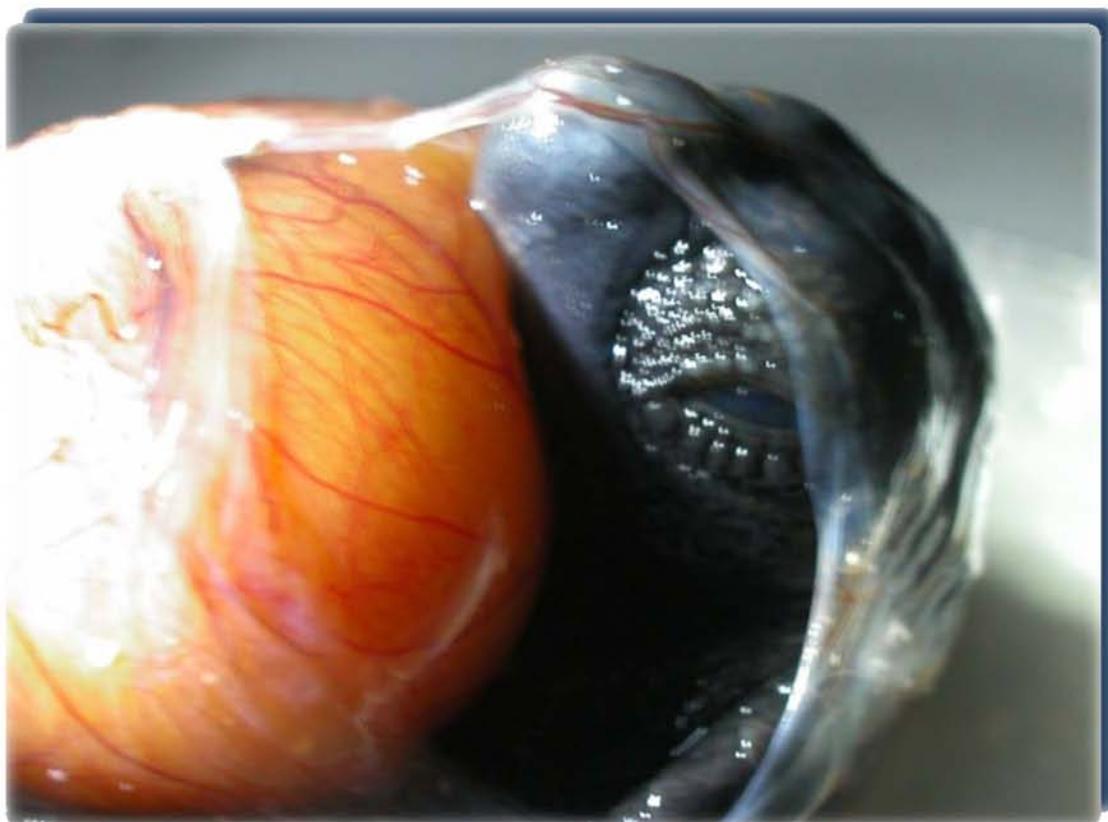


Desarrollo embrionario de *Caretta caretta*: análisis descriptivo de su evolución morfológica.



Autora: Rosa M^a García Cerdá

Director: Luis Felipe López-Jurado

Desarrollo embrionario de *Caretta caretta*: análisis descriptivo de su evolución morfológica.

Rosa M^a García Cerdá

Departamento de Biología Universidad de Las Palmas de Gran Canaria,
Campus de Tafira, 3507 Las Palmas, Islas Canarias España
e-mail:Rosamari_g_cerda@msn.com

Resumen

Una de las acciones más importantes para la protección y conservación de una especie considerada en peligro de extinción como es la tortuga común (*Caretta caretta*), es asegurar el incremento del reclutamiento anual. En el caso de la población nidificante de *Caretta caretta* de la isla de Boavista, República de Cabo Verde, dicha tarea no es sencilla, debido en gran parte a las altas tasas de mortalidad embrionaria. Sin embargo, por este mismo motivo el estudio de la embriogénesis puede llegar a ser una útil herramienta para intentar asegurar mejores tasas de emergencia, impulsando así la protección de esta especie.

El presente trabajo, realizado en el sureste de la isla de Boavista durante las temporadas comprendidas entre julio y septiembre del año 2007, así como desde agosto hasta octubre del año 2008, propone nuevos criterios para la clasificación del grado de desarrollo embrionario de esta especie, mediante el análisis de 199 embriones procedentes de 16 nidos incubados en condiciones naturales; teniendo en cuenta que la variabilidad de factores ambientales como la temperatura pueden causar asincronía durante la embriogénesis.

Abstract:

One of the most important actions for the protection and conservation of a species in high danger of extinction as is the loggerhead turtle (*Caretta caretta*), is to assuring the increment of the annual recruitment. In the nesting population of *Caretta caretta* in Boavista island, Republic of Cape Verde, task is not simple, due to a large extent to the high embryonic mortality rates. Nevertheless, by this same motive the study of the embryogenesis can carry to be an useful tool to try to assure better rates of emergency, prompting thus the protection of this species.

The present work carried out in the southeast of the Boavista island during the seasons understood between July and September of 2007, as well as from August to October of 2008, proposes new describing for the classification of the rates of embryonic development by means of the analysis of 199 embryos, originating in 16 nests incubated in natural conditions, keeping in mind the changeability of environmental factors as the temperature like possible causes of asynchronous during the embryonic development.



Introducción

En la actualidad podemos encontrar siete especies de tortugas marinas, *Caretta caretta*, *Chelonia mydas*, *Eretmochelys imbricata*, *Lepidochelys kempii*, *Lepidochelys olivacea*, *Dermochelys coriácea* y *Natator despressus*. Este grupo de reptiles pertenecientes a las familias Cheloniidae y Dermochelyidae, inició su evolución en el Triásico, concretamente al inicio del Mesozoico hace unos 200 millones de años, extinguiéndose la mayor parte de ellos entre el Cretácico (136 millones de años) y el Cenozoico (65 millones de años), sobreviviendo hasta nuestros días sólo este conjunto notablemente reducido de especies (Pritchard, 1997).

Durante el transcurso del pasado siglo XX las poblaciones a nivel mundial de tortugas marinas han experimentado un rápido descenso, motivado en su mayor parte por las actividades antropogénicas, destacando el consumo humano de carne y huevos, la captura accidental en las artes de pesca, el deterioro de las áreas de alimentación por vertidos de crudo y desechos químicos, la ingesta de plásticos no degradables así como por la reducción y destrucción de las zonas de anidación debido al desarrollo turístico en las zonas costeras. Por todo ello, las tortugas marinas se encuentran catalogadas entre las especies “En peligro crítico”, “En peligro” y “Vulnerables” por la Unión Mundial para la Naturaleza (UICN, 1996). En concreto la especie de tortuga marina *Caretta caretta*, objeto de este trabajo, está protegida en todo el mundo, considerada en peligro de extinción (UICN, 1996) y citada en el Anexo I del Convenio de Washington (CITES) y Anexo II del Convenio de Berna, Anexo I del Convenio de Bonn (Especies migratorias) y Anexo II de la Directiva de Hábitats de la Unión Europea como especie “prioritaria”.

Una importante medida para la conservación y protección de esta especie es incrementar el reclutamiento anual mediante la disminución de las tasas de mortalidad embrionaria. En las últimas décadas las tasas de supervivencia de los huevos se han reducido drásticamente en todo el mundo. Los riesgos durante la incubación se deben en gran parte a causas naturales tales como la inundación del nido por el flujo de mareas, la desecación o erosión de las playas. Esto se ve reforzado por el expolio de nidos por el

hombre, el exceso de depredación, en muchos casos por animales domésticos y de la acumulación de contaminantes en los huevos.

Las tortugas marinas son animales con un ciclo de vida muy complejo, caracterizado por una reproducción ovípara, un lento crecimiento, una tardía madurez sexual y migraciones a través del océano desde las aéreas de alimentación hacia las zonas de reproducción. Para la población de *Caretta caretta* de la isla de Boavista, República de Cabo Verde, la época de reproducción, abarca los meses de junio a diciembre. Durante este periodo, las hembras salen a las playas para depositar los huevos en nidos construidos en la arena a una profundidad media de 45 cm. Presentan un intervalo medio de anidación entre puestas de una misma temporada de 15 días y un intervalo entre temporadas de dos años y medio (Cejudo et al, 2000, López-Jurado et al, 2002). El número de nidos que una hembra de tortuga común deposita por temporada oscila entre uno y siete, con una media de 80 huevos por nido. El período de incubación de los mismos comprende entre 45 y 74 días, según la temperatura de incubación; tras el cual tiene lugar la eclosión y posterior emergencia de los neonatos para dirigirse al mar. (Varo- Cruz, Cejudo, López-Jurado, 2007).



El desarrollo embrionario en tortugas marinas está altamente influenciado por los factores ambientales que rodean al nido. De este modo, temperatura, salinidad, humedad, presión parcial de O₂ y CO₂, tipo de sustrato, etc., son parámetros fundamentales para determinar las características del desarrollo y la calidad en las tasas de eclosión y emergencia (Bustard and Greenham, 1968; Ackerman, 1977, 1980,1981a, b; McGehee, 1979; Kraemer and Bell, 1980; Mrosovsky, 1980; Parmenter, 1980).

