

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Relación entre la temperatura de incubación y la asimetría del carapacho de neonatos de *Lepidochelys olivacea* incubados en el Área de Usos Múltiples Hawaii -AUMH-, Santa Rosa, Guatemala.

Presentado por

María Renee Contreras Mérida

Bióloga

Guatemala, agosto de 2020

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Relación entre la temperatura de incubación y la asimetría del carapacho de neonatos de *Lepidochelys olivacea* incubados en el Área de Usos Múltiples Hawaii -AUMH-, Santa Rosa, Guatemala.

INFORME DE TESIS

Presentado por

María Renee Contreras Mérida

Para optar el título de

Bióloga

Guatemala, agosto de 2020

Junta Directiva

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

M.A. Pablo Ernesto Oliva Soto	Decano
Licda. Miriam Roxana Marroquín Leiva	Secretaria
Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	Vocal I
Dr. Roberto Flores Arzú	Vocal II
Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera	Vocal III
Br. Giovani Rafael Funes Tobar	Vocal IV
Br. Carol Merarí Cáceros Castañeda	Vocal V

Dedicatoria

Este acto lo dedico a...

Dios. Por guiarme a lo largo de mi carrera y brindarme la oportunidad de descubrir las maravillas de la vida.

Mis Papás, Mario René y Tita. Por todo su amor, su apoyo incondicional y por creer en mí siempre. No lo habría logrado si no fuera gracias a ustedes.

Mis hermanos Sara, Pamela, Mario y Débora. Por su apoyo, inspiración y darme ánimos cuando más lo necesitaba.

Mis abuelitos Silvia, Mario y Lupita. Por apoyarme desde niña a seguir mis sueños, por todo su amor y los momentos que quedan guardados en el corazón.

Mi familia, por oírme hablar de tortugas más que cualquier otra cosa.

Mi familia de Hawaii, por acogerme como una más del grupo y apoyarme durante este proceso.

Posso fare tutto in Cristo che mi rafforza

Agradecimientos

A la Universidad de San Carlos de Guatemala, la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia y en especial la Escuela de Biología, por ser mi lugar de formación profesional y académica, por brindarme las herramientas de aprendizaje necesarias para forjar mi futuro y la importancia de mi trabajo con la biodiversidad.

A Berta Alejandra Morales Mérida, por su paciencia, asesoría, motivación, amistad, inspiración a buscar la excelencia y entregar lo mejor de mí en cada trabajo. Gracias por creer en mí como persona y profesional. Me inspiras muchísimo.

A mis profesores, por todas las enseñanzas y conocimiento compartido dentro y fuera del aula. A Fernando Díaz, por sus revisiones y observaciones que permitieron la mejora de este trabajo. Particularmente Rosel, Lucía Prado, Jorge Erwin, Sergio Pérez, José Ortiz, Sergio Melgar, Gustavo, Carlos Avendaño, Jorge Mario y Regina.

A Jorgito Jiménez, por su apoyo incondicional, todo el conocimiento compartido y la paciencia durante el análisis estadístico y elaboración de este trabajo.

A ARCAS-Hawaii, por abrirme las puertas de sus instalaciones durante la realización de este trabajo. En especial a Alex García, por enseñarme todo lo que sabe sobre las tortugas y ayudarme incondicionalmente en el trabajo de campo; a Edgar Torres y Doña Mayra por el cariño y apoyo brindado.

A mis amigos, que se convirtieron en familia. Gracias por todo su apoyo, ánimo, por las risas, las lágrimas y el cariño. En especial a José, Dan, Susan, Majo, Renato, Manu, Alejandro, José Carlos, Jerry, Ximena, Manuela, Natalia, Gabriel, Salomé, Marisette y demás personas que forman parte importante en mi vida y me llevaría demasiado en nombrar.

ÍNDICE

Resumen	1
Introducción	3
Antecedentes	5
1. Tortugas Marinas	5
1.2 Especies de tortugas marinas	5
1.2.1 Especies que anidan en las playas de Guatemala	7
1.3 Amenazas a las tortugas marinas	7
2 Ciclo de vida de las tortugas marinas	9
3 Desarrollo embrionario de tortugas marinas	11
3.1 Carapacho de tortugas	12
4 Asimetría de carapacho	13
5 Estudios de asimetría del carapacho en tortugas	14
6 Área de Estudio	16
Justificación	17
Objetivos	19
a. General	19
b. Específico	19
Hipótesis	20
Materiales y Métodos	21
Universo	21
Muestra	21
Materiales	21
Métodos	21
Análisis estadísticos	23
Resultados	25
Estimación del nivel de asimetría en el carapacho de los neonatos de L. olivacea del AUMH	25
Análisis de la influencia de la temperatura de incubación sobre la asimetría del carapacho de los neonatos de L. olivacea del AUMH	27
Discusión	33
Estimación del nivel de asimetría en el carapacho de los neonatos de L. olivacea del AUMH	33

Análisis de la influencia de la temperatura de incubación sobre la asimetría del carapacho de los neonatos de <i>L. olivacea</i> del AUMH	35
Conclusiones	41
Recomendaciones	42
Referencias	43
Anexos	54

Resumen

Las tortugas marinas presentan dentro de sus adaptaciones evolutivas, la presencia de un caparazón compuesto de dos partes, una dorsal (carapacho) y una ventral (plastrón). Consiste en placas dérmicas osificadas sobre las costillas, recubiertas por una serie de apéndices epidérmicos denominados escudos. Durante el período de desarrollo embrionario, los embriones son susceptibles a perturbaciones ambientales, las cuales se traducen en anomalías en su fenotipo.

El carapacho de las tortugas es un modelo perfecto para la medición de que tanta desviación respecto al plano simétrico se presenta en el mismo tanto en el lado derecho como en el izquierdo, ya que no solo contiene puntos de referencia biológicos aceptables, sino que es susceptible el mismo a cualquier tipo de perturbaciones ambientales que provoquen estrés a lo largo de su vida. Se considera a la medición de la asimetría que el organismo presenta como un parámetro del impacto de la variedad de condiciones estresantes durante este período de desarrollo embrionario. La asimetría del carapacho generalmente consiste en la adición o fusión de los escudos en cualquiera de sus lados. *Lepidochelys olivacea* es una especie única, caracterizada por una gran variabilidad en sus patrones de escudos en su caparazón.

La temperatura juega un rol importante en el desarrollo de los embriones ectotérmicos, influenciando no solo en la supervivencia de los neonatos en temperaturas demasiado altas o bajas, sino también en adquirir ciertos atributos, incluyendo el sexo. Además, se le ha atribuido, en algunos estudios, ser la causa de los cambios morfológicos observados en los neonatos, incluido el incremento en el número de escudos.

El objetivo de este estudio fue evaluar la relación entre la temperatura de incubación con la asimetría de carapacho de los neonatos de *Lepidochelys olivacea* incubados en condiciones relocalizadas en el tortugario del Área de Usos Múltiples Hawaii -AUMH-, Santa Rosa, Guatemala. Para lograrlo, se replicaron las condiciones de anidación seleccionadas por las hembras anidadoras en 5 nidos relocalizados, utilizando dispositivos termosensitivos para la toma de la temperatura durante el período de incubación.

Se estimaron los datos morfométricos del carapacho de 210 neonatos pertenecientes a los 5 nidos relocalizados en el tortugario del AUMH, generados por la toma de fotografías. Se midió el tamaño de cada uno de los escudos costales en el carapacho de los neonatos, sirviendo como base para la

obtención del Índice de Inestabilidad de Desarrollo (Dix), cuyos valores fueron interpretados y tomados como la asimetría de los escudos en el carapacho de los neonatos evaluados.

Basándose en los datos obtenidos mediante una correlación de Kendall y una prueba de Jonckheere-Terpstra, se identificó la existencia de una influencia directa por parte de las temperaturas de incubación sobre la asimetría del carapacho de neonatos de *L. olivacea* dentro del tortugario del AUMH. Se obtuvo que, en valores de temperaturas extremas tanto altas como bajas, así como en altos rangos de variación durante el período de desarrollo embrionario, los neonatos presentaban una mayor asimetría. Sin embargo, a temperaturas bajas, se presentaron menores valores de asimetría en el carapacho de los neonatos. La influencia de la temperatura radica principalmente en el efecto que presentan sus valores máximos sobre la tasa de velocidad de la división somática; en la formación y diferenciación de tejidos y proteínas del caparazón; en las interrupciones que puedan causar en los sistemas biológicos de comunicación celular, así como en los mecanismos de formación de escudos y sus diferentes patrones.

Este estudio indica el rol de la temperatura de incubación sobre uno de los cambios fenotípicos más visibles en las tortugas. Sin embargo, es necesario generar más evidencia respecto a qué otros factores influyen en la asimetría, tales como la genética y otros estresores ambientales. También es necesario analizar la relación que presenta la asimetría del carapacho con otros caracteres de desarrollo embrionario, así como la posibilidad de una relación con la aptitud de los organismos.

Introducción

Las tortugas marinas, pertenecientes al orden Testudines, son de los vertebrados más antiguos, caracterizados por pasar toda su vida en el mar y regresar a tierra únicamente a anidar y colocar sus huevos, para que se lleve a cabo el proceso de incubación y emergencia de los neonatos que emprenderán su viaje hacia el océano (Meylan & Meylan, 2000). Estos reptiles presentan una serie de adaptaciones para el hábitat marino, teniendo un cuerpo con forma hidrodinámica de extremidades planas en forma de remo para una mayor eficiencia y rapidez de nado; glándulas excretoras de excesos salinos que se encuentren en su cuerpo; un sistema interno que le permite bucear, entre otras (Chacón, et al., 2007; Castro, 2015; Meylan & Meylan, 2000).

Estas especies carecen de cuidado parental, por lo que la elección del sitio de anidación por parte de la madre determina en gran parte la supervivencia de las crías; ya que los factores ambientales en los que se desarrollarán durante su período de incubación influyen en su desarrollo (Frazier, 2001; Miller, 1985; Morales-Mérida, 2013; Williamson, Evans, & Reina, 2017). Durante el período de desarrollo embrionario, los embriones son susceptibles a perturbaciones y factores como: la temperatura, humedad, flujo de gases, disponibilidad de oxígeno, erosión, entre otros (Williamson, Evans, & Reina, 2017).

Existe un debate sobre las principales explicaciones de las anomalías observadas en la morfología de los neonatos. Algunos autores consideran que son causadas por perturbaciones experimentadas por los embriones durante el desarrollo (Lynn & Ulrich, 1950; Özdemir & Türkozan, 2006; Bujes & Verrastro, 2007; Cherepanov, 2014; Moustakas-Verho & Cherepanov, 2015). Otros autores sugieren que las anomalías son causadas por variaciones genéticas (Cherepanov & Malashichev, 2018; Hewavisenthi & Parmenter, 2001; McKnight & Ligon, 2014; Velo-Artón, Becker & Cordero-Rivera, 2011).

Un parámetro del impacto de la variedad de condiciones estresantes durante este período de desarrollo embrionario puede ser la medición de la asimetría que el organismo presente, el cual ha servido también para indicar cómo un organismo posee la habilidad de producir un fenotipo determinado bajo ciertas condiciones, o mejor conocido como Inestabilidad de Desarrollo (Davis & Grosse, 2016).

La asimetría es cuantificada en rasgos estructurales de un organismo que deberían ser de simetría bilateral, pero presentan desviaciones menores respecto a esa simetría con diferencias medibles entre los lados izquierdo y derecho (Băncilă, et al. et al., 2012; Goessling, et al. et al., 2017). El carapacho de las tortugas contiene puntos de referencia biológicos aceptables para medir la asimetría, sumado a que el caparazón representa el genotipo por interacciones ambientales de un individuo a lo largo de su vida, siendo susceptible el mismo caparazón a cualquier tipo de perturbaciones ambientales que provoquen estrés a lo largo de su vida (Băncilă, et al. et al., 2012; Goessling, et al., 2017; Rivera & Claude, 2008).

Las tortugas también son vulnerables a impactos agudos, crónicos o acumulativos a lo largo de su vida. Es por eso que el monitoreo del impacto de estresores ambientales en los sistemas biológicos es de suma importancia para mejorar el manejo y sustentabilidad de la diversidad biológica dentro de estos sistemas (Depledge y Galloway, 2005).

Lepidochelys olivacea es una de las especies de tortuga marina más pequeña, que presenta una distribución circumtropical que abarca los océanos Pacífico, Índico y Atlántico (Varo-Cruz, Monzón, Carrillo, Clabuig, & Liriz-Loza, 2015). Esta especie es considerada la tortuga marina más abundante del planeta y una de las más explotadas (Abreu-Grobois & Plotkin, 2008; Varo-Cruz, Monzón, Carrillo, Clabuig, & Liriz-Loza, 2015). Muchos aspectos de su biología y ecología continúan sin conocerse (Varo-Cruz, Monzón, Carrillo, Clabuig, & Liriz-Loza, 2015).

El objetivo de este estudio fue evaluar la relación entre la temperatura de incubación con la asimetría de carapacho de los neonatos de *Lepidochelys olivacea* incubados en condiciones relocalizadas en el tortugario del Área de Usos Múltiples Hawaii -AUMH-, Santa Rosa, Guatemala. Esto se logró mediante la estimación de los niveles de asimetría de carapacho en los neonatos y el análisis de la relación de esta asimetría con la temperatura de incubación. Para llevar a cabo lo planteado, se recopiló información pertinente a la biología de anidación de las tortugas hembra de *L. olivacea* como la morfología del nido (profundidad y ancho), distancia a la vegetación y línea de marea alta, para replicarlo en nidos relocalizados donde se posea una mejor vigilancia de estos. Al momento de la relocalización se colocaron aparatos termosensitivos (*dataloggers*) con los que se tomó la temperatura de incubación de los nidos para los análisis posteriores.

Se identificó una relación directamente proporcional entre los extremos temperatura de incubación y sus variaciones, y la asimetría del carapacho. Esto significa que se observó una mayor asimetría en el carapacho de los neonatos en valores de temperaturas extremas, tanto de temperaturas altas como temperaturas bajas, así como en rangos de variación durante el período de incubación. Las temperaturas altas y muy bajas juegan un rol importante en la interrupción de la formación y diferenciación de los tejidos y proteínas del caparazón, así como en la formación de escudos y sus diferentes patrones.

Antecedentes

1. Tortugas Marinas

Las tortugas marinas son un grupo de vertebrados, con dataciones fósiles desde el Jurásico, caracterizado por pasar la mayor parte de su vida en el océano (Frazier, 2001). Estos reptiles presentan una serie de adaptaciones para el hábitat marino, como la forma hidrodinámica de su cuerpo, extremidades planas en forma de remo para una mayor eficiencia y rapidez de nado; glándulas excretoras de excesos salinos que se encuentren en su cuerpo; sistema interno que le permite bucear y permanecer por largos lapsos de tiempo sumergidas bajo el agua; así como la presencia de un carapacho de queratina y pocos elementos óseos que les permite defenderse de los depredadores (Chacón, et al., 2007; Castro, 2015; Meylan & Meylan, 2000). Otra característica distintiva de las tortugas marinas es la reducción de la habilidad de retraer sus cabezas dentro de su caparazón, debido a que sufren una hipertrofia muscular en el tronco que les permite tener mayor poder de nado en las aletas delanteras (Hendrickson, 1980; Meylan & Meylan, 2000). Las tortugas marinas también presentan una columna vertebral reducida y carecen de dientes, teniendo en su lugar un pico formado de queratina, la cual varía en cantidad según la especie y los hábitos alimenticios que presente (Frazier, 2001).

1.2 Especies de tortugas marinas

Las especies de tortugas marinas extantes se encuentran distribuidas en dos familias: Cheloniidae y Dermocheliidae. La familia Dermocheliidae cuenta con un carapacho sin placas o escamas, teniéndolo cubierto por una gruesa capa de piel parecida al cuero (Secretaría *Pro Tempore* de la Convención Interamericana para la Protección y Conservación de las Tortugas Marinas -CIT-, 2004). La única especie representante de esta familia es la Baule (*Dermochelys coriacea*), distribuida en latitudes templadas, la cual presenta aletas con diferente proporción y estructura que las demás

especies, permitiéndole desarrollarse en un ambiente pelágico y bucear a grandes profundidades (Pritchard & Mortimer, 2000). Esta especie se caracteriza por la presencia de quillas, una serie de siete crestas en su caparazón suave, las cuales se encuentran relacionadas con el manejo de flujo laminar asociado a nado de alta velocidad (Hendrickson, 1980, p.27).

La familia Cheloniidae se caracteriza por la presencia de un carapacho de queratina recubierta con escudos evidentes, escamas en sus extremidades y ranfoteca bien desarrollada (CIT, 2004; Lutz & Musick, 1996). Dentro de esta familia se encuentran 6 especies: la tortuga verde (*Chelonia mydas*), cabezona/caguama (*Caretta caretta*), plana (*Natator depressus*), carey (*Eretmochelys imbricata*), golfina (*Lepidochelys kempii*) y parlama (*Lepidochelys olivacea*).

La tortuga verde presenta un caparazón de 120 cm de largo (Longitud recta de caparazón –SCL-, por sus siglas en inglés) con cuatro pares de escudos costales; una escama prefrontal en su cabeza y una garra en cada extremidad anterior; una migración bien definida, orientada principalmente a la costa, así como una dieta herbívora (Pritchard & Mortimer, 2000, p.28). La cabezona/caguama presenta una cabeza triangular grande con dos escamas prefrontales; un caparazón con cinco pares de escudos costales; extremidades relativamente cortas y con dos garras en cada extremidad anterior (Pritchard & Mortimer, 2000, p. 32). Luego está la tortuga plana, restringida a las costas de Australia y Oceanía, con un caparazón de 100 cm (Longitud curva de caparazón -CCL-, por sus siglas en inglés) de textura más suave, plano y con cuatro pares de escudos costales; así como tres pares de escamas post orbitales y un par de escamas prefrontales en la cabeza (Pritchard & Mortimer, 2000, p. 30). La carey presenta un caparazón de aproximadamente 90cm (SCL) con escudos imbricados, cuatro pares de escudos costales; con una cabeza con dos pares de escamas pre frontales y dos garras en cada extremidad anterior (Pritchard & Mortimer, 2000, p. 31).

Por último, las tortugas lora y parlama o golfina, son especies pertenecientes al mismo género (*Lepidochelys*), las cuales se caracterizan por presentar poros infra marginales en su plastrón (región ventral), asociados a la salida de la glándula de Rathke, la cual se cree está relacionada con la comunicación intraespecífica para la anidación masiva, tener una función antimicrobiana o de secreción hormonal (Varo-Cruz, Monzón-Argüello, Carrillo, Calabuig, & Liriz-Loza, 2015); y por un comportamiento de anidación en arribada, en la cual cientos de tortugas hembra anidan en una misma playa durante la temporada de anidación (Wyneken, 2004). La diferencia entre ambas es que *L. kempii* es endémica de la región del Golfo de México, es ligeramente más grande, presenta cinco

pares de escudos costales en su caparazón y dos escamas prefrontales en su cabeza. Mientras que la *L. olivacea* es de menor tamaño, con un caparazón corto y ancho, cinco a nueve pares de escudos costales; configuración asimétrica, dos garras en cada extremidad y dos pares de escamas prefrontales (Castro, 2015; Pritchard & Mortimer, 2000).

