

7
20j



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

"DETERMINACION DE LAS FASES DEL
DESARROLLO EMBRIONARIO DE LA TORTUGA
MARINA
Dermochelys coriacea"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

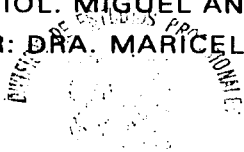
BIOLOGO

PRESENTA:

MARIA TERESA ANAYA REYNOSO

DIRECTOR: BIOL. MIGUEL ANGEL PALOMINO GARIBAY.

CODIRECTOR: DRA. MARICELA VILLAGRAN SANTA CRUZ.



México, D. F. 1997.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

M. en C. Virginia Abrín Batule
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
P r e s e n t e

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

"DETERMINACION DE LAS FASES DEL DESARROLLO EMBRIONARIO DE LA TORTUGA MARINA
Dermochelys coriacea".

realizado por MARIA TERESA ANAYA REYNOSO.

con número de cuenta 7639695-9 , pasante de la carrera de BIOLOGIA.

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis

Propietario BIOL. MIGUEL ANGEL PALOMINO GARIBAY.

Propietario DRA. MARICELA VILLAGRAN SANTA CRUZ.

Propietario BIOL. ADRIANA LAURA SARTI MARTINEZ.

Suplente Biol. ANA RERECA BARRAGAN ROCHA

Suplente M. en C. CLAUDIA KARINA TORRES VILLASEÑOR

FACULTAD DE CIENCIAS

Consejo Departamental de Biología

COORDINACIÓN GENERAL
DE BIOLOGÍA

DEDICATORIA

A MIS HIJOS EDGAR Y DIEGO.

A MI ESPOSO.

A MI MADRE.

A MIS HERMANAS.

A MIS AMIGOS:

QUE CREYERON QUE ALGÚN DÍA TERMINARIA ESTE TRABAJO.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a todas las personas que me brindaron su ayuda durante la realización de este trabajo:

En el trabajo de campo a Georgina Machorro por su ayuda en la recolección de muestras y toma de datos, a Tebo, al Sr. Patricio Mellin del poblado de Caleta de Campos, Michoacán por su hospitalidad.

Un agradecimiento muy especial a la Maestra Hortencia Montellano Rosales del Laboratorio de Embriología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN quien sin su ayuda y asesoría no hubiera sido posible la realización de todo el trabajo de laboratorio y la elaboración de los dibujos al microscopio.

A la Maestra Oralia Mújica L. por su apoyo y consejos.

A la Dra. Miriam Benabib N. por la orientación bibliográfica.

A Pablo Robles del laboratorio de microcine de la Facultad de Ciencias por las fotografías al microscopio.

A Francisco Ortega R. por el apoyo gráfico de los esquemas y las láminas de fotografías.

A Laura Sarti M. por el apoyo en la actualización bibliográfica y la motivación a terminar este trabajo y mi admiración por el tiempo que ha dedicado al estudio y conservación de las tortugas marinas.

A Patricia Huerta por la paciencia en la revisión del texto.

Al Biol. Miguel Angel Palomino Garibay, a la Dra. Maricela Villagrán Santa Cruz, a la Biol. Ana Rebeca Barragan Rocha y la M. en C. Karina Torres Villaseñor, miembros del jurado, por la revisión del manuscrito y por sus invaluable sugerencias y comentarios.

A Edgar Lizano Soberón por todo su apoyo.

Este trabajo fué realizado gracias al permiso de la
Secretaria de Pesca N° 08038433304108 de fecha 26 de
Marzo de 1984.

LISTA DE TABLAS, GRÁFICAS Y FIGURAS

Tabla 1.- Resumen del número estimado de hembras anidadoras y de el porcentaje de eclosión de crías de *Dermochelys coriacea* en el Playón de Mexiquillo, Mich.

Tabla 2.- Resumen del estado de las muestras obtenidas de huevos de la tortuga *Dermochelys coriacea* en el Playón de Mexiquillo, Mich.