Estudios sobre los distintos efectos de la temperatura durante la incubación, nos indican que el tiempo de incubación está altamente correlacionado con la temperatura, de modo que a mayores temperaturas de incubación obtenemos menores tiempos de desarrollo, que indirectamente se traduce en un incremento del metabolismo embrionario y una temprana emergencia (Ackerman, 1997; Houghton et al., 2001). Del mismo modo sabemos que la temperatura durante el segundo tercio del tiempo de incubación determina el sexo de los neonatos, obteniéndose un mayor porcentaje de machos a menores temperaturas (Mrosovsky et al., 2002). También es conocido que los gradientes térmicos dentro del nido pueden influir en la secuencias de emergencia (Houghton et al., 2001) y así mismo, es inequívoco que durante su desarrollo los embriones generan CO₂, consumen O₂ y H₂O del medio, cuyos gradientes dentro del nido pueden afectar al éxito de eclosión (Ralph et al., 2005).

El estudio de dichos parámetros ambientales, a pesar de que aportan valiosa información acerca de cuáles son las condiciones óptimas de incubación, son solo una medida indirecta del desarrollo embrionario. Dentro del campo de la embriogénesis de tortugas, los trabajos más recientes están basados en incubación artificial a temperatura constante (Yntema, C.L., 1968; Miller, 1982). Durante más de dos décadas no se han llevado a cabo nuevos estudios sobre este tema. Por nuestra parte estamos seguros que el desarrollo embrionario en las tortugas marinas constituye un episodio fundamental del ciclo vital de estos reptiles. De él dependerá más tarde la viabilidad de cada individuo incluida su supervivencia, su éxito reproductivo y su contribución a la evolución de la especie. Por tanto el estudio de la embriogénesis bajo condiciones ambientales naturales puede aportarnos una excelente información para mejorar las técnicas experimentales de incubación en playa e incrementar el reclutamiento de neonatos en cualquier población de *Caretta caretta*, para con ello contrarrestar la mortalidad embrionaria natural y contribuir de forma efectiva a la conservación de la especie.



Objetivo general

Establecer una clasificación del grado de desarrollo embrionario para *Caretta caretta*, basada en la descripción de los caracteres anatómicos externos distinguibles “de visu”, de modo que facilite el reconocimiento “in situ” del grado de maduración embrionaria utilizando como índice el tiempo de incubación. Dicha clasificación, nos permitirá simultáneamente determinar la asincronía en el grado de desarrollo embrionario en nidos incubados bajo condiciones ambientales por efecto de la variación de la temperatura durante la incubación.

Material y métodos

Área de estudio

El archipiélago de Cabo Verde está compuesto por 10 islas principales y varios islotes de origen volcánico, situados en el océano Atlántico a unos 1.300 Km al sur de las Islas Canarias y a unos 500 Km al oeste de Senegal.

La campaña para la obtención de datos se realizó en la isla de Boavista ($14^{\circ}55^{\circ}$ N $23^{\circ}31^{\circ}$ O), situada en la zona de barlovento del Archipiélago (Figura 1.). Dicha isla alberga la tercera población más importante de tortuga común (*Caretta caretta*) a nivel mundial (SWOT Report, Vol. II), en parte gracias a su baja densidad de habitantes y en parte por sus aproximadamente 60 Km de playas vírgenes y su clima subtropical.

El muestreo se llevó a cabo en el sudeste de la isla, debido a que dicha zona presenta una amplia extensión de playas con elevadas tasas de nidificación por temporada. Dichas playas son en sentido sudeste-sur sudeste Ladjedo Teixeira, Calheta, Ervatao, Punta Cosme, Barrosas y Joao Barrosa.



Figura 1. Localización geográfica del Archipiélago de Cabo Verde, y de la Isla de Boavista.

Obtención de muestras y protocolo de actuación

Para la población de tortuga común (*Caretta caretta*), del archipiélago de Cabo Verde la época de puesta comprende desde el mes de junio hasta el mes de diciembre y el tiempo de incubación de los nidos de dicha especie es por término medio de 56 días (Varo- Cruz, Cejudo, López-Jurado, 2007). Estos dos parámetros delimitan nuestro tiempo de muestreo. Teniendo esto presente las muestras se obtuvieron durante la temporada de anidación del 2007, entre el 24 de julio y el 19 de septiembre, y entre el 14 de agosto y el 7 de octubre durante la temporada del 2008. Dichos intervalos se corresponden con el tiempo de incubación de los nidos cuyos embriones se analizan en este trabajo.

Para la realización del muestreo se seleccionaron 16 nidos situados en lugares altamente desfavorables para el desarrollo de los embriones en las playas de Punta Cosme y Ervatão. Se consideran condiciones desfavorables para la incubación aquellas condiciones que peseteen los nidos donde se han obtenido tasa de eclosión inferior a 25% durante los 10 años de trabajo realizado en la isla de Boavista (Varo- Cruz, Cejudo, López-Jurado, 2007). Dichas condiciones pueden ser factores naturales o antropogénicos tales como, frecuente inundación por las mareas, sequedad excesiva de los huevos debido a la lejanía del nido a la línea de marea alta, sustrato desfavorable por el alto contenido en piedras o arcilla, presencia de vegetación, depredadores, actividades de tipo turístico, tránsito de vehículos, etcétera.

Los nidos seleccionados posteriormente fueron trasladados a un área de incubación controlada* situada entre ambas playas (Figura 2.). La reubicación de nidos a un criadero es una estrategia utilizada en todo el mundo, cuyos resultados han demostrado a lo largo del tiempo que constituyen una poderosa herramienta de conservación. En dichas áreas de incubación controlada se obtienen altos porcentajes de emergencia y se consigue una razonable estandarización de las condiciones de incubación para los nidos seleccionados, debido a que en dichas áreas todos los nidos experimentan condiciones de incubación muy similares en cuanto a parámetros tales como, profundidad del nido, temperatura, humedad del sustrato y características del sedimento; los cuales en las playas son altamente variables.

***Ver Glosario en Anexo II.**



Figura 2. Área de incubación controlada situada en la playa de Benguinho, entre las playas de Ervatão y Punta Cosme. Cada uno de las estacas que se observan identifica a un nido reubicado.

El seguimiento estricto de un protocolo de actuación proporciona relevante información sobre el manejo y seguimiento de los nidos muestreado. De forma esquemática podemos describir la metodología que se llevo a cabo con los nidos seleccionados en las siguientes fases (Figuras de 3 a 6):

- I. Colecta de huevos en playa y transporte en un contenedor isoterma o en una bolsa plástica para su posterior reubicación en la zona de incubación controlada.
- II. Excavación en el área de incubación controlada de un nido artificial en una parcela de $0,49 \text{ m}^2$ (0,7 m de largo x 0,7 m de ancho), reproduciendo la forma de matraz de los nidos naturales y a una profundidad media de 45 cm.
- III. Censo y colocación de los huevos en el nido artificial.
- IV. Cierre del nido.
- V. Seguimiento de las condiciones de incubación y del desarrollo en embrionario.
- VI. Control y monitoreo de las emergencia.
- VII. Obtención de datos cualitativos y cuantitativos.
- VIII. Liberación de neonatos.
- IX. Exhumación de los nidos, una vez superado el tiempo de incubación y después de entre 2 y 7 días desde la última emergencia.
- X. Censo y separación de las cascaras y huevos no eclosionados agrupados por estadios del desarrollo



Fotos de 3 a 6. Procedimiento estándar de reubicación y monitoreo de los nidos del área de incubación controlada.

Metodología

Los 10 nidos seleccionados durante la temporada del año 2007, se dividieron en dos grupos de cinco nidos. Del primer grupo, se extrajo un huevo de cada nido durante la primera mitad de la incubación, con un intervalo de dos días entre extracción. Del segundo grupo de nidos se colectó igualmente un huevo de cada nido durante la segunda mitad de la incubación con los mismos intervalos de colecta, considerando 56 días como valor medio del tiempo de incubación. Este procedimiento fue seleccionado porque, por un lado, huevos de cinco nidos diferentes nos permiten evaluar la plasticidad temporal que podría existir durante el desarrollo embrionario en esa ventana temporal. Por otro lado, los nidos de los que se extrajeron huevos durante la segunda mitad de la incubación fueron diferentes de los de la primera extracción para evitar la alteración de las condiciones de incubación debido a la constante manipulación de los nidos y a la pérdida constante de huevos. Fundamentalmente la disminución del número de huevos altera sustancialmente el calor metabólico desprendido por el nido por lo cual se alteraría la ecología del nido durante el resto del periodo de incubación. Para validar

los resultados obtenidos, se realizó un segundo análisis con 6 nidos (3 nidos para la primera mitad de la incubación y 3 nidos en la segunda mitad), en la temporada del año 2008. Dichos nidos fueron muestreados con idéntica metodología. Destacar que el total de embriones muestreados es 199, lo cual equivale aproximadamente a tres nidos completos de los 865 que fueron trasladados a las aéreas de incubación controlada durante las temporadas en las que se llevo a cabo el estudio.