1.2.1 Especies que anidan en las playas de Guatemala

En Guatemala, en la costa del Pacífico, anidan dos especies, de manera solitaria. La parlama, *Lepidochelys olivacea*, es la especie con un patrón de anidación más frecuente (Consejo Nacional de Áreas Protegidas -CONAP-, 2015); y la tortuga Baule (*Dermochelys coriacea*), sin embargo, en los últimos años se ha observado una severa disminución de la población anidadora de Baule en la costa sur del país (Consejo Nacional de Áreas Protegidas -CONAP-, 2015). En la costa del Atlántico, anidan las tortugas Carey (*Eretmochelys imbricata*), Baule (*Dermochelys coriacea*), Caguama (*Caretta caretta*) y Verde (*Chelonia mydas*), siendo las dos últimas las de mayor frecuencia de anidación (CONAP, 2015).

1.2.1.1 *Lepidochelys olivacea* (Eschscholtz, 1829)

La parlama (*Lepidochelys olivacea*) es una especie con distribución amplia a nivel mundial, ubicándose principalmente en aguas tropicales y subtropicales (Barrientos-Muñoz, Ramírez-Gallego, & Páez, 2014). Se reconocen dos grandes stocks para esta especie en los Océanos Índico y Pacífico Oriental, siendo las principales áreas de anidación la costa noreste de la India y desde el suroeste de México hasta Costa Rica (Bárcenas, 2009). Presenta un carapacho liso, elevado, de coloración gris olivácea y ligeramente tectiforme (en forma de tienda de campaña) en adultos, y con alta proyección vertebral en los juveniles (Castro, 2015; Pritchard & Mortimer, 2000). Presenta cinco a nueve pares de escudos costales frecuentemente con una configuración asimétrica y una longitud aproximada de 66cm (Castro, 2015, Eckert et al, 2000; Montes, 2004).

1.3 Amenazas a las tortugas marinas

Las tortugas marinas se encuentran catalogadas en peligro de extinción o vulnerables en la Lista Roja de la IUCN y en el catálogo I de la Convención Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre (CITES) (CITES, 2017; IUCN, 2018). Las poblaciones de las diferentes especies de tortugas marinas han sufrido grandes declives debido principalmente a factores como la captura incidental por pesquería; el desarrollo costero respecto al aumento en infraestructura en los sitios

de anidación; la destrucción de hábitats críticos; la contaminación de los mares; la comercialización y extracción de los huevos en las playas de anidación y el aprovechamiento directo (IAC Sea Turtle, 2014; Montes, 2004; Grupo Especial en Tortugas Marinas UICN/CSE, 2010; Muccio, Ortiz y Martínez, 2008).

Para la captura de los principales peces y camarones, se utiliza un sistema de pesca conocido como *palangre*. Este consiste en un monofilamento de nylon que corre horizontalmente sobre el agua, con anzuelos con carnada dispuestos perpendicularmente en los extremos de líneas secundarias (Chacón & Aráuz, 2001; Montes, 2004). Las tortugas se enredan en estas redes de pesca, y según el grado de enredo estas pueden llegar a sufrir de amputaciones de alguna extremidad o estrangulamiento (Montes, 2004).

El incremento de infraestructuras en las zonas costeras transforma el paisaje al incrementar la erosión, disminuyen las áreas disponibles para anidación de las tortugas, incrementan la contaminación lumínica y alteran las condiciones del sustrato, posiblemente afectando la incubación de los huevos y el comportamiento de las crías (Bárcenas, 2009).

Una de las principales amenazas inducidas por el humano es la contaminación por el mal uso de los plásticos, que gracias a sus características, pueden movilizarse grandes distancias hasta establecerse en los sedimentos, donde pueden persistir por mucho tiempo (Derraik, 2002). En un estudio realizado en Brasil por Rizzi y colaboradores (2019), demostraron que los principales tipos de plásticos ingeridos por juveniles de tortugas carey y verde principalmente, eran aquellos de color blanco o café y consistencia dura o flexible, debido a que en esta fase juvenil no presentan una dieta especializada por lo que confunden el plástico con una posible presa.

La contaminación lumínica puede desalentar a la hembra a elegir la playa como sitio de anidación, así como desorientar a los neonatos, al dirigirlos en dirección contraria al océano o hacerlos moverse en círculos, disminuyendo sus probabilidades de supervivencia (Salmon, 2006).

Los huevos de tortugas marinas son utilizados con fines comerciales, para consumo humano, ya sea legal o ilegalmente (Varo-Cruz, Monzón-Argüello, Carrillo, Calabuig, & Liriz-Loza, 2015). En Guatemala se instituyó la Resolución No. 01-21-2012 por el Consejo Nacional de Áreas Protegidas-CONAP-, en el que se aclara que los recolectores de huevos de parlama deben donar el 20% del nido hacia el tortugario local autorizado legalmente por CONAP (CONAP, 2015). Esta práctica es realizada

por las comunidades costeras como fuente de ingreso económico, vendiéndolos en mercados locales o exportándolos a la ciudad capital (Zelaya, 2016).

2 Ciclo de vida de las tortugas marinas

El ciclo de vida de las tortugas marinas inicia en las playas de anidación, las cuales son sitios donde las hembras anidadoras llegan, normalmente de noche, a colocar sus huevos. Las tortugas muestran una gran fidelidad de sitio en la elección de los sitios de anidación, sugiriéndose con base en evidencia que los hábitats de anidación usados por una hembra adulta se encuentran localizados dentro de la región donde ésta nació (Lutz, Musick, & Wyneken, 2003; Mazaris, Matsinos, & Pantis, 2009).

Las hembras salen del mar y suben la pendiente de la playa y eligen el sitio donde quieren colocar los huevos dentro de un área en específico (Kamel & Mrosovsky, 2005), el cual tiende a ser por encima de la línea de marea alta para evitar inundaciones por el aumento del nivel del mar (Musick, 2002). La elección de sitio, por parte de la madre, ha sido sugerida como un comportamiento hereditario y capaz de demostrar el potencial evolutivo de cada individuo (Kamel & Mrosovsky, 2005). Al ser elegido el sitio, comienzan a limpiar el área con sus extremidades y luego comienzan a retirar arena con sus aletas traseras, formando el nido en forma de un cántaro a profundidades que varían según la especie (Lutz, Musick, & Wyneken, 2003).

En el nido, la hembra pueden poner de 50 a 130 huevos, dependiendo de la especie y el proceso puede tardarse de 1 a 2 horas (Lutz, Musick, & Wyneken, 2003). Al terminar de poner los huevos, tapa el nido con la arena que removió previamente, hasta llenar el agujero y luego golpea su plastrón contra la arena para aplanar el área; moviéndose a lo largo de la misma formando una forma de "U", mecanismo para confundir a los depredadores respecto al sitio exacto del nido. Finalmente, se dirigen hacia el mar, dejando a sus crías sin cuidado parental, limitando la sobrevivencia de los neonatos a la contribución energética de cada huevo y a la selección de sitio de anidación (Azanza, 2009; Davenport, 1997; Witherington, Hiram, & Mosier, 2011).

El desarrollo embrionario de las tortugas marinas abarca 31 estadios, con una duración de 40-55 días. Las tortugas marinas poseen un mecanismo de determinación de sexo por temperatura (TSD por sus siglas en inglés), donde existe un período termosensitivo (estadio 16-21) en el que las temperaturas afectan la proporción de sexos obtenidos en las crías (Merchant, 2000). La

temperatura de incubación se compara con la temperatura pivotal, siendo una temperatura acumulativa en la cual se obtiene una proporción de sexo de las crías 1:1 (hembra: macho), con valores variables entre una especie y otra. En este contexto, se obtienen hembras a temperaturas mayores y machos a temperaturas menores que la temperatura pivotal (Girondot, Fouillet, & Pieau, 1998).

La fototaxis positiva es la tendencia de un individuo de moverse hacia la fuente de luz (Scott, 2005). En el océano, la luz es reflejada por el océano y permite que se dirijan hacia el horizonte donde hay mayor brillo en la superficie oceánica (Tuxbuy & Salmon, 2005). Los neonatos, al culminar el período de incubación, utilizan la intensidad de la luz y la elevación del horizonte, para realizar fototaxis positiva y de esta manera dirigirse hacia el horizonte del océano, donde hay mayor intensidad de luz que en la tierra.

La filopatría es el proceso durante el cual un individuo al alcanzar la madurez reproductiva, regresa a anidar a las mismas regiones donde nació (Brothers & Lohmann, 2018). Durante su trayectoria hacia el océano, los neonatos perciben información de factores físicos respecto a las firmas magnéticas del área en la que nacieron, así como elementos específicos del campo magnético como la inclinación e intensidad, misma información que utilizarán posteriormente para regresar (Brothers & Lohmann, 2018). Al emprender su viaje mar adentro, los neonatos tienen de 24 a 48 horas de energía disponible para su movilización, almacenada en los remanentes de vitelo. Conforme se va agotando esta reserva, los neonatos pierden el impulso causado por la adrenalina, por lo que en esta fase no presentan nado activo y se encuentran flotando en la superficie del océano, utilizando las corrientes para su movilización (Hays, Fossette, Katselidis, Mariani, & Schofield, 2010).

Durante la transición de neonato a juvenil, las tortugas entran en una fase pelágica dentro de la cual se encuentran normalmente cerca de los pastos marinos o en líneas de deriva cerca de los bordes de grandes corrientes; sin embargo, se conoce esta etapa como *los años perdidos* debido a que no se conoce con precisión lo que ocurre (Meylan & Meylan, 2000).

Cuando las tortugas sobreviven y llegan a la madurez sexual, alcanzan la etapa adulta, se dirigen de los sitios de alimentación a sus largas migraciones hacia las áreas de reproducción, para luego poder llevar a cabo el proceso de anidación. et al.et al.

3 Desarrollo embrionario de tortugas marinas

Una vez fertilizado el óvulo, éste continúa desarrollándose hasta llegar a gástrula, fase en la cual se mantiene mientras permanece en el oviducto de la madre en donde se forma la estructura completa del huevo: yema, albúmina y cascarón, y permanece en este arresto de desarrollo hasta el momento en el que es depositado en el nido (Miller, 1985; Frazier, 2001, Williamson, Evans, & Reina, 2017).

Este arresto de desarrollo mantiene a los embriones sin una división celular activa ni crecimiento, fase que ha demostrado ser de ventaja para las madres, ya que estas pueden retrasar la oviposición por días o meses hasta que considere que las condiciones son óptimas para continuar con el proceso de anidación (Williamson, Evans, & Reina, 2017). Otra ventaja es que este arresto permite asegurarse que todos los embriones se encuentran en el mismo estadio de desarrollo al momento de ser puestos, facilitando la sincronización del desarrollo y emergencia de neonatos dentro del nido sin importar cuando hayan sido ovulados, evitando el incremento de depredación y costo energético de escapar del nido (Rusli et al. 2016; Williamson, Evans, & Reina, 2017). Al momento de pasar del ambiente hipóxico del oviducto hacia un ambiente normoxico dentro del nido, se induce el rompimiento de la fase de arresto de desarrollo, hasta 12 horas después de la oviposición (Williamson, Evans, & Reina, 2017).

Los huevos son casi esférico, con una cáscara calcárea (con cristales de aragonita) de tipo apergaminado y flexible, sin estar turgente durante la oviposición, permitiéndoles resistir el impacto contra la arena u otros huevos al caer desde la cloaca de la tortuga hacia el interior del nido (Frazier, 2001; Miller, 1985; Morales-Mérida, 2013). Esto, sumado al arresto de desarrollo que presentan los huevos, les permite sobrevivir a movimientos y rotaciones propias del proceso de oviposición. Sin embargo, luego de 2 a 6 horas de haber sido puesto, el embrión puede morir por movimientos inducidos a los huevos, ya que en este momento comienza el crecimiento de membranas que se adhieren al vitelo dentro de la cáscara, las cuales pueden desprenderse si se mueven (Ahmad, Zulkifli, Mohd, Razak, & Azman 2004; Morales-Mérida, 2013).

Durante la incubación se dan 31 etapas de desarrollo embrionario, ocurriendo de la etapa 1 a la 5 la inducción de la oxitocina de la oviposición, la formación de la cabeza y el inicio de un intestino grueso. En la etapa 6 a 10, ocurre una diferenciación del notocordio, los pliegues neurales, evidenciación del intestino anterior, crecimiento de extremidades y presencia de cola. Durante las etapas 11 a 18 se inicia la formación del carapacho, procesos maxilares, diferenciación del corazón,

diferenciación de gónadas por temperatura y hendiduras faríngeas; mientras que en las etapas 19 a 31, concluye la formación de la cáscara, el desarrollo del carapacho, escamas y extremidades, así como los procesos pigmentarios (Miller, 1985; Morales-Mérida, 2013). Una vez cumplidas las etapas, eclosiona el neonato y emprende su transición hacia la fase juvenil, y aquellas tortugas que sobreviven, alcanzan la fase de adultos (Frazier, 2001).

3.1 Carapacho de tortugas

El caparazón de las tortugas es considerado la novedad más evidente del clado Testudines, y se cree que desencadenó su diversificación (Zimm, Bentley, Wyneken, & Moustakas-Verho, 2017); está compuesto por una armadura dorsal denominada carapacho y por una armadura ventral denominada plastrón (Moustakas, 2008). El carapacho está formado por costillas, vertebras, clavículas, interclavículas y una osificación reciente cubierta por un arreglo de estructuras epidérmicas denominadas escudos (Wyneken, 2001; Zimm, Bentley, Wyneken, & Moustakas-Verho, 2017).

La formación del carapacho en los embriones de tortugas marinas ocurre inicialmente con la formación de la cresta carapacial en estadios tempranos (primer tercio de desarrollo), la cual actúa como un centro lateral organizador para patrones de escudos subsecuentes del carapacho (Zimm, Bentley, Wyneken, & Moustakas-Verho, 2017; Cherepanov, Malashichev, & Danilov, 2019; Zimm, 2019). Posteriormente se da la aparición de pequeños engrosamientos epidérmicos denominados placodas (Moustakas, 2008; Cherepanov, 2014; Moustakhas-Verho, et.al., 2014; Moustakhas-Verho & Cherepanov, 2015; Maffucci, Pace, Affuso, Ciampa, Treglia, Pignalosa, & Hochscheid, 2019). Estas placodas (primordios de escudos) surgen exclusivamente en la parte inferior de las invaginaciones intersegmentarias del embrión, ubicadas en el área donde estarán las costillas (miosepta transversal del tronco) siendo su posición determinada por una segmentación somítica primaria (Moustakhas-Verho & Cherepanov, 2015; Cherepanov, Malashichev, & Danilov, 2019). El desarrollo de las placodas se da en secuencia y no simultáneamente, por lo que los primordios de las placodas costales aparecen previo a la formación de las placodas vertebrales y nucales (Cherepanov, 2014; Cherepanov, Malashichev, & Danilov, 2019; Zimm, 2019).

Estos primordios de escudos costales y vertebrales se hacen visibles como centros de patrones geoméricamente arreglados, cuya posición ya se parece a las posiciones de los futuros escudos

(Cherepanov, Malashichev, & Danilov, 2019; Nagashima, Shibata, Taniguchi, Ueno, Kamezaki, & Sato, 2014; Zimm, 2019). Los escudos vertebrales y nucales surgen como primordios emparejados (izquierdo y derecho) que normalmente se fusionan entre sí para formar los escudos individuales (Moustakas-Verho et al., 2014; Moustakhas-Verho & Cherepanov, 2015; Zimm, 2019). Las placodas carapaciales se desarrollan desde la periferia, el inicio de la cresta caparacial, hacia la línea media (Moustakhas-Verho & Cherepanov, 2015).

Los escudos que recubren el caparazón son apéndices cutáneos tipo placas queratinosas que crecen radial y continuamente en la epidermis, siendo su presencia un carácter basal en las tortugas extantes (Moustakhas-Verho, et al. et al., 2014). La típica estructuración de estos escudos del carapacho en las tortugas pertenecientes a la familia Cheloniidae consiste en una serie longitudinal media de elementos no pareados denominados escudos vertebrales, así como por escudos anteriores y medios conocidos como nucales (Bujes & Verrastro, 2007; Tüzoka, Ilgaz & Sak, 2001). Estos se encuentran flanqueados en cada lado por una serie de escudos bilateralmente pareados, comúnmente conocidos como costales o laterales, los cuales a su vez se encuentran bordeados externamente por otra serie de escudos bilateralmente pareados denominados marginales (Tüzoka, Ilgaz & Sak, 2001). Los escudos supracausales o postcentrales se encuentran ubicados en la región posterior, entre los últimos pares de los escudos marginales (Bujes & Verrastro, 2007; Wyneken, 2004).

4 Asimetría de carapacho

Las anomalías de los escudos más comunes son generalmente asimétricas, comprendiendo la adición o fusión de los escudos, así como el desplazamiento de un hemisferio del carapacho completo, provocando una estructura de zigzag de los escudos vertebrales (Zimm, Bentley, Wyneken, & Moustakas-Verho, 2017).

La asimetría fluctuante o asimetría, es cuantificada en rasgos estructurales de un organismo que en teoría deberían ser de simetría bilateral, pero presentan desviaciones menores respecto a esa simetría con diferencias medibles entre los lados izquierdo y derecho (Băncilă, et al. et al., 2012; Goessling, et al. et al., 2017). Esta asimetría ha sido sugerida como un reflejo confiable del estrés experimentado durante el desarrollo, siendo fácil de medir y analizar que ver su relación con la aptitud evolutiva, especialmente en poblaciones naturales (Dongen, 2006).

La inestabilidad de Desarrollo (ID) se refiere a la inhabilidad de un individuo de producir un fenotipo específico bajo ciertas condiciones ambientales dadas, habiéndose demostrado en estudios anteriores una asociación positiva entre la ID con el nivel de estrés que los individuos pueden experimentar (Pertoldi, Kristensen, Andersen, & Loeschcke, 2006). Un parámetro de indicación de Inestabilidad de desarrollo de un organismo puede ser la medición de su asimetría y así evaluar los impactos de una variedad de condiciones estresantes (Davis & Grosse, 2016).

La idea central de la asimetría como medida de ID es que ambos lados de un mismo organismo pueden ser vistas como replicas independientes de un mismo evento de desarrollo. Ambos lados comparten el mismo genotipo y en un ambiente con condiciones homogéneas, y por ende idéntico en ambos lados, se encuentran bajo la influencia de los mismos factores externos (Dongen, 2006). Durante el desarrollo, pequeñas perturbaciones aleatorias causan que el trayecto de desarrollo se desvíe de su trayectoria esperada bajo ciertas condiciones; y conforme estos procesos actúan localmente, afectando por ende solo una parte del cuerpo, teniendo la acumulación de sus efectos en ambos lados por separado, llevando a fenotipos asimétricos (Dongen, 2006).

El carapacho de las tortugas contiene puntos de referencia biológicos aceptables para medir la asimetría fluctuante, sumado a que el caparazón representa el genotipo por interacciones ambientales de un individuo a lo largo de su vida, siendo susceptible el mismo caparazón a cualquier tipo de perturbaciones ambientales que provoquen estrés a lo largo de su vida (Băncilă, et al. et al., 2012; Goessling, et al., 2017; Rivera & Claude, 2008).

