

Nota de Investigación/Research Note

Evaluation of the influence of two transport boxes on the incubation, hatching and emergence of Kemp's ridley turtle (*Lepidochelys kempii*) eggs

Evaluación de la influencia de dos cajas de transporte de huevos sobre la incubación, la eclosión y el nacimiento de crías de tortuga lora (*Lepidochelys kempii*)

ML Vázquez-Sauceda*, G Aguirre-Guzmán, R Pérez-Castañeda, JG Sánchez-Martínez, RR Martín-del Campo, J Loredó-Osti, JL Rábago-Castro

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Km. 5 Carretera Cd. Victoria-Mante, Tamaulipas, México. * E-mail: mvazquez@uat.edu.mx

Abstract

Anthropogenic activities directly and indirectly affect the life cycle of Kemp's ridley turtles (*Lepidochelys kempii*). The transport of sea turtle eggs in boxes helps to establish new nesting areas and increases the possibility of turtle survival. This study aimed to compare the effects of two types of transport boxes on egg incubation, hatching rate and turtle emergence: a conventional plastic crate-type box with polystyrene nets as egg protection, and an experimental plywood box with convoluted (egg carton) foam as egg protection. Both boxes were used to transport eggs from 40 *in situ* nests ($n = 20$ nests transported by each box system, with 89–97 eggs per nest) to the Tepehuajes station (Tamaulipas, Mexico), during the nesting season from 23 April to 31 May 2000. Incubation period, and hatching and emergence rates for both box systems were compared using Student's *t*-test. The results showed that the experimental box had a significant positive effect on hatching and emergence rates when compared with the conventional plastic box, representing a feasible alternative for nest translocation procedures.

Key words: Kemp's ridley turtle, *Lepidochelys kempii*, eggs, transport box.

Resumen

Las actividades antropogénicas afectan directa e indirectamente el ciclo de vida de la tortuga lora (*Lepidochelys kempii*). El transporte de huevos de las tortugas marinas contribuye al establecimiento de nuevas áreas de anidación e incrementa sus posibilidades de supervivencia. El objetivo de este trabajo fue comparar los efectos del uso de dos diferentes cajas de transporte de huevos de tortuga lora sobre el periodo de incubación, el porcentaje de eclosión y el nacimiento de las crías (proporción de crías que emergen del nido). Se utilizaron cajas convencionales de plástico con redes de poliestireno para la protección de los huevos y cajas experimentales de triplay con hule espuma con cavidades para la ubicación y protección de huevos. Ambas cajas fueron utilizadas para transportar huevos provenientes de 40 nidos (20 nidos transportados por cada sistema de cajas, con 89 a 97 huevos por nido), desde el sitio de anidación hacia el campamento tortuguero de Tepehuajes (Tamaulipas, México), durante la temporada de anidación del 23 de abril al 31 de mayo de 2000. El periodo de incubación y los porcentajes de eclosión y nacimientos de crías obtenidos con ambos sistemas de cajas fueron comparados con la prueba *t* de Student. Los resultados indican que la caja experimental tuvo un efecto significativamente positivo sobre el porcentaje de eclosión y nacimiento de crías, comparado al de la caja convencional de plástico, lo que representa una buena alternativa para los procedimientos de reubicación de nidos.

Palabras clave: tortuga lora, *Lepidochelys kempii*, huevos, caja de transporte.

Introduction

Sea turtle populations have been decreasing around the world due to anthropogenic impacts such as commercial over-exploitation, incidental and illegal catch, marine pollution, and destruction of coastal nesting areas by overdevelopment (Márquez *et al.* 1999, Coyne 2000, Trinidad and Wilson 2000, Troëng and Drews 2004, Hawkes *et al.* 2005, Witzell *et al.* 2005b). Kemp's ridley turtle (*Lepidochelys kempii*) was once the most abundant sea turtle in the Gulf of Mexico, where beaches along the coast of the Mexican state of Tamaulipas

Introducción

Las poblaciones de tortugas marinas han ido disminuyendo alrededor del mundo a causa de impactos antropogénicos como la sobreexplotación comercial, la pesca incidental e ilegal, la contaminación marina y la destrucción de las zonas costeras de anidación debido a un desarrollo excesivo (Márquez *et al.* 1999, Coyne 2000, Trinidad y Wilson 2000, Troëng y Drews 2004, Hawkes *et al.* 2005, Witzell *et al.* 2005b). La tortuga lora (*Lepidochelys kempii*) era la tortuga marina más abundante en el Golfo de México, donde las playas a lo largo de la costa del



Figure 1. Kemp's ridley turtle (*Lepidochelys kempii*) at a nesting beach in the Mexican state of Tamaulipas. Photo: J Figuerola-Sanchis.