Una vez obtenidos los huevos se procedía a la extracción de los embriones. Para ello previamente se sumergía el huevo en formol a 4% durante aproximadamente unos 10 minutos con el fin de extraer el embrión sin vida. Seguidamente se procedía a abrir el huevo con un bisturí, se separaba la albumina y el vitelo y con unas pinzas metálicas se retiraba el embrión. Una vez aislado este, se realizaba una descripción de las características anatómicas más destacables y se tomaban los datos biométricos. Al inicio del desarrollo debido al pequeño tamaño de los embriones, dicha descripción se llevo a cabo con la ayuda de una lupa; pero a medida que aumentaba el tamaño, la descripción se realizo a simple vista. Mediante un calibre digital con un rango de medida entre 0-150 mm, se obtuvo el largo recto total del embrión (LRT) (Figura 7.), largo recto del caparazón y ancho recto del caparazón (LCR, ACR). Finalmente los embriones se fijaron en etanol al 70% para su conservación y posterior análisis en el laboratorio.

Durante todo el periodo de incubación se registro la temperatura a intervalos de media hora mediante un Temp Logger Anset situado en el centro del nido. Los datos fueron analizados y representados con el programa Statistica 6.0.



Figura 7. Obtención de los datos biométricos en un embrión de *Caretta caretta*.

Resultados

Estadíos del Desarrollo Embrionario

Mediante el muestreo realizado se obtuvo un total de 199 embriones. Analizando los caracteres anatómicos externos de los mismos y según las características tanto “in situ”, como posteriormente en el laboratorio, se obtuvo la descripción del grado del desarrollo embrionario en función del tiempo de incubación para esta población de tortuga común (*Caretta caretta*).

Estadío I:

0 días – de 7 a 14 horas de incubación:



Caracteres Diferenciadores:

- A- No se aprecia “White Spot”***
- B- Albumina densa**
- C- No está formado el escudo embrionario****
- D- El embrión no se vislumbra**

El embrión no es visible y no se aprecia escudo embrionario; por lo tanto no se puede diferenciar el polo animal* del vegetativo*.

El huevo se caracteriza por tener la albumina muy densa que recubre completamente al vitelo. Este se sitúa en su centro y presenta una textura menos compacta que la del albumina circundante.

*Ver Glosario en Anexo II.

** Definido en el texto.



Estadío II

2 días- 3,6% del periodo de incubación:

Caracteres Diferenciadores:

- A- “White Spot” cubre 20-30% de la superficie de la cascara**
- B- Albumina de menor densidad**
- C- Escudo embrionario formado**
- D- Embrión visible de pequeño tamaño**

La albumina presenta un aspecto menos denso respecto al estadio I. El embrión ya es visible pero se diferencia con mucha dificultad debido a su pequeño tamaño. La presencia del embrión indica una migración del mismo hacia la parte superior del vitelo y la formación de la zona de fijación embrionaria denominada “escudo embrionario o disco germinativo”. De este modo el huevo se diferencia en dos estratos, la parte superior donde se sitúa el polo animal o germinativo y la inferior donde se encuentra el polo vegetativo. El escudo embrionario está claramente definido, este originara la formación de las membranas extraembrionarias.



Esquema 1. Ejemplo del desarrollo embrionario en un huevo de esturión tras pocas horas desde la fertilización. Chapman F.A. and Van Eenennaam J. (2007) Sturgeon Aquaculture - Specialized Techniques Determining the Stage of Sexual Maturity in Female Sturgeon for Artificial Spawning. The Egg Maturation Assay. Fisheries and Aquatic Sciences Department, Florida



Estadío III

4 días - 7,1 % del periodo de incubación

Caracteres Diferenciadores:

A- “White Spot” cubre el 50% de la cascara

B- Albumina fluida

C- Embrión de aspecto filamentoso

D- Presenta el tubo neural levemente plegado**

E- Inicio del área vascularen las membranas extraembrionarias****

El embrión presenta una morfología filamentosa y un tamaño medio de 6,11 mm. Esta formado externamente por el ectodermo, presentando un aspecto translucido. Se encuentra sobre el vitelo y unido a la cascara mediante las membranas extraembrionarias (saco vitelino*, corioalantoides* y amnios*). Se aprecian débilmente los primeros vasos sanguíneos, que bordean al saco vitelino y el corioalantoides, lo que recibe el nombre de área vascular. De este modo comienza a formarse un sistema básico de circulación vitelina para el aprovisionamiento de las sustancias nutritivas al embrión contenidas en el vitelo; así como un sistema para el intercambio de gases y la excreción de sustancias nitrogenadas mediante la red de vasos que irrigan el corioalantoides

No se aprecian estructuras internas, ni externas claramente desarrolladas, excepto un cordón central que se corresponde con el primitivo tubo neural o nervioso. Dicho tubo por su extremo anterior se pliega ventralmente para posteriormente dar lugar a la formación del conjunto craneofacial y de los esbozos del cerebro.

En este estadío el polo animal se caracteriza por vitelo muy denso y membranas extraembrionarias poco desarrolladas, mientras que en el polo vegetativo la albumina se hace cada vez más fluida.

***Ver Glosario en Anexo II.**

**** Definido en el texto.**



Estadío: IV

6 días - 10,7% del periodo de incubación

Caracteres Diferenciadores:

- A- “White Spot” envuelve entre 70 y el 90 % de la cascara**
- B- Son distinguibles los esbozos cerebrales**
- C- Inicio de la estructura craneofacial**
- D- Inicio de la vesícula óptica***
- E- Formación primitivo maxilar**
- F- Incremento de la red vascular en la membranas extraembrionarias**

El embrión muestra una morfología corporal básica, con un tamaño medio de 9,6 mm. El plegamiento neural es evidente, pudiéndose observar los esbozos del cerebro (posterior, medio y anterior), y el inicio de la formación del conjunto craneofacial, donde se reconoce ligeramente la vesícula óptica primaria y la formación primitiva de la estructura maxilar.

Las membranas extraembrionarias están en desarrollo, destacando una red de vasos sanguíneos ligeramente más desarrollados.



Esquema 2. Embrión de *Caretta caretta*, 10 días de incubación.

***Ver Glosario en Anexo II.**



Estadío V

8 días - 14,3% del periodo de incubación

Caracteres Diferenciadores:

- A- “White Spot” recubre el 100% de las cascara**
- B- Esbozos cerebrales desarrollados**
- C- Vesícula óptica primaria formada**
- D- Se evidencia la formación maxilar**
- E- Engrosamiento torácico relacionado con el desarrollo endocardiaco**
- F- Esbozos de las extremidades anteriores**
- G- Esbozo de diferenciación de la cola en la zona pélvica**

El embrión presenta la morfología embrionaria típica, con un tamaño medio de 12 mm, no obstante no es posible diferenciar claramente entre la zona pélvica de la cola. La formación craneofacial y los esbozos cerebrales están visiblemente desarrollados. La vesícula óptica primaria se aprecia notoriamente como una depresión ocular y la formación maxilar se hace más evidente. Se observan evidencias del desarrollo endocardiaco caracterizado por un engrosamiento de la zona torácica. A ambos lados de dicho engrosamiento se aprecian los esbozos de las extremidades anteriores.

Se incrementa el desarrollo de los vasos sanguíneos del saco vitelino y coralandoide extendiéndose hacia las proximidades del embrión.



Estadio VI

10 días - 17,9 % del periodo de incubación

Caracteres Diferenciadores:

- A- Formación de la cúpula óptica**, levemente pigmentada**
- B- Inicio de la diferenciación maxilar**
- C- Evidencias de órganos internos**
- D- Red de vasos circulatorios internos**
- E- Esbozos de extremidades posteriores**
- F- Cola alargada y puntiaguda**
- G- Gran complejidad de la red capilar en las membranas extraembrionarias**

El embrión presenta un tamaño medio de 14 mm y un aspecto más opaco. La formación craneofacial se presenta mejor desarrollada, debido a una vesícula óptica primaria que comienza a pigmentarse y que se invagina localmente para formar la vesícula óptica secundaria o cúpula óptica. Así mismo comienza la diferenciación entre la estructura maxilar superior e inferior o mandibular. Se hace evidente el desarrollo de los órganos internos, tales como los tubos endocardios (precursores del corazón) y los esbozos del tracto digestivo, así como los vasos sanguíneos internos. Destacando la irrigación central y encefálica. Incrementa el desarrollo de las extremidades anteriores tomando forma de manopla y comienza a apreciarse los esbozos de las extremidades posteriores. Destaca una cola larga y puntiaguda.

Las membranas extraembrionarias incrementan su desarrollo, lo cual es evidente por la mayor complejidad de la red circulatoria vitelina y corioalantoidea.

