

Instituto de Agroindustrias, UTM

Proyectos ODS

Proyecto. Efecto del factor temporal en el huevo de tortuga marina *Lepidochelys olivacea*, colectado en la playa de Morro Ayuta Oaxaca

Nombre del Responsable. Dra. Edith Graciela González Mondragón

Año 2024



INFORME DE LAS ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL PROYECTO

Efecto del factor temporal en el huevo de tortuga marina *Lepidochelys olivacea*, colectado en la playa de Morro Ayuta, Oaxaca

Responsable Técnico: Dra. Edith Graciela González Mondragón¹. **Colaboradores:** Biol. Mar. Julio César López Enríquez (Tesista de Maestría)¹, M. en C. Martha Regina Harfush Meléndez², Ángel Guillermo Gonzáles Padilla², Dr. Iván René Corrales Mendoza¹, Dr. Raúl Salas Coronado¹, Dra. Mirna Patricia Santiago Gómez¹, Dra. Norma Francenia Santos Sánchez¹.

1. Universidad Tecnológica de la Mixteca. Carretera Huajuapán-Acatlilma S/N, C.P. 69000, Huajuapán de León, Oaxaca, México.

2. Centro Mexicano de la Tortuga. Av. Principal S/N, Centro, C.P. 70947, Mazunte, Oaxaca, México.

INTRODUCCIÓN

Las poblaciones de las tortugas marinas tienen un papel esencial en la red trófica como vectores de energía y minerales, los cuales son almacenados y liberados de manera controlada en las playas donde arriban para desovar durante su ciclo migratorio y reproductivo. También son importantes para el control biológico de algunas especies como las medusas las cuales consumen grandes cantidades de plancton, un producto base para la vida marina y cuya disminución puede impactar negativamente en la pesca como actividad económica. Derivado de la importancia que tienen las tortugas marinas y que están catalogadas a nivel mundial como especies en riesgo (en peligro de extinción, en peligro crítico de extinción o en estado vulnerable), se desarrolla investigación científica en diferentes áreas del conocimiento con el propósito de suscitar un impacto positivo en la preservación y conservación de estas.

Por otro lado, *Lepidochelys olivacea* es la tortuga marina más abundante a nivel mundial y en la actualidad es la única, de las 7 especies existentes, que está catalogada como “en estado vulnerable” por la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza), debido a su comportamiento reproductivo conocido como arribadas o anidaciones masivas, esto es, para desovar las tortugas de esta especie salen en masa a una zona determinada de la costa llegando a reunir 100,000 organismos aproximadamente. En la playa de Morro Ayuta, Oaxaca, México, este fenómeno es anualmente durante los meses de agosto a enero, con un pico máximo en noviembre. Los huevos se incuban en la arena por aproximadamente 45 días, después, las crías emergen y emigran inmediatamente al mar. El decremento en el éxito de eclosión se ha atribuido, hasta el momento, a factores ambientales, morfológicos o de manejo.

Inicialmente el objetivo del proyecto era “Establecer el efecto del factor temporal en el huevo de tortuga *Lepidochelys olivacea* colectado en la playa de Morro Ayuta, Oaxaca”, lo que a la fecha no se ha investigado, con este estudio cronológico se planteaba la posibilidad de exponer la existencia de alguna(s) temporalidad(es) con las mejores condiciones en el huevo para el desarrollo de los embriones, asociado tal vez a que de las hembras de la tortuga golfinia anidan múltiples veces en una

misma temporada; y de esta manera poder contribuir a la preservación y conservación de la tortuga golfina a través de acciones ya establecidas para ello. El lugar de colecta elegido fue la playa de Morro Ayuta, Oaxaca, debido a que en esta ocurre el fenómeno de las arribadas masivas y no existen investigaciones de este tipo a la fecha. Además, se pretendía generar evidencia de la posible correlación entre el comportamiento de las hembras de la tortuga golfina, las cuales anidan múltiples veces en una misma temporada, con algunas propiedades físicas o composición química del huevo conforme avanza el periodo de arribazón.

Sin embargo, como se hace constar en el Oficio N° SPARN/DCVS/**13886**/23, emitido el 15 de diciembre de 2023 por la Subsecretaría de Política ambiental y Recursos Naturales de la Dirección General de Vida Silvestre, **se autorizó la licencia** de colecta científica o con propósitos de enseñanza en materia de vida silvestre por proyecto, sobre especies o poblaciones en riesgo o sobre hábitat crítico, por el período del 15 de diciembre de 2023 hasta el 29 de febrero de 2024. Es importante informar que en el período autorizado únicamente se tuvo **una arribada** de tortugas *Lepidochelys olivacea*, en la playa de Morro Ayuta, Oaxaca, México, y fue la **8a del periodo junio 2023- enero 2024**.

Debido a esta situación, las actividades reportadas en el presente documento **corresponden a una única colecta** de huevo de tortuga golfina que se realizó el 2 de enero de 2024. Con base a lo anterior, no fue posible cumplir con el objetivo general que se planteó originalmente “Establecer el efecto del factor temporal en el huevo de tortuga *Lepidochelys olivacea* colectado en la playa de Morro Ayuta, Oaxaca”.

Sin embargo, se pudo “Establecer la variabilidad de las propiedades fisicoquímicas en huevo de tortuga *Lepidochelys olivacea* colectado de diferentes nidos, en la 8ª arribada en la playa de Morro Ayuta, Oaxaca”. Los objetivos específicos derivados de dicho objetivo general son:

1. Analizar comparativamente los parámetros de peso, humedad, proteína soluble total, grasa total, cenizas totales, en los huevos de tortuga golfina colectados de tres nidos durante la 8ª arribada de la temporada 2023 en la playa de Morro Ayuta, Oaxaca.
2. Analizar comparativamente, mediante espectroscopia de infrarrojo, la composición del cascarón de huevo de tortuga golfina colectados de tres nidos durante la 8ª arribada de la temporada 2023 en la playa de Morro Ayuta, Oaxaca.
3. Analizar comparativamente, mediante microscopia de barrido con electrones, estructuras del cascarón de huevo de tortuga golfina colectados de tres nidos durante la 8ª arribada de la temporada 2023 en la playa de Morro Ayuta, Oaxaca.

Metodología de las actividades realizadas

1. Colecta de huevos de tortuga *Lepidochelys olivacea*

El lugar de la **única colecta que se realizó** de huevos de tortuga de la especie *Lepidochelys olivacea* (golfina), fue el 2 de enero de 2024 en la playa de Morro Ayuta ($15^{\circ} 52' 41''$ - $15^{\circ} 54' 76''$ N y $95^{\circ} 46' 60''$ - $95^{\circ} 39' 90''$ O), estado de Oaxaca. Esta actividad la realizaron los Biólogos Ángel G. González Padilla y José R. Cruz Alcántara, encargados del campamento tortuguero del Centro Mexicano de la Tortuga (CMT), ubicado en este mismo lugar; y correspondió al a la 8ª arribada del período julio 2023 a enero de 2024. Se delimitó el área de la distribución total de esta arribada de acuerdo lo establecido por Ávila-Barrientos y colaboradores (2008), y se dividió en tres secciones: lateral izquierdo, centro y lateral derecho (Figura 1), lo que permitió realizar un muestreo significativo.