Tabla 3.- Clasificación de embriones de *Dermochelys coriacea*, agrupados por estadios y tiempo promedio de incubación.

Tabla 4.- Resumen descriptivo de los 28 estadios embriológicos de la tortuga *Dermochelys coriacea* obtenidos en este trabajo.

Tabla 5.- Comparación y equivalencias de estadios embrionarios de algunos Quelonios con los encontrados en el presente trabajo.

Gráfica 1.- Temperatura ambiente, durante los 50 días de incubación.

Gráfica 2.- Temperatura de la arena a 15 cm de profundidad, durante 50 días de incubación

Figura A.- Localización de la zona de estudio

Figura B.- Distribución de los nidos reubicados en la playa

Figura C.- Zona de reubicación (vivero)

ÍNDICE

1.- Resumen.....	1
2.- Introducción.....	2
3.- Antecedentes.....	5
4.- Objetivo.....	11
5.- Material y método.....	12
A) Método de campo.....	12
B) Método de laboratorio.....	13
6.- Resultados.....	17
7.- Discusión.....	49
8.- Conclusiones.....	68
9.- Literatura citada.....	69
10.- Apéndice.....	75

1.- RESUMEN

El presente trabajo tiene como objetivo establecer una tabla del desarrollo embrionario de la tortuga marina *Dermochelys coriacea*. Basada principalmente en la morfología externa de los organismos, esta tabla podrá ser utilizada como un trabajo que nos permita ordenar los embriones por estadios y de esta manera organizar la información de campo y de laboratorio. Es necesario poder clasificar los embriones muertos que se encuentran en nidos naturales, en nidos reubicados en viveros así como en huevos de incubadora, para poder investigar las causas de los bajos porcentajes de eclosión que se obtienen en esta especie en particular. Saber si hay un estadio de desarrollo en el cual ocurre una mayor mortalidad de embriones, como afecta en el desarrollo embrionario la manipulación del huevo, nos permite encontrar técnicas más adecuadas para la conservación de esta especie. Se obtuvieron embriones de la tortuga marina *Dermochelys coriacea* de huevos incubados en laboratorio a 30°C y de huevos incubados en nidos reubicados (Playón de Mexiquillo, Michoacán, México), con los cuales se formó una serie del desarrollo embrionario en la que se definieron 28 estadios basados en la descripción morfológica externa. Es importante notar que el primer estadio de esta tabla corresponde a una gástrula más temprana en comparación con los trabajos de desarrollo embrionario de tortugas revisados. Se proporcionan datos de medidas corporales curvas y rectas.

2.- INTRODUCCIÓN

En los 9 000 km. del litoral mexicano se distribuye una extensa variedad de especies animales, entre éstas se encuentran las tortugas marinas. El Playón de Mexiquillo, Michoacán, es una de las zonas de anidación más importantes en el Pacífico mexicano para la tortuga *Dermochelys coriacea* (Pritchard, 1971; Sarti, *et. al.* 1996).

Dermochelys coriacea, también llamada laúd, garapacho, siete filos o tortuga de cuero, es la tortuga marina que presenta más características y adaptaciones para la vida acuática y la que alcanza mayor tamaño, en poblaciones del Atlántico Oeste se han registrado tortugas de 180 cm de largo central del caparazón, aunque tallas más pequeñas son normales para las poblaciones del Pacífico (165 cm de largo central y 120 cm de ancho del caparazón, en medidas curvas (Fretey, 1978; Pritchard y Trebbau, 1984; Cruz *et al.*, 1985). La laúd más pesada se registró en Wales, Inglaterra en 1988 de 916 kg (Morgan, 1989). Las tortugas marinas son reptiles ovíparos que incuban sus huevos en nidos excavados por la madre en la arena, la temporada de anidación de esta especie ocurre del mes de octubre a marzo; en promedio el tamaño de la nidada es de 64 huevos; el peso del total de los huevos es de 4982.38 g y el peso por huevo es de 76.67 g, su diámetro es de 5.1 cm y tienen un periodo de incubación de 62 días (Pritchard, 1971; Benabib, 1983; Márquez, 1990).