Figura 1. Tortuga lora (*Lepidochelys kempii*) en una playa de anidación en el estado mexicano de Tamaulipas. Fotografía: J Figuerola-Sanchis.

(e.g., Rancho Nuevo, Barra del Tordo, Tepehuajes, etc.) constitute an important nesting area for this species (fig. 1) (Márquez *et al.* 1999, 2001; Witzell *et al.* 2005b).

Translocation of clutches is a common practice for the conservation of the Kemp's ridley turtle. The transport of eggs, after careful collection, involves their immediate deposit in a clean bag, bucket, basket, plastic box or polystyrene container, and covering them with some protective material to prevent the loss of temperature and moisture content. Egg packaging is an important component to insure the quality of transported eggs and to help prevent problems such as egg loss by shell damage, low embryo development or mortality due to rough movement during transport (Mortimer 1999). However, alternative box systems for transporting turtle eggs have not been evaluated.

The purpose of this work was to compare two types of egg transport boxes, a conventional plastic crate-type box and a newly designed box presented herein, by evaluating their influence on the clutches' incubation.

Material and methods

Study area

Tepehuajes beach (Tamaulipas, Mexico) is located on the Gulf of Mexico ($23^{\circ}30'1''$ N, $97^{\circ}46'8''$ W; fig. 2), near the Rancho Nuevo natural reserve, and encompasses a 47-km nesting area for Kemp's ridley turtle. Its southern limit is found at Barra Carrizo and its northern limit at Barra Soto la Marina. This beach is backed by fine sand dunes with an average height of 2.5 m (Márquez 1994).

Transport boxes

Two box systems for transporting sea turtle eggs were used. The first was a conventional plastic crate-type box (71 cm long

estado mexicano de Tamaulipas (e.g., Rancho Nuevo, Barra del Tordo, Tepehuajes, etc.) constituyen una importante zona de anidación para esta especie (fig. 1) (Márquez *et al.* 1999, 2001; Witzell *et al.* 2005b).

La reubicación de nidos es una práctica común en la conservación de la tortuga lora. Para transportar los huevos, después de haber sido cuidadosamente recolectados, es necesario que éstos sean colocados inmediatamente en una bolsa, cubeta, canasta, o caja de plástico o de poliestireno limpia, y cubiertos con algún material que los proteja para evitar la pérdida de humedad y temperatura. El empaque de los huevos es de suma importancia para asegurar su calidad durante el transporte y ayudar a evitar daños a la cáscara, reducido desarrollo embrionario o mortandad debida a movimientos bruscos durante el traslado (Mortimer 1999). Sin embargo, no se han evaluado sistemas alternativos de transporte de huevos.

El objetivo de este trabajo es comparar dos tipos de caja para transportar huevos, una caja convencional de plástico y una caja de nuevo diseño, cuyos efectos sobre la incubación de los nidos son aquí evaluados.

Material y métodos

Área de estudio

La playa de Tepehuajes (Tamaulipas, México) se localiza en el Golfo de México ($23^{\circ}30'1''$ N, $97^{\circ}46'8''$ W; fig. 2), cerca

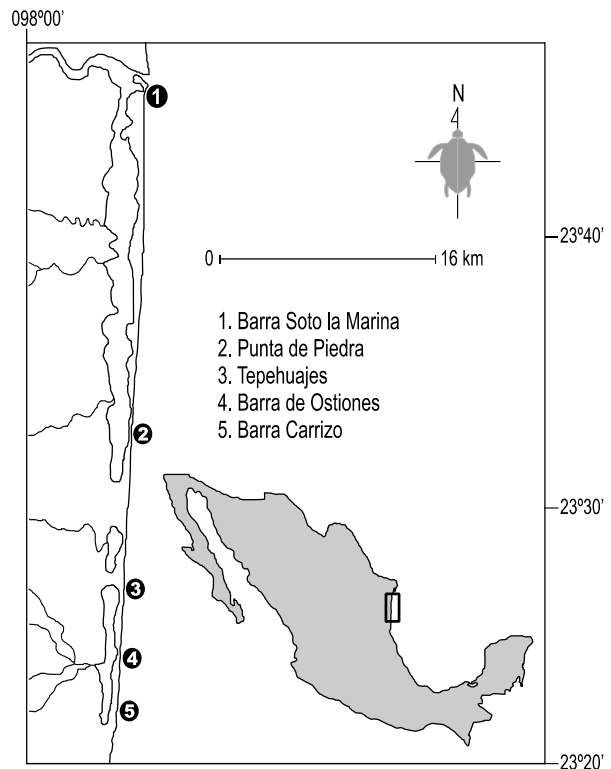


Figure 2. Location of the Kemp's ridley turtle (*Lepidochelys kempii*) nesting area on Tepehuajes beach, Tamaulipas, Mexico.