Figura 1. Octava arribada de *L. olivacea* de la temporada 2023 y delimitación de la zona de muestreo.

En dicha área fueron seleccionados aleatoriamente, tres nidos in situ donde hubiera hembras anidadoras que estaban terminando la construcción de su nido e iniciaron la ovoposición. El número de huevos en los nidos 1, 2 y 3, fueron 189, 269 y 77, respectivamente; de cada uno se extrajeron 16 huevos colectándose un total de 48. Se guardaron de manera separada, en bolsas nueva de plástico, y se les colocó una etiqueta con la siguiente información: fecha y número de arribada, número de nido muestreado, coordenadas geográficas de su ubicación y el número total de huevos en el nido antes la toma de las muestras. Estos huevos fueron utilizados en los diversos análisis del presente proyecto de investigación.



Figura 2. Nido con huevos y su acomodo en hieleras de unicel para su envío a la Universidad Tecnológica de la Mixteca.

2. Transporte y acondicionamiento de los huevos.

Los huevos fueron transportados al laboratorio de Biotecnología, Edificio de Productos Naturales y Alimentos, en la Universidad Tecnológica de la Mixteca (UTM). Se colocaron en una hielera de unicel con una cama de vermiculita con humedad al 50 %, y que se esterilizó previamente en una autoclave a 120 °C y 15 PSI por 90 min. Se adicionó más vermiculita para rellenar el espacio entre cada huevo y, evitar de este modo, posibles afectaciones durante el traslado. Finalmente, la hielera se selló con cinta canela, se le colocó una copia de la licencia de colecta y se envió por paquetería a la H. Ciudad de Huajuapán de León, con escala en la Cuidad de Oaxaca de Juárez, ambas del estado de Oaxaca.

3. Acondicionamiento de muestras para su análisis



Figura 3. Acondicionamiento de los huevos una vez recibidos en el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Tecnológica de la Mixteca.

El acondicionamiento de los huevos se hizo con base a lo reportado por Katni y colaboradores (2022). Con un paño con alcohol comercial al 70 % se retiraron restos de vermiculita, se les hizo una inspección

física y ninguno tuvo que desecharse por la presencia de daños en el cascarón. A continuación, cada huevo se pesó empleando una balanza analítica y se registraron los datos (en gramos). También se inspeccionó su apariencia, color, olor y consistencia, se tomó nota y registro fotográfico de las mismas. El cascarón se cortó por la parte media con un cúter de aluminio tipo estilete, y con ayuda de unas pinzas se jaló en sentidos opuestos por ambos lados de la abertura para hacerla más grande de tal modo que permitió extraer la yema y clara.

Se obtuvieron las siguientes muestras de cada nido: **A)** mezcla homogénea de yema y clara, **B)** yema, **C)** clara y **D)** cascarón. La muestra **A** se obtuvo extrayendo tanto la clara como la yema de un huevo y mezclándolas a homogeneidad empleando un mini agitador de mano eléctrico. La separación de la yema (**B**) y la clara (**C**) se hizo empleando un separador de plástico. Las tres muestras se obtuvieron al momento de su uso para los análisis correspondientes; se colocaron en tubos Falcon con tapa, estériles, de capacidad de 50 mL. El cascarón (**D**), se cortó en cuadrados de aproximadamente 3 cm, se colocaron en un tubo Falcon de 50 mL, se le adicionaron 40 mL de agua pasada por osmosis inversa (de aquí en adelante, solamente se referirá como agua solamente), se colocaron en un baño de ultrasonido a temperatura ambiente, a 40 ± 2.4 kHz por 10 min. Pasado este tiempo, se eliminó el agua empleando un colador, para el secado a temperatura ambiente los trozos de cascarón se colocaron entre papel kraft y se colocaron en una mini prensa de madera por 24 h. Finalmente, los cascarones secos se colocaron en viales de vidrio grueso con tapa, se sellaron con papel parafilm en un desecador hasta su análisis.

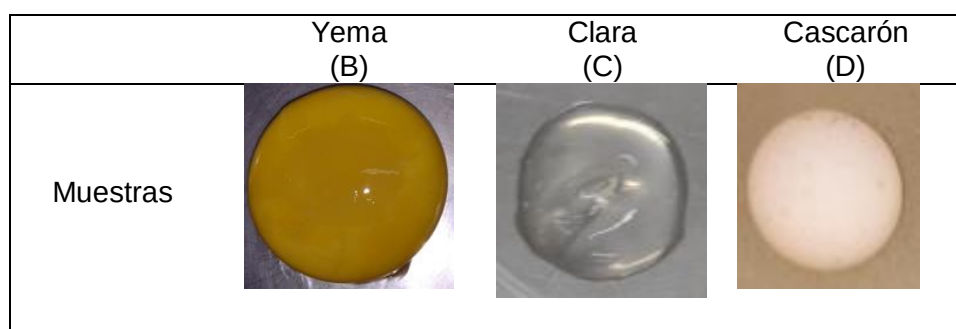


Figura 4. Separación de las diferentes muestras de huevo de *L. olivacea* utilizadas para los análisis fisicoquímicos.

4. Análisis físicoquímico

Para cada uno de los siguientes análisis se utilizaron tres huevos de cada nido (N1, N2 y N3) de donde fueron extraídos al inicio de la 8ª arribada de la tortuga golfina en la playa Morro Ayuta, Oaxaca.

4.1. Humedad

Para este análisis se utilizó la muestra **A** de En cápsulas de porcelana a peso constante se adicionaron 1.5 g de A, y se mantuvieron en una estufa de secado a 100 ± 1 °C, hasta que no varió su peso. Para el monitoreo del peso primeramente las cápsulas con muestra A se colocaron en un desecador para atemperarlas y entonces se pesaron y se realizó el registro de los datos (NOM-116-SSA1-1994). El contenido de humedad se calculó con la Ecuación 1.

$$\%Humedad = \left(\frac{P_1 - P_2}{P_3} \right) \times 100 \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde P_1 : peso de la cápsula, a peso constante, con la muestra **A** antes del proceso de secado (g), P_2 : peso cápsula con la muestra **A** después del proceso de secado (g), P_3 : peso de la muestra **A** utilizada para el análisis (1.5 g).

En el caso de la muestra **D** se registró el peso del cascarón previo al proceso de lavado que fue descrito antes, y se pesaron al concluir el secado en las condiciones ya mencionadas. El porcentaje de humedad se calculó con la Ecuación 1.