Se ha observado que las poblaciones de *D. coriacea* han disminuido a lo largo del tiempo (Tabla 1). Esta disminución se ha atribuido por un lado a la pesca incidental de organismos donde se capturan tortugas adultas y/o juveniles que mueren atrapadas en las redes, al saqueo de los huevos o bien al desplazamiento de las poblaciones a otras playas de anidación (Mrosovsky, 1983; Márquez, 1990; Sarti, *et al.* 1996). Ya que la carne de esta especie no se consume en México *D. coriacea* no es capturada en las playas de anidación.

Actualmente se realizan esfuerzos encaminados a la recuperación de las poblaciones de tortugas marinas, como son el Decreto de veda total y permanente para evitar la captura de todas las especies de tortuga marina, así como el consumo de huevos (Diario oficial, 1990). También se han instalado campamentos en las playas de anidación donde una de las actividades más importantes es la protección de los huevos (INP, 1990) y la investigación de aspectos biológicos de la especie, los cuales son imprescindibles para llevar a cabo una verdadera conservación del recurso. El huevo es una parte del ciclo de vida de las tortugas marinas muy vulnerable ya que es comido por depredadores naturales o introducidos o bien en su mayoría son saqueados por el hombre (Benabib y Cruz, 1981; Perran, 1981; Márquez, 1990).

La protección de los huevos se realiza trasladándolos a áreas cercadas llamadas viveros. En playas donde el saqueo de huevos es alto estos viveros son de vital importancia para la conservación y protección de las especies de tortugas marinas, sin embargo, se ha observado que el porcentaje de eclosión de las crías que nacen en estas áreas varía en cada temporada de anidación (Tabla 1) lo que trae en consecuencia que el número de organismos reclutados a las poblaciones naturales también fluctúe. Se han evaluado diferentes técnicas de incubación de los huevos: en cajas de poliuretano, *in situ* y en viveros, donde los mejores resultados se han obtenido *in situ*, lo cual no es factible debido al saqueo intensivo de huevo. Se ha observado que el éxito de las técnicas de incubación en cuanto a la sobrevivencia de las crías depende de la manipulación de los huevos al trasladarlos a los viveros y a factores ambientales como la temperatura y la humedad en particular los huevos de *D. coriacea* son más sensibles a estos factores en comparación con los resultados obtenidos en otras especies como *Lepidochelys olivacea*, en donde los porcentajes de eclosión son mayores (Sarti, et al. 1993) o con *Chelonia mydas* donde Whitmore y Dutton (1985). observaron una mayor mortalidad de embriones de *Dermochelys coriacea*.

Es importante investigar cuales son los factores que más afectan el desarrollo embrionario de esta especie.

En el presente trabajo, se elabora una tabla del desarrollo embrionario de la tortuga *Dermochelys coriacea* en función de sus características morfológicas externas con el objeto de clasificar y ordenar los embriones por estadio y de esta manera organizar la información de campo y de laboratorio. Estas tablas de estadios nos pueden ayudar a saber si hay algún periodo del desarrollo en el que los embriones sean más susceptibles a la mortalidad, para posteriormente investigar como afecta en el desarrollo embrionario la manipulación del huevo al vivero o los factores ambientales

TEMPORADA	AUTOR	No. DE HEMBRAS	% DE ECLOSIÓN
1984-85	Cruz, <i>et al.</i> (1985)	888	51.6
1985-86	Sarti, <i>et al.</i> (1986)	546	53.2
1986-87	Sarti, <i>et al.</i> (1987)	880	66.12
1987-88	Sarti, <i>et al.</i> (1988)	771	23.4
1988-89	Sarti, <i>et al.</i> (1989)	495	51.5
1989-90	López, <i>et al.</i> (1990)	386	26.7
1990-91	López, <i>et al.</i> (1991)	270	61.5
1991-92	López, <i>et al.</i> (1992)	287	17.0
1992-93	Sarti, <i>et al.</i> (1993)	236	35.3
1993-94	López, <i>et al.</i> (1994)	14	-
1994-95	Sarti, <i>et al.</i> (1995)	87	7.5
1995-96	Sarti, <i>et al.</i> (1996)	208	48.9

Tabla 1.- Resumen del número estimado de hembras anidadoras y de el porcentaje de eclosión de crías de vivero de *Dermochelys coriacea* en el Playón de Mexiquillo, Mich.