5 Estudios de asimetría del carapacho en tortugas

Los trabajos de asimetría en el carapacho de las tortugas adultas son escasos. Sin embargo, un trabajo reciente de Cortés-Gómez, Romero y Girondot (2018), con *Lepidochelys olivacea*, se enfocó en la influencia de los metales pesados en la ID y una de sus principales consecuencias, la asimetría del caparazón de las tortugas adultas. Esta relación explorada entre la contaminación con metales pesados en adultos y el índice de ID, cuantifica la ID el número y tamaño relativo de los escudos costales del carapacho, considerando que puede reflejar directa o indirectamente la interrupción de la eliminación de metales o en el estado adulto dependiente de las perturbaciones durante su desarrollo embrionario

La parlama es una especie única, caracterizada por una gran variabilidad en sus patrones de escudos en su caparazón (Cherepanov & Malashichev, 2014). Se ha demostrado que perturbaciones durante el desarrollo embrionario resultan en anormalidades (Cortés-Gómez, Romero, & Girondot, 2017; Zimm, Bentley, Wyneken, & Moustakas-Verhos, 2018). Un estudio realizado por Cherepanov & Malaschiev (2018), con neonatos de *Lepidochelys olivacea* en Sri Lanka, demostró que presentaban asimetría notable en sus escudos. Se cree que estas anormalidades de la disposición de los escudos pueden provenir tanto de anomalías genéticas (Hewavisenthi & Parmenter, 2001; McKnight & Ligon, 2014; Velo-Artón, Becker & Cordero-Rivera, 2011; Cherepanov & Malashichev, 2018), como de perturbaciones (ambientales o biológicas) durante la embriogénesis; siendo ésta última considerada, por varios autores, como la explicación a las anomalías (Lynn & Ulrich, 1950; Özdemir & Türkozan, 2006; Bujes & Verrastro, 2007; Cherepanov, 2014; Moustakas-Verho & Cherepanov, 2015).

La temperatura juega un rol importante en el desarrollo de los embriones ectotérmicos, influenciando no solo en la supervivencia de los neonatos en temperaturas demasiado altas o bajas, sino también en adquirir ciertos atributos, incluyendo el sexo (Sim, 2014; Mitchell & Janzen, 2010). En el trabajo experimental de Lynn & Ulrich (1950), un número mayor de anomalías en los escudos han sido detectados donde los huevos fueron expuestos a condiciones de secados parciales durante las etapas de desarrollo crítico en *Chrysemys picta* y *Chelydra serpentina*. Kamezaki (1989), examinó la relación entre las anormalidades en los escudos del radio de neonatos de *Caretta caretta* y el período de incubación como una función de la temperatura de incubación, obteniendo que los períodos de incubación más largos (de menor temperatura de incubación) correspondían con un aumento en el número de anormalidades en los escudos costales, marginales y nucales.

En Estados Unidos, Telemeco, Warner, Reida & Janzen (2013), encontraron que nidos expuestos a altas temperaturas por largos períodos presentaron un mayor número de neonatos con anormalidades, sin importar si la hembra anidadora presentaba o no anormalidades morfológicas. Zimm, Bentley, Wyneken, & Moustakas-Verhos (2017), midieron el efecto en la asimetría de carapacho de neonatos de *Chelonia mydas*, *Caretta caretta* y *Natator depressus*, por parte de las condiciones de humedad y temperatura en nidos naturales y artificiales controlados, obteniendo como factor determinante las diferencias en la temperatura presentes en los mismos.

6 Área de Estudio

El Área de Uso Múltiple Hawaii (AUMH) es un área protegida que busca conservar y proteger el ecosistema del manglar, áreas de humedales y zona costera marina que cuentan con una amplia y rica variedad de biodiversidad, sirviendo de hogar para especies en vías de extinción como las tortugas marinas de la especie Parlama (*Lepidochelys olivacea*), Baule (*Dermochelys coriacea*) y el mangle rojo (*Rhizophora mangle*) (ARCAS, 2010). Presenta un límite interno de 4,105 hectáreas con sus límites aproximados con la Reserva Natural de Usos Múltiples Monterrico (oeste), entre tierras agrícolas y el área manglar (norte), La Bocabarra de El Chapetón (este) y la playa del Océano Pacífico (sur) (ARCAS, 2010, p. 1). Se encuentra situada en la Aldea Hawaii del municipio de Chiquimulilla, Santa Rosa con un área aproximada de 8km², ubicada en la latitud 13°51'58.50" y longitud 90°24'40.87" (Zelaya, 2016). El clima característico de la región es cálido húmedo, presentando la época lluviosa desde el mes de mayo hasta el mes de septiembre y principios de octubre. La temperatura media mensual oscila entre 23.9° y 30° C, teniendo una temperatura máxima anual de 27°C. El alto contenido de humedad y las temperaturas altas son comunes en Hawaii y su variación es mínima durante el año. El contenido de humedad media oscila entre el 68 y 85%, con un promedio de 76% (ARCAS, 2010).

El AUMH y ARCAS se han esforzado en recolectar datos científicos de tortugas marinas, siendo los más completos del país. También inició un programa permanente de conteo de huellas en 1997, así como programas de monitoreo del ecosistema manglar y del ámbito marino. Bajo este programa de conteos sistemáticos de huellas de anidación, se ha documentado un incremento en 86% en la densidad de anidación en el área de Hawaii en los últimos 10 años, con 1001 huellas contados en 2004 y 1867 huellas en 2014 (Muccio y Pérez, 2015).

Justificación

El caparazón de las tortugas marinas se encuentra constituido por una cubierta dorsal denominada carapacho y por una armadura ventral denominada plastrón (Moustakas, 2008). El carapacho está formado por placas de hueso de origen dérmico cubiertas de escamas de origen epidérmico que le dan dureza y rigidez (Lara, 2015). En las tortugas de la familia Cheloniidae, el desarrollo de escudos supernumerarios es un fenómeno común, siendo dentro de este grupo de tortugas las de mayor desviación del patrón de escudos en el carapacho pertenecientes al género *Lepidochelys* (Hill, 1971; Mast & Carr, 1989; Cherepanov, 2014; Eckert, *et al. et al.*, 2001; Michel-Morfin, Gómez & Navarro, 2001; Özdemir & Türkozan, 2006).

Se presume que la fluctuación de las poblaciones de *Lepidochelys olivacea* se ve influenciada por causas naturales y antropogénicas como la sobreexplotación, alteración de áreas de anidación y captura por pesca (Brenes, *et al.*, 2014). Este impacto sumado a cambios morfológicos, influyen de forma significativa los complejos y delicados ecosistemas marinos-costeros, contribuyendo significativamente a la disminución del hábitat para anidar y de las poblaciones de los organismos, debido a que en su ciclo de vida, las hembras regresan a áreas cercanas a sus playas natales para anidar (Bolongaro y otros, 2010).

La asimetría fluctuante o asimetría, ha sido utilizada para medir la Inestabilidad de Desarrollo (DI, por sus siglas en inglés) en las poblaciones (Velo-Artón, Becker & Cordero-Rivera, 2011; Cortés-Gómez, Romero y Girondot, 2018), debido a que las anomalías se detectan fácilmente en la forma de deformaciones, adiciones o reducciones del número de escudos en los carapachos, haciéndolas modelos excelentes para el estudio de la DI (Velo-Antón, Becker & Cordero-Rivera, 2011). La asimetría es interpretada como indicador de estresores internos (genéticos) o externos (ambientales) que perturban el desarrollo de las estructuras a lo largo del desarrollo normal en un ambiente dado y produce “ruido” de desarrollo (Leamy y Klingenberg, 2005; Verón-Antón, Becker & Cordero-Rivera, 2011; Cherepanov & Malashichev, 2018).

La asimetría si bien, puede ser parte de algún indicador de aptitud evolutiva, ha sido de bastante interés debido al posible efecto que presenta ante la selección sexual y la aptitud de las especies (Rivera & Claude, 2008); sin embargo, no se tiene suficiente evidencia respecto a su efecto en la aptitud de *Lepidochelys olivacea*, como el que se ha datado en peces, aves e insectos (Beasley, *et al. et al.*, 2013; Cortés-Gómez, *et al. et al.*, 2018); por lo que este trabajo se enfocó en el posible efecto

creado por estresores ambientales como la temperatura. Para ello se utilizó el Índice de Inestabilidad del Desarrollo (Dix), propuesto por Cortés-Gómez, *et al.* (2018), en el que cuantificaron tanto la relación entre el número de escudos costales izquierdos y derechos, como los tamaños y formas de los escudos, facilitando así las comparaciones y análisis de la heterogeneidad de los escudos desarrollada en un individuo. Este índice se propone para determinar la asimetría en la especie *Lepidochelys olivacea*, sin importar el origen o posibles causas de su origen.

Las tortugas son vulnerables no solo ante impactos agudos, sino también a impactos crónicos o acumulativos a lo largo de su vida. Es por eso que el monitoreo del impacto de estresores ambientales en los sistemas biológicos es de suma importancia para mejorar el manejo y sustentabilidad de la diversidad biológica dentro de los mismos (Depledge y Galloway, 2005). Una de las limitantes en los esfuerzos de conservación podría ser la falta de estudios que relacionan el impacto de los factores ambientales en el desarrollo de asimetría en el caparazón de *Lepidochelys olivacea* (Richardson, 2000). Por esta razón, la importancia de este estudio en mejorar la comprensión de la influencia de las temperaturas de incubación en la morfología de su caparazón durante una de sus fases críticas en su ciclo de vida permite contar con información de la biología de poblaciones en el país que pueda impulsar mejoras en los planes de conservación.

Objetivos

a. General

- Evaluar la relación entre la temperatura de incubación con la asimetría de carapacho de los neonatos de *Lepidochelys olivacea* incubados en el Área de Usos Múltiples Hawaii -AUMH-, Santa Rosa, Guatemala.

b. Específico

- Estimar el nivel de asimetría en el carapacho de los neonatos de *L. olivacea* del AUMH.
- Analizar la influencia de la temperatura de incubación sobre la asimetría del carapacho de los neonatos de *L. olivacea* del AUMH.

Hipótesis

La temperatura de incubación tiene una influencia directa en la asimetría del carapacho en neonatos de *Lepidochelys olivacea*.

Materiales y Métodos

Universo

Neonatos de *Lepidochelys olivacea* incubados en el tortugario del Área de Usos Múltiples Hawaii, Santa Rosa, Guatemala.

Muestra

210 Neonatos de *Lepidochelys olivacea* incubados en el tortugario del Área de Usos Múltiples Hawaii, Santa Rosa, Guatemala.

Materiales

- Neonatos de parlama (*L. olivacea*)
- Dispositivos termosensitivos (*dataloggers*)
- Cinta métrica
- Iphone 5 con cámara de 8 megapíxeles (f/2.2, 29mm, 1/3", 1.5µm).
- Tabla de madera con clip
- Cuaderno de campo
- Lápiz
- Guantes
- Computadora
- Linternas de cabeza con luz roja

Métodos

Se realizaron patrullajes nocturnos a lo largo de la playa durante los meses de julio a noviembre de 8pm a 3am en búsqueda de parlamas anidadoras. Se tomó un total de 5 tortugas anidadoras con sus nidos respectivos, los cuales fueron relocalizados en el tortugario del Área de Usos Múltiples Hawaii –AUMH.

La relocalización de los nidos se llevó a cabo con la toma de las medidas de los nidos naturales, obteniendo la profundidad del nido, el diámetro de la cámara del nido, diámetro de la boca del nido, distancia a la línea de marea alta y vegetación. La profundidad del nido consistió en dos medidas: la

medida desde la superficie de la arena hasta la parte superior de los huevos y la medida desde la superficie de la arena hasta el fondo (tomando medida con el último huevo del fondo y una vez los huevos sean completamente removidos) (United States Geological Survey-USGS-, s.f.). Al inicio de la temporada de anidación se realizó una fase de prueba de esta metodología, sin embargo, durante la toma de datos de esta tesis, no hubo desarrollo embrionario en condiciones naturales por lo que la relación entre la asimetría de carapacho y la temperatura fueron trabajados en condiciones de tortugario.

Para estimar la asimetría en neonatos, se estimaron los datos morfométricos del carapacho de 210 neonatos pertenecientes a los 5 nidos relocalizados, generados por la toma de fotografías, con una cámara de 8 megapíxeles (f/2.2, 29mm, 1/3", 1.5 μ m). Posteriormente se analizaron las fotografías utilizando el programa computacional, *Inkscape*, con el cual se midió el tamaño de cada uno de los escudos costales en el carapacho de los neonatos (ver figura 1), usando como medida métrica el número de píxeles abarcados por cada uno de los mismos. Luego estos datos fueron tabulados en el programa Microsoft Excel® y procesados con el programa R versión 3.6.2., en el que se utilizó el Índice de Inestabilidad de Desarrollo (Dix), cuyos valores fueron interpretados y tomados como la asimetría de los escudos en el carapacho de los neonatos evaluados.

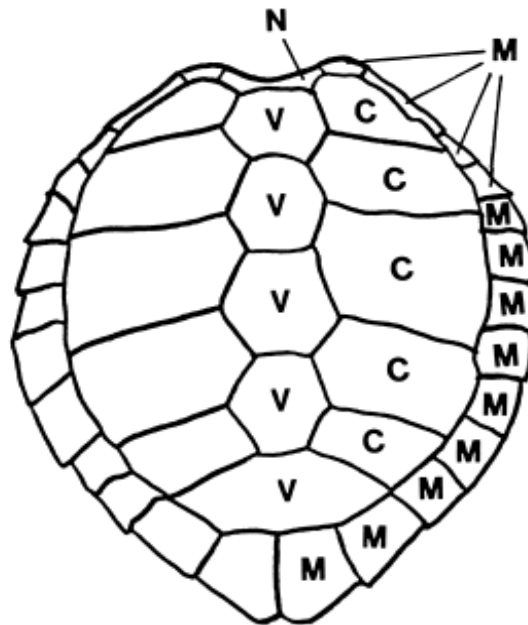


Figura 1. Disposición y nomenclatura de los escudos de carapacho de una tortuga marina (*Cheloniidae*). N: nucales; M: marginales; C: costales; V: vertebrales. Adaptado de "Carapacial scute

variation in Kemp's Ridley Sea Turtle (*Lepidochelys kempi*)" hatchlings and juveniles por Mast, R. & Carr, J., 1989, Proceedings of the First International Symposium on Kemp's Ridley Sea Turtle Biology, Conservation and Management. Copyright 1989 por Texas A&M University at Galveston.

Para analizar la influencia de la temperatura de incubación sobre la asimetría de carapacho en neonatos del tortugario, se midió en cada uno de los nidos monitoreados la temperatura del nido en °C utilizando para su registro dispositivos termosensitivos o *dataloggers* (HOBO®Pendant). La temperatura se eligió ya que puede llegar a ser un factor ambiental relevante, debido a que en un estudio realizado por Zimm, Bentley, Wyneken, & Moustakas-Verho (2017), se demostró que diferencias en temperatura llevaron a diferencias significativas entre diferentes frecuencias de anomalías de escudos en el carapacho de los neonatos de las especies de *Chelonia mydas*, *Natator depressus* y *Caretta caretta*.

Análisis estadísticos

Para estimar el nivel de asimetría en el carapacho de los neonatos de *L. olivacea* del AUMH, se utilizó el Índice de Inestabilidad del Desarrollo (Dlx), dentro del paquete estadístico "HelpersMG" en el programa R. Este índice permite describir la heterogeneidad de los escudos del carapacho de un individuo desarrollado, combinando en una sola métrica, dos medidas estándares de diversidad que requieren proporciones relativas: el índice de entropía de Shannon y la distancia angular de Edwards (Cortés-Gómez, *et al.*, 2018).

El índice de entropía de Shannon mide la diversidad del ancho de los escudos de cada lado, mientras que la distancia angular de Edwards mide la diferencia en el tamaño de los escudos costales entre los dos lados del carapacho (Cortés-Gómez, *et al.*, 2018). Los valores de Dlx obtenidos fueron descritos desde mínimo a máximo, categorizando a los individuos en niveles de asimetría bajos, cuando presentaban valores entre 1.46 hasta 1.69, nivel medio del índice a los que presentaban un Dlx entre 1.70 hasta 1.99, y altos para los valores iguales o mayores a 2.0.

Para analizar la influencia de la temperatura de incubación en la asimetría de carapacho de los neonatos, se realizó una prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov. Debido a la naturaleza de variable categórica ordinal de la temperatura de incubación (representada como el rango de

variación durante el período de incubación) y a la obtención de una distribución no normal de los datos, se procedió a realizar una prueba de correlación simple por rangos de Kendall.

Continuando con este análisis, se realizó una prueba de Jonckheere-Terpstra, la cual compara medianas poblacionales cuando se tienen diferentes muestras independientes y se asume naturaleza ordinal (Ali, Abdur, Ahmed, Naseer, Wasim & Akhtar, 2015). Este estadístico determina la significancia de un posible patrón presente en los datos, examinando la hipótesis nula en este estudio, que la distribución de la asimetría no difiere entre los diferentes valores de la temperatura de incubación.

Resultados

Estimación del nivel de asimetría en el carapacho de los neonatos de *L. olivacea* del AUMH

Para estimar el nivel de asimetría de carapacho de los neonatos del AUMH, se obtuvieron valores de Índice de Inestabilidad del Desarrollo (Dix) a partir de las mediciones morfométricas de los escudos de cada individuo (ver Anexo 1). Mediante los valores del Dix obtenidos y las variaciones reportadas por Cortés-Gómez, et.al. (2018), se creó una escala de niveles de asimetría que consiste en la categorización de los valores que oscilan entre 1.46 hasta 2.25, en tres niveles: bajo, medio y alto. En la Figura 2A se puede observar las frecuencias de los valores de Dix de todos los neonatos, siendo el promedio general de 1.78. La figura 2B presenta el 24% de los neonatos (n=50) con valores del índice pertenecientes al nivel de asimetría bajo. Para el nivel de asimetría bajo, se tomaron en cuenta los valores que van desde 1.46 hasta 1.69; obteniendo un promedio de 1.62. El nivel de asimetría medio, observado en la Figura 2C, representa al 67% de los neonatos (n=141). Este nivel consiste en los valores que oscilan entre 1.70 hasta 1.99, dentro del que se obtuvo un promedio de 1.79. Por último, en la Figura 2D se encuentra el nivel de asimetría alta, abarcando al 9% (n=18) de los neonatos. Para este nivel se establecieron a los individuos con los valores que van desde 2.0 hasta 2.25, presentando un promedio de 2.07.