4.2. Cenizas totales

Se utilizaron 2 g de la muestra **A** que resultó del análisis de humedad y fueron colocados en crisoles a peso constante, se introdujeron en una mufla a 550 ± 25 °C, hasta que se observaron cenizas blancas (aprox. 13 h). Pasado este tiempo, los crisoles con la muestra se atemperaron en un desecador y se pesaron. El porcentaje de cenizas se calculó con la Ecuación 2.

$$\% \text{ Cenizas totales} = \left(\frac{m_1 - m_2}{m_3} \right) \times 100 \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde m_1 : peso del crisol, a peso constante, con la muestra **A seca**, antes del proceso de calcinación (g), m_2 : peso crisol con la muestra después del proceso de calcinación (g), m_3 : peso de la muestra usada para el análisis (2 g).

4.3. Proteína soluble por el microensayo de Bradford

Curva de calibración. Se prepararon 10 mL de seroalbúmina bovina (BSA, por sus siglas en inglés) a una concentración de 0.001 g/mL en solución amortiguadora de fosfatos 10 mM, pH 7.0 (en adelante mencionado como amortiguador de fosfatos). A partir de ésta se preparó 1 mL de las siguientes concentraciones: 2, 4, 6, 8 y 10 µg/mL. Se mezclaron con 1 mL del reactivo de Bradford, se homogeneizaron usando un vórtex. Se dejaron reposar durante 5 min a temperatura ambiente y pasado este tiempo y se leyó la absorbancia a 595 nm en un espectrofotómetro uv-vis. El blanco fue 1 mL de amortiguador de fosfatos más 1 mL del reactivo de Bradford, siguiendo el procedimiento descrito. Se graficaron los datos y se ajustaron con la ecuación de la línea recta.

En tubos Falcon de 50 mL, se pesaron 1 g de muestra **C**, se les adicionó en 10 mL de amortiguador de fosfatos, se homogeneizó empleando un vórtex, a velocidad suave. Esta mezcla se colocó en volúmenes iguales en dos tubos Falcon y se centrifugaron a 4 °C, 10,000 rpm por 10 min. Pasado el tiempo, se recuperó el sobrenadante por decantación y se utilizó para el análisis de proteína soluble total como ya se detalló arriba.

4.4. Grasa total por el método de Soxhlet

Se colocaron 2 g de muestra **B** en un cartucho de extracción, se adicionaron 150 mL de éter de petróleo en el matraz a peso constante; se colocaron en el equipo Soxhlet y se mantuvo el reflujo durante 3 h aprox. Posteriormente, se evaporó el disolvente en un rotaevaporador hasta sequedad total, a continuación, el matraz con el residuo de grasa se colocó en una estufa de secado a 60 °C por 30 min. Pasado este tiempo, se sacó de la estufa y se atemperó en un desecador, finalmente, se pesó. La grasa total se calculó con la Ecuación 3.

$$\% \text{ Grasa total} = \left(\frac{P_2 - P_1}{P_3} \right) \times 100 \quad (\text{Ec. 3})$$

En donde P1: Peso del matraz a peso constante (g), P2: Peso del matraz con el residuo de la grasa, después del proceso de secado (g), P3: Peso de la muestra utilizada en el análisis (2 g).

5. Análisis de composición del cascarón empleando espectroscopia de infrarrojo.

El análisis se realizó empleando los cascarones lavados y secos como ya se detalló arriba. Se utilizó un espectrómetro FT-IR (Alpha Platinum ATR, BRUKER) propiedad de la Universidad Tecnológica de la Mixteca. El análisis se hizo para ambos lados del cascarón (interno y externo). Las condiciones de trabajo fueron las siguientes: en modo transmitancia (%), en un intervalo de número de onda de 4000-400 cm⁻¹ y 72 escaneos.

6. Tamaño de poro del cascarón por microscopía de barrido con electrones (SEM).

El análisis se realizó empleando los cascarones lavados y secos como ya se detalló arriba. Se utilizó un microscopio de barrido con electrones (TESCAN, VEGA 3), propiedad de la Universidad Tecnológica de la Mixteca. El trozo de cascarón deshidratado se fijó sobre una base metálica con cinta adhesiva de grafito doble cara, dicho análisis se realizó también por ambos lados del cascarón. Se realizaron observaciones en el SEM sin ningún tipo de recubrimiento y empleando resoluciones de 2000x y 12000x. A partir de los registros fotográfico se hizo el análisis de las estructuras que pudieron observar.

7. Análisis estadístico.

Se utilizó el programa OriginPro 2020 para el análisis de los datos que se obtuvieron en los diferentes análisis. Primeramente, se comprobó la Normalidad de los datos mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov, a continuación, se analizó la homocedasticidad (homogeneidad de Varianzas) con la prueba de Levene. Se realizó un ANOVA de una vía, con una $p < 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se presentan los resultados obtenidos de los diferentes análisis fisicoquímicos del huevo de *L. olivacea*. Es importante mencionar que uno de los retos que se tuvo fue la adecuación de algunos métodos de análisis publicados para huevo de tortuga marina porque al momento de aplicarlos tal cual fueron se tuvieron inconvenientes para su análisis. Se logró poner a punto las metodologías que se utilizaron para humedad, cenizas totales, grasa total y proteína soluble. Los datos fueron Normales y homocedásticos por lo que se pudo aplicar un ANOVA y la prueba post-hoc de Tukey. Los resultados se muestran en la Tabla 1, la cual contiene el valor promedio por nido de cada una de las propiedades que fueron evaluadas.

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos de huevo de tortuga *L. olivacea*, colectados durante la 8ª arribada.

Parámetro	Nido			Promedio (DS)
	1	2	3	
Peso (g)	27.14±0.96	29.14±1.46	28.74±0.87	28.34±1.13
Humedad (%)	80.15±1.80	79.65±4.41	75.34±1.34	78.74±3.18
Cenizas totales (%)	4.44±0.21	2.08±0.21	2.36±0.11	2.94±0.19
Grasa total (%)	32.64±0.57	37.18±0.28	37.24±0.31	35.69±0.40
PS (µg/mL)	23.03±0.49	90.43±59.54	122.94±4.41	78.80±34.47

(DS): Desviación estándar. PS: Proteína soluble total.

