51	78.40	50.93
6	12.24	2.39	18.46	28.70
7	1.86	0.36	2.95	17.59
8	0.00	0.39	0.19	2.78

TABLA 16. Frecuencia expresada en porcentaje del patrón de escudos costales entre hembras y crías.

# Placas costales ci-cd	crias 1	crias 2	Total crías	Hembras
	%			
5 - 5	5.38	10.35	7.80	9.26
5 - 6	8.72	11.33	9.99	7.41
5 - 7	/	0.20	0.10	/
6 - 5	11.13	8.59	9.90	7.41
6 - 6	62.71	52.34	57.66	38.89
6 - 7	7.24	7.81	7.52	8.33
6 - 8	/	0.39	0.19	/
7 - 5	0.19	0.59	0.38	0.93
7 - 6	2.23	2.54	2.38	12.04
7 - 7	1.30	4.10	2.66	6.48
7 - 8	0.37	0.59	0.48	0.93
8 - 6	/	0.20	0.10	0.93
8 - 7	0.37	0.39	0.38	2.78
8 - 8	0.19	/	0.10	3.70
8 - 9	0.19	/	0.10	/
9 - 8	/	0.20	0.10	0.93
9 - 9	/	0.39	0.19	/

TABLA 17. Frecuencia expresada en porcentaje del patrón de escudos marginales entre hembras y crías.

# Placas marginales mi-md	crias 1	crias 2	Total crías	Hembras
	%			
5'-12	0.19	/	0.10	/
11'-11	0.19	/	0.10	/
11'-12	0.19	0.20	0.19	/
11'-13	0.19	/	0.10	/
12-11	0.19	/	0.10	/
12-12	7.79	8.79	8.28	/
12-13	7.61	3.71	5.71	0.93
12-14'	0.74	0.39	0.57	0.93
12-15	2.23	/	1.14	/
13-11	8.16	/	4.19	/
13-12	25.60	5.86	15.98	1.85
13-13	39.89	49.80	44.72	81.48
13-14	3.71	8.01	5.80	1.85
13-15	0.19	0.20	0.19	/
14-12	1.48	0.20	0.86	/
14-13	1.11	8.79	4.85	8.33
14-14	0.56	13.48	6.85	4.63
14-15	/	0.20	0.10	/
15-13	/	0.20	0.10	/
15-14	/	0.20	0.10	/

9. REFERENCIAS

- Alam, S. K. y M.S. Brim. 2000. Organochlorine, PCB, PAH and metal concentrations in eggs of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) from Northwest Florida, USA. *Journal of environmental Science and Health* 35: 705-724.
- Bárcenas-Ibarra, A. y A. Maldonado-Gasca. 2009. Malformaciones en embriones y neonatos de tortuga golfina (*Lepidochelys olivácea*) en Nuevo Vallarta, Nayarit, México. *Veterinaria México* 40: 371-380.
- Bishop, C.A., G.P. Brown, R.J. Brooks, D.R.S. Lean y J.H. Carey. 1994. Organochlorine contaminant concentrations in eggs and their relationship to body size and clutch characteristics of the female common snapping turtle (*Chelydra serpentina serpentina*) in Lake Ontario, Canada. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 27: 82-87.
- Ewert, M.A. 1979. The embryo and its egg: development and natural history. In: Harless, M. y H. Morlock (Eds). *Turtles: perspectives and research*. New York. 333-413 pp.
- Lutz, P.L., y J.A. Musick. 1997. *The biology of sea turtles*. CRC Press, Inc. U.S.A. 432 pp.
- Masayoshi Tokita and Shigeru Kuratani (2001) Normal Embryonic Stages of the Chinese Softshelled Turtle *Pelodiscus sinensis* (Trionychidae). *Zoological Science*, 18(5):705-715. 2001. Zoological Society of Japan

- Merchán 1992. El Maravilloso mundo de las tortugas marinas. P. 41
- Palacios M. Daisy 2012. Frecuencia de paternidad múltiple y efecto paterno en *Lepidochelys olivacea* de Maruata, Michoacán. Tesis de Maestria. Maestria en Ciencias UMSNH. 69 pp
- Pritchard, P.C.H. y J.A. Mortimer. 2000. Taxonomía, morfología externa e identificación de las especies. En: Eckert, K.L., K.A. Bjorndal, F.A. Abreu-Grobois y M. Donely (Eds). 2000. Técnicas de investigación y manejo para la conservación de las tortugas marinas. Grupo especialista para la conservación en tortugas marinas UICN / CSE. Publicación No. 4 (Español). 265 pp.
- Türkozan, O., C. Ilgaz y S. Sak. 2001. Carapatial scute variation in Loggerhead turtles, *Caretta caretta*. Zoology in the Middle East 24: 137-142.
- Wyneken, J. 2004. La Anatomía de las Tortugas Marinas. U.S. Department of Commerce NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-470, 172 pp. [Versión en español de Wyneken, J. 2001. The Anatomy of Sea Turtles. U.S. Department of Commerce NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC, 172 pp.]