**** Definido en el texto.**



Estadío VII

12-16 días – 25% del periodo de incubación

Caracteres Diferenciadores:

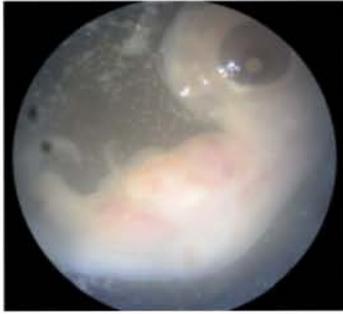
- A- Cúpula óptica pigmentada excepto la pupila**
- B- Extremidades anteriores y posteriores bien delimitadas**
- C- Cola larga plegada entre la extremidades posteriores**
- D- Comienza a desarrollarse el espaldar****
- E- Arterias y venas vitelinas claramente definidas**

El embrión muestra un tamaño medio comprendido entre los 16 y los 18,5 mm. De la evolución craneofacial, destaca la cúpula óptica claramente pigmentada a excepción de la pupila y la evidente diferenciación entre las estructuras maxilar y mandibular. Se parecía un mayor desarrollo de los órganos internos y del sistema circulatorio. Observamos claramente la formación de la manopla en las extremidades anteriores y posteriores. Inicio el desarrollo del espaldar (parte dorsal de caparazón) como un engrosamiento desde la base del cráneo hasta los esbozos de las extremidades posteriores. Las membranas extraembrionarias presentan una red compleja de vasos sanguíneos, destacando las arterias y venas vitelinas y corioalantoideas en contacto con el embrión y precursoras del tubo vitelino y el cordón umbilical.



Esquema 3. Embrión de *Caretta caretta*, 14 días de incubación.

**** Definido en el texto.**



Estadío VIII

18 días -32,1% del periodo de incubación

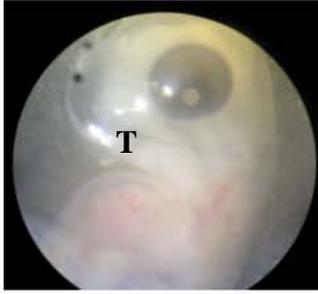
Caracteres Diferenciadores:

- A- Completado de desarrollo encefálico**
- B- Se intensifica la pigmentación de la lente**
- C- La estructura maxilar adquiere forma de pico**
- D- Orificios nasales presentes**
- E- Las extremidades adquieren forma de aletas**
- F- El espaldar está claramente definido**
- G- Formados el tubo vitelino* y el cordón umbilical***
- H- Cola mayor que las aletas posteriores**

El embrión se manifiesta con un tamaño medio de aproximadamente de 19 mm. En la formación craneofacial, se considera completado el desarrollo encefálico. Se observa una mayor intensidad en la pigmentación de la cúpula óptica y el desarrollo maxilar comienza a tomar forma de pico, iniciándose el desarrollo frontonasal; en el cual destaca una estructura ósea maxilar considerablemente mayor que la mandibular y se observa los orificios nasales. Las extremidades anteriores y posteriores presentan aspecto de aletas rudimentarias, siendo distinguibles las falanges digitales en las aletas anteriores. La cola es más larga que las extremidades posteriores, se muestra puntiaguda y enroscada entre dichas extremidades. Se aprecia claramente la estructura del espaldar, aunque todavía no son distinguibles los escudos del mismo.

Se hace patente la diferencia entre membranas extraembrionarias, saco vitelino y corioalantoides, ambas presentan una amplia red de vasos sanguíneos y se observan notoriamente el tubo vitelino y el cordón umbilical respectivamente.

***Ver Glosario en Anexo II.**



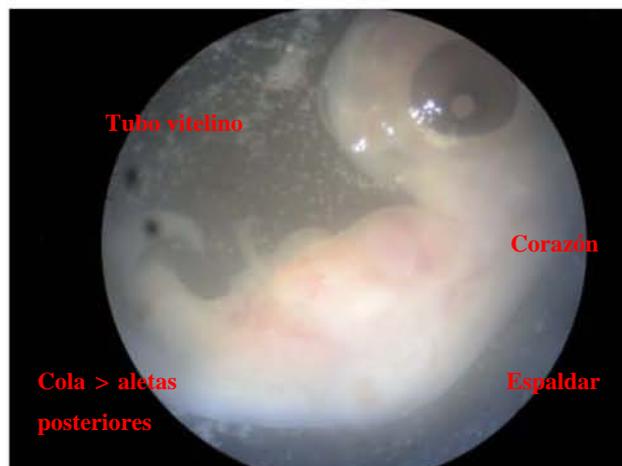
Estadio IX

20 -22 días- 37,5% del periodo de incubación

Caracteres Diferenciadores:

- A- Aparecen los parpados superiores
- B- Se observan las falanges digitales en aletas anteriores y posteriores
- C- Visibles los escudos costales del espaldar
- D- Pico sin definir

El tamaño medio del embrión es de aproximadamente unos 22,6 mm. Dentro de la formación craneofacial, se inicia el desarrollo del parpado superior, sobre la cúpula óptica intensamente pigmentada y son más evidentes las diferencias de tamaño entre las estructuras óseas maxilares y mandibulares. Se observa las falanges digitales en las aletas anteriores y posteriores y en el espaldar comienzan a ser distinguibles los escudos costales.



Esquema 4. Embrión de *Caretta caretta*, 18 días de incubación.



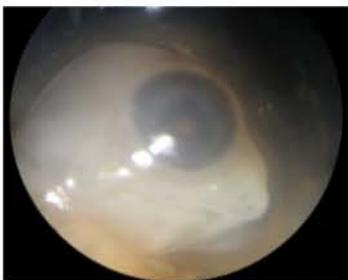
Estadío: X

24 días- 42,9% del periodo de incubación

Caracteres Diferenciadores:

- A- Mayor desarrollo de las parpados**
- B- Pico comenzando a diferenciarse**
- C- Red de vasos sanguíneos en las aletas**
- D- Escudos costales y vertebrales en el espaldar**

El embrión presenta un tamaño medio de 21 mm aproximadamente. En el desarrollo craneofacial, el parpado superior es notoriamente reconocible sobre la cúpula óptica pigmenta, la estructura mandibular se observa mas proporcional respecto a la maxilar, por lo que la estructura frontonasal en forma de pico se reconoce con mayor facilidad. Las aletas presentan falanges digitales bien diferenciadas y una leve red de vasos sanguíneos. En el espaldar se reconocen los escudos costales y difusos los vertebrales.



Estadío XI

26-28 días-50% del periodo de incubación

Caracteres Diferenciadores:

- A- Ojo delimitado por los parpados**
- B- Estructura del pico definitiva**

C- Presente la Carúncula*

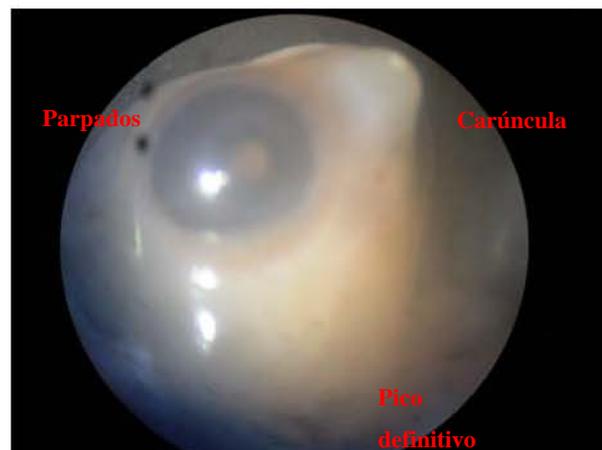
D- Inicio de la pigmentación de la cabeza

E- Dedos formados

F- Inicio de la pigmentación de los escudos del espaldar

G- Inicio del plastrón**

El embrión presenta un tamaño medio comprendido entre los 22,6 y los 25,8 mm. Del proceso craneofacial destacar, un mayor desarrollo de los párpados que delimitan la cúpula óptica, tomando por tanto la estructura final del ojo, cuyo tamaño es desproporcional respecto a la cabeza. Las estructuras óseas maxilares y mandibulares son proporcionales, definiéndose el pico definitivo, completando la estructura frontonasal con la presencia de la carúncula. Por tanto la cabeza adquiere su forma definitiva y se inicia la pigmentación de la misma. Las aletas presentan las falanges digitales totalmente desarrolladas, comenzando así a diferenciarse la formación de los dedos. En el espaldar se distinguen con claridad los escudos vertebrales, costales y marginales, apreciándose una leve pigmentación inicial. Se reconoce la estructura del plastrón (parte ventral del caparazón) y la apertura abdominal donde se alojan el cordón umbilical y el tubo vitelino.



Esquema 5. Cabeza de un embrión de *Caretta caretta*, 28 días de incubación.

***Ver Glosario en Anexo II.**

**** Definido en el texto.**

Estadio XII

30-32 días - entre el 53,6 y el 57,1 % del periodo de incubación



Caracteres Diferenciadores:

- A- Ojo completamente pigmentado**
- B- Dedos formados presentando uñas iniciales**
- C- Presente la apertura urogenital en la cola**
- D- Escudos del espaldar pigmentados**
- E- Inicio de los escudos del plastrón**

El embrión presenta un tamaño medio que oscila entre los 30 y 34,4 mm. En el desarrollo de la cabeza se acentúa la casi completa formación de los párpados que rodean a un ojo totalmente pigmentado, incluyendo la pupila; el ojo comienza a tomar proporción respecto a la cabeza. El pico está plenamente formado y la carúncula se hace más evidente. En las aletas se observan dedos bien definidos y una red de vasos sanguíneos bien desarrollados; así como el inicio de la formación de las uñas y una leve pigmentación. La cola es ahora sólo ligeramente mayor que las aletas posteriores y en ella se aprecia la apertura urogenital. El espaldar presenta completos sus escudos y está claramente pigmentado, el plastrón por su parte, comienzan a tener reconocibles los escudos y la apertura abdominal se hace más evidente.