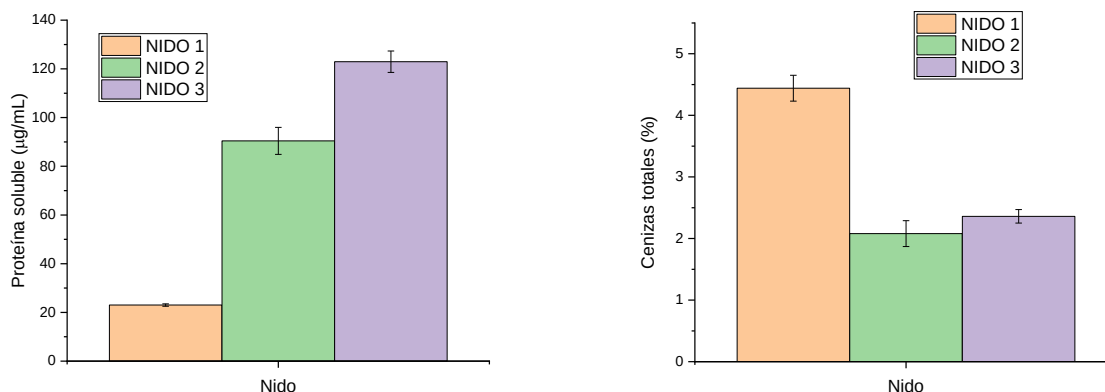


Figura 5. Gráficos comparativos de los dos parámetros químicos que tuvieron registraron mayor diferencia entre huevos colectados de diferentes nidos, durante la 8ª arribada.

Como se puede observar cenizas totales (%) y proteína soluble total ($\mu\text{g/mL}$) fueron los parámetros que tuvieron mayor variación entre nidos. En el caso de cenizas totales, se sabe que los elementos químicos con mayor presencia en el huevo son el hierro, fósforo, zinc, sodio, selenio, magnesio y calcio (Rodríguez-Mengod, 2016), los cuales se utilizan para la síntesis de estructuras de éste tales como las membranas amnios, corioalantoideas, el saco vitelino, el fluido subembrionario, etc. (Wineland et al., 2009). Respecto a la proteína, se sabe que la principal en el huevo de tortuga es la albúmina cuya función es formar un fluido subembrionario en el vitelo el cual debe garantizar al embrión un suministro suficiente de proteína (Morales-Arango, 2007). También se sabe que está directamente relacionada con la ovogénesis (proceso por el cual se forma un huevo fertilizable o maduro), el cual está regulado por hormonas producidas en la hipófisis y en el ovario. El crecimiento del ovocito es por medio de interacciones con células somáticas especializadas, debido a la acumulación de proteínas producidas en el hígado (Pérez Bermúdez, 2015).

Es importante mencionar que la concentración de proteína para la de tortuga *L. olivacea* hasta el momento se ha utilizado el método de Kjeldahl, el cual cuantifica al nitrógeno total (Castro-González et al., 2011; Katni et al., 2022). Los valores han sido desde 11.58 % hasta 53.69 %. En el presente trabajo se decidió utilizar el método de Bradford por su simplicidad y confiabilidad que tienen los resultados obtenidos con éste (cuantifica la unión de azul de Coomassie G-250 a la proteína); además, se decidió utilizar únicamente la clara del huevo debido a que es donde se encuentra la mayor cantidad de proteína y de este modo se evitó tener que darle un tratamiento adicional a la mezcla yema-clara, para extraer únicamente a la proteína.

Con base en los resultados obtenidos, se puede considerar hasta el momento como el parámetro crítico, debido a que presenta mayor variación entre nidos y posiblemente es el parámetro que se tenga que evaluar entre nidos de diferentes arribadas de un periodo.

Respecto al análisis por IR de composición del cascarón tanto por la parte externa como interna (espectros anexos), dejó ver que existe diferencia lo cual era de esperarse por los diferentes ambientes a los que están expuestos y función que tiene cada una de estas. En el espectro de IR de la parte externa se observaron señales características de la aragonita (picos $1788, 1082$ y 858 cm^{-1}) y de carbonato (pico a 2520 y 2360 cm^{-1}). Esto concuerda con lo observados por Sahoo y colaboradores en el 2009. En cuanto a la parte interna del cascarón se identificaron señales características para quitosano (bandas a $3286, 2920$ y 2874 cm^{-1}), lo que coincide con lo expuesto por Casihuamán et al. (2018). Es importante mencionar que no hubo diferencia en las bandas identificadas entre los 3 nidos. En lo que tocante al análisis con el MEB, las condiciones que hasta el momento permitieron un mejor análisis de las estructuras del cascarón por la parte interna son 10. Kv, 4 escaneos y una magnificación

de 1.67 Kx. Estas condiciones permitieron observar fibras y se pudo realizar su medición, como se muestra en el siguiente grupo de imágenes. Falta trabajar más con las condiciones que permita observar y medir los poros del cascarón, sin embargo, considerando el tiempo que se ha trabajado con la muestra se puede considerar que se tiene un avance importante.