3.- ANTECEDENTES

La clase reptilia se caracteriza dentro de la historia evolutiva de los vertebrados por ser el primer grupo de organismos en los que se realiza la fecundación interna y que no requiere del agua para el transporte de sus gametos. Los huevos reptilianos se incuban cubiertos por un cascarón que los protege del medio ambiente, contienen una mayor cantidad de vitelo (huevos telolecitos), lo cual permite a los embriones permanecer dentro del huevo hasta completar su desarrollo. Este tipo de huevo llamado amniota comprende ciertas modificaciones en su estructura, como son la presencia de las membranas extraembrionarias, amnios, alantoides, corión y saco vitelino, que pueden suplir las condiciones del medio acuático en las que se desarrollan los embriones anamniotas (Romer, 1966).

Los huevos reptilianos han sido considerados muy similares a los de las aves, no obstante existen pequeñas diferencias que nos indican que hay que darles un manejo distinto, por ejemplo en los huevos de tortuga el desarrollo embrionario se lleva a cabo en la parte anterior del vitelo, bajo la membrana del cascarón, mientras que los embriones de ave están rodeados por albumen y se desarrollan en el centro del huevo, sostenidos por la chalaza, otra diferencia es que los huevos de tortuga no tienen espacio aéreo y el cascarón es flexible. (Bustard, 1972)

Como otros organismos ovíparos, las tortugas marinas retienen los huevos en sus tractos reproductores antes de la oviposición. Durante este periodo los huevos alcanzan un cierto grado de desarrollo, razón por la cual Shine (1983) ha optado por dividir el desarrollo embrionario de algunos reptiles en dos fases: (1) la fase de gestación o preanidatoria, que comprende el lapso en el cual el huevo es retenido en los conductos reproductores de la hembra, desde la ovulación hasta la oviposición y (2) la fase de incubación, que abarca desde la oviposición hasta la eclosión.

Se ha observado que al inicio de la incubación, los huevos de tortuga marina presentan una porción circular más blanca sobre el cascarón, la cual se ha utilizado como un índice de fertilidad del mismo. Esto se ha atribuido a una adherencia de la membrana vitelina al cascarón. Este círculo se extiende progresivamente hasta que el huevo es enteramente blanco (Blanck y Sawyer, 1981; Villanueva, 1981). Chan en 1989, realizó un trabajo donde determinó que en *Dermochelys coriacea* la mancha blanca en los huevos aparece después del 4o. y 5o. día de incubación y la consideró como un índice de fertilidad de los huevos. Algunos autores como Fujimoto *et al.* (1979), Blanck y Sawyer (1981), afirman que el estadio del desarrollo embrionario en el momento en que la tortuga realiza la puesta es el de gástrula.

Se han realizado varios trabajos sobre desarrollo embrionario de tortugas dulceacuícolas, terrestres y marinas. El trabajo de Agassiz (1857), sobre la embriología de tortugas puede ser considerado como una de las primeras y más completas investigaciones acerca del desarrollo embrionario de estos organismos ya que incluye aspectos que van desde la formación del huevo y fecundación, hasta la organogénesis y la histología de los órganos. Sin embargo muchos conceptos teóricos han cambiado considerablemente, por ejemplo, anteriormente se pensaba que el embrión y el huevo eran lo mismo, la palabra embrión se refería a todo el huevo y el vitelo era una parte integral del embrión (Agassiz, 1857), actualmente se piensa que el embrión está ubicado en el polo animal del huevo y en el caso de reptiles ovíparos con huevo telolecito, la segmentación es parcial o meroblástica (no se segmenta todo el vitelo).