CAPITULO III. ANIDACIÓN EN ARRIBADA vs ANIDACIÓN EN SOLITARIO

1. INTRODUCCIÓN

1.1 ANIDACIÓN EN ARRIBADA Y ANIDACIÓN EN SOLITARIO

En el mundo existen más de 170 países, pero sólo 12 de ellos son considerados megadiversos, albergan entre 60 y 70% de la biodiversidad total del planeta. México es uno de estos países (Mittermeier y Goettsch, 1992). La megadiversidad encontrada en México se refleja en que de las siete especies de tortugas marinas existentes, seis anidan en las costas mexicanas.

Las siete especies de tortugas marinas son representantes de dos familias Cheloniidae y Dermochelyidae, y son los únicos elementos modernos que sobrevivieron a lo que fue una amplia y diversa radiación de tortugas Cryptodiras. (Eckert, *et al.* 2000, Meylan, *et al.* 2000).

Estas siete especies incluyen a:

Tortuga Caguama:	<i>Caretta caretta</i>
Tortuga Verde:	<i>Chelonia mydas</i>
Tortuga carey:	<i>Eretmochelys imbricata</i>
Tortuga lora:	<i>Lepidochelys kempii</i>
Tortuga golfina:	<i>Lepidochelys olivacea</i>

Tortuga aplanada: *Nattator depressus*

Tortuga laúd: *Dermochelys coriacea*

En la costa del estado de Michoacán anida la tortuga verde (*Ch. mydas*), la tortuga laúd (*D. coriacea*) y la tortuga golfina (*L. olivacea*).

La tortuga marina *Lepidocelys olivacea* se caracteriza por presentar llegadas masiva sincrónicas de hembras anidadoras; fenómeno conocido como “arribada” o “la arribazón” en donde se presenta la concentración de una gran cantidad de hembras anidadoras (más de 500) en una escala espacial y temporal corta (ie: Ixtapilla 14 mil hembras anidadoras en 72 horas en una playa de 800m (Palacios 2012). Mata *et al.* (2013) reporta que en el periodo de 2008 al 2010 se observaron de seis a nueve arribadas, teniendo un promedio de 30 525 nidos por arribada (rango de 13, 998–44, 321); este no es un fenómeno permanente ya que puede presentarse y desaparecer en ciclos de por lo menos varias décadas (Lutz y Musick, 1997)

A nivel mundial existen sólo seis países en donde esta especie presenta este fenómeno, México, Nicaragua, Costa Rica, Panamá, la India y Surinam. Actualmente los sitios con los tamaños poblacionales más elevados de hembras anidadoras con “arribada” a nivel mundial están presentes en México; sin embargo, de las cinco colonias que presentaban “arribada” sólo dos muestran incrementos significativos: “Ixtapilla” en Michoacán y “La Escobilla” en Oaxaca; las colonias de Tlalcoyunque, Guerrero; Mismaloya, Jalisco; Chacahua, Oaxaca; se vieron colapsadas debido a la

extracción masiva de hembras anidadoras en la década de 70's. (IUCN, 2008). La nueva colonia de hembras anidadoras de "Ixtapilla" Michoacán, representa el segundo lugar en México y el quinto a nivel mundial de hembras con "arribada" que llegan a anidar a las playas del Litoral Mexicano; esta colonia se estableció en 1997 y los responsables del cuidado, protección de nidos y hembras, es un grupo de habitantes indígenas Nahuas.

La playa de Maruata se encuentra a 27 Km aproximadamente. (seaturtle.org, 2002) de la playa de Ixtapilla y presenta anidación en solitario (en 2.8 km anidan máximo 10 tortugas por noche durante la temporada de anidación entre agosto y noviembre de cada año) El periodo inter-anidatorio es de dos semanas aproximadamente en hembras con anidación en solitario mientras que en hembras con anidación en arribada es de 17 a 45 días en promedio (Palacios 2012)

Se ha reportado (Jensen *et al.*, 2006) que la PM en *L. olivacea* depende de las condiciones ecológicas (Proporción sexual operacional), es decir en poblaciones numerosas con una cantidad absoluta mayor de machos y con anidación en arribada se presenta mayor frecuencia de PM que una población de menor tamaño y con menos machos (anidación en solitario) y esto ha sido observado en diversos estudios (Hoekert *et al.* 2002, Kichler *et al.* 1999, Cortes 2006).

Palacios (2012) realizó un estudio con *L. olivácea* en donde encontró diferencias significativas en la forma del caparazón con respecto a la simetría o asimetrías de los escudos en las crías, sugiriendo que la forma del caparazón podría variar de acuerdo

con el número y disposición de los escudos; y en el análisis de morfometría geométrica en el caparazón, mostró que esta guarda relación con un genotipo paterno en particular dentro de cada nido.