Figura 2. Localización de la zona de anidación de la tortuga lora (*Lepidochelys kempii*) en la playa de Tepehuajes, Tamaulipas, México.

× 35 cm wide × 35 cm high) filled with clean polystyrene mesh as egg protection. This box is commonly used to transport eggs for the conservation of the Kemp's ridley turtle in Tamaulipas. The second (experimental) transport box (fig. 3) was made from commercial plywood (80 cm long × 40 cm wide × 41 cm high), and was designed to be fitted with three drawers containing a double layer of grooved styrofoam, as in commercial egg cartons (McLean *et al.* 1983). Each drawer can hold 120 eggs for transport. The grooved styrofoam assures the least movement of the eggs during transport.

Egg handling

The experimental and conventional boxes were transported on two all-terrain motorcycles (Honda® 350 HP, each fitted with only one type of box system), which patrolled the beach during the nesting season from 23 April to 31 May 2000. Both box systems were used to transport eggs from a total of 40 *in situ* nests. Twenty nests (between 89 and 97 eggs/nest) were transported per box system.

Two neighboring nests were selected every time, usually corresponding to the first two new clutches laid the same date. Each clutch was randomly assigned to one of the two box systems and transported at the same time to the hatchery (each clutch was transported by only one type of box system). Turtle eggs were collected shortly after oviposition by gentle excavation, and carefully handled with clean hands devoid of any chemical residues. The mean time for translocation of eggs was completed within 50 ± 31 min of oviposition to minimize embryonic mortality due to handling. The designed hatching location (Tepehuajes station) is an open-air hatchery, secured from predators and poachers, which provides standard and appropriate conditions of moisture, temperature and gas exchange to support the developing embryos (Márquez 1994).

After emergence, the nest was examined to evaluate the percentage of hatching and emergence success, according to

de la zona de reserva natural Rancho Nuevo, y contiene una zona de anidación de tortuga lora de 47 km. Limita al sur con Barra Carrizo y al norte con Barra Soto la Marina. Esta playa se encuentra protegida por dunas de arena fina con una altura media de 2.5 m (Márquez 1994).

Cajas de transporte

Se utilizaron dos sistemas de cajas para transportar los huevos de las tortugas marinas. El primero es una caja convencional de plástico (71 cm de largo × 35 cm de ancho × 35 cm de altura) con redes limpias de poliestireno para la protección de los huevos. Este tipo de caja es comúnmente usado en el transporte de huevos para la conservación de la tortuga lora en Tamaulipas. El segundo (experimental, fig. 3) consiste de una caja de triplay comercial (80 cm de largo × 40 cm de ancho × 41 cm de altura), diseñada con tres cajones que tienen una doble capa de hule espuma con cavidades, similar a un cartón comercial de huevos (McLean *et al.* 1983). Cada cajón puede contener 120 huevos. El hule espuma acanalado asegura el menor movimiento posible de los huevos durante su transporte.

Manejo de los huevos

Las cajas experimentales y convencionales se transportaron en dos motocicletas todo terreno (Honda® 350 HP, cada una adaptada a un solo tipo de caja), las cuales patrullaron la playa durante la temporada de anidación del 23 de abril al 31 de mayo de 2000. Ambos tipos de caja fueron utilizados para trasladar huevos de un total de 40 sitios de anidación, transportando 20 nidos (entre 89 y 97 huevos/nido) por cada sistema de cajas.

En cada ocasión se seleccionaron dos nidos cercanos, los cuales normalmente correspondían a las primeras dos camadas puestas en la misma fecha. Cada camada fue asignada aleatoriamente a uno de los dos sistemas de cajas, pero se transportaron al mismo tiempo al campamento tortuguero (cada camada fue trasladada en un solo tipo de caja). Se recolectaron los huevos de tortuga poco después de la puesta, excavando y manejándolos cuidadosamente con las manos limpias, libres de cualquier residuo químico. La reubicación de los huevos se realizó en un promedio de 50 ± 31 min después de la postura, para minimizar la mortandad embrionaria debida al manejo. El campamento tortuguero de Tepehuajes es un criadero diseñado al aire libre, protegido de predadores y cazadores, que proporciona las condiciones normales y adecuadas de humedad, temperatura e intercambio de gases para albergar los embriones en desarrollo (Márquez 1994).