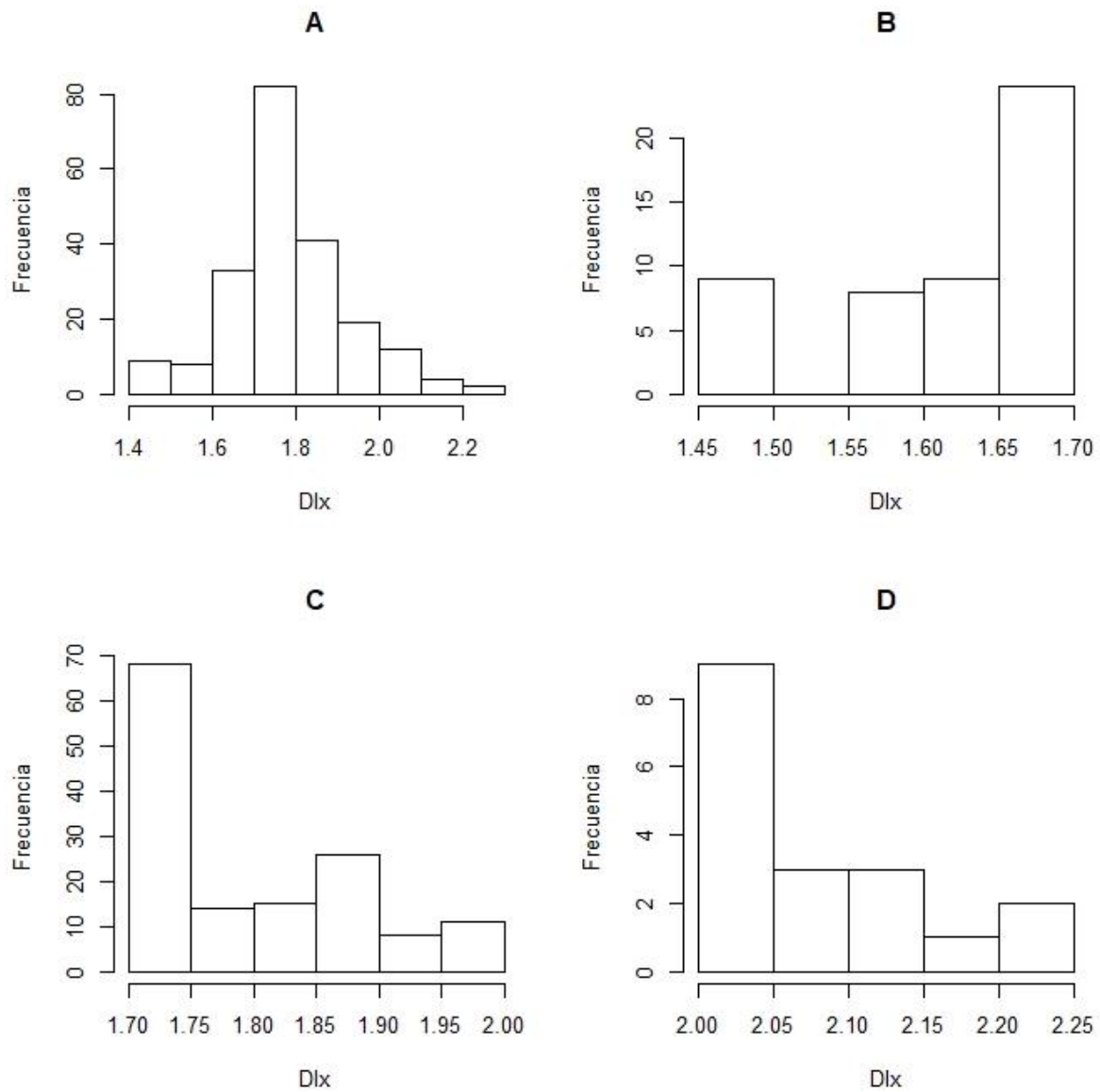


Figura 2. Diagrama de frecuencias del Índice de Inestabilidad del Desarrollo (DIx) observados en los individuos del estudio: **A)** todos los neonatos del estudio; **B)** neonatos del nivel de asimetría bajo; **C)** neonatos del nivel de asimetría medio y **D)** neonatos en el nivel de asimetría alto.

Se observó una gran variación en el número de escudos en el carapacho, así como en el tamaño de estos. En la Figura 3. A, se puede observar un carapacho con niveles de asimetría bajos (Dix 1.4) que presenta cinco escudos en el lado izquierdo y cinco en el lado derecho. La Figura 3. B muestra un carapacho con niveles de asimetría medios (Dix 1.78) el cual tiene seis escudos en el lado izquierdo y siete escudos en el lado derecho, evidenciando la diferencia en tamaños entre el cuarto escudo derecho con el resto. Por último, en la Figura 3. C se presenta un carapacho con niveles de asimetría altos (Dix 2.24), presentando ocho escudos en el lado izquierdo y seis escudos en el lado derecho, resaltando la diferencia de tamaño del tercer y quinto escudo del lado izquierdo con el resto.

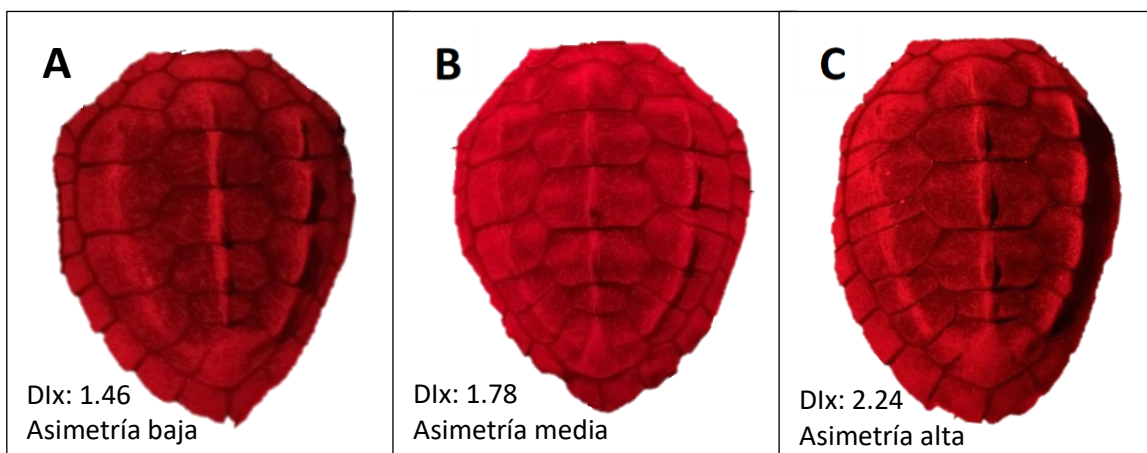


Figura 3. Niveles de asimetría de carapacho de los neonatos del AUMH.

Análisis de la influencia de la temperatura de incubación sobre la asimetría del carapacho de los neonatos de *L. olivacea* del AUMH

En cuanto a la influencia de la temperatura de incubación sobre la asimetría del carapacho de los neonatos de *L. olivacea* del AUMH se examinó la temperatura en 4 componentes: la temperatura promedio, temperaturas mínimas, temperaturas máximas y el rango de variación de esta durante el período de incubación (ver Cuadro 1). Las variaciones de temperatura a lo largo de los períodos de incubación se pueden observar en el Anexo 2.

Los estadísticos descriptivos, promedio y desviación estándar de los valores del Dix, temperaturas promedio, mínimas, máximas y el rango de variación de la temperatura de incubación en cada uno de los nidos se observan en el Cuadro 1.

Cuadro No. 1. Temperaturas e Índice de inestabilidad del desarrollo por nido.

Nido	Dlx promedio	Temperatura promedio (°C)	Temperatura mínima (°C)	Temperatura máxima(°C)	Rango de variación T(°C)
1	1.84±0.187	33.456±1.44	28.853	36.079	7.226
2	1.74±0.127	32.912±1.431	28.953	35.864	6.911
3	1.84±0.135	33.272±1.689	27.37	36.079	7.011
4	1.71±0.097	33.442±1.479	28.853	35.864	7.011
5	1.76±0.138	33.508±1.629	28.853	36.403	7.550

Para comprobar el grado de asociación entre los diferentes componentes de la temperatura de incubación con el Dlx, se aplicó la prueba de correlación simple de rangos de Kendall para cada una de las relaciones (ver Cuadro 2). Para la influencia de la temperatura promedio con el Dlx, se obtuvo que no existe una relación significativa ($p=0.3302$). Para la relación entre las temperaturas mínimas y el Dlx, se obtuvo que existe una correlación inversa ($p=0.0005688$, $\tau=-0.2106295$); mientras que para el rango de variación ($p = 6.304e-05$, $\tau = 0.2314644$) y las temperaturas máximas ($p = 0.0001806$, $\tau = 0.2323285$), sus relaciones con el índice son directas.

Cuadro No. 2: Resultados del análisis de correlación de Kendall para los valores del Dlx con los componentes de la temperatura: promedio, mínima, máxima y rango de variación.

Temperatura (°C)	Coefficiente de correlación de Kendall (τ)	Significancia de la prueba de correlación de Kendall (valor de p)
Temperatura promedio	-0.05632909	0.3302
Rango de variación	0.2314644	6.304e-05 *
Temperatura mínima	-0.2106295	0.0005688 *
Temperatura máxima	0.2323285	0.0001806 *

*valores significativos ($p<0.05$)

Posteriormente, se realizó la prueba de Jonckheere-Terpstra (JT) con los diferentes componentes de temperatura para observar los patrones de influencia de la temperatura en los valores del índice (Ver Cuadro 3). Para la temperatura promedio no se obtuvo ningún patrón significativo con el Dlx ($p > 0.05$). Al determinar la influencia de las temperaturas mínimas en el índice, se obtuvo un valor de p de 0.0002844 (JT=2891); demostrando que existe un patrón significativo en el que se presentan valores altos del índice, reflejando una asimetría alta en las temperaturas más bajas.

Cuadro No. 3: Resultados del análisis de la prueba de Jonckheere-Terpstra para los valores del Dlx con los componentes de la temperatura

Temperatura (°C)	Coficiente de la prueba de Jonckheere-Terpstra (JT)	Significancia de la prueba de Jonckheere-Terpstra (valor de p)
Temperatura promedio	4887	0.1651
Rango de variación	6619	3.152e-05*
Temperatura mínima	5005	9.03e-05*
Temperatura máxima	2891	0.0002844*

*valores significativos (<0.05)

Dentro de los análisis realizados para observar los patrones de influencia de la temperatura en los valores del índice, también se evaluó en qué etapa del período de desarrollo se presentaban más susceptibles los embriones al efecto de los diferentes componentes de temperatura analizados. En el Cuadro 4 se puede observar los valores de temperatura mínimos, máximos y de rango de variación de temperatura para cada una de las tres etapas de desarrollo en los que fue dividido el período de incubación. Estas etapas consisten en la separación de los estadios de desarrollo en tercios, siendo la etapa uno, los primeros días de desarrollo (estadios tempranos), la etapa dos en los días intermedios (estadios medios) y la etapa tres consiste en los últimos días de desarrollo (estadios tardíos) para cada uno de los nidos.

Cuadro No. 4. Las tres etapas de desarrollo principales y sus rangos de variación, temperaturas mínima y máxima.

Nido	Duración del período de incubación (días)	Etapas de desarrollo	Días de las fases de desarrollo	Temperatura a mínima (°C)	Temperatura a máxima (°C)	Rango de variación (°T)
1	47	1	1-16	29.752	33.8	4.048
		2	16-32	32.704	34.691	1.987
		3	32-47	33.118	36.079	2.961
2	47	1	1-16	28.953	34.374	5.421
		2	16-32	31.166	34.585	3.419
		3	32-47	30.76	35.864	5.104
3	45	1	1-15	27.37	34.903	7.533
		2	15-30	31.064	35.542	4.478
		3	30-45	31.778	36.079	4.301
4	48	1	1-16	28.853	34.691	5.838
		2	16-32	31.88	35.864	3.984
		3	32-48	32.086	35.864	3.778
5	46	1	1-15	28.853	34.268	5.415
		2	15-30	31.472	34.058	2.586
		3	30-46	32.911	36.403	3.492

Se realizó nuevamente la prueba de correlación de Kendall para comprobar durante que etapa de desarrollo embrionario existe una asociación entre los componentes de la temperatura previamente significativos (mínimas, máximas y rango de variación) y la asimetría de carapacho de los neonatos. Así mismo, se llevó a cabo la prueba de Jonckheere-Terpstra para observar el tipo de patrón que existe entre las variables de temperatura y el Dlx, y su significancia (ver Cuadro 5).

Cuadro No. 5: Resultados del análisis de correlación de Kendall y la prueba de Jonckheere-Terpstra para las variables de temperatura con los valores del Dlx.

Temperatura	Coeficiente de correlación de Kendall (tau)	Significancia de la prueba de correlación de Kendall (valor de p)	Coeficiente de prueba de Jonckheere-Terpstra (JT)	Significancia de la prueba de Jonckheere-Terpstra (valor de p)
Rango de variación				
Etapa embrionaria 1	0.08889694	0.1244	5761	0.06219
Etapa embrionaria 2	0.08889694	0.1244	5761	0.06219
Etapa embrionaria 3	0.04104214	0.478	5473	0.239
Temperatura mínima				
Etapa embrionaria 1	-0.09715718	0.09745*	4421	0.04873*
Etapa embrionaria 2	-0.1327644	0.02168*	4433	0.01084*
Etapa embrionaria 3	-0.0641819	0.2671	4846	0.1335
Temperatura máxima				
Etapa embrionaria 1	0.09490287	0.1008	5804	0.05039
Etapa embrionaria 2	-0.1005489	0.08208	4627	0.959
Etapa embrionaria 3	0.216867	0.0004731*	4937	0.0002365*

*valores significativos (<0.05)

Al llevar a cabo los análisis con las pruebas estadísticas de Kendall y Jonckheere-Terpstra para los rangos de variación de temperatura en las tres etapas y su relación con el índice, no se obtuvo ninguna correlación, ni patrón significativo (ver Cuadro 5).

En cuanto a la etapa de desarrollo en la que se encuentra una influencia por parte de las temperaturas mínimas, mediante la prueba de correlación de Kendall se observó que existe una relación inversa significativa con el Dlx ($p=0.02168$, $\tau=-0.1327644$) en la segunda etapa de desarrollo (ver Cuadro 5). Para la prueba de Jonckheere-Terpstra, se obtuvo un patrón significativo ($p=0.01084$, $JT= 4433$, $H_a=$ disminución), en el que se presentan altos valores de asimetría con los valores más bajos de temperaturas durante esta etapa.

Por último, con las temperaturas máximas se observa que la influencia ejercida por estas en los valores de asimetría ocurre en la tercera etapa de desarrollo, obteniéndose una relación directa significativa ($p=0.0004731$, $\tau=0.216867$) (ver Cuadro 5). Para la prueba de Jonckheere-Terpstra, se obtuvo un patrón significativo ($p=0.0002365$, $JT= 4937$, $H_a=$ aumento), en el que con los valores más altos de temperaturas máximas en esta etapa (35.864°C), se presentan los mayores valores del Dlx.

Discusión

Estimación del nivel de asimetría en el carapacho de los neonatos de *L. olivacea* del AUMH

Los escudos costales se encuentran fuertemente influenciados por la presencia de depresiones septales vacantes, lo cual explica por qué el tipo de anomalía de carapacho más frecuente es la presencia de escudos adicionales (Moustakhas-Verho & Cherepanov, 2015), ya que un cambio en la distancia entre los primordios de los escudos puede llevar a la formación de escudos supernumerarios que puedan ocupar las áreas vacantes formadas (Moustakas-Verho et al., 2014). Una fuente de cambios morfológicos en células epiteliales relacionadas a la formación de los primordios de los escudos, son los fallos en la comunicación entre células, los cuales resultan en la prevención de eventos de desarrollo subsecuente (Zimm, 2019). El tiempo de señalización celular (comunicación) y morfogénesis tiene implicaciones en la cantidad de variación que se produce en el desarrollo (Salazar-Ciudad, Jernvall, & Newman, 2003; Zimm, 2019).

Se ha reportado previamente la existencia de una gran variabilidad del número de escudos costales para las especies del género *Lepidochelys*, donde prevalece la presencia de variantes de 6 o más escudos sobre el morfotipo típico de la mayoría de las tortugas (Pritchard, 1969; Cherepanov, 2014; Moustakas-Verho, et.al., 2014.b; Cherepanov, Malashichev, & Danilov, 2019; Zimm, 2019). Esto concuerda con lo obtenido en este estudio, donde los escudos costales del carapacho del 67% de los neonatos del AUMH presentaron un patrón de asimetría medio (ver Figura 2A, 2C), consistiendo en la presencia de seis a ocho escudos costales del lado izquierdo, mientras que del lado derecho contaban de cinco a ocho escudos (ver Figura 3B). El 24% de los neonatos presentaron un nivel de asimetría bajo (ver Figura 2B, 3B), presentando un número de escudos costales de cinco a siete en ambos lados. Para el nivel de asimetría alta, se obtuvo al 9% de los neonatos (ver Figura 2D, 3C), consistiendo en un número de siete a nueve escudos costales del lado izquierdo, mientras que del lado derecho presentaban de seis a diez escudos costales. En un estudio realizado por Pritchard (1969), en el cual se llevó a cabo la contabilización de los escudos costales para diversas poblaciones del género *Lepidochelys*, se obtuvo una gran variación desde seis escudos costales para poblaciones de Honduras, cinco escudos costales para el Golfo de México, hasta siete u ocho escudos costales para poblaciones de Surinam.

Según Cherepanov, Malashichev, & Danilov, (2019), el máximo de escudos costales reportados en una fila de carapacho de tres especímenes de *L. olivacea* fue de diez; siendo similares a los patrones máximos observados en este estudio, el cual fue de diez escudos costales en el lado derecho de un solo individuo (ver Anexo 1). Por hallazgos morfológicos teóricos, el número máximo de escudos costales y vertebrales presentes en una fila de carapacho en esta especie de tortuga, puede alcanzar hasta once si todas las zonas septales potenciales se encuentran ocupadas por plácodas de escudos (Cherepanov, Malashichev, & Danilov, 2019).

La asimetría observada en los neonatos del AUMH en este estudio es similar a la esperada para la especie *Lepidochelys olivacea*. La presencia de asimetría en tortugario para especies del género *Lepidochelys* ha sido previamente reportado por Mast & Carr (1989), al trabajar con neonatos de *Lepidochelys kempi*, demostrando que dentro de todos los tratamientos propuestos para el estudio, los neonatos de tortugario o corral presentaron el mayor rango de variación en el número de escudos de carapacho.

La mayoría de los estudios referentes a la asimetría se enfocan principalmente en reportar la frecuencia de patrones asimétricos en los escudos y en determinar la causa de estos (Cherepanov, 2014; Cherepanov, Malashichev, & Danilov, 2019; Margaritoulis & Chiras, 2011; Zimm, et.al., 2017, Zimm, 2019). Sin embargo, existen pocos estudios que indican una correlación inversa entre la asimetría y la aptitud (Lens, et.al., 2002; Löwenborg, Shine, & Hagman, 2010; Møller, 1997; Mast & Carr, 1989). No obstante, el impacto de la asimetría en la aptitud evolutiva es algo difícil de generalizar (Lens, et.al., 2002; Møller, 1997). La existencia de una correlación entre la asimetría morfológica y varios componentes de la aptitud de los individuos no demuestra una relación causal; así como diferentes variables potencialmente cofundadoras pueden ocultar los intentos para aclarar la verdadera relación (Møller, 1997). Se desconoce la existencia de una relación causal entre la asimetría y una reducción en la aptitud de los neonatos del AUMH.