En el caso particular de las tortugas (sean dulceacuícolas, marinas o terrestres), la forma del caparazón puede influir en la supervivencia y adecuación de los individuos (Lara, 2010).

El caparazón de las tortugas es de vital importancia para el desempeño locomotor y la sobrevivencia, se ha sugerido que la forma del caparazón puede influir en la supervivencia y adecuación de los individuos y aunque en todas las especies de la familia Chelonidae se sugiere que existe un número y arreglo de los escudos del caparazón con altas variaciones individuales. Dentro de las especies de tortugas marinas la especie que presenta mayor variación en el arreglo de los escudos es *Lepidochelys olivacea* (Palacios 2012).

2. OBJETIVOS

- I. Determinar las diferencias en paternidad múltiple y en el patrón de escudos del caparazón entre una colonia con anidación en arribada y una con anidación en solitario.

3. HIPÓTESIS

- II. Si la densidad poblacional tiene influencia en la variación de la frecuencia de paternidad múltiple, entonces la frecuencia de PM en Ixtapilla (anidación en arribada) será más alta que en Maruata (anidación en solitario).

4. AREA DE ESTUDIO

La playa de Ixtapilla tiene una longitud de mil metros de longitud y está ubicada en el Km 180 de la carretera Manzanillo-Lázaro Cárdenas en el estado de Michoacán, México. Se encuentra a $18^{\circ}24'52.76''$ de Latitud Norte y $103^{\circ}32'8.39''$ de Longitud Oeste y al igual que la playa de Maruata pertenecen al municipio de Aquila; ambas playas están separadas a 27 Km aprox. (seaturtle.org, 2002) lo que ubica a la playa de Maruata a los $18^{\circ}16'0''$ de Latitud Norte y $103^{\circ}20'0''$ de Longitud Oeste. Figura 1.

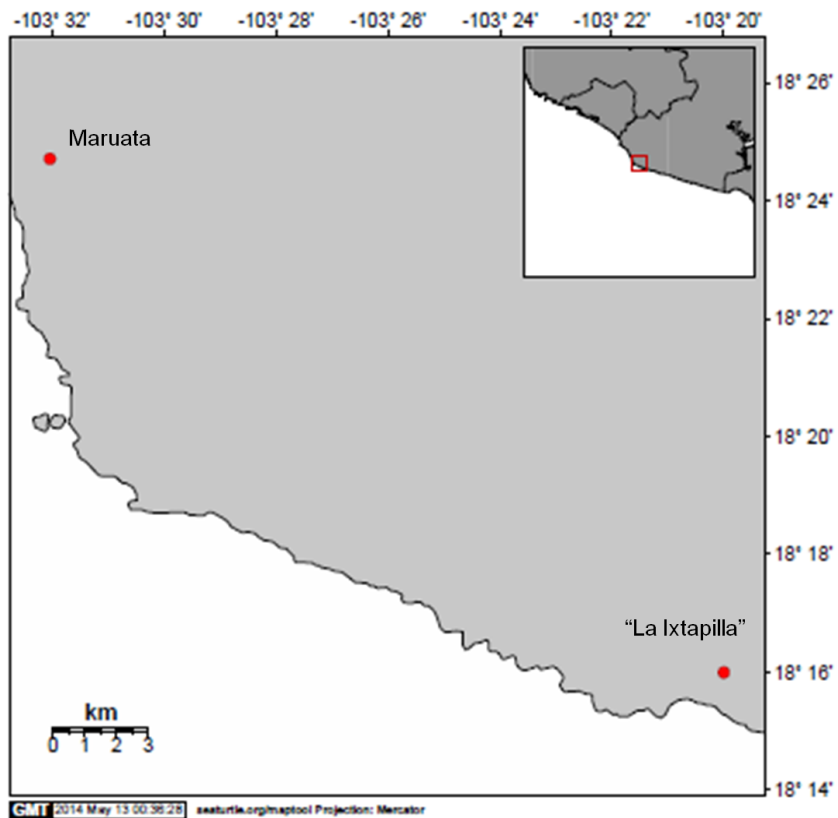


Figura1. Mapa de los sitios de estudio (Realizado con seaturtle.org, 2002)

5. MATERIAL Y MÉTODOS.

5.1 MÉTODO DE MUESTREO EN CAMPO Y TRATAMIENTO DE MUESTRAS

Se realizaron recorridos nocturnos a lo largo de la playa y se realizó el conteo de escudos de 108 hembras que se encontraron en la playa de Ixtapilla en proceso de anidación durante el periodo de septiembre a noviembre de 2009. En el mismo periodo se realizó el conteo de 17 hembras anidadoras en la playa de Maruata (segunda temporada) y 8 hembras son pertenecientes a la primera temporada (septiembre a diciembre del 2008), teniendo un total de 25 hembras para esta localidad.