El desarrollo embrionario de la tortuga dulceacuícola *Chelydra serpentina* comprende 26 estadios, los cuales se han basado en la edad, la temperatura y las estructuras presentes. En función de las estructuras los embriones han sido divididos en tres periodos: 1) período presomático (estadios 0 a 3), comprende a los embriones desde el momento de la puesta, los cuales se encuentran en gástrula y presentan el blastoporo situado en la parte posterior

del disco embrionario con el canal notocordal marcado como un túnel, el cual esta abierto en la superficie ventral; las células de la placa primitiva posterior al blastoporo sobrepasan el área vitelina, 2) periodo de somitas (estadio 4 a 10), los embriones presentan ya algunos pares de somitas y 3) periodo de las extremidades (estadios 11 a 26), representado por organismos que tienen caparazón aplanado, la hernia umbilical presente o no y en su lugar existe el área del plastrón o la persistencia de un poco de vitelo en el saco vitelino. Los huevos fueron incubados 140 días a 20°C y 63 días a 30°C (Yntema, 1968).

Blanck y Sawyer (1981) elaboraron una tabla del desarrollo embrionario de la tortuga marina *Caretta caretta*, basándose en la serie embrionaria de *Chelydra serpentina* (Yntema, 1968). Los autores aclaran que debido a las diferentes temperaturas de incubación entre estas especies se establecieron algunas variaciones cronológicas que fueron correlacionadas posteriormente. En este trabajo es importante considerar las observaciones que se hicieron con respecto a las membranas de adherencia al cascarón en los huevos de tortuga y la relación de estas membranas con el manejo del huevo.

En el trabajo sobre las etapas del desarrollo embrionario de la tortuga marina *Lepidochelys olivacea* Crastz (1982), determinó 31 estadios basándose en características morfológicas y medidas corporales de 71 embriones que obtuvo a partir de 210 huevos examinados. El primer estadio que describe es una gástrula tardía, donde se encuentra el área opaca ovalada encerrando al área pelúcida sobre la cual descansa el disco embrionario, la placa primitiva es muy angosta y unida muy de cerca al área opaca y el blastoporo arqueado.

Guyot *et al.* (1994), describe el desarrollo embrionario de la tortuga terrestre *Testudo hermanni* en 26 estadios desde la puesta hasta la eclosión, basados en la tabla embriológica de Yntema (1968). Los embriones para la elaboración de este trabajo provinieron de 33 puestas incubadas en laboratorio a 28°C obteniéndose 161 embriones utilizables. Los autores consideran de

gran importancia conocer las fases más susceptibles a la mortalidad embrionaria para realizar con más eficiencia las actividades de conservación.

Deraniyagala (1939), describe en la tortuga laúd (*Dermochelys coriacea*) 11 estadios. En su trabajo el primer estadio (estadio A), es representado por un embrión en una fase bastante avanzada del desarrollo, de 5.5 mm de largo, 1.5 mm de la extremidad del hocico a la punta de la cabeza, 1.6 mm de la axila a la ingle y posee 24 somitas; el último estadio (estadio L) lo representa un embrión de 58 días, con una longitud corporal de 6.5 cm, una longitud de cabeza de 19 mm y 30 mm de largo del caparazón. De la axila a la ingle mide 8 mm, el miembro anterior 34 mm, el miembro posterior 15 mm y la cola 10 mm, con pigmentación casi completa pero no tan intensa como en las crías. En cada estadio el autor proporciona una descripción que comprende datos como la longitud del embrión, medidas de algunas estructuras que van apareciendo conforme el desarrollo avanza, además de una explicación del desarrollo de dichas estructuras.