Después de la salida de las crías, los nidos se revisaban para evaluar los porcentajes de eclosión y nacimientos (crías que emergieron del nido), de acuerdo con lo estipulado por Hawkes *et al.* (2005). También se calculó el periodo de incubación (días entre la puesta de huevos y el nacimiento de las crías). Se aplicó una prueba *t* de Student para comparar las diferencias en el tiempo de incubación, el éxito de eclosión y el

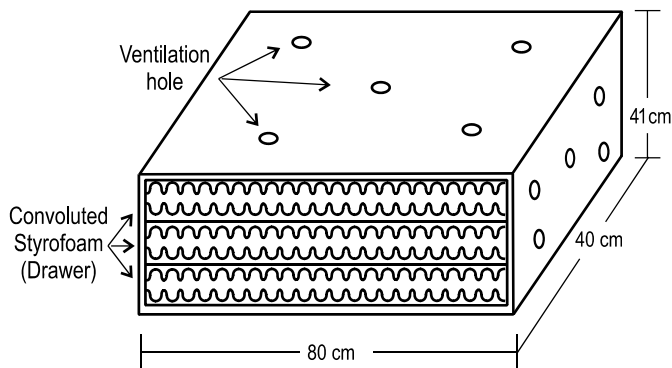


Figure 3. Design of the experimental transport box with convuluted (egg box) foam as principal material for egg protection.

Figura 3. Diseño de la caja experimental de transporte empleando hule espuma con cavidades (como un cartón para huevos) como material principal para la protección de los huevos.

Hawkes *et al.* (2005). The incubation period (days between oviposition and emergence) was also calculated. A *t*-test was applied to evaluate differences in egg incubation time, hatching success and emergence success between the experimental and conventional transport systems ($n = 20$, respectively) (Broker and Zar 1980). Assumptions of normality and homogeneity of variances were previously verified by Kolmogorov-Smirnov test ($P > 0.05$) and Bartlett's test ($P > 0.05$), respectively.

Results and discussion

The different egg transport systems evaluated did not significantly affect the incubation period ($P = 0.286$; fig. 4); however, a slightly shorter incubation time was observed for the eggs transported in the experimental box (49.05 ± 1.14 days)

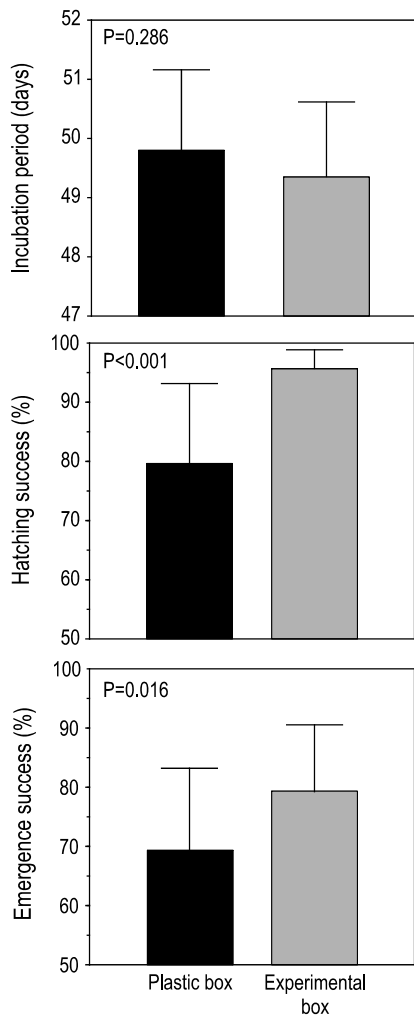


Figure 4. Incubation and nesting success parameters (mean $\pm$ SD) of translocated *Lepidochelys kempii* eggs using two different types of transport boxes.

Figura 4. Parámetros de incubación y éxito de anidación (media $\pm$ DE) de los huevos de *Lepidochelys kempii* trasladados utilizando dos tipos diferentes de cajas de transporte.

porcentaje de nacimientos entre las cajas de transporte experimentales y convencionales ($n = 20$, respectivamente) (Broker y Zar 1980), previa verificación del supuesto de normalidad y homogeneidad de varianzas mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov ($P > 0.05$) y Bartlett ($P > 0.05$), respectivamente.