El conteo de escudos en crías en la playa de Ixtapilla se realizó en dos temporadas:

A) Primera temporada. Abarcando de Febrero a Marzo del 2008. Se realizó el análisis de simetría en los escudos a 825 crías de ocho nidos de la tortuga *Lepidochelys olivacea*.

b) Segunda temporada. Que abarcó el mes de octubre del 2008. Se realizó el análisis de simetría en los escudos a 512 crías de los ocho nidos de la tortuga *Lepidochelys olivacea*.

El conteo de escudos en crías en la playa de Maruata se realizó entre los meses Septiembre-Noviembre del 2008, con 958 crías correspondientes a 15 nidos de la tortuga *Lepidochelys olivacea*.

6. RESULTADOS Y DISCUSIONES

Los resultados de la frecuencia de paternidad múltiple de ambas poblaciones, fue del 100% (Tabla 1), por lo tanto no se cumplió el supuesto que menciona que en poblaciones en donde se observa la anidación en solitario la PM será menor que en una población con anidación en arribada.

TABLA 1. Frecuencia de PM en ambas localidades, Número máximo de progenitores por localidad y cantidad de microsatélites utilizados para cada estudio.

	IXTAPILLA	MARUATA
PM (N)	100 % (5)	100 % (8)
No máx de progenitores	5	4
Microsatélites	3	4

Así mismo, se determinó que el número máximo de progenitores en los nidos de las playas de Maruata es de cuatro machos, mientras que en los nidos de la playa Ixtapilla es de cinco (Tabla 1). También se observó que en Maruata la mayor parte de los nidos estuvieron fertilizados por tres machos, mientras que en Ixtapilla fueron fertilizados por cinco machos (Tabla 2)

Esto puede ser influenciado por la proporción sexual operacional; poblaciones numerosas como en poblaciones de tortugas en donde se presenta “la arribada” ya que las zonas de apareamiento son adyacentes a las playas de anidación (Lutz y Musick, 1997). Con una cantidad absoluta mayor de machos como en Ixtapilla y por

consecuencia mayor cantidad de padres (5 machos en Ixtapilla con el 40% y 4 machos en Maruata con el 12.5% mientras que con mayor porcentaje en esta localidad encontramos la fertilización por tres machos) obteniendo así mayor diversidad genética de la progenie y por extensión de la población; se ha planteado que la diversidad genética guarda una relación positiva con la adecuación promedio de las poblaciones (Soulé, 1980).

TABLA 2. Porcentaje y número de progenitores observados en los nidos de las distintas localidades.

	IXTAPILLA	MARUATA
No nidos	5	8
con 2 progenitores	1 (20%)	1 (12.5 %)
con 3 progenitores	1 (20%)	6 (75%)
con 4 progenitores	1 (20%)	1 (12.5 %)
con 5 progenitores	2 (40 %)	/

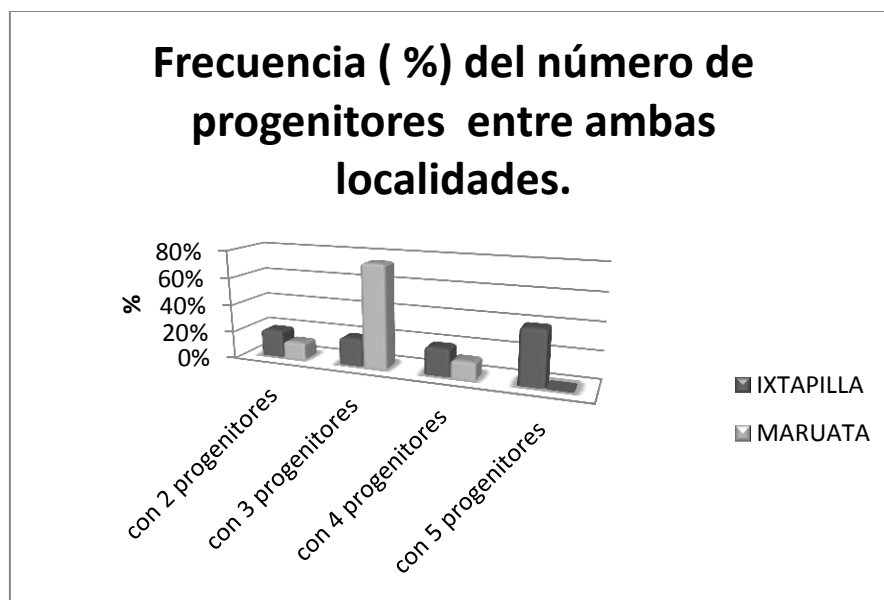


Figura 2. Frecuencia expresada en porcentaje de los progenitores involucrados en la fertilización de los nidos en amas temporadas.