Estadio XIII

34 días - 60,7% del periodo de incubación



Caracteres Diferenciadores:

- A- Párpados se aproximan al iris
- B- Son diferenciables los escudos de la cabeza
- C- Las aletas adquieren su morfología final con escudos pigmentados
- D- Cola de igual tamaño que las aletas posteriores
- E- Se intensifica la pigmentación del espaldar
- F- Escudos del plastrón bien definidos

El embrión muestra un tamaño medio de 40,5 mm. En lo referente a la evolución de la cabeza, se observa como los párpados se aproximan ligeramente hacia el iris para iniciar el recubrimiento del ojo. La carúncula está bien desarrollada. Son distinguibles los escudos prefrontales, supraoculares y postoculares, ligeramente pigmentados. Se evidencia la pigmentación en las escamas de las aletas, cuya morfología final está completa. La cola es de igual tamaño que las aletas posteriores. En caparazón por su parte dorsal o espaldar se intensifica la pigmentación, en el plastrón, comienzan a ser claramente reconocibles los escudos, pero no se observa pigmentación alguna.



Esquema 6. Embrión de *Caretta caretta*, 34 días de incubación.

Estadio XIV

36 días – 64,3% del periodo de incubación



Caracteres Diferenciadores:

- A- Ojo proporcional a la cabeza**
- B- Elevación del escudo frontoparietal****
- C- Se observan los plegamientos del cuello**
- D- Pigmentación de las uñas**
- E- Inicio de la pigmentación en los escudos del plastrón**
- F- Cuello, axilas, ingles y piel entre escudos sin pigmentación**

El tamaño medio del embrión es de aproximadamente 41mm. El desarrollo de la cabeza está marcado por unos parpados que recubren un ojo proporcional a la cabeza y por estar presentes los escudos prefrontales, supraoculares y postoculares claramente pigmentados, así como el escudo frontal y el frontoparietal, este último se eleva ligeramente sobre el resto. No se aprecia el escudo intreprefrontal. Se observan los plegamientos característicos del cuello, observándose escamas ligeramente pigmentadas en la parte dorsal del mismo. Del mismo modo la parte dorsal de las aletas presenta escamas y uñas pigmentadas. Comienza la pigmentación en los escudos del plastrón pero no hay pigmentación de la piel entre escamas, ni en la parte ventral del cuello, ni en las axilas e ingles.

***Definido en el texto.**

Estadio XV

38 - 40 días - 70% del periodo de incubación



Caracteres Diferenciadores:

- A- Tamaño del Vitelo > tamaño del embrión
- B- Plegamientos del cuello marcadamente visibles
- C- Incremento de la pigmentación en los escudos de la cabeza, aletas y caparazón
- D- Parte ventral del cuello, axilas e ingles sin pigmentación

El tamaño del embrión varía entre 43,2 y 48,3 mm. En este periodo la reserva de vitelo es de mayor tamaño que el embrión y el embrión se caracterizan por una pigmentación más intensa en los escudos de la cabeza, aletas y plastrón. Los plegamientos del cuello se hacen más evidentes pero no se observa pigmentación en la parte ventral del cuello, ni en axilas e ingles.



Esquema 7. Embrión de *Caretta caretta*, 38 días de incubación.

Estadio XVI

42 - 46 días - entre el 75 y 82% del periodo de incubación



Caracteres Diferenciadores:

- A- Tamaño del vitelo = Tamaño del embrión**
- B- Párpados encierran completamente al ojo**
- C- Pigmentación de la piel entre escudos, parte ventral del cuello, axilas e ingles**
- D- Cola menor que aletas posteriores**

El embrión presenta un tamaño que oscila entre 50,6 y 56,6 mm y la proporción de vitelo es similar al tamaño del embrión. Los párpados encierran completamente el ojo. La cola es claramente menor que las aletas posteriores. Se observa pigmentación en la piel entre escudos, en la parte ventral del cuello, axilas e ingles.

Estadio XVII

48 días – 85% del periodo de incubación



Caracteres Diferenciadores:

- A- Tamaño del vitelo < Tamaño del embrión**
- B- Se evidencia la elevación del escudo frontoparietal**
- C- Se intensifica la pigmentación**
- D- El embrión todavía envuelto en las membranas extraembrionarias**

El tamaño del embrión está entre los 56,5 y 57 mm, siendo este el tamaño característico de los neonatos. El embrión es mayor que la reserva de vitelo. La elevación del escudo frontoparietal se hace más evidente y la pigmentación se intensifica notoriamente, presentando la coloración propia de los neonatos.

Estadio XVIII

50 días – 90% del periodo de incubación



Caracteres Diferenciadores:

A- Vitelo de pequeño tamaño

B- Las membranas extraembrionarias no recubren al embrión

La reserva vitelina está casi totalmente absorbida en la cavidad abdominal. El embrión presenta la pigmentación y morfología característica de neonato y las membranas extraembrionarias no recubren.

Estadio XIX

52 días – 92% del periodo de incubación

El embrión se encuentra dentro del huevo totalmente formado y con el vitelo absorbido total o casi totalmente en la cavidad abdominal y rompiendo la cascara para la eclosión. Este estadio se le conoce por el nombre de ruptura.

Estadio XX

56 días – 100% del periodo de incubación



Estadio de nacimiento: el periodo de incubación a finalizado, el neonato ha eclosionado y presenta el caparazón curvado y una cicatriz reciente en la apertura abdominal. Permanece en el nido a la espera de la emergencia.

Estudio de Asíncronia

Tras el análisis de los caracteres morfológicos externos definitorios para cada una de las etapas del desarrollo embrionario para la población de tortuga marina *Caretta caretta* de la isla de Boavista, y establecido un criterio de clasificación de dicho desarrollo en función del tiempo de incubación en condiciones ambientales, se observa para un mismo tiempo de incubación cierta variabilidad en el grado de desarrollo de los embriones. Dicha asíncronia puede deberse a la carencia de algunos de los caracteres diferenciadores que le corresponden a un embrión en el instante concreto del tiempo de incubación en el que se encuentra, o bien por presentar caracteres de estadios más avanzados. Esta variabilidad en el desarrollo está presente a lo largo de todo del periodo de incubación, tanto para los embriones de un mismo nido, como en los embriones de distintos nidos (Tabla 1.).

Estadio	% Tiempo Incub. (días)	% Desarr. estándar	%des. Nido 1	%des. Nido2	%des. Nido3	%des. Nido4	%des. Nido5	%des. Nido6	%des. Nido7	%des. Nido8	% desarrollo total por estadio
I	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	100
II	3,6	10	10	10	10	10	10	8,34	10	10	97,92
III	7,1	15	15	13,34	11,66	15	13,34	15	13,34	13,34	91,68
IV	10,7	20	20	20	***	***	19,17	15	20	20	71,36
IX	37,5	45	45	45	45	45	45	45	45	45	100
V	14,3	25	24	24	22	23,5	25,83	24	24,5	25,83	96,83
VI	17,9	30	30	26,68	26,68	30	30	30	30	31,66	97,92
VII	25,0	35	35	33,34	35	35	35	36,25	36,25	36,25	100,75
VIII	32,1	40	35	40	40	40	41,66	40	40	41,66	99,47
X	42,9	50	50	50	50	50,62	50,62	45	50	50	99,06
XI	48,2	55	53	53,75	54,37	53,75	55	55	55	55	98,84
XII	55,4	60	60	60	60	61,25	57	61,25	62,5	62,5	100,94
XIII	60,7	65	***	65	65	65	65	65	65	65	87,50
XIV	64,3	70	68	71,25	70	72,91	70	71,25	71,25	71,25	101,06
XIX	92,9	95	92,5	92,5	92,5	92,5	92,5	95	95	95	98,36
XV	69,6	75	73,34	75	75	75	75	77,5	77,5	77,5	100,97
XVI	78,6	80	80	80	80	80	80	80	80	80	100
XVII	85,7	85	82,5	80	82,5	82,5	82,5	85	85	85	97,79
XVIII	89,3	90	87,5	85	87,5	87,5	87,5	90	90	90	97,92
XX	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Tabla 1. Porcentaje del grado de desarrollo embrionario para cada nido a lo largo del tiempo de incubación. La última fila muestra el porcentaje total del desarrollo embrionario por estadios; el valor del 100% denota que todos los embriones examinados en un estadio concreto presentaron la totalidad de los caracteres diferenciadores de dicho estadio. La carencia de caracteres en alguno de los embriones viene marcada por la obtención de valores inferiores al 100 % del grado de desarrollo. Valores superiores al 100% indican un mayor grado de desarrollo para algunos de los embriones del estadio en estudio.