Resultados y discusión

Ninguno de los dos sistemas de transporte de huevos evaluados afectó significativamente el periodo de incubación ($P = 0.286$; fig. 4); sin embargo, el tiempo de incubación de los huevos transportados en la caja experimental fue ligeramente menor (49.05 ± 1.14 días) que el de los transportados en la caja convencional de plástico (49.8 ± 1.36 días). Se encontraron diferencias significativas en los porcentajes de eclosión y nacimientos entre los huevos transportados con ambos sistemas. Los huevos transportados en la caja experimental presentaron un porcentaje de eclosión significativamente mayor ($95.65 \pm 3.20\%$) en comparación con lo que se encontró ($79.63 \pm 13.52\%$) para los trasladados en la caja de plástico ($P < 0.001$; fig. 4). Asimismo, el porcentaje de nacimientos fue mayor en los huevos transportados en la caja experimental ($79.34 \pm 11.21\%$) que lo registrado ($69.35 \pm 13.84\%$) para los huevos transportados en la caja de plástico ($P = 0.016$; fig. 4).

El tiempo que transcurre durante el traslado de los huevos es importante y se recomienda que éste se realice en un periodo de 1–6 h (Boulon 1999), preferentemente antes de 2 h después de la puesta (Mortimer 1999). La recolección y el transporte de los huevos en este estudio se realizó en 50 ± 31 min, dentro del intervalo de tiempo recomendado. Además, no se observaron efectos significativos sobre el tiempo de incubación de los nidos trasladados con los dos sistemas de transporte. Esto sugiere que las condiciones de transporte (temperatura, humedad, tiempo) resultaron similares para ambos sistemas, así como en el sitio de eclosión.

Los resultados mostraron que la caja experimental tuvo un efecto significativamente positivo sobre el éxito de eclosión y nacimiento de las crías, en comparación con la caja convencional de plástico (fig. 4). El porcentaje de nacimientos obtenido para los huevos transportados en la caja de plástico (control) empleada en este trabajo (69.35%) es similar a lo registrado (67%) por Witzell *et al.* (2005b) para nidos reubicados de esta especie, aunque estos valores son menores a los obtenidos para los huevos transportados en la caja experimental (79.34%).

Las investigaciones realizadas con tortuga lora (*L. kempii*) incluyen estudios sobre parámetros reproductivos, tamaño, diámetro y peso de los huevos, periodo de incubación, éxito de eclosión y supervivencia de los adultos (Coyne 2000, Trinidad y Wilson 2000, Witzell *et al.* 2005a, b). En el presente trabajo se comparó la eficiencia de una caja experimental con doble capa de hule espuma con cavidades (como un cartón para huevos) como principal material protector de los huevos, con la de una caja convencional de plástico rellena de redes de poliéster. Los resultados sugieren que el diseño y los materiales de

relative to those transported in the conventional plastic box (49.8 ± 1.36 days). Significant differences were found in hatching and emergence success between the eggs transported by both systems. A significantly higher percentage of hatched eggs ($95.65 \pm 3.20\%$) was observed for the eggs transported in the experimental box, when compared with that found ($79.63 \pm 13.52\%$) for those transported in the plastic box ($P < 0.001$; fig. 4). Likewise, emergence success for eggs transported in the experimental box was higher ($79.34 \pm 11.21\%$) than that recorded ($69.35 \pm 13.84\%$) for eggs transported in the plastic box ($P = 0.016$; fig. 4).

The timing of egg translocation is important, and it is recommended that it be completed within a 1–6 h time frame (Boulon 1999), preferably within 2 h of oviposition (Mortimer 1999). Egg sampling and transport time in the present study was 50 ± 31 min, well within the recommended time interval. In addition, no significant effects on the incubation time were found for translocated nests using the two egg transportation systems. This suggests that transport conditions (temperature, moisture, time) were similar for both systems, as well as at the hatching site.

The results showed that the experimental box had a significant positive effect on hatching and emergence success when compared with the conventional plastic box system (fig. 4). The emergence success of the eggs transported in the conventional plastic box (control) used in this work (69.35%) is similar to that reported (67%) by Witzell *et al.* (2005b) for translocated nests of this species, though these values are lower than that found for the eggs transported using the experimental box (79.34%).