En base a la simetría de los escudos del caparazón se observó entre las hembras anidadoras que ambas poblaciones presentaron mayoritariamente 5, 6 y 7 escudos ventrales, aunque principalmente en Ixtapilla se observa 5 escudos y en Maruata 7 escudos (Tabla 3). Con los escudos costales se observa en Maruata una combinación 6 – 5 y en Ixtapilla es la combinación 6 – 6 .Los escudos marginales tanto en Ixtapilla como en Maruata es la combinación 13 – 13.

TABLA 3. Porcentaje y combinación de escudos observados en las hembras anidadoras de las distintas localidades.

	IXTAPILLA	MARUATA
No.	105	25
Ventrales	5 (51%)	7 (40%)
Costales	6 - 6 (39%)	6 - 5 (36%)
Marginales	13 - 13 (81%)	13 - 13 (32%)

En las crías se observa una similitud en los escudos ventrales (5 escudos), entre ambas localidades. Con los escudos costales en ambas localidades la mayor proporción es para la combinación 6 – 6 (Tabla 4). La única combinación distinta es la de los escudos marginales, 13 – 13 para Ixtapilla y de 12- 12 para Maruata. Cabe mencionar que el arreglo típico del caparazón es 1 nuczal, de 5 a 7 vertebrales o centrales, de 6 a 9 pares de escudos costales y más de once pares de marginales (Pritchard y Mortimer, 2000; Wyneken, 2004)

TABLA 4. Porcentaje y combinación de escudos observados en las crías de las distintas localidades.

	IXTAPILLA	MARUATA
No.	1'051	958
Ventrales	5 (78%)	5 (50%)
Costales	6-6 (58%)	6-6 (34%)
Marginales	13-13 (45%)	12 - 12 (57%)

Se sugiere que la simetría es un indicador confiable de la calidad fenotípica y tal vez genotípica y puede servir como indicador de la estabilidad en el desarrollo a pesar de perturbaciones ambientales (Lara, 2010) Palacios (2012) realizó un estudio con *L. olivacea* en donde encontró diferencias significativas en la forma del caparazón con respecto a la simetría o asimetrías de los escudos en las crías, sugiriendo que la forma del caparazón podría variar de acuerdo con el número y disposición de los escudos; así también en el análisis de morfometría geométrica en el caparazón, mostró que esta guarda relación con un genotipo paterno en particular dentro de cada nido.

Se observa (ver tabla 5) que las crías y hembras de la playa Ixtapilla junto con las crías de Maruata presentan el mismo patrón de escudos vertebrales (cinco) las hembras de Maruata presentan 7 escudos. En los escudos costales presentan la misma combinación (6 – 6) las hembras y crías de Ixtapilla junto con las crías de Maruata, las únicas distintas son las hembras de Maruata con la combinación 6-5. Para los escudos marginales la combinación 13 – 13 es para las hembras de ambas

localidades junto con las crías de Ixtapilla, las crías de Maruata presentan diferencias con un patrón de escudos 12-12.

TABLA 5. Porcentaje y combinación de escudos observados en las hembras y crías de las distintas localidades.

IXTAPILLA		MARUATA	
HEMBRAS	CRÍAS	HEMBRAS	CRÍAS
105	1'051	25	958
5 (51%)	5 (78%)	7 (40%)	5 (50%)
6-6 (39%)	6-6 (58%)	6 - 5 (36%)	6-6 (34%)
13-13 (81%)	13-13 (45%)	13 13 (32%)	12-12 (57%)

7. CONCLUSIONES

- I. La frecuencia de PM en ambas localidades fue del 100 %. Sin embargo se observa que la mayor parte de los nidos en Ixtapilla fueron fertilizados por cinco machos mientras que en Maruata se observa en mayor proporción de tres padres; la presencia de paternidad múltiple en ambas localidades implica mayor diversidad genética y por lo tanto los hacen sitios de conservación importantes para la continuidad de esta especie.

- II. El patrón de escudos en ambas localidades fue muy similar, en Ixtapilla el patrón tanto en hembras y en crías fue de: 5 vertebrales, 6-6 costales, y 13-13 marginales; en las hembras y crías de Maruata se presentan diferencias en este patrón en los escudos, las hembras de Maruata presentaron. 7, 6-5, 13-13 mientras que las crías 5, 6-6 y 12-12 en los escudos ventrales, costales y marginales respectivamente. Teniendo un “arreglo típico” en el patrón de escudos en el caparazón.