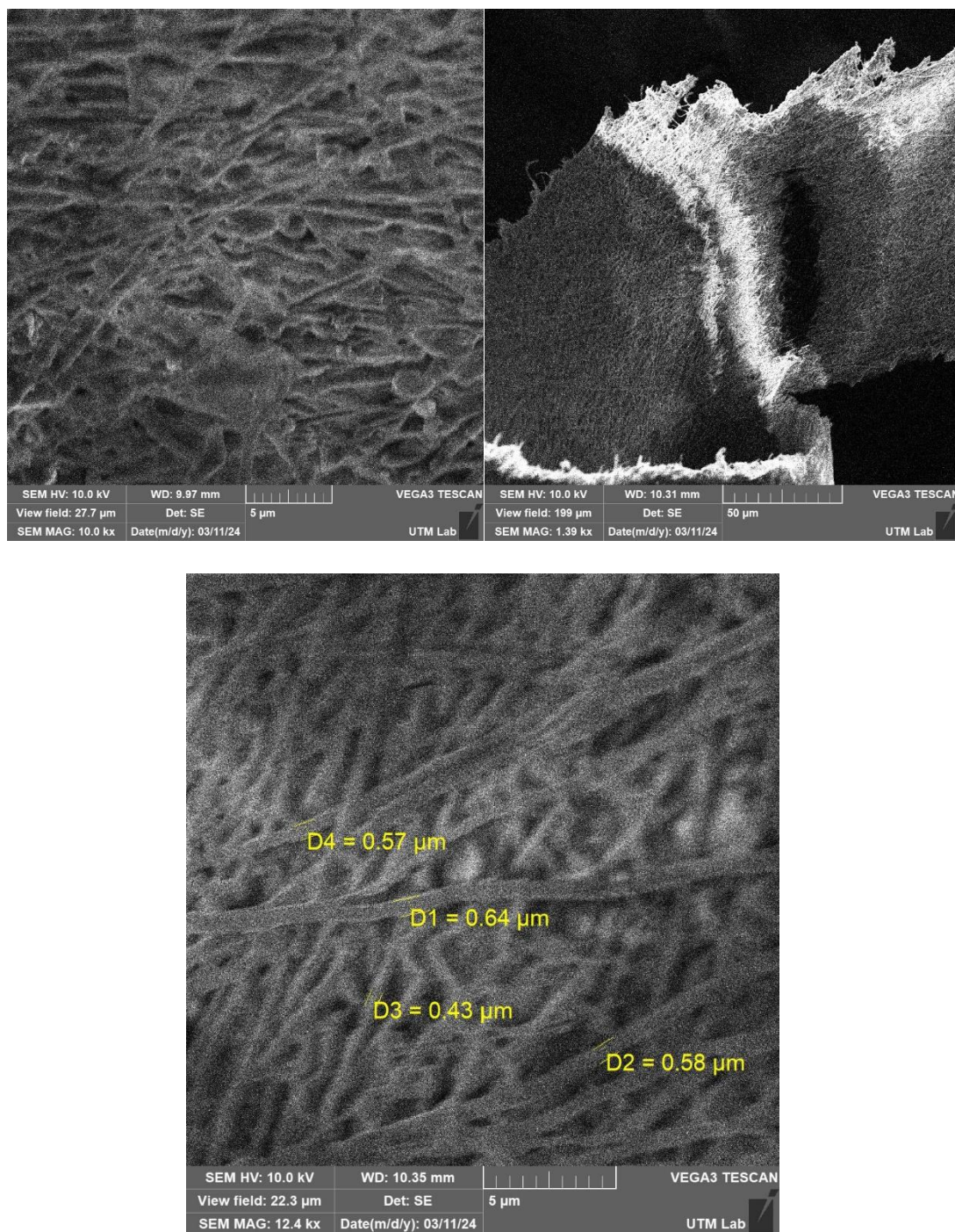


Imagen 1. Estructuras de la parte interna del huevo de *L. olivacea*. Trozos de cascarón lavados con agua pasado por osmosis y ultrasonido, secados a temperatura ambiente por 24 h.

PROBLEMÁTICA DEL ÁREA TRABAJADA

1. Condiciones de almacenamiento de los huevos de tortuga durante la recepción.

Este aspecto es importante porque se está evaluando variabilidad de algunos parámetros fisicoquímicos. Se realizaron pruebas con el objetivo de establecer las mejores condiciones para el almacenamiento durante al menos 15 días, de los huevos de tortuga *L. olivacea*. En todos los casos se utilizaron hieleras de unicel con capacidad de 6 L y vermiculita se esterilizó en una autoclave a 120 °C, 15 PSI por 15 min. Con la vermiculita estéril se hicieron camas de 5 cm (2 L aprox.). Las diferentes condiciones fueron las siguientes:

Método 1. Se utilizó vermiculita seca tal como salió del proceso de esterilización y sobre esta se colocaron 3 huevos, uno de cada nido, se cubrieron con una capa de vermiculita.

Método 2. Se utilizó vermiculita con agua 1:1 (v/v), similar a la vermiculita en la cual fueron enviados los huevos del campo Tortuguero a la UTM. Se hizo el mismo procedimiento para la preparación de la cama sobre la que se colocaron 3 huevos uno de cada nido y se cubrieron con una capa de vermiculita. El mejor resultado se tuvo con el método 2, conservando los huevos características similares a los del tiempo cero (cuando fueron recepcionados en el laboratorio): apariencia y peso del huevo completo, así como la yema y clara, humedad y proteína.

Este resultado fue muy importante, para evitar variabilidad en los parámetros fisicoquímicos evaluados al menor por 11 días.

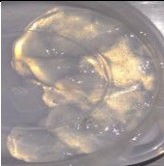
Días	Yema	Clara	Cascarón
4			
11			
25			

Figura 5. Apariencia de diferentes partes de huevo de *L. olivacea* almacenado en vermiculita-agua 1:1 (v/v).

2. Conservación de la yema y la clara después de la extracción del huevo. Una vez que se extrajeron la yema y la clara, el almacenamiento adecuado fue menor a 1 día. Por lo tanto, concluimos que se deben utilizar de manera inmediata una vez que se lleve a cabo la extracción.
3. Metodología publicada no reproducible. Como ya se mencionó, se tuvieron que realizar varias adecuaciones a la metodología publicada para el análisis de humedad, cenizas, grasa y proteína; las cuales se lograron establecer.

POTENCIALES ALTERNATIVAS DE SOLUCIÓN Y OPORTUNIDAD

Hasta el momento y con los huevos de tortuga marina *L. olivacea* de una única arribada se establecer métodos reproducibles para evaluar algunos de los parámetros fisicoquímicos más importantes en el desarrollo embrionario. Como ya se comentó, se continúa trabajando con las condiciones del SEM para lograr analizar los poros del cascarón. Los resultados obtenidos expusieron que el contenido de proteína soluble es un parámetro químico con la mayor variabilidad (crítico), por lo tanto, es importante porque se sientan las bases para evaluar el efecto de la temporalidad en dicho parámetro y seguir explorando la posible relación entre este y el éxito de eclosión, factor importante para la preservación y conservación de la tortuga golfina.

PRODUCTOS GENERADOS DE LA INVESTIGACIÓN.

1. El presente documento de Reporte que incluye metodología y resultados, el cual también se proporcionará a los colaboradores del Centro Mexicano de la Tortuga.
2. Trabajo sometido para presentarse en la 19ª Reunión Internacional de Investigación de Productos Naturales (RIIPN 2024), que se llevará a cabo del 22 al 25 de mayo en Cuernavaca, Morelos, México.
3. Resultados relevantes para el trabajo de tesis de un alumno del 4º semestre de la Maestría en Ciencias Productos Naturales y Alimentos, quien se pretende titular en el mes de septiembre del presente año.