***Ausencia de datos; huevo no fertilizado o sin embrión visible por muerte temprana.

Los datos totales nos indican que existe una alta correlación entre el tiempo de incubación y el grado de desarrollo embrionario ($r^2 = 0,9915$; $r = 0,9957$, $p = 00,0000$; $N=199$.); así como una mayor plasticidad en el desarrollo durante el primer tercio de la incubación, en el que desarrollo embrionario está centrado en la organogénesis y las altas tasas de crecimiento. A medida que avanza la incubación los embriones presentan una mayor similitud en su grado de desarrollo, volviendo a observarse nuevamente variabilidad del desarrollo en las últimas etapas de la incubación, cuando los embriones están totalmente formados pero muestran diferencias en cuanto a la velocidad de absorción de las reservas vitelinas. (Figura 8.)

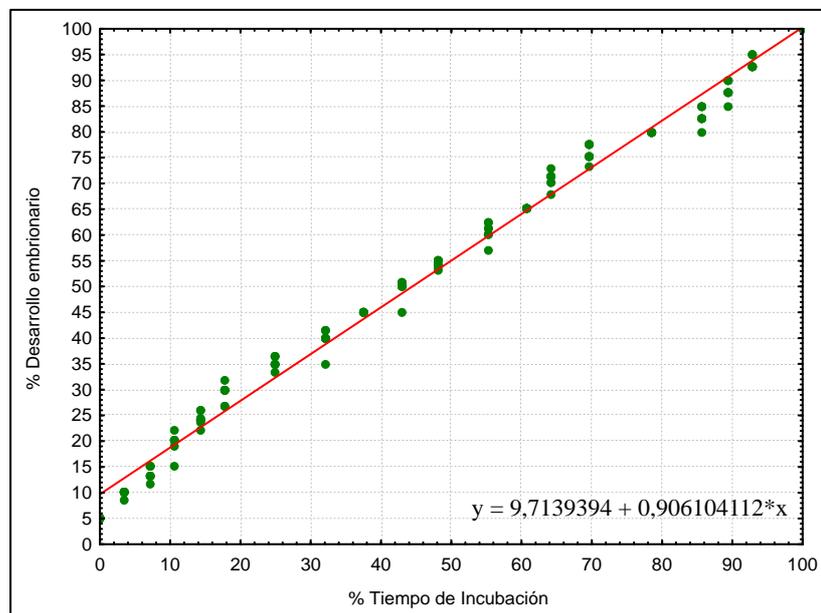
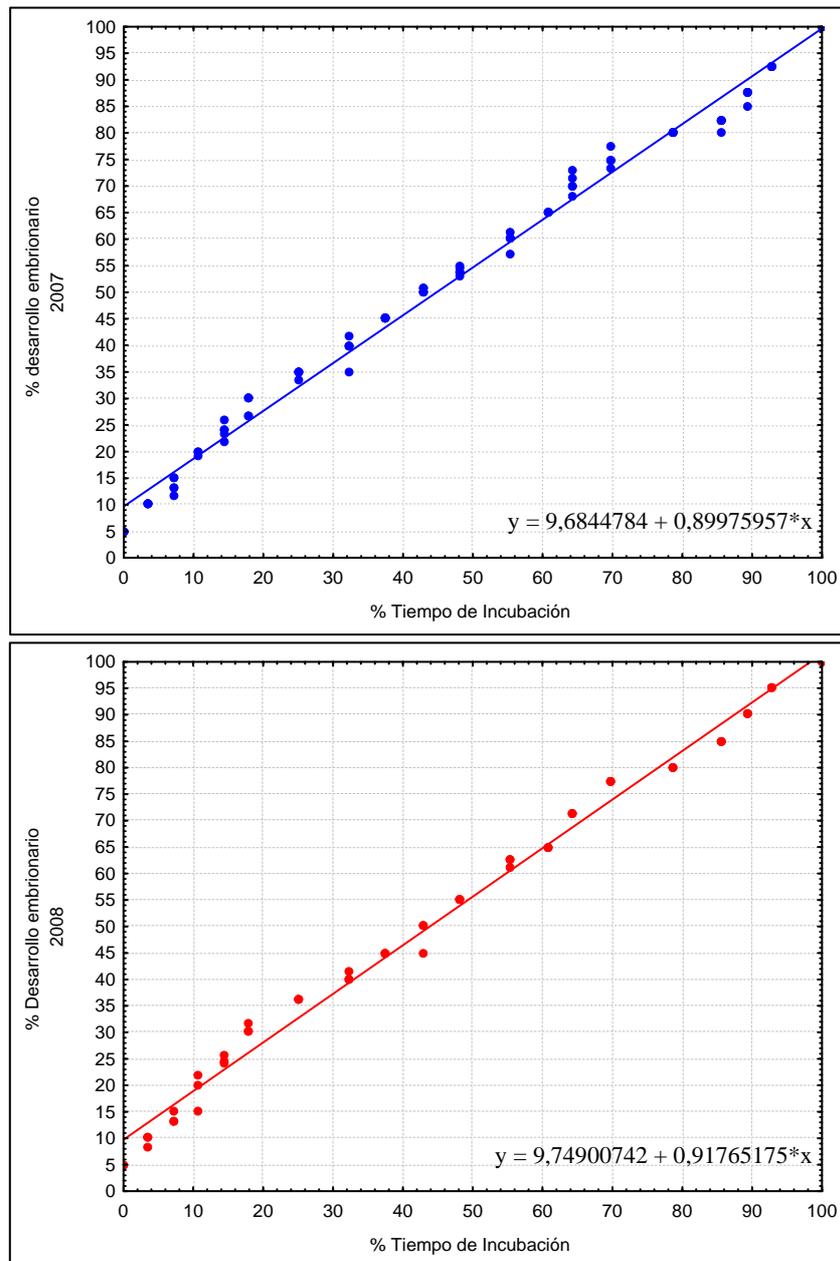


Figura 8. Diferencias en el grado de desarrollo embrionario expresado en %, frente al tiempo de incubación de la totalidad de embriones estudiados.

Si analizamos en detalle la plasticidad en el grado de desarrollo de los embriones que conforman este estudio, (Figuras 9 y 10.), obtenemos una correlación muy similar para las dos temporadas de estudio, pero se observa una mayor variabilidad para los embriones muestreados durante la temporada del 2007, ($r^2 = 0,9918$; $r = 0,9959$, $p = 00,0000$; $N=127$), respecto a los embriones examinados en la temporada del 2008 ($r^2 = 0,9916$; $r = 0,9958$, $p = 00,0000$; $N= 72$).

Por un lado destaca la mayor variabilidad durante el primer tercio del tiempo de incubación para ambos grupos de nidos, sin embargo para los nidos del año 2007 se observa como dicha variabilidad se mantiene lo largo de toda la incubación, mientras que para los nido de la temporada 2008, el grado de desarrollo es muy similar a partir de 2° tercio del tiempo de incubación para todos los embriones. Por otro lado al comparar la pendiente de la recta en las figuras 9 y 10 observamos que para la campaña 2008 la pendiente es ligeramente mayor, lo que implica una mayor velocidad en el desarrollo embrionario.



Figuras 9 y 10. Porcentaje del grado de desarrollo embrionario frente el tiempo de incubación para los nido del año 2007 y del año 2008.

Para entender la razón de estas diferencias, procedemos al análisis del registro de temperaturas en los nidos estudiados. Los datos (Tabla 2.) nos indican que la temperatura durante la incubación oscila entre 24,26 °C de mínima, y 33,41°C como valor máximo y nos muestran una temperatura media de incubación para la temporada el 2007 de 29,44 °C. Esta temperatura ha sido inferior a la media registrada en la campaña del año 2008, que fue de 30,02 °C. Se obtuvo además una temperatura inferior a la Temperatura Pivotal*, en el segundo tercio del tiempo de incubación, para los nidos muestreados durante el año 2007, lo cual nos indica una proporción de sexos en los embriones ligeramente desplazada hacia los machos, mientras que en los nidos del año 2008 la temperatura media registrada en este periodo de la incubación es muy similar a la Pivotal, por lo que se estima un porcentaje más equilibrado de sexo en los embriones.

2007	Tª 1º tercio	Tª 2º tercio	Tª 3º tercio	Tª total
Media	27,98	28,98	31,37	29,44
DevSt	0,77	0,86	0,47	1,60
Max	28,97	31,05	32,12	32,12
Min	24,36	27,96	30,00	24,36
2008				
Media	28,41	29,63	31,89	30,02
DevSt	0,49	0,62	0,86	1,60
Max	29,04	30,89	33,41	33,41
Min	24,26	28,49	30,14	24,26

Tabla 2. Datos de las temperaturas de incubación en °C, analizados por tercios del tiempo de incubación, para las temporadas 2007 y 2008.

*Ver Glosario en Anexo II.