Debido a la naturaleza integral del desarrollo en vertebrados y a la enorme sensibilidad de los procesos de desarrollo a las condiciones ambientales, se considera que, si un estímulo externo altera un aspecto del desarrollo, es muy probable que altere otros al mismo tiempo (Telemeco, Warner, Reida & Janzen, 2013). En un estudio realizado por Löwenborg, Shine, & Hagman (2011), con la

serpiente *Natrix natrix*, la presencia de escamas asimétricas reflejaba la presencia de una costilla adicional en la vertebra asociada a esta escama. Aunque la asimetría de esta escama superficial pudiera parecer un defecto trivial, puede afectar drásticamente el rendimiento del individuo, ya sea reduciendo su flexibilidad; el desempeño locomotor (disminuyendo la superficie de fricción que las serpientes usan para avanzar) o mediante su vínculo con anomalías osteológicas (Löwenborg, Shine, & Hagman, 2011). Individuos con fenotipos asimétricos pueden caracterizarse por presentar perturbaciones adicionales del desarrollo que conllevan al individuo a una menor calidad adaptativa (Mast & Carr, 1989; Møller, 1997; Simm, 2014; Telemeco, Warner, Reida, & Janzen, 2013). Es por eso que se hipotetiza que la asimetría observada en el carapacho de las tortugas indica perturbaciones adicionales en el desarrollo que puedan afectar directamente la supervivencia y reproducción de los neonatos.

Las variaciones en el número de escudos de los neonatos dentro de los diferentes niveles de asimetría: bajo (Figura 2B, Figura 3A), medio (Figura 2C, Figura 3B) y alto (Figura 2D, Figura 3C), puede atribuirse a las diferencias individuales respecto a sus sensibilidades térmicas. Las variaciones en la sensibilidad térmica pueden depender de su historial genético, y ser heredable (Telemeco, Warner, Reida, & Janzen, 2013). Si se presenta en la población esta variación genética aditiva de sensibilidad en el desarrollo, incrementos en las temperaturas asociadas al cambio climático deberían seleccionar individuos con altas sensibilidades térmicas (Clusella-Trullas, Blackburn, & Chown, 2011).

Análisis de la influencia de la temperatura de incubación sobre la asimetría del carapacho de los neonatos de *L. olivacea* del AUMH

La influencia de la temperatura en la asimetría del carapacho de los neonatos radica en su efecto sobre la división somática; formación y diferenciación de tejidos y proteínas del caparazón; sistemas biológicos de comunicación celular; mecanismos de formación de escudos y sus diferentes patrones (Cherepanov, 2014; Moustakhas-Verho & Cherepanov, 2015; Zimm, et.al., 2017; Zimm, 2019).

Los resultados de este estudio presentan un patrón similar al observado por Zimm y otros (2017), con neonatos de *Natator depressus* y *Caretta caretta*; así como el estudio de Fleeming (2019) con

neonatos de *Caretta caretta*, en el que, al verse expuestos a altas temperaturas de incubación, se demostró estar correlacionado significativamente con la aparición de asimetría en el carapacho. Se hipotetiza que la influencia de las temperaturas máximas sobre la asimetría de carapacho en los neonatos de este estudio radica en la importancia de la temperatura sobre los procesos de modificación celular y expresión génica llevados a cabo durante el período de formación del caparazón (Moustakas-Verho, et.al., 2014; Zimm, 2019). El segundo tercio de desarrollo embrionario de las tortugas marinas es considerado uno de los períodos críticos de desarrollo, en donde existe más susceptibilidad a estrés fisiológico o mecánico (Crastz, 1982; Yntema, 1979; Mrosovsky & Pieau, 1991; Zimm, 2019). Este coincide con el período de determinación sexual y a su vez, con la formación del caparazón (Crastz, 1982; Miller, 1985; Mrosovsky & Pieau, 1991).

En un estudio realizado por Moustakas-Verho, et.al. (2014), se demostró como la expresión de las proteínas *Sonic hedgehog* (-Shh- por sus siglas en inglés) y la proteína morfogenética de hueso (-Bmp- por sus siglas en inglés) son necesarios para la formación de los escudos y distribución de las placodas para el desarrollo de estos mediante un sistema de reacción-difusión. Este sistema fue sugerido por Turing en 1952, donde menciona como la interacción entre dos sustancias activas y su difusión en el espacio tisular puede también llegar a formar un patrón derivado de inestabilidad del equilibrio homogéneo, causado por disturbios. Una de las conclusiones más relevantes de Moustakas-Verho, et.al. (2014), indica la posibilidad de la temperatura como un factor que perturbe la definición previa del patrón de las placodas.

Las temperaturas de este estudio consistieron en valores entre 27.37°C y 36.4°C (ver Cuadro 1) durante todo el período de incubación de los diferentes nidos. Se esperaba que la presencia de estas temperaturas tuviera un efecto directo sobre la asimetría, por lo que, si esta aumentaba, se observaría un aumento en el número de escudos. Esto también implicaría que, si las temperaturas eran mínimas, se disminuiría también el número de escudos en el carapacho. Las variaciones esperadas en los escudos también indicarían modificaciones en el tamaño de cada escudo en ambas condiciones. Los resultados demostraron que la temperatura sí influye de manera directa sobre la asimetría del carapacho.

Se tiene conocimiento acerca de cómo factores epigenéticos, como las altas temperaturas, pueden afectar la trayectoria del desarrollo, aún en estadios tardíos, cambiando la expresión génica en diferentes maneras (Palmer & Guillete, 1991; Zimm, 2019). Las altas temperaturas, en este estudio de 35-36°C (ver Cuadro 1), influyen en la rapidez de la división celular, la difusión, interrupciones en interacciones moleculares y expresión de genes; así como en el incremento de los errores de las tasas de transcripción, lo cual lleva a un ARN mensajero disfuncional, que conlleva a errores en la traducción y por ende da lugar a proteínas mal procesadas (Somero, 1995; Telemeco, Warner, Reida, & Janzen, 2013; Moustakas-Verho et al., 2014; Zimm et al., 2017; Maffucci, et.al., 2019; Zimm, 2019). Debido a que la transcripción y traducción son procesos que dependen de la coordinación de proteínas y ARN especializados, una alta variación de su actividad causa amplificación del ruido en sus actividades (Zimm, 2019).

Un alto ruido molecular en los embriones de tortugas marinas, generados en este caso por las altas temperaturas, puede llevar a una gran variación en sus escudos de carapacho a nivel individual (Caracappa, Pisciotta, Persichetti, Caracappa, Alduina, & Arculeo, 2016; Zimm, 2019). Esto se ve reflejado en la relación directa entre las temperaturas máximas con los altos valores de asimetría obtenidos en este estudio (ver Cuadro 2 y 3).

Las temperaturas bajas aquí reportadas (ver Cuadro 1), presentan una relación con una baja asimetría de carapacho. Por lo tanto, podría establecerse una hipótesis en la cual la presencia de estas temperaturas bajas tanto en el primer tercio del desarrollo, como en el segundo tercio (ver Cuadro 4), conllevaría a la existencia de baja asimetría en el carapacho de los neonatos de tortuga marina por lo previamente discutido (ver Cuadro 5). Sin embargo, se obtuvo que con las temperaturas bajas extremas también se presentaron niveles altos de asimetría (ver Cuadro 2 y 3). Temperaturas muy bajas pueden generar fallos en el crecimiento, retrasos e incluso daños en los tejidos que puede traducirse a carapachos deformados o patrones alterados de los escudos (Zimm, 2019).

Durante el tercer período del desarrollo embrionario, se presentó un incremento en las temperaturas de incubación (ver Cuadro 4 y 5). Este tercer período, se caracteriza por comprender básicamente la continuación del crecimiento del organismo en tamaño (Miller, 1985; Deeming and

Ferguson, 1991; Andrews & Mathies, 2000; Li, An, & Ji, 2008; Zimm, 2019). El incremento en las temperaturas (ver Cuadro 4), a parte de los factores ambientales, se puede atribuir al calor metabólico producido por el desarrollo de los embriones (Miller, 1985; Davenport, 1997; Broderick, et.al., 2001). El calentamiento metabólico puede llegar a incrementar de dos a seis grados la temperatura dentro del nido, convirtiéndose en un factor significativo durante las últimas semanas del período de incubación (Davenport, 1997; Broderick, et.al., 2001; Sandoval, 2008; Pérez, 2010; Sim, 2014).

En un modelo propuesto por Zimm (2019), se identificó que variaciones como la emergencia de placodas de escudos adicionales surgen debido a que se compromete el espacio de difusión en el carapacho en desarrollo, tal como sucede con defectos de crecimiento o deformaciones mecánicas de tejido. Si el crecimiento del tejido ocurre principalmente después de que se complete la formación de patrones por una dinámica de reacción-difusión, apéndices individuales en diferentes sitios que se originaron como parte del mismo patrón regular pueden asumir substancialmente diferentes tamaños y alterar las posiciones de los futuros escudos (Zimm, 2019). Esto implica que diferentes esquemas de crecimiento en los estadios tardíos del desarrollo de las tortugas pueden ser la principal causa de diferencias fenotípicas, tanto dentro como entre individuos (Zimm, 2019).

Estos incrementos de temperatura de 1 o 2°C (ver Cuadro 4), en conjunto con las altas temperaturas ambientales, podrían alterar significativamente el crecimiento de los individuos y, por ende, la dimensión tanto del carapacho como de sus escudos. En tortugas marinas se ha demostrado que embriones en desarrollo sometidos a altas temperaturas durante su período de incubación genera organismos de menor tamaño (Hewavisenhi & Parmenter, 2001; Lin, Li, An, & Ji, 2008; Zimm, 2019).

Variaciones en los escudos pueden producirse fácilmente por diferencias en el tamaño y longitud del tejido que dará lugar al carapacho (Zimm, 2019). Algunos investigadores sugieren la hipótesis que las altas temperaturas inducen anomalías al incrementar la velocidad de crecimiento del tejido, reflejándose en la adición de escudos que bajo tasa de crecimiento normal no ocurriría (Özdemir & Türkozan, 2006; Zimm, 2019). En altas temperaturas, ocurren divisiones celulares en mayor proporción y a mayor velocidad en el carapacho, lo cual conlleva a un incremento en el espacio de difusión de los patrones de los primordios de los escudos, aumentando consigo la probabilidad de

que se formen escudos adicionales, ya que podrían ocurrir desfases en la precisión en la que ocurren temporalmente (Zimm, 2019). Sin embargo, este espacio entre las placodas también puede verse reducido, dependiendo de que moléculas son más afectadas (Zimm, 2019). Lo que llevaría a una reacomodación de todos los escudos formados en un menor espacio.

La diferencia observada en los tamaños de los escudos del carapacho de los neonatos del AUMH, tal como la presencia de algunos escudos alargados, pudo haberse producido por incremento de crecimiento lateral en esas áreas o por cambios en el tamaño o forma de las células, como es propuesto por unos autores. Debido a que uno de los enfoques de Zimm (2019) era explicar las variaciones en los escudos vertebrales, se tomó de base esos conocimientos para explicar las variaciones en los escudos costales observados en este estudio. Por lo que lleva a indicar que la formación de patrones de los primordios de los escudos costales, en este caso, ocurre previo a la expansión lateral del carapacho, permitiendo que pares de primordios costales puedan fusionarse temprano debido a espacio insuficiente, lo que lleva a escudos estrechos (Zimm, 2019).

El patrón asimétrico en los escudos costales puede verse con la forma de los escudos cercanos hacia los nuevos escudos insertados, los cuales cambian como resultados de una compensación de crecimiento combinado con la búsqueda de la preservación de la configuración general del caparazón (Pritchard, 2007; Cherepanov, 2014).

Por último, la acumulación de los rangos de variación de la temperatura durante todo el período de incubación en este estudio presentó una relación con mayor asimetría del carapacho de los neonatos de *L. olivacea* del AUMH. Los altos rangos de variación térmica presentes durante el período de desarrollo embrionario ($7\pm 1^\circ\text{C}$) (ver Cuadro 1), influyeron de manera directa en la presencia de altas asimetrías del carapacho (ver Cuadro 2 y 3). Esta tendencia ha sido previamente reportada, detallando como dentro del rango de variación de las temperaturas de incubación que permiten un desarrollo viable, los regímenes térmicos también pueden inducir a variaciones significativas en los fenotipos de los neonatos (Du, & Shine, 2014). También concuerda con lo reportado en un estudio realizado por Bowden, Carter, & Paitz, (2014), con *T. scripta*, en donde concluye que caracteres fenotípicos se ven influidos por la amplitud de la fluctuación, siendo sensibles a la acumulación de la cantidad de desarrollo completado a temperaturas feminizantes o masculinizantes, pero no a la frecuencia de fluctuación.

La variación observada dentro de los nidos puede verse causado por varios factores, desde la influencia externa de los cambios normales de la temperatura de la arena durante el día o mes, hasta el calor metabólico de los embriones en desarrollo (Georges, Beggs, Young, Doody, 2005; Li, Zhou, Ding, & Ji, 2011; Du, & Shine, 2014). Los embriones usan una larga variedad de tácticas de comportamiento y fisiológicas para poder sobrellevar el complejo ambiente térmico dentro del nido; sin embargo, los mecanismos encargados de estos fenómenos siguen siendo desconocidos (Ashmore & Janzen, 2003; Booth, 2006; Du, & Shine, 2014).

Los resultados de este estudio permiten confirmar una relación entre la asimetría y la temperatura. La presencia de asimetría de carapacho en los neonatos de parlama en el AUMH de Guatemala refleja que las temperaturas de incubación están presentando valores muy altos. Una serie de ciertas condiciones ambientales presentes durante el período de desarrollo, así como cierto tipo de genotipo, puede hacer a los individuos menos eficientes en cuanto a términos de crecimiento, supervivencia o reproducción (Møller, 1997). Como fue discutido previamente, los extremos de temperaturas a las que fueron expuestos los neonatos durante su periodo de incubación, influyen en los procesos de división celular y provoca interrupciones en interacciones moleculares y expresiones génicas que pueden desencadenar una reducción en la supervivencia de los individuos.

Individuos asimétricos parecen tener una menor fecundidad que los individuos simétricos (Møller, 1997). Estudios han comprobado una mayor probabilidad de supervivencia en neonatos con mayor tamaño que en neonatos más pequeños (Simm, Booth, & Limpus, 2014). Özdemir & Türkozan en 2006, consideraron que la ausencia de grandes variaciones en los patrones de número de escudos en tortugas adultas puede deberse a que los neonatos que presentan variaciones en sus escudos mueren antes de madurar. Durante esta etapa de su ciclo de vida, los neonatos presentan una mayor vulnerabilidad ante los depredadores (Davenport, 1997; Simm, Booth, & Limpus, 2014). La temperatura de incubación también incide sobre el tamaño de los individuos, y en este aspecto, aquellos neonatos de menor tamaño presentan una serie de desventajas al no poder evadir a depredadores y poder ser fácilmente digeridos (Booth, Burgess, McCosker, & Lanyon, 2004; Simm, Booth, & Limpus, 2014). Se considera que organismos de mayor tamaño confieren mayores aptitudes individuales al momento de entrar en un ambiente donde la comida es escasa o difícil de

localizar, así como la disminución de su tiempo de exposición ante depredadores (Booth, Burgess, McCosker, & Lanyon, 2004; Janzen, Tucker, & Paukstis, 2000). Ya que el tamaño de los individuos presenta efectos sobre su aptitud, y este se encuentra influenciado por la temperatura de incubación; la asimetría, afectada por la temperatura, podría funcionar como un indicador de aptitud. No obstante, se requiere hacer investigaciones que esclarezcan esta posible relación.

Conclusiones

- El 24% de los neonatos presentaron valores del índice pertenecientes al nivel de asimetría bajo, con cinco a siete escudos costales en cada lado. Mientras que el 9% se encontró dentro de nivel de asimetría alta, con una presencia de siete a nueve escudos en el lado izquierdo, y de seis a diez en el lado derecho.
- La mayoría de los neonatos de *L. olivacea* del AUMH presentaron un nivel de asimetría media, consistiendo en la incidencia de seis a ocho escudos costales del lado izquierdo, mientras que del lado derecho contaban de cinco a ocho escudos.
- La relación entre la asimetría de carapacho de los neonatos del AUMH y la aptitud evolutiva de los individuos no ha sido esclarecida. Se considera que la presencia de asimetría refleja perturbaciones adicionales del desarrollo que conllevan al individuo a una menor calidad adaptativa, afectando directamente la supervivencia y reproducción de los neonatos.
- Las temperaturas extremas, tanto de temperaturas altas como temperaturas bajas, influyen en la presencia de altos niveles de asimetría en el carapacho de los neonatos.
- Las temperaturas máximas y los mayores rangos de variación de la temperatura de incubación presentaron una relación directa sobre la asimetría del carapacho; lo cual puede deberse al efecto de la temperatura sobre múltiples sistemas celulares durante los períodos de división somática, diferenciación de tejidos y proteínas del caparazón, así como su efecto en los mecanismos de formación de escudos y sus diferentes patrones.
- Los menores valores de asimetría se obtuvieron con las temperaturas mínimas. Estas temperaturas durante los períodos de formación tanto de los primordios de los escudos

placodas, como de escudos y sus patrones, permite que se lleve a cabo los procesos sin grandes modificaciones en sus carapachos.

- La presencia de asimetría de carapacho de los neonatos puede indicar perturbaciones adicionales en el desarrollo que puedan afectar directamente en su supervivencia y reproducción.

Recomendaciones

- Se recomienda realizar investigaciones en donde se evalúen otros factores ambientales y mecánicos (presión, manipulación) que pueden influir en la formación de asimetría en el carapacho de los neonatos de *L. olivacea*.
- Se recomienda realizar investigaciones que busquen esclarecer otros aspectos que puedan estar directamente relacionados con la aptitud de las tortugas marinas en Guatemala, y completarlo con identificar el grado de asociación entre estos y la asimetría, para poder definir que está siendo reflejado en los niveles de asimetría presentes en las poblaciones de neonatos del país.
- Se recomienda implementar estudios acerca del posible rol de la genética en la generación de asimetría del carapacho y si puede ser hereditario. Un estudio de este tipo, complementado por un estudio acerca de la presencia de genética aditiva de sensibilidad térmica en el desarrollo, permitiría identificar si se la población de tortugas en el país presenta individuos con buena calidad adaptativa.
- Se recomienda a los encargados de tortugarios considerar las consecuencias en el desarrollo embrionario que las condiciones ambientales e intervenciones pueden causar.

Referencias

- Abreu-Grobois, A & Plotkin, P. (2008). *Lepidochelys olivacea*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008. (en línea). Recuperado de <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T11534A3292503.en>
- Ahmad, A., Zulkifli, T., Mohd, M., Razak, S., & Azman, N. (2004). A Guide To Set-Up And Manage Sea Turtles Hatcheries In The Southeast Asian Region. *Marine Fishery Resources Development and Management Department Southeast Asian Fisheries Development Center (SEAFDEC)*.
- Ali, A., Rasheed, A., Ahmed, A., Naseer, M., Wasim, S., & Waseem, A. (2015). Non-Parametric Test for Ordered Medians: The Jonckheere Terpstra Test. *International Journal of Statistics in Medical Research*. 4: 203-207.
- Almeida, D., Almodóvar, A., Nicola, G. y Elvira, B. (2008). Fluctuating asymmetry, abnormalities and parasitism as indicators of environmental stress in cultured stocks of goldfish and carp. *Aquaculture* 279: 120–125
- Andrews, R. & Mathies, T. (2000). Natural History of Reptilian Development: Constraints on the Evolution of Viviparity. *BioScience*. 50(3): 227–238,
- ARCAS. (2010). Plan Maestro Área de Uso Múltiple Hawaii, 2010-2015. (en línea). Recuperado de http://www.arcasguatemala.org/wp-content/uploads/Arcas_pub_PlanHawaii2010.pdf
- Ashmore, G. & Janzen, F. (2003). Phenotypic variation in smooth softshell turtles (*Apalone mutica*) from eggs incubated in constant versus fluctuating temperatures. *Oecología*. 134: 182-188.
- Azanza, J. (2009). Estrategia reproductiva de la tortuga verde *Chelonia mydas* (Testudines, Cheloniidae) y su impacto en la estructura genética de áreas de anidación del occidente del archipiélago cubano. (Tesis de doctorado). Cuba. Centro de Investigaciones Marinas; Universidad de la Habana.
- Barrientos-Muñoz, K., Ramírez-Gallego, C., & Páez, V. (2014). Nesting ecology of the olive Ridley (*Lepidochelys olivacea*) (Cheloniidae) at El Valle Beach, Northern Pacific, Colombia. *Acta Biológica Colombiana*. 19(3): 437.