8. CONCLUSIONES GENERALES

- I. La frecuencia de paternidad múltiple de *Lepidochelys olivacea* en Ixtapilla, Michoacán fue del 100 %. No existe algún mecanismo que posibilite la manera de separar y seleccionar el semen a la hembra de los distintos machos con los que se aparea apoyando con esto la hipótesis (Lara, 2010) que menciona que el semen utilizado para la fertilización es una mezcla de fluido seminal dentro del tracto genital de la hembra.
- II. Existen diferencias significativas en la simetría entre las dos temporadas de crías analizadas en Ixtapilla. Es en la segunda temporada donde se encuentran los organismos más simétricos.
- III. La frecuencia de PM en ambas localidades (anidación en solitario y en arribada) fue del 100 %.
- IV. La mayor parte de los nidos en Ixtapilla fueron fertilizados por cinco machos (40%), mientras que en Maruata se observa en mayor proporción tres padres (75%). Las hembras y crías en Ixtapilla presentan un patrón de escudos igual: 5 ventrales, 6-6 costales, 13-13 marginales mientras que las hembras de Maruata presentan 7 ventrales, 6-5 costales, y 13-13 marginales mientras que las crías 5 ventrales, 6-6 costales y 12-12 marginales.

9. REFERENCIAS

- Cortes R., X. 2006. Analisis de paternidad multiple de *Lepidochelys olivacea* en la costa de Oaxaca. Tesis de licenciatura. Facultad de Biología. UMSNH. 43 pp.
- Eckert, K. L., K. A. Bjorndal, F. A. Abreu-Grobois y M. Donnelly (editores). 2000 (Traducción al español) Técnicas de investigación y manejo para la conservación de las tortugas marinas. Grupo de Especialistas en Tortugas Marinas UICN/CSE. Publicación No. 4.
- Hoekert, W.E.J., H. Neufeglise, A.D. Schouten y S.B.J. Menken. 2002. Multiple paternity and female biased mutation at a microsatellite locus in the olive ridley sea turtle (*Lepidochelys olivacea*). *Heredity* 89: 107-113.
- IUCN *Red List of Threatened Species*. *Lepidchelys olivacea*. Abreu-Grobois . 2008
- Jensen M.P, Abreu-Grobois F. A., Frydenberg J. & Loeschcke. 2006. Microsatellites provide insight into contrasting mating patterns in arribada vs. non-arribada olive ridley sea turtle rookeries. *Molecular Ecology*, 15, 2567-2575.
- Lara-De La Cruz, L.I. 2010. Paternidad multiple y adecuacion de *Chelonia mydas*. Tesis de maestria. Maestria en Ecología. UNAM. Mexico.

- Lutz, P.L., y J.A. Musick. 1997. The biology of sea turtles. CRC Press, Inc. U.S.A. 432 pp.
- Kichler K L; Holder M T; Davis S K; Marquez R y Owens D W (1999) Detection of multiple paternity in the Kemp's ridley sea turtle with limited sampling. *Molecular Ecology* 8:819-830.
- Mata Reyes. G., Sandoval P. R. E., Albavera P. E., Chassi N. O. 2012. Origin of the Arribada population of Ixtapilla, Michoacán Mexico. CONANP-UMSNH.
- Mittermeier, R. y C. Goettsch. 1992. La importancia de la diversidad biológica de México. En: Sarukhán, J. y R. Dirzo (comps.). *México ante los retos de la biodiversidad*. Conabio. México.
- Palacios M. Daisy 2012. Frecuencia de paternidad múltiple y efecto paterno en *Lepidochelys olivacea* de Maruata, Michoacán. Tesis de Maestría. Maestría en Ciencias UMSNH. 69 pp
- Pritchard, P.C.H. y J.A. Mortimer. 2000. Taxonomía, morfología externa e identificación de las especies. En: Eckert, K.L., K.A. Bjorndal, F.A. Abreu-Grobois y M. Donely (Eds). 2000. Técnicas de investigación y manejo para la conservación de las tortugas marinas. Grupo especialista para la conservación en tortugas marinas UICN / CSE. Publicación No. 4 (Español). 265 pp.
- SEATURTLE.ORG Maptool. 2002. SEATURTLE.ORG, Inc. (<http://www.seaturtle.org/maptool>)

- Soulé M E (1980) Thresholds for survival: Mantaining fitness and evolutionary potential. En: Conservation Biology. An Evolutionary-Ecological Perspective. Soulé M E y Wilcox B A. Editores. Sinauer Associates. Sunderland, Massachusetts. pp 151-169.
- Wyneken, J. 2004. La Anatomía de las Tortugas Marinas. U.S. Department of Commerce NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-470, 172 pp. [Versión en español de Wyneken, J. 2001. The Anatomy of Sea Turtles. U.S. Department of Commerce NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC, 172 pp.]

10. ANEXO

10.1 ÍNDICE DE TABLAS.