REFERENCIAS

- Ávila-Barrientos, J. (2006). Éxito de eclosión en la arribazón de la tortuga golfina *Lepidochelys olivacea* (Eschscholtz, 1829) en la playa de La Escobilla, Oaxaca. [Tesis de Licenciatura]. Universidad del Mar, Puerto Ángel, Oaxaca, México.
- Casihumán-Noa S., Talavera-Núñez, M. E., Arenas-Chávez C., Pacheco-Salazar, D. G., Vera-González, C. (2018) Caracterización de técnicas espectroscópicas del O-Carboximetulquitosano obtenido por derivatización del quitosano. Rev. Soc. Quim. Perú. 84 (2), 204-216.
- Castro-González M. I. & Pérez-Gil R. (2011). Composición química del huevo de Tortuga Golfina *Lepidochelys olivacea* (Testudines: Cheloniidae) y su potencial como recurso alimenticio. Rev. Biol. Trop, 59 (4) 1729-1742.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI]. (2015). Encuesta Intercensal 2015.
- Iturbide, F. & Sandoval, J. (2011). *Análisis de Alimentos Fundamentos y Técnicas. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química.* [Archivo PDF] https://amyd.quimica.unam.mx/pluginfile.php/14545/mod_resource/content/1/An%C3%A1lisis%20de%20alimentos%20fundamentos%20y%20t%C3%A9cnicas.pdf
- Katni, N. H., Azmi, A. F. M., Abdullah, M. M., Rusli, M. U., Zakaria, Z., Azizan, T. R. P. T., Amat, A. C., Saad, M. Z., Yasin, I. S. M., Nazarudin, M. F. & Hassim, H. A. (2022). Nutritional compositions, pathogenic microorganism and heavy metal concentration in green turtle eggs (*Chelonia mydas*) from Terengganu and Sabah, Malaysia. Front. Mar. Sci. 9:948427. doi: 10.3389/fmars.2022.948427
- Morales-Arango, J., Duarte-Guerrero, M. & Zuñiga H. (2007). Caracterización físico-química del huevo del caimán llanero, *Crocodylus intermedius*, Graves 1819. Acta Zool. Mex. 23.
- Norma Oficial Mexicana (NOM-116-SSA1-1994). Bienes y servicios. Determinación de humedad en alimentos por tratamiento térmico. Método por arena o gasa. <https://faolex.fao.org/docs/pdf/mex13501.pdf>.
- Pérez-Bermúdez, E. (2015). Variación temporal del origen y la maduración del agregado marino de *Eretmochelys imbricata* (Testudines: Cheloniidae) de Jardines del Rey, Cuba. [Tesis de doctorado en ciencias biológicas. Universidad de Cádiz].
- Rodríguez-Mengod, A. (2016). Tipificación de la calidad del huevo de gallina ecológico y convencional. [Tesis de licenciatura. Universitat Politècnica de Valencia].
- Sahoo, G., Mohapatra, K. B., & Dutta, S. K. (2009). Structural changes in olive ridley turtle eggshells during embryonic development. Herpetological journal 19: 143-149
- Wineland, M. J. & Oviedo-Rondón. (2019, 22 de Julio). Manejo del desarrollo embrionario para optimizar el desempeño del pollo. <https://www.wattagnet.com/home/article/15482074/manejo-del-desarrollo-embrionario-para-optimizar-el-desempeno-del-pollo>.



MEDIO AMBIENTE

SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES



2023
AÑO DE
Francisco
VILLA

EL REVOLUCIONARIO DEL PUEBLO

Subsecretaría de Política Ambiental y Recursos Naturales Dirección General de Vida Silvestre

Oficio N° SPARN/DGVS/13886/23
Ciudad de México, a 15 de diciembre de 2023

LIC. JAVIER JOSÉ RUIZ SANTIAGO

Representante legal de la Universidad Tecnológica de la Mixteca
Calle Km 2.5 carretera Huajuapán-Acatlím s/n
Col. Acatlím
Huajuapán de León, Oaxaca
C.P. 69000-México
Tel. (953) 532 0399, E-mail: edith@mixteco.utm.mx
P R E S E N T E

En atención a la solicitud de licencia de colecta científica o con propósitos de enseñanza en materia de vida silvestre, recibida en esta Dirección General el 28 de septiembre de 2023, a la cual se le asignó la bitácora 09/K5-0949/09/23, considerando que ha dado cumplimiento a los requisitos establecidos para efectuar investigación y colecta científica de flora y fauna silvestres en territorio mexicano, y con fundamento en lo dispuesto en los Artículos 2, Fracción I, 10, 26 octava línea y 32 Bis, Fracciones I, III y XXXIX de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; Artículos 1, 3, letra A, fracción I, inciso e), 4, 8 y 9 fracción XXV y 15, fracciones I, VI, XVIII y XXIII del Reglamento Interior de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, publicado en el Diario Oficial de la Federación el 27 de julio de 2022; Artículo 1o segundo párrafo, 9 fracción XII, 97 y 98 de la Ley General de Vida Silvestre; 12, 123 Fracción IV y 126 del Reglamento de la Ley General de Vida Silvestre, y la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, 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, publicada en el Diario Oficial de la Federación (DOF) el 30 de diciembre de 2010, su Modificación y fe de erratas del Anexo Normativo III, Lista de especies en riesgo de la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, 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, publicada en el DOF el 14 de noviembre de 2019 y 04 de marzo de 2020, respectivamente, la Dirección General de Vida Silvestre **autoriza** la licencia de colecta científica o con propósitos de enseñanza en materia de vida silvestre por proyecto, sobre especies o poblaciones en riesgo o sobre hábitat crítico, para desarrollar las siguientes actividades inherentes al proyecto denominado: **"Efecto del factor temporal en el huevo de tortuga marina *Lepidochelys olivacea*, colectado en la playa del Morro Ayuta, Oaxaca"**, con el objetivo de establecer el efecto del factor temporal en el huevo de tortuga *Lepidochelys olivacea* colectado en la playa de Morro Ayuta, Oaxaca:

- Colecta de hasta cuarenta y cinco (45) huevos de tortuga de la especie ***Lepidochelys olivacea*** "tortuga golfina", procedente de tres (03) nidos, de cada arribada que se presente hasta el mes de enero de 2024, para su análisis en instalaciones de la Universidad Tecnológica de la Mixteca.





Subsecretaría de Política Ambiental y Recursos Naturales

Dirección General de Vida Silvestre

Oficio N° SPARN/DGVS/13886/23
Ciudad de México, a 15 de diciembre de 2023

Las actividades se llevarán a cabo en el **Santuario Playa Escobilla, "Playa Morro Ayuta" (15° 52' 41" - 15° 54' 76" N y 95° 46' 40" - 95° 39' 90" O), municipio de Tonameca y San Pedro Huamelula, estado de Oaxaca.** La presente autorización tendrá una vigencia a partir de la emisión de la misma al 29 de febrero de 2024.

Las actividades se realizarán con el Aval de la Universidad Tecnológica de la Mixteca, con la colaboración de la Dra. Edith Graciela González Mondragón, Biól. Mar. Julio César López Enríquez, M. en C. Martha Regina Harfush Meléndez, Ángel Guillermo González Padilla, Dr. Iván René Corrales Mendoza, Dr. Raúl Salas Coronado, Dra. Mirna Patricia Santiago Gómez y la Dra. Norma Francenia Santos Sánchez, quedando la titular y los colaboradores sujetos a las siguientes condicionantes:

1.- Deberá cumplir con las disposiciones Administrativas, Fiscales y de Sanidad exigibles por las autoridades competentes en la Materia, sean Federales, Estatales o Municipales, así como con las disposiciones establecidas en la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente y su Reglamento en Materia de Áreas Naturales Protegidas y demás disposiciones legales aplicables.