- Bárcenas, A. (2009). *Diferenciación genética de las colonias anidantes de tortuga golfina (Lepidochelys olivacea) en el Pacífico mexicano con base en análisis de ADN mitocondrial*. (Tesis de maestría). México; Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada.
- Băncilă, R.I., Plăiașu, R., Tudor, M., Samoilă, C., & Cogălniceanu, D. (2012). Fluctuating asymmetry in the Eurasian Spur-thighed Tortoise, *Testudo graeca iberica* Linnaeus, 1758 (Testudines: Testudinidae). *Chelonian Conservation and Biology* 11:234–239
- Bolongaro, A., Márquez, A., Torres, V. y García, A. (2010). Vulnerabilidad de sitios de anidación de tortugas marinas por efectos de erosión costera en el estado de Campeche. *En: Borello, A., Villanueva, S., Gutiérrez, J. y Rojas, J. (ed.). Vulnerabilidad de las zonas costeras mexicanas ante el cambio climático. Semarnat-INE, UNAM-ICMYI., Universidad Autónoma de Campeche*
- Bolten, A. (2000). Techniques for Measuring Sea Turtles. *En: Eckert, K. Bjorndal, K. Abreu-Grobois, F. y Donnelly, M. (2000). Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas (4a ed.). USA: Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/CSE.*
- Booth, D. T. (2006). Influence of Incubation Temperature on Hatchling Phenotype in Reptiles. *Physiological and Biochemical Zoology*, 79(2), 274–281.
- Booth, D., Burgess, E., McCosker, J., Lanyon, J. (2004). The influence of incubation temperature on post-hatching fitness characteristics of turtles. *International Congress Series*. 1275: 226-233.
- Bowden, R. M., Carter, A. W., & Paitz, R. T. (2014). Constancy in an Inconstant World: Moving Beyond Constant Temperatures in the Study of Reptilian Incubation. *Integrative and Comparative Biology*, 54(5), 830–840.
- Brenes, O., Bonilla, L., Bonilla, A. y Vega, A. (2014). Características de la Anidación de *Lepidochelys olivacea* (Testudinata: Cheloniidae) entre el 2010 y 2012 en Playa Tortuga Ojochal de Osa, Puntarenas, Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 63(1): 339-349.
- Broderick, A.C., Godley, B.J., Hays, G.C. (2001). Metabolic heating and the prediction of sex ratios for green turtles (*Chelonia mydas*). *Physiological and Biochemical Zoology*. 74, 161–170

- Bujes, C. & Verrastro, L. (2007). Supernumerary epidermal shields and carapace variation in Orbugny's slider turtles, *Trachemys dorbigi* (Testudines, Emydidae). *Rev. Bras. Zool.* 24(3).
- Castro, O. (2015). *Frecuencia de paternidad múltiple y asimetría en los escudos del caparazón de Lepidochelys olivacea en Ixtapilla; Michoacán, México*. (Tesis de Maestría). México: Universidad Autónoma Metropolitana.
- Caracappa, S., Pisciotto, A., Persichetti, M., Caracappa, G., Alduina, R. & Arculeo, M. (2016). Nonmodal scutes patterns in the Loggerhead Sea Turtle (*Caretta caretta*): a possible epigenetic effect?. *Canadian Journal of Zoology*. 94: 379-383.
- CONAP. (2009). *Manual para la conservación de las tortugas marinas en Guatemala, con énfasis en el manejo de tortugarios*. Guatemala: Asociación Rescate y Conservación de Vida Silvestre (ARCAS) y el Consejo Nacional de Áreas Protegidas (CONAP).
- CONAP. (2015). Estrategia Nacional de Manejo y Conservación de Tortugas Marinas de Guatemala. Documento técnico No. 02-2015.
- Cherepanov, G. (2014). Patterns of Scute Development in Turtle Shell: Symmetry and Asymmetry. *Paleontological Journal*. 48(12): 1-9.
- Cherepanov, G. & Malaschiev, Y. (2015). Variability of carapace scutes in newborn olive (*Lepidochelys olivacea*) and green (*Chelonia mydas*) turtles from Sri Lanka. *Turtle Evolution Symposium*. Scidinge Hall Verlag Tübingen, ISBN 978-3-947020-06-5
- Cherepanov, G., Malashichev, Y., & Danilov, I. (2019). Supernumerary scutes verify a segment-dependent model of the horny shell development in turtles. *Journal of Anatomy*.
- Clusella-Trullas, S., Blackburn, T. M., & Chown, S. L. (2011). *Climatic Predictors of Temperature Performance Curve Parameters in Ectotherms Imply Complex Responses to Climate Change*. *The American Naturalist*, 177(6), 738–751.
- Cortés-Gómez, A., Romero, D. y Girondot, M. (2018). Carapace asymmetry: A possible biomarker for metal accumulation in adult olive Ridley's marine turtles?. *Marine Pollution Bulletin* 129: 92–101.

- Crastz, F. (1982). Embryological stages of the marine turtle *Lepidochelys olivacea* (Eschscholtz). *Revista de Biología Tropical*. 30(2): 113-120.
- Davenport, J. (1997). Temperature and the life-history strategies of sea turtles. *Journal of Thermal Biology*. 22(6):479-488.
- Davis, A. & Grosse, AS. (2016). Measuring Fluctuating Asymmetry in Plastron Scutes of Yellow-bellied Sliders: the Importance of Gender, Size and Body Location. *The American Midland Naturalist*. 159(2): 340-348.
- Depledge, M. y Galloway, T. (2005). Healthy Animals, Healthy Ecosystems. *Front Ecol Environ*. 3(5): 251-258
- Dobbs, K. (2001). Marine Turtles in the Great Barrier Reef World Heritage Area: a compendium of information and basis for the development of policies and strategies for the conservation of marine turtles. Queensland: Great Barrier Reef Marine Park. ISBN 0 642 23094 3. 7-8.
- Dongen, S. (2006). Fluctuating asymmetry and developmental instability in evolutionary biology: past, present and future. *Journal of Evolutionary Biology*. 19(6): 1727-1743. doi:10.1111/j.1420-9101.2006.01175.x
- Du, W.-G., & Shine, R. (2014). The behavioural and physiological strategies of bird and reptile embryos in response to unpredictable variation in nest temperature. *Biological Reviews*, 90(1), 19–30.
- Eckert, K. Bjonrdal, K. Abreu-Grobois, F. y Donnelly, M. (2000). *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas* (4a ed.). USA: Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/CSE.
- Fleming, K. (2019). *Effects of In Situ Incubation Temperatures on Hatchling Loggerhead Sea Turtle (Caretta caretta) Morphology, Health Indices, and Locomotor Performance*. (Tesis de Maestría). Universidad del Sur de Florida St. Petersburg.
- Frazier, J. (2001). Generalidades de la Historia de Vida de las Tortugas Marinas. En Eckert, K. y Abreu, F. (2001). *MEMORIAS: Conservación de Tortugas Marinas en la Región del Gran Caribe: Un*

Diálogo para el Manejo Regional Efectivo. WIDECAS, UICN/CSE Grupo Especialista en Tortugas Marinas (MTSG), WWF y el Programa Ambiental del Caribe del PNUMA.

- Georges, A., Beggs, K., Young, J., & Doody, J. (2005). Modelling Development of Reptile Embryos under Fluctuating Temperature Regimes. *Physiological and Biochemical Zoology*. 78(1):18-30.
- Goessling, JM, K Rebois*, JC Godwin, R Birkhead, and CM Murray. 2017. Differences in fluctuating asymmetry among four populations of Gopher Tortoises (*Gopherus polyphemus*). *Herpetological Conservation and Biology*. 12:548 - 555
- Guo, R., Zhang, W., Ai, S., Ren, L. y Zhang, Y. (2017). Fluctuating asymmetry rather than oxidative stress in *Bufo raddei* can be an accurate indicator of environmental pollution induced by heavy metals. *Environ Monit Assess*: 189-293. DOI 10.1007/s10661-017-5991-6
- Hewavisenthi, S. & Parmenter, C. (2001). Influence of Incubation Environment on the Development of the Flatback Turtle (*Natator depressus*). *Copeia*. 3: 668-682. doi:10.1643/0045-8511(2001)001[0668:ioieot]2.0.co;2
- Janzen, F., Tucker, J., Paukstis, G. (2001). Experimental analysis of an early life-history stage: avian predation selects for larger body size of hatchling turtles. *Journal of Evolutionary Biology*. 13(6).947-254
- Kamel, S. & Mrosovsky, N. (2005). Repeatability of nesting preferences in the hawksbill sea turtle, *Eretmochelys imbricata*, and their fitness consequences. *Animal Behaviour*. 70(4): 819-828.
- Lara, M. (2015). Anatomía esquelética de tortuga marina. Baja California Sur, México. *Bioma*. 34. ISSN 2307-0560
- Leamy, L., y Klingenberg, C. (2005). The Genetics and Evolution of Fluctuating Asymmetry. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 36:1–21. DOI: 10.1146/annurev.ecolsys.36.102003.152640
- Lens, L., Van Dongen, S., Kark, S., & Matthysen, E. (2002). Fluctuating asymmetry as an indicator of fitness: can we bridge the gap between studies?. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 77(1), 27–38.

- Li, H., Zhou, Z., Ding, G., & Ji, X. (2011). Fluctuations in incubation temperature affect incubation duration but not morphology, locomotion and growth of hatchlings in the sand lizard *Lacerta agilis* (Lacertidae). *Acta Zoologica*, 94(1), 11–18.
- Lin, L.-H., Li, H., An, H., & Ji, X. (2008). Do temperature fluctuations during incubation always play an important role in shaping the phenotype of hatchling reptiles? *Journal of Thermal Biology*, 33(3), 193–199.
- López, M., Carmona, R. y Nichols, W. (2004). Nesting characteristics of the olive ridley turtle (*Lepidochelys olivacea*) in Cabo Pulmo, southern Baja California. *Marine Biology*. 145:811–820.
- Löwenborg, K., Shine, R., & Hagman, M. (2011). Fitness Disadvantages to Disrupted Embryogenesis Impose Selection Against Suboptimal Nest-Site Choice by Female Grass Snakes, *Natrix natrix* (Colubridae). *Journal of Evolutionary Biology*;24(1):177-83.
- Mast, R. & Carr, J. (1989). Caparacial Scute Variation in Kemp's Ridley Sea Turtle (*Lepidochelys kempi*) Hatchlings and Juveniles. *En Proceedings of the Firts International Symposium on Kemp's Ridley Sea Turtle Biology, Conservation and Management*. 202-219.
- Margaritoulis, D. & Chiras, G. (2011). Scallation patterns od Loggerhead turtles nesting in Laganas Bay, Zakynthos Island, Greece. *Marine Turtles Newsletter*. 131:29-31.
- Mazaris, A., Matsinos, G., & Pantis, J. (2009). Evaluating the impacts of coastal squeeze on sea turtle nesting. *Ocean & Coastal Management*. 52(2): 139-145.
- McKnight, D. & Ligon, D. (2014). Shell and pattern abnormalities in a population of western chicken turtles (*Deirochelys reticularia miaria*). *Herpetology Notes*. 7: 89-91.
- Menéndez, G. (2015). *Identificación de las causas de muerte y varamiento de tortugas marinas (Chelonioidea) en la playa de la Diablica –Salinas, entre los meses de Octubre de 2014 a Marzo de 2015*. (Tesis de Grado). Ecuador: Universidad Estatal Península de Santa Elena.
- Meylan, A. y Meylan, P. (2000). Introducción a la Evolución, Historias de Vida y Biología de Tortugas Marinas. *En Eckert, K. Bjorndal, K. Abreu-Grobois, F. y Donnelly, M. (2000). Técnicas de*

Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas (4a ed.). USA: Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/CSE.

- Michel-Morfin, J., Gómez, V. & Navarro, C. (2001). Morphometric model for sex assessment in Hatchling Olive Ridley sea turtles. *Chelonian Conservation and Biology*. 4(1):53-58.
- Miller, J. (1985). Embryology of Marine Turtle. Chapter 4. *En Gans, C. (1985). Biology of Reptilia. .14: 269-328*
- Mitchell, N. & Janzen, F. (2010). Temperature-Dependant Sex Determination and Contemporary Climate Change. *Sexual Development*. 4: 129-140.
- Møller, A. (1997). Developmental Stability and Fitness: A Review. *The American Naturalist*, 149(5), 916–932.
- Montes, N. (2004). *Estimación de la abundancia relativa de tortugas marinas que anidan en las costas de Guatemala*. (Tesis de Licenciatura). Guatemala; Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Morales Mérida, B.A. (2013). *Relación entre la duración del período de incubación y la proporción de sexos de las tortugas marinas Lepidochelys olivacea en la Reserva Natural de Usos Múltiples Monterrico (RNUMM)*. (Tesis). Guatemala; Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Moustakas, J. (2008). Development of the carapacial ridge: implications for the evolution of genetic networks in turtle Shell development. *Evolution & Development*. 10(1): 29-36.
- Moustakas-Verho, J. & Cherepanov, G. (2015). The integumental appendages of the turtle Shell: An evo-devo perspective. *Journal of Experimental Zoology. Part B: Molecular and Developmental Evolution*. 324(2): 221-229.
- Moustakas-Verho, J., Zimm, R., Cebra-Thomas, J., Lempiäinen, N., Kallonen, A., Mitchell, K., Hämäläinen, K., Salazar-Ciudad, I., Jernvall, J., & Gilbert, S. (2014). The origin and loss of periodic patterning in the turtle shell. *The Company of Biologists. Development*. 141, 3033-3039.

- Mrosovsky, N., & Pieau, C. (1991). Transitional range of temperature, pivotal temperatures and thermosensitive stages for sex determination in reptiles. *Amphibia-Reptilia*, 12(2), 169–179.
- Muccio, C. y Pérez, J. (2015). Análisis Situacional de la Conservación de la Tortuga Marina en Guatemala. Guatemala: Asociación Rescate y Conservación de Vida Silvestre (ARCAS).
- Musick, J.A. (2002). Sea Turtles. En: *Carpenter, K. (2002). The living marine resources of the Western Central Atlantic. vol. 3: Bony fishes part. 2 (Opistognathidae to Molidae), sea turtles and marine mammals. FAO Species Identification Guide for Fishery Purposes.*
- Nagashima, H., Shibata, M., Taniguchi, M., Ueno, S., Kamezaki, N., & Sato, N. (2014). Comparative study of the Shell development of hard and soft-shelled turtles. *Journal of Anatomy*. 225(1): 60-70. doi:10.1111/joa.12189
- Ortíz, R. (2017). Prueba de T de Student. (RStudio). (En línea). Recuperado de <https://rpubs.com/RubenOrtiz/192362>
- Özdemir, B. & Türkozan, O. (2006). Carapacial Scute Variation in Green Turtle, *Chelonia mydas* hatchlings in Northern Cyprus. *Turk. J. Zool.* 30:141-146.
- Palestis, B. (2009). Fluctuating asymmetry in common tern (*Sterna hirundo*) chicks varies with hatching order and clutch size. *The Auk*. 126(4): 815-822.
- Palmer, B. & Guillete, L. (1991). Oviductal proteins and their influence on embryonic development in birds and reptiles. En: Deeming, D., & Ferguson, M. (1991). Egg incubation: its effects on embryonic development in birds and reptiles. Cambridge University Press, Reino Unido.
- Pérez, E. (2010). *Factores Ambientales y de Manejo que Afectan al Desarrollo Embrionario de la Tortuga Marina Caretta caretta. Implicaciones en Programas de Incubación Controlada.* (Tesis). Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Estación Biológica Doñana-CSIC.
- Pertoldi, C., Kristensen, T., Andersen, D., & Loeschcke, V. (2006). Developmental instability as an estimator of genetic stress. *Heredity*. 96: 122-127.
- Pritchard, P. (1969). Studies of the systematics and reproductive cycle of the genus *Lepidochelys*. (Tesis de Doctorado) Universidad de Florida, Gainesville.