CAPITULO I

Tabla 1. Microsatélites probados para la población de hembras.	44
Tabla 2: Alelos encontrados de 3 <i>loci</i> de microsatélite y valores de heterocigosis observada (H_o) y esperada (H_e)	46
Tabla 3: Probabilidad de exclusión de cada locus (d) y de los 3 loci (D)	46
Tabla 4: Cantidad y porcentaje del número total de crías, porcentaje analizado del nido y porcentaje de crías del macho dominante.	48
Tabla 5. Orden de fertilización del nido uno (orden de izquierda a derecha).	49
Tabla 6. Orden de fertilización del nido dos (orden de izquierda a derecha).	49
Tabla 7. Orden de fertilización del nido dos (orden de izquierda a derecha).	50
Tabla 8. Orden de fertilización del nido cinco (orden de izquierda a derecha).	51
Tabla 9. Orden de fertilización del nido seis (orden de izquierda a derecha).	52
Tabla 10. Número de cría perteneciente a cada macho y orden de fertilización del nido uno (orden de izquierda a derecha).	54

Tabla 11: Número de cría perteneciente a cada macho y orden de fertilización del nido dos.(orden de machos de izquierda a derecha). 54

Tabla 12: Número de cría perteneciente a cada macho y orden de fertilización del nido tres.(orden de los machos de izquierda a derecha). 55

Tabla 13: Número de cría perteneciente a cada macho y orden de fertilización del nido cinco (orden de los machos de izquierda a derecha) 55

Tabla 14: Número de cría perteneciente a cada macho y orden de fertilización del nido seis. 56

CAPITULO II

TABLA 1.Cantidad de tortugas hembras simétricas y asimétricas de la localidad de Ixtapilla, Michoacán 69

TABLA 2. Frecuencia de escudos nucales de las 108 hembras analizadas. 70

TABLA 3. Frecuencia de escudos vertebrales de las hembras anidadoras. 70

TABLA 4. Frecuencia de las combinaciones de los escudos nucales en las 108 hembras analizadas. 71

TABLA 5. Frecuencia de la combinación de escudos marginales en las hembras anidadoras.	71
TABLA 6. Porcentaje de crías simétricas y asimétricas por nido .	72
TABLA 7. Frecuencia de escudos vertebrales de las 539 crías analizadas.	73
TABLA 8. Frecuencia de la combinación de escudos costales en las crías analizadas74
TABLA 9. Frecuencia de la combinación de escudos costales en las crías analizadas.	75
TABLA 10. Porcentaje de crías simétricas y asimétricas de la segunda temporada de crías analizadas.75
TABLA 11. Frecuencia de las placas vertebrales en las crías analizadas.	76
TABLA 12. Frecuencia de la combinación de escudos costales en las crías analizadas.77
TABLA 13. Frecuencia de la combinación de escudos marginales en las crías analizadas..78
TABLA 14 Frecuencia de simetría en hembras y crías.79

TABLA 15 Frecuencia de los escudos vertebrales en hembras anidadoras y en crías de dos temporadas..80

TABLA 16. Frecuencia de escudos costales en hembras y crías de ambas temporadas. Se observa que la combinación 6 – 6 es la más alta en los tres casos.81

TABLA 17. Frecuencia de escudos marginales en hembras y crías de ambas temporadas. Se observa que la combinación 13 – 13 es la más alta en los tres casos.82

CAPITULO III

TABLA 1. Frecuencia de PM en ambas localidades, Número máximo de progenitores por localidad y cantidad de microsatelites utilizados para cada estudio.93

TABLA 2. Porcentaje y número de progenitores observados en los nidos de las distintas localidades.94

TABLA 3. Porcentaje y combinación de escudos observados en las hembras anidadoras de las distintas localidades-94

TABLA 4. Porcentaje y combinación de escudos observados en las crías de las distintas localidades.95

TABLA 5. Porcentaje y combinación de escudos observados en las hembras y crías de las distintas localidades 96

10.2 ÍNDICE DE FIGURAS

CAPITULO I

Figura 1. Ciclo de vida generalizado de las tortugas marinas, en las distintas especies varían la duración de las fases. *Dermochelys coriácea* y al menos algunas poblaciones de *Lepidochelys olivacea* permanecen en zonas pelágicas durante toda su vida. (Lutz y Musick, 1997). 21

Figura 2. Morfología del caparazón de la especie *Lepidochelys olivacea*. (Eckert *et al.* 2000). 23

Figura 3. Rangos geográficos utilizados por *Lepidochelys olivacea*. (IUCN, 2008) 24

Figura 4. Diagrama del sistema genitourinario de tortuga marina (Wyneken, 2004). 26

Figura 5. Testes de una tortuga verde inmadura. Los testes están conectados a la pared peritoneal por sus superficies dorsales planas. Lateral y ligeramente dorsal a cada teste hay un epidídimo, el cuál conduce a un conducto deferente (vas

deferens). La superficie del teste es lisa en tortugas inmaduras (Wyneken, 2004).