Research on the Kemp's ridley turtle (*L. kempii*) has included studies on its reproductive parameters, size, egg diameter and weight, incubation period, surfacing success, and adult survival (Coyne 2000, Trinidad and Wilson 2000, Witzell *et al.* 2005a, b). In this study, experimental boxes using a double layer of convoluted styrofoam (like an egg carton) as the main material for egg protection were compared against mesh-filled conventional plastic crate-type boxes. The results suggest that the experimental box design and materials provided favorable conditions for egg transport, representing a feasible alternative for nest translocation procedures, increasing embryo survival and production of *L. kempii* hatchlings that could aid in the conservation of this sea turtle species. Additional research, however, should be conducted to determine conditions and factors associated with successful egg transport.

References

Boulon JRH. 1999. Reducing threats to eggs and hatchlings: *In situ* protection. In: Eckert KL, Bjorndal KA, Abreu-Grobois FA, Donnelly M. (eds.), Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles. IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication No. 4, pp. 169–174.

la caja experimental proporcionaron condiciones favorables para el transporte de huevos, por lo que representan una buena alternativa para los procedimientos de reubicación de nidos e incrementan la supervivencia embrionaria y producción de crías de *L. kempii*, lo que contribuiría a la conservación de esta especie de tortuga marina. No obstante, se requieren mayores estudios para determinar las condiciones y los factores asociados al transporte exitoso de los huevos.

Traducido al español por Christine Harris.

- Broker JE, Zar JH. 1980. Field and Laboratory Methods for General Ecology. 1st ed. Brown Company Publishers, Iowa, 27 pp.
- Coyne MS. 2000. Population sex ratio of the Kemp's ridley sea turtle (*Lepidochelys kempii*): Problems in population modeling. Ph.D. thesis, Texas A&M University, USA.
- Hawkes LA, Broderick AC, Godfrey MH, Godley BJ. 2005. Status of nesting loggerhead turtles *Caretta caretta* at Bald Head Island (North Carolina, USA) after 24 years of intensive monitoring and Conservation. *Oryx* 39: 65–72.
- Márquez R. 1994. Synopsis of biological data on the Kemp's ridley turtle, *Lepidochelys kempii* (Garman 1880). US Department of Commerce, NOAA Tech. Memo. NMFS-SEFSC-343.
- Márquez R, Díaz J, Sánchez M, Burchfield P, Leo A, Carrasco M, Peña J, Jiménez C, Bravo R. 1999. Results of the Kemp's ridley nesting beach conservation efforts in Mexico. *Mar. Turtle Newslett.* 85: 2–4.
- Márquez R, Burchfield P, Carrasco MA, Jiménez C, Díaz J, Garduño M, Leo A, Peña J, Bravo R, González E. 2001. Update on the Kemp's ridley turtle nesting in Mexico. *Mar. Turtle Newslett.* 92: 2–4.
- McLean K, Dutton P, Whitmore C, Mrosovsky N. 1983. A comparison of three methods for incubating turtle eggs. *Mar. Turtle Newslett.* 26: 7–9.
- Mortimer JA. 1999. Reducing threats to eggs and hatchlings: Hatcheries. In: Eckert KL, Bjorndal KA, Abreu-Grobois FA, Donnelly M. (eds.), Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles. IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication No. 4, pp 175–181.
- Trinidad H, Wilson J. 2000. The bio-economics of sea turtle conservation and use in Mexico: History of exploitation and conservation policies for the olive ridley (*Lepidochelys olivacea*). In: Microbehavior and Macroresults. Proc. Tenth Biennial Conference of the International Institute of Fisheries Economics and Trade, Oregon State University, 10–15 July.
- Troëng S, Drews C. 2004. Money Talks: Economic Aspects of Marine Turtle Use and Conservation. WWF-International, Gland, Switzerland, 64 pp.
- Witzell WN, Geis AA, Schmid JR, Wibbels T. 2005a. Sex ratio of immature Kemp's ridley turtles (*Lepidochelys kempi*) from Gullivan Bay, Ten Thousand Islands, south-west Florida. *J. Mar. Biol. Assoc.* 85: 205–208.
- Witzell WN, Salgado-Quintero A, Garduño-Dionte M. 2005b. Reproductive parameters of the Kemp's ridley sea turtle (*Lepidochelys kempii*) at Rancho Nuevo, Tamaulipas, Mexico. *Chelonian Conserv. Biol.* 4: 781–787.

Recibido en febrero de 2007;
aceptado en octubre de 2007.