- Pritchard, P. & Mortimer, J. (2000). Taxonomía, morfología externa e interna de las especies. En: *Eckert, K. L., Bjorndal, K. A., Abreu-Grobois, F. A. y Donnelly, M. A. (2000). Técnicas de investigación y manejo para la conservación de las tortugas marinas. Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/CSE Publicación N^o 4.*
- Raff, R., & Wray, G. (1989). Heterochrony: Developmental mechanisms and evolutionary results. *Journal of Evolutionary Biology*. 2: 409-434.
- Richardson, J. (2000). Prioridades para los estudios sobre la biología de la reproducción y de la anidación. En *Eckert, K. Bjorndal, K. Abreu-Grobois, F. y Donnelly, M. (2000). Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas (4a ed.). USA: Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/CSE.*
- Rivera, G. & Claude, J. (2008). Environmental media and shape asymmetry: a case study on turtle shells. *Biological Journal of the Linnean Society*. 94(3): 483-489.
- Rizzi, M., Rodrigues, F., Medeiros, L., Ortega, I., Rodrigues, L., Monteiro, D., Kessler, F., & Proietti, M. (2019). Ingestión of plastic marine littler by sea turtles in southern Brazil: abundance, characteristics and potential selectivity. *Marine Pollution Bulletin* 140: 536-548.
- Rodríguez, M. y Mora, R. (2001). Análisis de regresión simple. En: *Estadística informática: casos y ejemplos con el SPSS*. Alicante: Publicaciones de la Universidad de Alicante. 91-105.
- Rusli, M., Booth, D. T., & Joseph, J. (2016). Synchronous activity lowers the energetic cost of nest escape for sea turtle hatchlings. *J Exp Biol* 219: 1505-1513.
- Salazar-Ciudad, I., Jernvall, J., & Newman, S. (2003). Mechanisms of pattern formation in development and evolution. *Development*. 130: 2027-2037.
- Salazar-Ciudad, I., & Jernvall, J. (2005). Graduality and innovation in the evolution of complex phenotypes: insights from development. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, 304B (6), 619–631.
- Salmon, M. (2006). Protecting Sea Turtles from Artificial Night Lighting at Florida's Oceanic Beaches. En: *Rich, C. & Longcore, T. (2006). Ecological Consequences of Artificial Night Lighting. U.S.A. Island Press.*

- Sánchez, R. (2015). T-Student. Usos y abusos. *Revista Mexicana de Cardiología*. 26(1): 59-61.
- Sandoval, S. (2008). Pronóstico de la Temperatura de los nidos de Tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*) en función de la temperatura ambiente, la profundidad y el calor metabólico. (Tesis de Maestría). Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. Instituto Politécnico Nacional.
- Scott, G. (2005). *Essential Animal Behaviour*. Australia. Blackwell Publishing.
- Secretaría Pro Tempore de la Convención Interamericana para la Protección y Conservación de las Tortugas Marinas -CIT-. (2004). Una introducción a las Especies de Tortugas Marinas del Mundo. San José, Costa Rica.
- Shanker, K., Pandav, B. y Andrews, H. (2003). *Sea Turtle Conservation: Research and Management Techniques*. A GOI-UNDP Proejct Manual. Centre for Herpetology/ Madras Crocodile Bank Trust, India.
- Sim, E. (2014). *Nest Environment and hatchling fitness correlates in the sea turtles *Caretta caretta* and *Natator depressus**. (Tesis de Doctorado). Australia: Universidad de Queensland.
- Sim, E., Booth, D., & Limpus, C. (2014). *Non-modal Scute Patterns, Morphology, and Locomotor Performance of Loggerhead (*Caretta caretta*) and Flatback (*Natator depressus*) Turtle Hatchlings*. *Copeia*, 2014(1), 63–69. doi:10.1643/cp-13-041
- Somero, G. (1995). Proteins and Temperature. *Annual Review Physiology*. 57: 43-68.
- Telemeco, R., Warner, D., Reida, M., & Janzen, F. (2013). Extreme developmental temperatures result in morphological abnormalities in painted turtles (*Chrysemys picta*): a climate change perspective. *Integrative Zoology*, 8(2), 197–208. doi:10.1111/1749-4877.12019
- Terrádez, M. y Juan, A. (2003). *Análisis de la Varianza (ANOVA)*. Universitat Oberta de Catalunya.
- Turing, A. (1952). The Chemical Basis of Morphogenesis. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*. 237(641): 37-72.
- United States Geological Survey. (s.f.). *Sea Turtle Monitoring Protocols*. (En línea). Recuperado de <https://archive.usgs.gov/archive/sites/fl.biology.usgs.gov/Seaturtles.pdf>

- Türzoka, O., Ilgaz, C., & Sak, S. (2001). Carapacial scute variation in Loggerhead turtles, *Caretta caretta*. *Zoology in the Middle East*. 24(2): 137-142.
- Tuxbury, S. & Salmon, M. (2005). Competitive interactions between artificial lighting and natural cues during seafinding by hatchling marine turtles. *Biological Conservation*. 121(1): 311-316.
- Varo-Cruz, N., Monzón-Argüello, C., Carrillo, M., Calabuig, P., & Liriz-Loza, A. (2015). Tortuga Olivacea- *Lepidochelys olivacea* (Eschscholtz, 1829). En: Salvador, A., Marco, A. (2015). *Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles. Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid*.
- Williamson, S., Evans, R., & Reina, R. (2017). When is embryonic arrest broken in turtle eggs? *Physiological and Biochemical Zoology*. 90(5): 523-532
- Witherington, B., Hiram, S., & Mosier, A. (2011). Sea turtle responses to barriers on their nesting beach. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 401: 1-6.
- Wyneken, J. (2004). *La Anatomía de las Tortugas Marinas*. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-470. Estados Unidos: National Oceanic and Atmospheric Administration-NOAA-.
- Zelaya, L. (2016). *Influencia de la densidad de siembra en el éxito de eclosión y duración del período de incubación, en huevos de tortuga marina Lepidochelys olivacea, en viveros de incubación del Parque Nacional Hawaii, Chiquimulilla, Santa Rosa*. (Tesis de Licenciatura). Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Zimm, R., Bentley, B., Wyneken, J. & Moustakas-Verho, J. (2017). Environmental Causation of Turtle Scute Anomalies *in ovo* and *in silico*. *Integrative and Comparative Biology*. 57(6), 1303-1311.
- Zimm, R. (2019). *On the Development of the turtle scute pattern and the origins of its Variation*. (Tesis de Doctorado). Faculty of Biological and Environmental Science of the University of Helsinki.

Anexos

Anexo 1: Mediciones de los escudos de carapacho y valores del Índice de Inestabilidad del Desarrollo de cada uno de los neonatos pertenecientes a los nidos analizados.

No. Neonato	No. Escudos lado izquierdo -I-	No. Escudos lado derecho -D-	I1	I2	I3	I4	I5	I6	I7	I8	I9	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	Dlx
1	5	5	121.38	143.04	200.94	195.19	115.12	-	-	-	-	112.33	143.73	206.27	201.29	115.84	-	-	-	-	-	1.4667
2	7	6	101.38	117.9	177.68	65.68	140.97	63.78	54.53	-	-	95.32	119.03	171.89	47.59	165.39	82.65	-	-	-	-	1.8037
3	6	6	96.66	106.38	143.41	124.54	57.64	48.96	-	-	-	67.96	112.06	144.32	132.59	41.26	52.91	-	-	-	-	1.7095
4	5	6	108.59	136.36	182.09	168.7	93.92	-	-	-	-	118.06	125.25	168.32	151.82	58.11	60.01	-	-	-	-	1.5962
5	7	5	128.44	129.04	164.05	41.14	124.54	75.17	99.04	-	-	94.06	142.9	173.24	162.36	151.17	-	-	-	-	-	1.6760
6	6	6	127.93	121.56	170.75	147.81	68.95	91.92	-	-	-	112.49	128.17	167.88	24.45	149.98	155.34	-	-	-	-	1.6991
7	6	5	178.14	213.25	260.13	245.3	118.36	110.52	-	-	-	131.3	205.64	271.42	281.57	226.6	-	-	-	-	-	1.5866
8	6	6	110.44	162.42	212.73	200	80.93	83.98	-	-	-	96.08	146.52	218.38	226.3	45.11	113.39	-	-	-	-	1.7194
9	7	7	127.33	167.96	185.9	127.33	48.74	135.24	57.07	-	-	128.89	151.75	217.56	73.76	188.41	64.07	106.68	-	-	-	1.8785
10	8	7	101.83	148.49	46.73	176.14	30	148.05	66.71	66.37	-	108.19	149.28	57.38	182.33	22.67	177.5	120.22	-	-	-	2.0085
11	6	6	142.94	154.41	207.39	184.53	53.78	79.75	-	-	-	151.04	178.45	207.89	178.75	28.78	78.54	-	-	-	-	1.7338
12	8	8	134.79	139.69	64.51	172.9	49.66	150.57	69.99	82.22	-	115.25	146.89	33.07	166.87	48.9	145.26	79.58	93.78	-	-	2.0330
13	8	9	126.8	36.5	157.62	200	49.68	166.52	85.68	114.84	-	133.43	39.4	156.41	63.11	211.51	24.53	191.77	54.03	112.82	-	2.1546
14	6	7	122.94	140.9	203.37	199.22	89.72	60.6	-	-	-	115.35	151.27	205.22	46.26	195.7	78.02	128.04	-	-	-	1.8063
15	7	6	133.68	176.14	63.77	120.47	218.54	85.5	90.95	-	-	136.71	180.32	247.91	202.25	97.64	96.37	-	-	-	-	1.7918
16	7	8	136.57	173.13	185.22	171.16	130.16	61.44	93.87	-	-	72.55	72.88	179.84	50.63	206.01	202.83	90.07	52.51	-	-	1.9733
17	6	6	151.78	192.21	258.5	225.83	82.38	116.87	-	-	-	172.67	168.09	234.89	27.41	204.25	183.5	-	-	-	-	1.7149

18	6	6	112.17	137.51	200.35	172.53	99.44	112.91	-	-	-	94.87	136.46	204.35	185.06	61.14	152.77	-	-	-	-	1.6813
																						9
19	7	7	115.2	162.75	54.17	156.3	35.89	191	145.71	-	-	94.18	151.11	208.55	25.24	173.8	85.86	87.02	-	-	-	1.9143
																						7
20	8	9	117.79	24.77	146.11	173.26	67.4	114.09	67.02	64.12	-	126.39	54.34	150.53	22.54	158.46	120.44	57.13	93.8	64.87	-	2.1297
																						9
21	7	8	133.98	136.66	178.96	26.31	135.65	65.84	80.48	-	-	131.52	147.06	34.51	188.06	24.45	143.1	75.2	78.13	-	-	2.0078
																						4
22	7	9	112.93	147.67	203.17	28.18	165.79	102.67	47.22	-	-	124.14	26.8	144.83	47.19	188.67	57.85	185.13	48.33	93.81	-	2.0953
																						1.8621
23	8	6	114.41	133.01	47.03	182.26	86.16	163.62	83.81	85.09	-	128.14	140.53	173.65	150.38	73.99	73.5	-	-	-	-	3
																						1.9680
24	8	7	106.29	112.1	147.79	60.26	145.4	64.64	68.96	44.52	-	93.79	104.71	171.87	55.55	170.84	148.17	40.2	-	-	-	9
																						1.7364
25	6	6	119.53	139	205.92	178.88	72.6	54.65	-	-	-	121.33	156.66	202.41	205.78	26.79	94.96	-	-	-	-	1
																						1.6142
26	6	5	176.32	211.86	263.87	261.35	27.14	146.25	-	-	-	174.71	213.2	258.48	191.9	146.27	-	-	-	-	-	2
																						1.7206
27	6	6	135.11	137.89	201.5	194.43	65.19	75.44	-	-	-	96.69	137.93	195.56	203.12	38.97	103.85	-	-	-	-	7
																						1.8743
28	7	7	101.34	17.28	154.16	178	203.04	21.27	88.8	-	-	105.82	149.99	189.71	200.71	48.23	88.41	-	-	-	-	7
																						1.8760
29	7	7	112.33	114.44	156.61	93.68	156.48	71.25	93.07	-	-	99.73	113.91	156.6	25.81	150.51	50.24	68.06	-	-	-	6
																						1.7258
30	6	6	113.79	138.86	202.52	193.83	36.96	77.18	-	-	-	133.4	144.02	210.08	169.63	75.51	62.1	-	-	-	-	3
																						1.8321
31	6	7	123.26	172.19	205.88	213.94	62.49	96.82	-	-	-	127.07	179.29	34.31	203.2	204.85	41.02	126.67	-	-	-	8
32	6	6	94.08	113.88	151.89	126.49	71.39	58.98	-	-	-	87.71	109.52	154.57	132.94	60.26	58.55	-	-	-	-	1.6868
																						2.1435
33	7	6	125.77	174.89	236.87	174.47	72	78.23	42.55	-	-	134.29	177.6	221.63	52.52	2011.2 5	160.52	-	-	-	-	8
																						68.0
34	9	10	122.85	131.44	23.41	159.75	44.06	151.86	79.23	88.38	52.8	105.56	30.03	161.97	82.03	175.89	50.95	155.41	81.8	84.06	6	2.2492
																						1
35	8	7	120.44	136.28	91.37	139.52	43.12	142.16	83.7	75.7	-	115.67	164.88	185.17	83.07	105.27	89.09	63.27	-	-	-	9
																						1.9374
36	5	5	102.36	161.97	203.92	201.89	178.75	--	-	-	-	97.15	173.59	209.67	201.32	163.27	-	-	-	-	-	6
																						1.7742
37	7	6	82	138.06	163.42	45.85	131.06	80.93	72.2	-	-	98.05	120.01	158.4	136.96	81.87	97.59	-	-	-	-	6
																						1.6761
38	6	6	65.13	116.54	153.07	120.94	120.47	70.23	-	-	-	73.86	109.69	152.82	132.41	76.74	70.91	-	-	-	-	2
																						1.6114
39	5	6	96.26	171.14	177.78	200.31	130.17	-	-	-	-	78.47	146.17	186.27	173.32	41.19	85	-	-	-	-	1
																						1.7096
40	6	6	82.9	148.16	208.33	168.14	84.67	54.79	-	-	-	94.26	142.35	211.77	156.93	67.38	105.32	-	-	-	-	2
																						1.5842
41	5	6	107.41	135.64	168.53	139.47	115.5	-	-	-	-	109.65	140.61	154.25	128.21	68.29	50.62	-	-	-	-	3
																						1.7298
42	6	6	106.53	145.69	196.41	222.34	50.05	134.25	-	-	-	99.69	136.72	202.21	194.18	28.82	114.02	-	-	-	-	6
																						1.7689
43	7	6	101.58	160.15	151.72	60.77	133.55	98.08	82	-	-	97.47	143.57	196.85	164.11	103.2	95.26	-	-	-	-	8

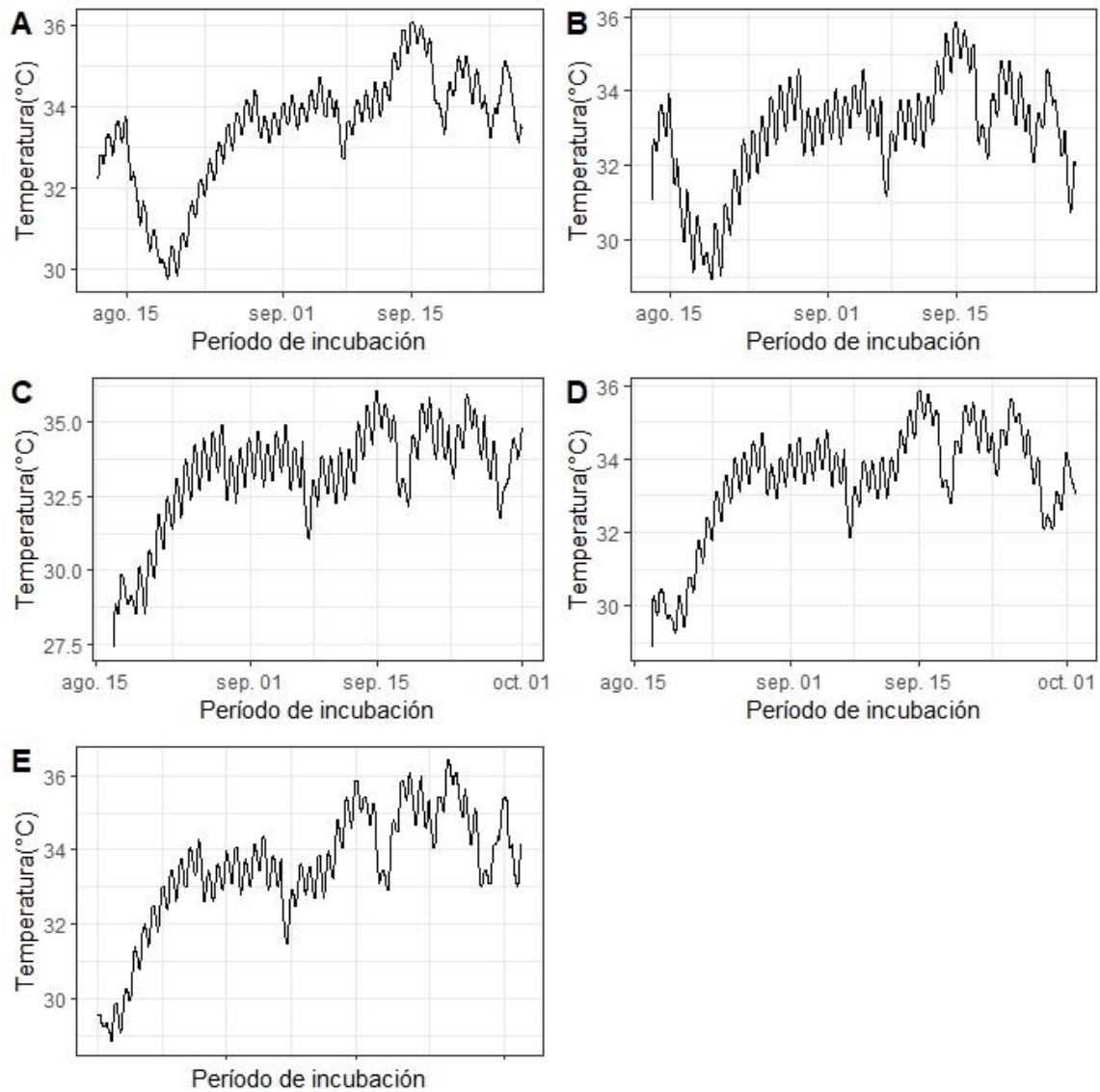
44	6	7	101.98	169.3	212.88	221.72	58.02	95.29	-	-	-	99.89	163.86	217.22	35.99	200.07	46.14	98.18	-	-	-	1.8452	
																						3	
45	6	6	73.83	118.64	177.59	142.42	70.92	71.87	-	-	-	77.4	126.13	161.11	166.2	39.57	115.84	-	-	-	-	1.7056	
																						8	
46	6	7	90.16	156.96	186.32	188.01	42.24	88.58	-	-	-	81.97	145.06	190.29	33.33	151.3	76.7	82.45	-	-	-	1.8294	
																						6	
47	6	6	121.82	169.06	212.4	206.83	60.7	99.23	-	-	-	100.49	168.87	202.46	215.71	42.4	98.49	-	-	-	-	1.7225	
																						5	
48	6	5	111.93	101.34	171.83	232.35	222.54	232.43	-	-	-	108.05	168.6	202.46	204.38	184.33	-	-	-	-	-	1.5828	
																						1	
49	6	7	106.9	156.48	197.1	167.49	91.08	92.34	-	-	-	105.31	36.72	152.37	200.06	184.26	82.72	78.18	-	-	-	1.8012	
																						4	
50	6	6	104.13	174.13	203.71	193.06	109.3	83.6	-	-	-	119.43	163.36	208.84	177.67	85.5	182.38	-	-	-	-	1.6776	
																						8	
51	7	7	117.94	168.07	205.25	69.33	156.32	118.87	121.26	-	-	116.96	160.42	206.2	48.72	167.75	93.23	85.7	-	-	-	1.8620	
																						3	
52	9	7	120.71	58.82	159.26	93.01	191.2	44.9	175.54	116.65	129.55	145.07	212.46	229.58	85.65	144.39	131.53	107.91	-	-	-	2.0111	
																						4	
53	7	6	117.41	157.31	200.15	86	126.92	144.62	153.89	-	-	140.89	178.55	223.61	178.42	117.98	154.38	-	-	-	-	1.7509	
																						8	
54	6	6	104.32	148.74	219.14	215.69	59.55	110.13	-	-	-	107.48	174.82	221.55	224.01	26.31	143.52	-	-	-	-	1.7348	
																						7	
55	6	6	100.19	123.77	177.88	161.66	68.01	54.78	-	-	-	100.94	140.74	172.05	129.41	61.3	52.16	-	-	-	-	1.7089	
																						5	
56	6	6	113.34	182.05	250.66	248.05	64.6	109.47	-	-	-	104.12	175.46	235.4	231.82	55.48	74.55	-	-	-	-	1.7397	
																						6	
57	6	6	112.04	169.39	237.97	259.6	71.85	90.52	-	-	-	102.45	163.56	220.68	264.98	49.63	98.54	-	-	-	-	1.7419	
																						3	
58	7	7	108.22	158.23	196.45	47.32	150.49	92.91	102.32	-	-	108.55	165.05	201.89	51.5	140.89	89.7	106.88	-	-	-	1.8692	
																						4	
59	8	7	112.16	161.84	39.53	208.53	54.58	185.51	95.25	91.91	-	101.34	158.14	194.5	44.74	154.17	100.2	93.8	-	-	-	1.9740	
																						7	
60	8	7	112.24	166.33	34.18	218.12	50.11	214.18	59.05	138.5	-	110.36	188.96	11.17	213.34	208.13	73.1	114.66	-	-	-	2.0395	
																						4	
61	8	6	98.27	150.36	177.11	35.99	138.09	123.38	57.54	76.47	-	95.04	149.32	204.46	176.08	70.27	111.38	-	-	-	-	1.8784	
																						6	
62	6	6	131	162.98	231.27	176.61	91.11	99.71	-	-	-	120	152.61	209.75	165.89	82.03	85.35	-	-	-	-	1.6845	
																						8	
63	7	7	90.87	170.16	226.15	33.57	171.57	93.47	101.85	-	-	93.18	159.38	194.42	67.04	152.94	72.79	114.47	-	-	-	1.8882	
																						9	
64	6	6	132.86	175.85	271.23	234.4	86	119.22	-	-	-	122.98	187.67	268.26	213.68	58.29	129.62	-	-	-	-	1.7114	
																						7	
65	7	6	106.74	151.02	223.81	30.26	175.15	87.05	110.71	-	-	86.83	157.97	211.11	197.4	73.57	116.32	-	-	-	-	1.8148	
																						8	
66	7	6	112.76	131.4	175.79	46.58	142.42	87.9	96.51	-	-	91.52	128.05	193.53	154.22	100.54	105.18	-	-	-	-	1.7738	
															2014.7								2.2362
67	8	6	85.86	152.54	57	185.49	62.42	169.74	88.12	127.1	-	105.5	159.3	231.36	5	64.79	104.35	-	-	-	-	6	
																							2.0250
68	8	8	88.9	109.13	44.06	124.84	44.74	107.8	56.84	81.34	-	80.96	134.7	28.51	143.13	41.47	98.79	71.31	72.2	-	-	1	
69	6	6	133.83	206.91	282.37	196.88	112	80.33	-	-	-	121.44	213.43	274.54	210.88	95.8	96.34	-	-	-	-	1.7096	