27

Figura 5.a) Ovarios de una tortuga verde inmadura. Los ovarios están adheridos a la pared peritoneal por sus bordes laterales. La superficie del ovario es granulada. Lateral al ovario se encuentra el oviducto inmaduro, suspenso por el mesotubarium (Wyneken, 2004).

27

Figura 6. Oviducto maduro de una tortuga marina (Wyneken, 2004). 28

Figura 7. Huevos, folículos y *corpora albicans* en una tortuga caguama en estado reproductivo. Este oviducto contiene huevos con cáscara. Encima del oviducto hay folículos de varios tamaños en proceso de maduración, y las cicatrices (*corpora albicans*) que quedan en los sitios de folículos ovulados.

29

Figura 8. Ubicación de la playa de Ixtapilla, Michoacán (Realizado con seaturtle.org, 2002). 30

Figura 9: Frecuencias alélicas para los 3 microsátélites de *Lepidochelys olivacea*. El número de individuos muestreados por *locus* fue: para OR1 - 32 hembras, para Or2 - 37 hembras y para Cm84 - 33 hembras.

45

Figura 10: Nidos analizados de *Lepidochelys olivacea*, en donde se observa el porcentaje de la progenie correspondiente a cada macho.

47

Figura 11. Frecuencia expresada en porcentaje de crías perteneciente a cada macho del nido uno.

48

Figura 12. Frecuencia expresada en porcentaje de crías perteneciente a cada macho del nido dos. 49

Figura 13. Frecuencia expresada en porcentaje de crías perteneciente a cada macho del nido tres 50

Figura 14. Frecuencia expresada en porcentaje, de crías perteneciente a cada macho del nido cinco. 51

Figura 15: frecuencia expresada en porcentaje de crías perteneciente a cada macho del nido seis. 52

CAPITULO II

Figura 1. Escudos del caparazón (Modificado de Wyneken, 2004). 64

Figura 2 Escudos del plastrón y del puente. (Wyneken, 2004) 65

Figura 3. Comparación del desarrollo normal del caparazón de las cinco distintas familias representadas por cinco distintas especies. Están alineadas cerca de la ovoposición (0%) a la eclosión (100%). Las abreviaturas son: CR – caparazón, Sc- escamas corneas, Pc- pigmentación, P-plastrón. (Modificado de Masayoshi y Kuratan, 2001) 66

Figura 4. Fotografías de las etapas embrionarias de *Pelodiscus sinensis*. Vista lateral derecha. Escala 1mm. Etapa 12 A-B. Etapa 13 C-D. Etapa 14 E-F. Etapa 15 I-J. Etapa 16 K-L. (Masayoshi y Kuratani, 2001) 67

- Figura 5.** .Frecuencia expresada en porcentaje del patrón en el escudo nucal en hembras. 74
- Figura 6.** .Frecuencia expresada en porcentaje del patrón en los escudos vertebrales en hembras 75
- Figura 7.** Frecuencia expresada en porcentaje del patrón en los escudos marginales en hembras. 76
- Figura 8.** Frecuencia expresada en porcentaje del patrón en los escudos costales en hembras 77
- Figura 9.**Frecuencia expresada en porcentaje de la simetría en las crías de la primera temporada 78
- Figura 10.** Frecuencia expresada en porcentaje del patrón de escudos vertebrales de las 539 crías analizadas de la primera temporada 78
- Figura 11.** Frecuencia expresada en porcentaje de la combinación de escudos costales en las crías de la primera temporada. 80
- Figura 12.** Frecuencia expresada en porcentaje de la combinación de escudos marginales en las crías de la primera temporada. 81
- Figura 13.** Frecuencia expresada en porcentaje de crías simétricas y asimétricas de la segunda temporada de crías analizadas. 82

- Figura 14.** Porcentaje de las placas vertebrales en las crías de la segunda temporada. 83
- Figura 15.** Frecuencia expresada en porcentaje del patrón en los escudos costales en las crías de la segunda temporada. 84
- Figura 16.** Porcentaje de la combinación de escudos marginales en las crías de la segunda temporada. 85
- Figura 17.** Frecuencia expresada en porcentaje de simetría en hembras y crías . 86
- Figura 18.** Frecuencia expresada en porcentaje de los escudos vertebrales en hembras anidadoras y en crías. 88
- Figura 19.** Frecuencia de escudos costales en hembras y crías. Se observa que la combinación 6 – 6 es la más alta en ambos casos. 89
- Figura 20.** Frecuencia expresada en porcentaje de escudos marginales en hembras y crías Se observa que la combinación 13 – 13 es la más alta. 90
- CAPITULO III**
- Figura1.** Mapa de los sitios de estudio (Realizado con seaturtle.org, 2002) 109
- Figura 2.** Frecuencia expresada en porcentaje de los progenitores involucrados en la fertilización de los nidos en ambas temporadas 112