En la figura 11 hemos representando los registros de temperatura obtenidos durante el periodo de incubación. En ella se muestra claramente como la temperatura de incubación para los nidos muestreados en la temporada del 2007, es inferior en todo momento a la temperatura registrada para los nidos del año 2008. Del mismo modo indica un incremento progresivo de la temperatura de incubación, el cual está correlacionado con la tasa de crecimiento y con el aumento del calor metabólico generado por los embriones a medida que avanza su desarrollo (Bustard, 1972; Miller and Limpus, 1981; Miller, 1982). También son notables las variaciones entre las temperaturas diurnas y nocturnas por los continuos picos del registro, siendo estos más pronunciados en el año 2007. Del mismo modo destacan descensos bruscos de las temperaturas en cortos intervalos de tiempo. Por ejemplo la caída de temperatura al comienzo del segundo tercio del periodo de incubación es de gran relevancia, debido a que va a determinar la proporción de sexos en cada nido (Yntema and Mrosovsky, 1980; Reed, 1980; Mrosovsky, 1980, 1982; Mrosovsky and Yntema, 1980, Limpus et al., 1983); y está relacionada con eventos tormentosos y precipitaciones, dicho descenso de temperatura es nuevamente más acusado para la temporada del 2007 ya que en dicho año los nidos sufrieron inundaciones por la marea. El decaimiento paulatino de temperatura en la etapa final de la incubación está relacionado con el descenso del calor metabólico generado por los embriones al final de su formación.

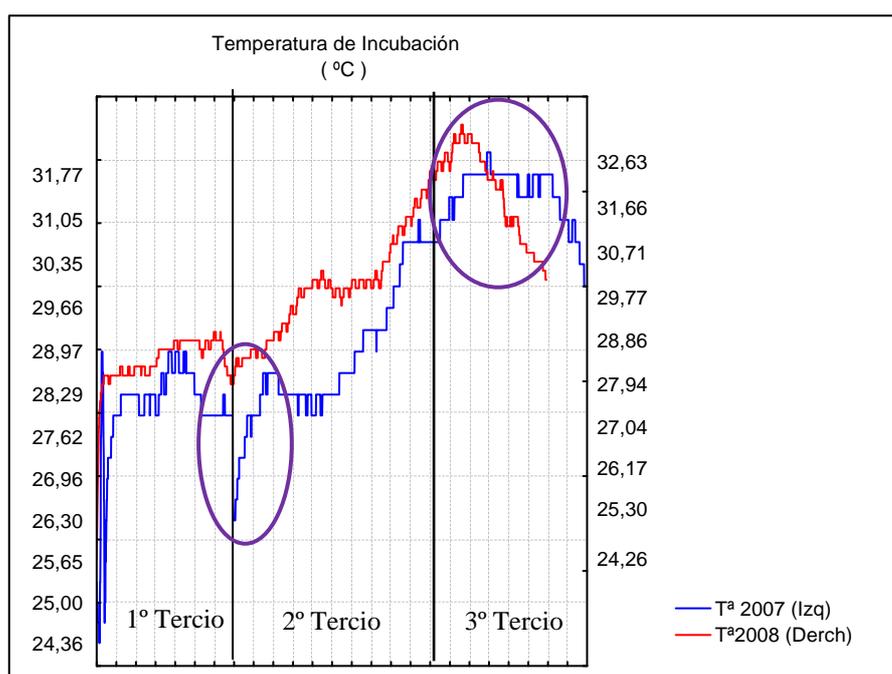


Figura 11. Registros de la temperatura de incubación para los nidos del año 2007 y del año 2008 en °C.

Discusión

Al comparar los resultados obtenidos con anteriores descripciones del desarrollo embrionario en tortugas, tanto terrestres como marinas, observamos que dichos estudios, a pesar de ser una referencia imprescindible, difieren en gran medida de la embriogénesis en incubación natural.

El primer trabajo sobre embriogénesis en tortugas realizado por Yntema en 1968 empleaba una metodología para la descripción del desarrollo embrionario de *Chelydra serpentina* basada en la incubación a 20°C; con lo cual el autor conseguía una embriogénesis anormalmente lenta que subraya las diferencias entre estadios.

Del mismo modo, Miller en 1982 propone una clasificación embrionaria para las especies de la familia Cheloniidae llevada a cabo bajo condiciones artificiales de incubación a temperatura constante de 29°C; con lo cual consigue una velocidad constante de desarrollo y suprime la posible asincronía en la embriogénesis.

En cambio el estudio de embriones incubados bajo condiciones ambientales en aéreas de incubación controlada, nos proporciona una información más real del proceso de embriogénesis, obteniendo cierta plasticidad tanto en la calidad como en la velocidad del desarrollo, reaccionada a la variación de la temperatura y otros parámetros ambientales durante la incubación.

En este trabajo se obtuvieron temperaturas de incubación comprendidas entre 24°C y 33 °C. Creemos que dicha variabilidad es una de las principales causas de la plasticidad encontrada en los embriones estudiados. Esta hipótesis se apoya en el registro de una mayor variabilidad del desarrollo a lo largo del primer tercio de la incubación, cuando las temperaturas del nido son similares a la del sustrato debido al mínimo calor metabólico generado por los embriones que se encuentran en tempranos estadios del desarrollo, obteniéndose por tanto un mayor grado de asincronía cuando existe una mayor variabilidad de la temperatura. Así mismo al comparar los datos obtenidos durante los dos periodos de muestreo, se aprecia claramente una mayor plasticidad en los embriones estudiados durante la temporada 2007, año en el cual se registraron variaciones abruptas de la temperatura y donde la temperatura de los nidos fue inferior durante toda la incubación a la obtenida durante campaña 2008, año en el cual se obtuvo una mayor velocidad del desarrollo embrionario, por la mayor temperatura, pero una menor asincronía gracias a la mayor estabilidad de dicho parámetro durante la incubación. Esta estabilidad se ve reflejada por la obtención de una

temperatura media para el segundo tercio del tiempo de incubación muy próxima a la temperatura Pivotal, lo que relacionamos con unas condiciones de incubación de mayor estabilidad y por tanto un desarrollo embrionario más sincrónico.

Conclusión

Con este trabajo se ha logrado crear una guía de carácter práctico que permite reconocer, si necesidad de una amplia formación previa en embriología, el grado de maduración en el que se encuentra un embrión de *Caretta caretta*, mediante caracteres anatómicos fácilmente diferenciable “de visu” en relación con el tiempo de incubación para nidos incubados bajo condiciones ambientales.

La mayor o menor temperatura de incubación origina diferencias en la velocidad del desarrollo, pero son las variaciones de temperatura a lo largo de la incubación y los gradientes térmicos dentro del nido los que a nuestro juicio originan la plasticidad en el desarrollo de los embriones. Dicha asincronía, es más acusada al inicio de la incubación cuando la temperatura del nido presenta una mayor variabilidad por el bajo calor metabólico generado y se observa tanto en embriones de diversos nidos con idéntico tiempo de incubación, como en los embriones de un mismo a lo largo de toda la incubación. Esta plasticidad embrionaria puede estar relacionada en los diferentes grados de maduración encontrados en los neonatos durante la emergencia y en los diversos patrones de emergencias (Houyhton J.D.R and Hays G.C. 2001, Glen F. et al., 2005 and 2006, Koch A.U. et al 2008); factores que nos indican nuevas líneas de investigación.

Establecer cuáles son factores ambientales determinantes y como afecta su variabilidad a los procesos de la embriogénesis, puede arrojar luz que nos permita determinar los periodos críticos en el desarrollo embrionario de estos reptiles. Esta información puede ayudarnos a optimizar tanto el desarrollo embrionario como la eclosión y la emergencia de los nidos incubados en aéreas controladas. Una reducción de la mortalidad embrionaria, para una especie como *Caretta caretta*, supondría una importante estrategia de para su conservación y protección.

Agradecimientos

Este estudio y el trabajo realizado en las áreas de incubación controlada en el transcurso de las temporadas de anidación de tortuga común de los años 2007 y 2008 no habrían sido posibles sin la colaboración y el apoyo de muchas personas. Mi más sincero agradecimiento a todos y cada uno de los voluntarios, a los monitores y directores de campo del proyecto Cabo Verde Natura 2000 por su dedicación, interés y esfuerzo. Agradezco también a toda la comunidad caboverdiana por su hospitalidad. Agradezco concretamente el cariño, el apoyo incondicional y el siempre tener una palabra de ánimo a Suarez Guerra Y., González González A., Abella E., Martin Fernández R., Serrano Muñoz R., Alberca E., Sánchez Hernández S., Muñoz E., García E., Roldan Hidalgo F., Hernández Ribero I., Oujo Álamo C., Jiménez Bordón S., García García F.J., Cerda Martín F.R., García Cerdá M y García Cerdá M.J; Por su trabajo y amistad a Hernita, Fortunato, Juliao, Marcos, Pedro, Strabagante e Irene (personal interno del Proyecto); Por su amistad, la confianza depositada en mi y lo mucho que he aprendido con ellos en estos años de trabajo conjunto a Abella E., Sanz P., Martins S., Marco A. y López Jurado L.F. A todos ellos va dedicado este trabajo, gracias.

Bibliografía

Ackerman, R. A. (1977). The respiratory gas exchanger of sea turtle nests (*Chelonia*, *Caretta*). *Respir. Physiol.* 31, 19-38.