121	7	7	90.55	163.08	197.45	168.85	48.18	104.75	59.64	-	-	103.27	154.06	192.46	179.16	55.47	96.01	87.71	-	-	-	-	1.8853
																							3
																							1.6930
122	6	6	98.76	173.74	256.47	238	107.77	145.87	-	-	-	113.29	169.51	264.88	211.22	105.13	113.58	-	-	-	-	3	
																							1.6987
123	6	6	109.33	190.65	243.72	208.4	96.96	102.15	-	-	-	124.22	180.87	238.66	204.24	76.13	103.87	-	-	-	-	1	
																							1.7009
124	7	5	96.93	125.01	172.96	157.48	34.9	93.6	36.51	-	-	105.46	122.09	159.33	164.63	114.7	-	-	-	-	-	9	
																							1.7128
125	6	6	104.4	147.69	214.92	170.29	96.37	55.67	-	-	-	105.19	159.28	200.38	171.34	77.37	55.72	-	-	-	-	8	
																							1.7281
126	7	6	105.3	183.84	276.16	232.67	126.41	105.92	-	-	-	108.52	184.46	263.17	290.3	40.74	174.64	-	-	-	-	2	
																							1.6100
127	5	6	146.7	221.27	290.84	278.66	170.68	-	-	-	-	166.34	222.18	280.21	254.47	53.37	128.49	-	-	-	-	5	
																							1.6946
128	6	6	128.64	171.51	219.7	206.11	80.12	102.9	-	-	-	117.55	170.94	217.72	195.59	73.45	94.39	-	-	-	-	8	
																							1.6079
129	5	6	87.84	118.64	152.82	162.62	89.81	-	-	-	-	93.72	121.38	145.74	155.07	43.94	49.63	-	-	-	-	5	
																							1.5910
130	6	5	111.91	162.21	215.18	156.56	80.51	86.15	-	-	-	121.25	173.01	207.34	196.22	110.2	-	-	-	-	-	6	
																							1.7268
131	6	6	90.49	166.91	219.13	196.16	54.11	93.6	-	-	-	86.28	166.82	220.7	188.36	74.12	74.07	-	-	-	-	5	
																							1.8087
132	7	6	146.32	192.67	227.91	40.96	174.43	98.6	85.46	-	-	123.39	174.03	246.63	205.83	101.32	87.52	-	-	-	-	6	
																							1.7135
133	6	6	114.37	177.79	223.11	185.88	81.21	79.82	-	-	-	123.5	178.23	230.36	200.68	48.8	104.66	-	-	-	-	7	
																							1.7208
134	6	6	106.27	164.31	227.29	185.76	82.94	69.01	-	-	-	113.66	163.05	215.43	189.97	73.23	55.65	-	-	-	-	1	
135	7	7	107.53	164.35	216.65	197.44	83.95	98.89	62.69	-	-	108.5	171.36	214.39	183.15	82.23	97.82	44.17	-	-	-	-	1.889
																							1.7121
136	6	6	124.6	150.41	229.68	210.51	48.85	119.04	-	-	-	109.61	179.66	219.47	183.34	74.18	85.78	-	-	-	-	5	
																							1.4752
137	6	6	118.81	174.22	237.23	242.99	128.57	-	-	-	-	111.57	184.39	230.74	235.79	141.93	-	-	-	-	-	4	
																							1.4711
138	5	5	124.03	176.41	233.39	227.69	127.1	-	-	-	-	118.43	165.95	228.8	227.62	132.92	-	-	-	-	-	3	
																							1.7060
139	6	6	85.72	125.06	179.94	143.58	64.77	77.75	-	-	-	83.83	131.52	184.39	150.83	44.98	82.2	-	-	-	-	4	
																							1.6312
140	6	7	128.01	189.27	274.49	261.74	147.46	-	-	-	-	118.41	195.23	254.46	253.55	29.58	136.6	-	-	-	-	4	
																	93.38						
																							1.8923
141	8	6	99.24	108.08	35.09	197.44	40.01	131.25	88.71	81.78	-	109.53	165.84	205.44	154.15	63.79	-	-	-	-	-	1	
																							1.7268
142	6	6	100.4	140.6	214.88	191.97	41.99	101.14	-	-	-	100.59	144.75	204.24	180.43	41.85	110.85	-	-	-	-	3	
																							1.6217
143	6	5	105.31	198.37	239.39	238.4	49.17	111.28	-	-	-	112.75	195.1	254.38	242.29	139.35	-	-	-	-	-	9	
144	6	6	118.79	181.14	246.41	232.83	61.98	116.26	-	-	-	145.16	187.23	247.44	222.39	59.77	118.79	-	-	-	-	1.7151	
																							1.7010
145	6	6	123.94	191.78	272.64	200.11	93.34	114.96	-	-	-	126.28	183.35	240.74	222.03	70.82	114.14	-	-	-	-	6	

146	6	6	136.14	179.42	245.56	222.9	58.96	109.7	-	-	-	140.89	196.5	233.57	224.78	46.7	122.12	-	-	-	-	1.7197	
																						8	
147	6	6	132.92	211.3	274.27	245.66	78.41	124.15	-	-	-	133.37	237.99	265.83	236.72	75.87	115.09	-	-	-	-	1.7128	
																						5	
148	7	7	141.48	180.5	298.1	42.74	260.34	85.02	144.51	-	-	137.39	213.99	285.53	46.65	224.71	110.26	120.9	-	-	-	1.9183	
																						4	
149	6	6	91.89	169.31	231.71	218.91	36.86	121.21	-	-	-	96.51	172.87	235.45	211.32	69.38	95.2	-	-	-	-	1.7366	
																						9	
150	6	6	95.4	175.36	214.75	188.77	66.7	80.15	-	-	-	105.16	178.55	214.75	167.72	83.26	74.54	-	-	-	-	1.7115	
																						2	
151	6	6	93.09	146.89	213.14	165.51	74.2	96.29	-	-	-	98.64	155.51	196.23	179.35	62.39	93.18	-	-	-	-	1.6991	
																						2	
152	6	5	131.61	207.3	256.78	240.85	62.91	116.7	-	-	-	122.74	195.07	244.38	276.68	157.05	-	-	-	-	-	1.6096	
																						5	
153	7	7	134.21	203.44	251.87	75.45	182.38	129.61	86.28	-	-	139.25	223.55	294.85	62.55	250.92	88.46	104.5	-	-	-	1.8956	
																						6	
154	6	6	83.47	123.95	186.02	164.17	61.81	69.22	-	-	-	85.6	133.44	178.07	172.42	22.56	119.53	-	-	-	-	1.7306	
																						9	
155	7	6	108.02	174.13	207.36	31.21	127.1	90.15	77.67	-	-	105.79	179.98	243.64	177.78	86.27	61.44	-	-	-	-	1.8295	
																						6	
156	6	6	77.04	127.69	164.08	130.19	82.44	46.88	-	-	-	75.89	121.58	172.07	149.3	65	59.66	-	-	-	-	1.7062	
																						6	
157	6	6	114.33	180.96	271.97	212.24	120.09	87.69	-	-	-	150.64	187.02	259.14	245.63	73.75	95.86	-	-	-	-	1.7103	
																						6	
158	6	6	102.64	152.66	221.76	174.4	99.92	85.53	-	-	-	104.68	157.68	211.66	182.16	86.65	87.58	-	-	-	-	1.6901	
																						3	
159	7	7	148.94	206.51	280.06	47.4	253.31	122.78	117.78	-	-	137.7	194.55	271.38	70.14	230.5	146.65	122.18	-	-	-	1.8872	
																						1	
160	6	5	145.95	220.74	279.46	231.43	98.19	107.79	-	-	-	125.88	214.93	274.29	248.42	168.64	-	-	-	-	-	1.5978	
																						2.0867	
161	7	9	141.37	180.12	278.37	53.41	239.74	77.09	130.57	-	-	113.99	34.91	183.61	66.74	259.85	52.84	227	79.32	128.71	-	8	
																						1.7094	
162	6	6	132.29	169.04	228.8	203.34	114.15	72.86	-	-	-	122.45	179.34	231.31	219.39	45.97	118.9	-	-	-	-	7	
																						1.7004	
163	6	6	110.83	138.18	195.28	171.9	67.57	92.44	-	-	-	98.3	146.46	199.61	178.49	54.95	91.23	-	-	-	-	4	
																						1.7093	
164	6	6	115.54	145.75	199.2	171.62	65.82	81.84	-	-	-	101.42	151.16	197.8	182.43	42.47	103.01	-	-	-	-	8	
165	6	7	89.95	152.41	214.83	163.96	41.01	97.96	-	-	-	95.59	153.26	50.78	202.77	175.14	59.12	82.99	-	-	-	1.8305	
																						1.7313	
166	6	6	93.08	152.82	185.92	179.67	35.33	104.06	-	-	-	100.12	148.36	189.35	180.92	32.04	106.95	-	-	-	-	7	
																						1.6956	
167	6	6	130.09	154.82	238.18	242.96	68.61	132.35	-	-	-	133.25	159.85	231.71	226.28	84.85	129.14	-	-	-	-	4	
168	7	6	95.67	122.78	180.05	41.2	148.42	82.39	57.82	-	-	83.7	124.97	77.92	111.3	94.84	60.17	-	-	-	-	1.7857	
																						1.7777	
169	7	6	112.52	149.3	185.69	81.25	137.17	81.2	81.16	-	-	108.38	167.12	207.13	168.63	111.83	71.53	-	-	-	-	4	
																						1.7204	
170	6	6	91.53	143.86	197.4	184.22	40.57	92.6	-	-	-	72	139.88	193.48	190.3	73.95	94.74	-	-	-	-	5	
171	8	9	106.68	138.71	42.7	224.12	208.02	86.96	115.33	62.18	-	105.3	134.55	210.7	38.86	141.38	48.14	82.19	101.3	8	73.01	-	2.1257

172	6	6	162.07	197.7	291.62	281.63	150.69	41.48	-	-	-	135.85	201.29	267.33	247.97	165.89	115.26	-	-	-	-	1.7098
																						2
																						1.7206
173	6	6	109.57	169.55	203.35	204.07	31.14	111.73	-	-	-	113.44	159.59	207	183.31	55.15	122.33	-	-	-	-	8
174	6	6	102.46	147.13	203.58	166.36	55.45	90.29	-	-	-	100.64	159.58	186.08	164.24	62.23	96.51	-	-	-	-	1.7003
																						1.8994
175	7	7	108.5	144.36	187.39	26.82	136.05	93.46	46.16	-	-	109.8	143.48	168.09	64.07	145.17	45.05	97.52	-	-	-	6
																						1.4688
176	5	5	110.11	149.54	213.01	193.01	124.64	-	-	-	-	96.21	147.9	199.19	203.88	134.9	-	-	-	-	7	
																						1.8929
177	7	7	108.04	158.7	224.42	177.02	70.34	106.49	57.21	-	-	98.14	182.7	217.27	180.71	90.87	84.25	51.66	-	-	-	3
																						1.7205
178	6	6	109.47	163.78	214.85	170.97	110.83	49.49	-	-	-	104.61	167.22	206.29	182.06	37.82	106.78	-	-	-	-	4
																						1.7859
179	7	6	99.7	136.18	98.56	101.25	167.6	89.44	87.85	-	-	98.11	131.79	184.56	205.18	133.05	41.11	-	-	-	-	5
																						1.7112
180	6	6	102.88	158.6	196.65	173.9	36.77	106.17	-	-	-	101.23	168.69	195.18	167.13	72.8	82.11	-	-	-	-	5
																						1.8242
181	6	7	115.11	166.57	217.53	212.75	147.51	46.88	-	-	-	129.88	152.18	219.05	202.65	38.84	94.36	71.31	-	-	-	9
																						1.9799
182	7	8	113.96	147.88	216.39	43.17	169.96	97.97	87.2	-	-	113.86	157.7	48.73	203.66	47.99	184.34	73.55	114.8	3	-	3
																						1.9219
183	7	7	80.73	122.42	153.73	136.92	21.21	72.16	37.97	-	-	84.2	115.49	160.12	125.32	50.85	52.13	39.81	-	-	-	9
																						1.7124
184	6	6	93.48	134.2	200	151.25	70.26	69.12	-	-	-	87.85	153.76	186.02	171.14	48.75	84.4	-	-	-	-	2
																						1.6758
185	6	6	105.31	147.43	213.19	115.84	128	100.8	-	-	-	110.1	164.92	202.16	157.15	76.18	100.4	-	-	-	-	8
																						1.8835
186	7	7	95.13	142.77	165.68	74.46	112.11	9.7	86.88	-	-	104.71	152.86	159.19	72.99	102.21	96.89	91.17	-	-	-	7
														1065.1								2.0927
187	7	6	87.09	121.49	142.13	42.95	111.36	43.91	74.63	-	-	81.99	123.23	5	126.75	32.12	87.2	-	-	-	-	8
																						1.7013
188	6	6	100.65	145.34	194.09	171.47	46.32	93.24	-	-	-	103.75	146.11	184.04	163.78	71.22	82.93	-	-	-	-	3
																						1.6987
189	6	6	154.77	177.05	248.05	199.58	92.66	93.23	-	-	-	135.69	190.07	249.88	191.85	104.04	69.78	-	-	-	-	7
																						1.6876
190	6	6	123.71	130.73	202.09	181.59	68.43	100.57	-	-	-	102.42	134.97	192.02	184.55	71.87	106.21	-	-	-	-	4
																						1.7230
191	6	6	134.14	183.24	262.69	272.41	33.62	166.41	-	-	-	140.62	188.1	248.01	239.88	72.42	156.71	-	-	-	-	1
																						1.4692
192	5	5	95.78	132.22	175.07	185.33	122.19	-	-	-	-	95.21	115.95	185.33	191.59	118.09	-	-	-	-	-	8
193	7	7	133.45	175.11	196.04	57.56	143.29	94.15	75.82	-	-	120.34	185.22	205.04	31.02	185.61	86.45	92.7	-	-	-	1.8916
194	6	5	126.76	185.72	228	229.84	39.29	138.66	-	-	-	121.33	160.56	220.82	219.06	157.2	-	-	-	-	-	1.6066
																						1.9538
195	7	7	110.11	145.38	205.79	31.06	177.39	18.03	104.64	-	-	113.53	144.26	187.17	24.33	162.93	69.03	70.94	-	-	-	8
																						1.5973
196	5	6	100.85	148.93	216.06	212.28	143.54	-	-	-	-	109.86	146.01	203.02	183.64	122.33	55.71	-	-	-	-	7
																						1.7116
197	6	6	139.32	185.4	240	207.76	99.32	93.6	-	-	-	124.87	172.19	247.37	223.43	39.45	141.24	-	-	-	-	2

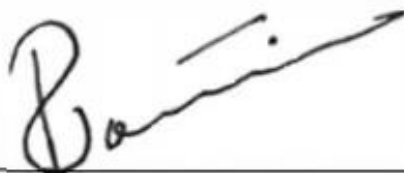
198	7	6	127.55	158.68	219.05	35.73	199.12	47.68	104	-	-	111.63	159.65	207.32	217.92	38.07	138.52	-	-	-	-	1.8419
																						5
																						1.6969
199	6	6	132.41	182.88	263.49	201.1	123.03	74.71	-	-	-	138.19	173.97	247.07	206.12	88.23	101.21	-	-	-	-	8
																						1.7250
200	6	6	114.83	188.05	242.3	220.34	118.7	77.03	-	-	-	126.66	179.05	253	235.76	34	135.21	-	-	-	-	9
																						1.8018
201	7	6	122.88	186.62	237.89	36.25	145.14	95.36	99.52	-	-	114.22	184.38	229.01	185.27	103.55	107.16	-	-	-	-	5
																						1.7673
202	7	6	128.83	191.16	217.09	90.8	149.25	181.5	91.74	-	-	126.74	177.43	247.15	252.19	146.64	144.22	-	-	-	-	5
																						1.6874
203	6	6	112.83	143.55	209.46	161.54	89.58	77.04	-	-	-	110.04	148.62	193.9	175.49	67.25	102.97	-	-	-	-	4
																						1.6974
204	6	6	121.94	159.52	243.98	213.44	70.27	119.62	-	-	-	124.89	170.64	234.46	197.8	75.43	119.43	-	-	-	-	7
																						1.8377
205	7	7	112.3	167.3	195.16	93.73	140.79	122	82	-	-	106.8	166.3	181.63	84.15	148.15	94.08	107.71	-	-	-	7
																						1.7056
206	6	6	112.17	149.68	214.75	182.66	76.02	83.81	-	-	-	106.74	146.77	203.03	176.8	49.64	96.52	-	-	-	-	8
																						1.7171
207	6	6	126.97	197.92	235.73	195.06	83.61	80.67	-	-	-	118.27	179.93	229.8	214.53	47.04	113.32	-	-	-	-	1.6917
																						1.4705
208	6	6	119.61	189.86	252.23	213.7	102.34	94.53	-	-	-	119.26	193.23	236.87	201.93	109.11	99.71	-	-	-	-	7
																						1.4705
209	5	5	107.5	132.34	198.57	216.92	125.74	-	-	-	99.65	151.51	198.63	199.84	131.41	-	-	-	-	-	-	7
																						1.5873
210	6	5	108.69	161.4	215.22	191.86	103.03	84.86	-	-	-	112.68	165.74	212.79	219.78	157.67	-	-	-	-	-	1.5873



Anexo 2: Variación de temperatura a lo largo de los períodos de incubación en la temporada de anidación 2019. Se observan las variaciones de temperatura de incubación en los diferentes nidos (A-E).



María Renee Contreras Mérida
Autora



M.Sc. Berta Alejandra Morales Mérida
Asesora



Mts. José Fernando Díaz Coppel
Revisor



PhD. Sergio Melgar
Director de Escuela de Biología



M. A. Pablo Ernesto Oliva Soto
Decano