2.- Obligatoriamente y previo al inicio de las actividades de campo en Áreas Naturales Protegidas deberá realizar ante la CONANP el trámite CNANP-00-007, **"Aviso para realizar actividades de investigación con colecta o manipulación de ejemplares de flora y fauna silvestre en ANP"**, deberá contactar a la Biól. Edda Carolina González del Castillo egonzalez@conanp.gob.mx y al Biól. Ángel Guillermo González Padilla angel.gonzalez@conanp.gob.mx para coordinarse y apoyar a la realización de las actividades de campo, presentar su programa de actividades, lista de participantes, indicar la cantidad de ejemplares que se pretende coleccionar por sitio, además de indicar la ubicación precisa donde se pretende realizar dichas actividades, y las fechas en que pretende ingresar, así como especificar el resguardo final de las muestras; para el desarrollo de las actividades señaladas utilizar embarcaciones autorizadas o guías que proporcionen los prestadores locales, evitar la manipulación de otras especies u organismos que no se vayan a coleccionar y remover cualquier organismo que no sea sujeto de la colecta, en el caso de organismos capturados accidentalmente, estos deberán ser liberados en el sitio de captura; también se le asignará el personal del ANP que lo acompañará durante los trabajos de campo y deberá acatar las indicaciones y recomendaciones que le haga dicho personal, al término de su visita y no más de 30 días naturales, deberá enviar informes periódicos e informe final detallado de manera física y electrónica de las actividades realizadas y los resultados obtenidos a la Dirección del ANP, y deberá acatar lo establecido en el programa de manejo y Reglas Administrativas del ANP y a las indicaciones y recomendaciones que realice el personal de la CONANP y del Director o Encargado de la ANP.





Para realizar sus actividades de colecta en Áreas Naturales protegidas, deberá cumplir las siguientes recomendaciones:

- a) El solicitante está obligado a evitar en todo momento capturar, colectar o molestar a los organismos que no se incluyan en los listados contemplados en el proyecto. Asimismo, deberán atender la normativa establecida en la Ley General de Vida Silvestre respecto al manejo y trato digno a los organismos, evitando causarles injustificadamente sufrimiento, dolor y/o traumatismos.
- b) Las colectas derivadas del proyecto en cuestión deben observar rigurosamente lo establecido en la NOM-126-SEMARNAT-2000 por la que se establecen las especificaciones para la realización de actividades de colecta científica de material biológico de especies de flora y fauna silvestres y otros recursos biológicos en el territorio nacional.
- c) Respecto a la etapa de colecta de muestras en la playa, se solicita evitar dichas colectas en las franjas en las que se realiza el monitoreo por transectos establecidos por la CONANP; asimismo, se solicita evitar el uso de luz blanca; en su lugar se recomienda utilizar lámparas con luz roja y, cuando proceda, llevar al sitio los contenedores correspondientes para hacer el manejo adecuado de los desechos derivados del muestreo (restos de tejidos, gasas, jeringas, plásticos, sustancias, etc.) y darles un destino final fuera del Santuario.
- d) En el caso particular del Santuario Playa Escobilla, se trata de un área natural protegida y está bajo la administración de la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas a través del Centro Mexicano de la Tortuga. Por lo anterior, previo al desarrollo de las actividades de colecta y muestreo, en el área natural protegida, el promovente deberá realizar el Trámite CNANP-00-007 "Aviso de investigación con colecta y manipulación de flora y fauna" a través del formato FF-CNANP-006, ante la Dirección del Santuario Playa Escobilla, ubicada en Avenida principal S/N, Mazunte, Sta. María Tonameca, Qa xaca. C.P. 70947. Tel. 55 5449 7000 ext. 19000 a 19012 o a los correos egonzalez@conanp.gob.mx y angel.gonzalez@conanp.gob.mx.
- e) si se considera el uso de vehículos terrestres durante los desplazamientos por la playa para la búsqueda de individuos y la toma de muestras, estos deberán cumplir con las características apropiadas para el sitio, tal como se indica en el numeral 6.6.2 de la NOM-162-SEMARNAT-2012 y siempre en coordinación con el encargado del campamento y/o personal CONANP que se identifique.

Es importante observar las siguientes consideraciones:

- Para la realización de las actividades al interior del Santuario, el solicitante y los colaboradores del proyecto deberán coordinarse con el personal de la CONANP en el sitio, atendiendo en todo momento sus indicaciones a efecto de no interferir con las actividades de monitoreo y protección que se llevan a cabo.





MEDIO AMBIENTE

SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES



2023
AÑO DE
Francisco
VILLA

Subsecretaría de Política Ambiental y Recursos Naturales Dirección General de Vida Silvestre

Oficio N° SPARN/DGVS/13886/23
Ciudad de México, a 15 de diciembre de 2023

- Hacer llegar copia de los informes comprometidos en la autorización de ser emitidas por la DGVS, al personal del Centro Mexicano de la Tortuga Biol. Edda Carolina González del Castillo egonzalez@conanp.gob.mx Biol. Ángel Guillermo González Padilla angel.padilla@conanp.gob.mx; así como a la Biol. Manuela de Jesús Morales Hernández y al Ing. Arturo Chorley Sanchez. a los correos mimorales@conanp.gob.mx y achroley@conanp.gob.mx, respectivamente.
- En todo momento el titular de la investigación es responsable de los impactos significativos que de sus acciones resulten sobre las poblaciones de flora y fauna silvestre y su hábitat: por lo tanto, es importante que tome en cuenta que las especies con las que se pretende trabajar se encuentran en peligro de extinción de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, por lo que se le exhorta a realizar las actividades con todas las medidas precautorias necesarias, considerando el riesgo de perturbación del ecosistema antes de ejecutar cualquier actividad; en caso de ser necesario y si el riesgo es alto, deberá suspender los trabajos.
- Todos los materiales biológicos colectados y actividades de muestreo se deberán apegar a lo establecido en la y por ningún motivo se podrán capturar, colectar o molestar organismos que no se incluyan en los listados de especies contempladas en la autorización, y que de ninguna manera sean utilizadas con fines comerciales o biotecnológicos.
- Observar rigurosamente lo establecido en la NOM-126-ECOL-2000, por la que se establecen las especificaciones para la realización de actividades de colecta científica de material biológico de especies de flora y fauna silvestres y otros recursos biológicos en el territorio nacional.
- Deberá informar al Centro Mexicano de la Tortuga del término de sus actividades y de su salida del área, al contacto: Biol. Edda Carolina González del Castillo egonzalez@conanp.gob.mx: Biol. Ángel Guillermo González Padilla angel.gonzalez@conanp.gob.mx.
- Al término de su visita, el investigador deberá enviar un informe detallado de las actividades realizadas a la Dirección del Área Natural Protegida, en un lapso máximo de 30 días naturales después de su visita. El informe deberá indicar el resultado del proyecto anexando imágenes, así como aquellos resultados que considere pertinente hacer de conocimiento y que pueda ser incorporado en las acciones de manejo de esta: favor de enviar a los correos egonzalez@conanp.gob.mx y angel.gonzalez@conanp.gob.mx.

3.- En la realización del proyecto propuesto, se responsabilizará al titular de la investigación de cualquier impacto significativo que resulte sobre las poblaciones de la flora o fauna silvestre y sus hábitats, por lo que deberá considerar el riesgo de perturbación del ecosistema, antes de su ejecución y no llevarlo a cabo si existe algún riesgo.