Ackerman, R. A. (1980). Physiological and ecological aspects of gas exchange by sea turtles eggs. *Amer. Zool.* 20, 575-583.

Ackerman, R. A. (1981a). Oxygen consumption by sea turtle (*Chelonia mydas*) during development. *Physiol. Zool.* 54, 316-324.

Ackerman, R. A. (1981b). Growth and gas exchange of embryonic sea turtles (*Chelonia*, *Caretta*). *Copeia* 1981, 757-765.

Bustard, H.R. (1972). *Sea Turtles: Natural History and Conservation*. Collins, Sydney.

Bustard, H.R. and Greenham, P. (1968). Physical and chemical factors affecting hatching in the green sea turtle, *Chelonia mydas* (L.). *Ecology* 49, 269-276.

Cejudo D., Varo N., Cabrera I. and López- Jurado L.F. (2000). Biology of nesting loggerheads in the island of Boavista (Cape Verde islands, Western Africa). Incubation period and hatching success. 20th Annual Sea Turtle Symposium. Orlando Florida.

Chan E-H. (1989). White Spot Development Incubation and Hatchling success of leatherback turtle (*Dermochelys coriacea*). Eggs from Rantau Agang, Malasia. *Copeia* .Pp 42-47.

Glen F. et al., (2005). Patterns in the emergence of green (*Chelonia mydas*) and loggerhead (*Caretta caretta*) turtles hatchling from their nest. *Marine Biology*: 146: 1039-1049.

Glen F. et al., (2006). Thermal control of hatchling emergence pattern in marine turtles. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*: 334. Pp 31-42.

Houghton, J.D.R., Hays G.C. (2001). Asynchronous emergence by loggerhead turtle (*Caretta caretta*) hatchlings. *Naturwissenschaften*, 88:133–136.

Kraemer, J.E. and Bell, R. (1980). Rain-induced mortality of eggs and hatchling of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) on the Georgia coast. *Herpetologica* 36, 72-77.

Koch A.U., Guinea M.L and Whiting S.D., (2008). Asynchronous Emergence of Flatback seaturtles, *Natator depressus*, from a Beach Hatchery in Northern Australia. *Journal of Herpetology* Vol.42. Pp 1-8.

McGehee, M.A. (1979). “Factors Affecting the Hatching Success of Loggerhead Sea Turtle Eggs, (*Caretta caretta*)”. M.Sc. Thesis, Univ. Central Fla., Orlando.

Miller, J.D. (1982). Embryology of marine turtles, in Gans C., Billett F., and Maderson P.F.A., Eds. *Biology of the Reptilia, Development A, Vol 14*, John Wiley & Sons, New York, 1985, 269-328.

Miller, J.D. and Limpus, C.J. (1981). Incubation period and sexual differentiation in the green turtles *Chelonia mydas* L. In *Proceedings of the Melbourne Herpetological Symposium* (C. B. Banks and A. Martin, eds.). The Royal Melbourne Zoological Gardens, Melbourne, pp. 66-73.

Mrosovsky, N. (1980). Thermal biology of sea turtle. *Amer. Zool.* 20, 549-563.

Mrosovsky, N. (1982). Sex ratio bias in hatchling sea turtles from artificially incubated eggs. *Biol. Conserv.* 23, 209-314.

Mrosovsky, N. et al. (2002). Pivotal temperature of loggerhead turtle (*Caretta caretta*) from Kyparissia Bay, Greece. *Cam. J. Zool.* 80: 2118-2124.

Mrosovsky, N. and Yntema, C. (1980). Temperature dependence of sexual differentiation in sea turtles: implication for conservation practices. *Biol. Conserv.* 18, 271-280.

López O., Del Ordi D., Madariaga B., Díaz- Merry A., Abella E., García M., Herraiz L., Borrás S., Varo N., Cejudo D and López – Jurado L.F. (2002). Nesting success on the emergence of *Caretta caretta* in the island of Boavista (Cape Verde islands, Western Africa) *Proceeding of the 22nd Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*. Miami (Florida, USA).

Limpus, C.J. et al. (1983) Islands and turtles. The influence of choice of nesting beach on sex ratio. In *Proceedings: Inaugural Great Barrier Reef Conference* (J.T. Baker, R.M. Carter, P.W. Sammarco, and K.P. Stark, eds.). James Cook University Press, Townsville, Aust., pp.397- 402.

Parmenter, C.L. (1980). Environmental factors in turtle farming. In Management of Turtle Resources: Research Monograph I. James Cook University of North Queensland. Australia, 23-31.

Peter C.H. Pritchard. Evolution, Phylogeny and Current Status, in Lutz P.L. and Musick J.A., Eds. The Biology of the Sea Turtles, CRC Press, Florida, 1997. Pp. 1 – 28

Ralph A Ackerman. The Nest Environment and the Embryonic Development of Sea Turtles, in Lutz P.L. and Musick J.A., Eds. The Biology of the Sea Turtles, CRC Press, Florida, 1997. Pp. 83-106.

Ralph. C. R. et al., (2005). Effect of egg location and respiratory gas concentrations on developmental success in nests of the leatherback turtle, *Dermochelys coriacea*. Australian Journal of zoology:53 : 289-294.

Reed, P.C. (1980). “The sex ratios of hatchling loggerhead turtles-the progeny of two nesting adult females”. Honours thesis, James Cook University, Queensland, Australia.

Varo-Cruz N., Cejudo D., López-Jurado L.F. Reproductive biology of the loggerhead turtle (*Caretta caretta* L. 1758) on the island of Boavista (Cape Verde, West Africa) in López- Jurado L. F. and Liria Loza A Monografías del Instituto Canario de Ciencias Marinas nº 5. Marine Turtles. Recovery of Extinct Populations. 2007. Pp 127-144.

Yntema, C.L., A series of stage in the embryonic development of *Chelidra serpentina*, in Kenneth R. Porter., Eds. Herpetology. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1972.

Yntema,C., and Mrosovsky, N. (1980). Sexual differentiation in hatchling loggerhead (*Caretta caretta*) incubated at different controlled temperatures. Herpetologica 36.33-36.

Anexo I



Secuencia fotográfica donde se muestra de forma esquemática la embriogénesis de *Caretta caretta*. Estadío de desarrollo señalado en la esquina inferior derecha. Las imágenes identificadas como VII' y XVII' se corresponden con embriones que presentan los caracteres diferenciadores de ese estadío pero presentan un mayor tiempo de incubación.

Anexo II

Glosario

Arcos branquiales: estructuras preponderantemente mesodérmicas, a modo de hendiduras, situadas a ambos lados de la faringe, que se originan durante el desarrollo embrionario de los animales del filo Cordados.

Amnios o Saco amniótico: membrana extraembrionaria interna, que cubre al embrión y contiene líquido amniótico. Su función es proteger al embrión de posibles golpes y permitir el movimiento del mismo.

Área de incubación controlada: Las denominadas áreas de incubación controlada pueden definirse como un recinto cerrado próximo a las playas de nidificación que reúne las condiciones de temperatura, salinidad, humedad, granulometría del sustrato, etc., para una buena incubación y un alto éxito de eclosión. En la cual son reubicados los nidos que han sido depositados por las hembras nidificantes en zonas desfavorables para la incubación,

Carúncula: Pequeña espina córnea presente en el pico de las crías de tortuga, la cual utilizan para romper inicialmente la cascara durante la eclosión.

Cordón umbilical: tubo que une al embrión con el corioalantoides, permite el intercambio gaseoso y la excreción de sustancias de desecho entre el embrión y el medio.

Membrana corioalantoidea: membrana extraembrionaria formada por el alantoides y el corion. Permite el intercambio gaseoso, la excreción de desechos y la absorción de calcio, entre el embrión y el ambiente a través de la cascara.

El **alantoides** es una de las membranas extraembrionarias, está originada por la evaginación del tubo digestivo primario, se sitúa caudalmente al saco vitelino. Inicialmente rodea al embrión entre el amnios y el corion.

El **corion** es la envoltura externa del embrión concéntrica al amnios y es la más próxima a la cascara del huevo.

Polo animal: tras la segmentación, polo del huevo en el que se sitúa el núcleo y se desarrolla la actividad metabólica,

Polo vegetativo: tras la segmentación, polo del huevo donde se acumulan las sustancias de reserva.

Saco vitelino: membrana extraembrionaria que contiene el vitelo. Su función es facilitar el aporte de sustancias nutritivas al embrión a través de los vasos vitelinos.

Tª Pivotal: Temperatura de incubación que genera un 50% de embriones de cada sexo. Estimada en 29°C para *Caretta caretta*.

Tubo vitelino: tubo que une al embrión con el saco vitelino para la obtención de sustancias nutritivas.

Vesícula óptica: durante las primeras etapas del desarrollo embrionario se forman dos surcos poco profundos a ambos lados del cerebro anterior, al cerrarse el tubo neural, los surcos producen evaginaciones del cerebro anterior, formándose las llamadas vesículas ópticas.

White Spot : Secado parcial de la superficie de la casaca ocasionada por la fijación de las membranas extraembrionarias con el fin de facilitar el intercambio gaseoso.