Subsecretaría de Política Ambiental y Recursos Naturales Dirección General de Vida Silvestre

Oficio N° SPARN/DCVS/13886/23
Ciudad de México, a 15 de diciembre de 2023

4.- Previo al inicio de las actividades de campo, deberá enviar obligatoriamente por escrito y utilizando cualquier medio su programa de trabajo a la Oficina de Representación Federal de la SEMARNAT en el estado de **Oaxaca** (951) 512 9606, enviando copia del mismo a la Dirección General de Vida Silvestre. De igual manera, al término de dichas actividades lo notificará a esa Oficina de Representación Federal de la SEMARNAT, enviándole un reporte detallado por escrito.

5.- La totalidad del material colectado deberá destinarse exclusivamente a los fines específicos del proyecto, objeto de la presente autorización. Con base al Capítulo IV, Artículo 98 de la Ley General de Vida Silvestre, las muestras colectadas "huevos de tortuga" serán depositadas en el laboratorio de Biotecnología, Edificio de Productos Naturales y Alimentos, de la Universidad Tecnológica de la Mixteca, para su análisis, el consiste en: análisis fisicoquímicos para determinar humedad, cenizas totales, proteína soluble por el micro ensayo de Bradford, grasa total por el método de Soxhlet, cuantificación del colesterol por método espectrofotométrico, análisis de composición del cascarón empleando espectroscopía de infrarrojo y tamaño del poro del cascarón por microscopía de barrido con electrones; la titular de la autorización asume la responsabilidad de remitir a esta Dirección General, copia de la(s) constancia(s) del(os) depósito(s) debidamente firmado(s), especificando la cantidad del material depositado.

6.- Con base al Capítulo IV, Artículo 98 de la Ley General de Vida Silvestre y 126 del Reglamento de la Ley General de Vida Silvestre, el responsable del proyecto deberá someter a la consideración de la Dirección General de Vida Silvestre, en un plazo no mayor de 30 (TREINTA) días de concluida la vigencia de la presente, un informe que describa **detalladamente** las actividades realizadas, los resultados obtenidos, la problemática del área trabajada, las potenciales alternativas de solución y en su oportunidad, la(s) publicación(es) y sobre tiros producto de la investigación.

7.- Queda estrictamente **prohibido** efectuar cualquier aprovechamiento de las especies de flora y fauna silvestres, cualquiera que sea su estatus, excepto lo aquí autorizado, así como realizar actividades en áreas naturales protegidas de México, sean Estatales o Federales, sin previa autorización.

8.- De acuerdo al Artículo 87 de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente y al Capítulo IV, Artículo 97 de la Ley General de Vida Silvestre, esta autorización no ampara el aprovechamiento de los especímenes colectados para fines comerciales, ni de utilización en biotecnología.





MEDIO AMBIENTE

SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES



2023
AÑO DE
Francisco
VILLA
EL REVOLUCIONARIO DEL CAMPO

Subsecretaría de Política Ambiental y Recursos Naturales Dirección General de Vida Silvestre

Oficio N° SPARN/DCVS/13886/23
Ciudad de México, a 15 de diciembre de 2023

Se recomienda que durante sus actividades de campo, en el caso de encontrar ejemplares de especies listadas en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, se notifique de ello (la especie, ubicación geográfica y la fecha) a esta Dirección General, en el informe de actividades antes mencionado.

La presente autorización es personal e intransferible y habrá de mostrarse a las Autoridades Federales, Estatales y Municipales cuantas veces lo soliciten.

El incumplimiento de las condiciones aquí establecidas, dará origen a la instauración de un procedimiento administrativo ante la autoridad competente, para proceder a la cancelación de la autorización y a la aplicación de la legislación correspondiente, según sea el caso.

ATENTAMENTE
LA DIRECTORA GENERAL DE VIDA SILVESTRE



BIÓL. MARÍA DE LOS ÁNGELES CAUICH GARCÍA

"Por un uso eficiente del papel, las copias de conocimiento de este asunto son remitidas vía electrónica".

C.c.e.p. Subsecretaría de Política Ambiental y Recursos Naturales: subsecretaria.parn@semarnat.gob.mx
Humberto Adán Peña Fuentes.- Comisionado Nacional de Áreas Naturales Protegidas: adan.pena@conanp.gob.mx
María Odetta Cervantes Bieletto.- Directora Frontera Sur, Istmo y Pacífico Sur.- ocervantes@conanp.gob.mx
Román Hernández Martínez.- Unidad Coordinadora de Oficinas de Representación y Gestión Territorial de la SEMARNAT: roman.hernandez@semarnat.gob.mx
Abraham Sánchez Martínez.- Encargado del Despacho de la Oficina de Representación de la SEMARNAT en el estado de Oaxaca.- abraham.sanchez@semarnat.gob.mx
Oscar Bolaños Morales.- Encargado de Despacho de la Oficina de Representación de Protección Ambiental de la PROFEPA en el Estado de Oaxaca.- oscar.bolanos@profepa.gob.mx
Omar Rocha Gutiérrez.- Director de Conservación de la Vida Silvestre.- omar.rocha@semarnat.gob.mx

Archivo General 09/K5-0949/09/23

c:oscar/colecta científica/proyecto_Javier Ruiz (huevos tortuga-campamento-Morro Ayuta) SUNIVS (15-12-23)

OERG/ABQ/SAOR/OCT





UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS
APARTADO POSTAL 70228
CIUDAD UNIVERSITARIA
04360 MÉXICO, D. F.

26 de mayo de 2023

ASUNTO: Carta aval licencia de colecta con propósito de enseñanza
en materia de vida silvestre

Biól. María de los Ángeles Cauich García
DIRECTORA GENERAL DE VIDA SILVESTRE
AV. EJÉRCITO NACIONAL 223, COL. ANÁHUAC, CIUDAD DE MÉXICO. C.P.
11320

El proyecto de investigación científica **“Efecto del factor temporal en el huevo de tortuga marina *Lepidochelys olivacea*, colectado en la playa de Morro Ayuta, Oaxaca”** a cargo de la Dra. Edith Graciela González Mondragón, Instituto de Agroindustria, Universidad Tecnológica de la Mixteca, tiene como propósito de enseñanza el análisis químico de huevos de tortuga golfina durante todo el período de arribadas, y su posible correlación con el éxito de eclosión.

En el Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, estamos enterados y conformes con el Plan de Trabajo propuesto, así como de sus alcances, objetivos y resultados esperados. Para tal fin, estamos de acuerdo con **ser aval** para las actividades científicas prevista en el proyecto de la Dra. González Mondragón, mencionado.

Finalmente, ponemos de manifiesto que conocemos lo establecido en el formato de Licencia de colecta científica o con propósitos de enseñanza en materia de vida silvestre. Modalidad B: Por proyecto, de la dependencia a su cargo.

ATENTAMENTE

Dr. Horacio Merchant Larios
Investigador Emérito
Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México