Raynaud *et al.* (1981) y. (1983), interesados en el estudio de las estructuras epiteliales que aparecen transitoriamente en la región de los arcos faríngeos, trabajaron con embriones de tortuga *Dermochelys coriacea*, y proponen criterios para distinguir un estadio de otro basados en la longitud de la cabeza del embrión. De acuerdo a estos criterios se establecen tres grupos constituidos de la siguiente forma: Grupo 1, comprende embriones cuya cabeza mide de 3.0 a 3.5 mm; el Grupo 2 incluye embriones de 3.5 a 4.5 mm de longitud cefálica y el Grupo 3 agrupa a los embriones de 4.8 a 7.0 mm de longitud cefálica. Finalmente se menciona a los embriones jóvenes y los embriones de mayor tamaño sin especificar medidas.

En el campamento tortuguero del Playón de Mexiquillo, Mich, se ha establecido una escala arbitraria para identificar el grado de desarrollo en el que se encuentran los embriones que no eclosionaron en nidos reubicados. Dicha escala esta formada por ocho estadios basados en características de

estructuras que se aprecian a simple vista, sin la ayuda de instrumentos de laboratorio. El estadio I, embriones que miden desde 0.5 cm donde se puede ver el ojo pigmentado. Estadio II, embriones con ojos pigmentados pero sin pigmento en el resto del cuerpo y con primordios de los miembros. Estadio III, embriones con caparazón, aletas y todas las estructuras externas formadas, pero sin pigmentación. Estadio IV, inicio de pigmentación. Estadio V, embriones completamente formados con pigmentación de 5.5 cm (largo curvo) hasta el estadio VII que son los embriones a término. El estadio VIII incluye a los huevos en los que se detecta un desarrollo aparente y en los que se encuentra un cierto grado de vascularización (Cruz *et al.*, 1985). Esta escala fue posteriormente modificada por Sarti *et al.* (1989), en donde deja en el estadio I a los embriones con un incipiente desarrollo aparente y con cierto grado de vascularización (antes estadio VIII) y al estadio VIII embriones a término (antes estadio VII).

Miller (1985), elaboró una serie de estadios embriológicos muy completa, combinando todas las tablas de desarrollo embrionario de tortugas que encontró hasta esa fecha. Las diferencias que encuentra entre estas tablas son: 1) los grados de desarrollo de las características usadas, 2) la velocidad del desarrollo, 3) la temperatura de incubación y 4) el tiempo durante el desarrollo en el cual el estadio fue definido. En esta serie compuesta de 31 estadios, Miller describe desde la segmentación (que son los estadios del 1 al 5) que se lograron con embriones de *Chelonia mydas* obtenidos por inducción con oxitocina antes de la oviposición. El autor estima que los estadios 1 al 23 son comunes en Chelonidos y Dermochelidos y que las diferencias aparecen a partir del estadio 24. El estadio 6 del trabajo de Miller es el que ha sido descrito como el estadio 1 en otros trabajos y corresponde a la fase en el momento de la puesta del huevo, es decir en gástrula.

Renous (1988), se interesa en el desarrollo embrionario de la tortuga *Dermochelys coriacea*, debido a que notó ciertas particularidades en el desarrollo de la región faríngea, así como en la formación del caparazón y en el

polimorfismo que presentan las escamas de la parte dorsal de la cabeza. Renous *et al.* (1989), en su trabajo sobre la embriología de la tortuga laúd (*Dermochelys coriacea*), continuaron investigando sobre las particularidades del desarrollo embrionario de esta especie y consideraron que ésta ameritaba una descripción más detallada de sus estadios embrionarios. Los autores mencionan que no tratan de repetir la tabla de 31 estadios que propuesta por Miller (1985) para las tortugas marinas en general, sino de poner en evidencia las principales características del desarrollo de esta especie. En este trabajo los autores obtienen 22 estadios, el primero de ellos es el 10 y corresponde a un embrión con 4 pares de somitas, el pliegue cefálico doblado hacia la parte ventral delimitando así el borde del intestino portal anterior, dorsalmente los pliegues neurales se fusionan en la parte posterior del pliegue cefálico recubierta anteriormente por el amnios, atrás del pliegue de la cabeza el canal neural permanece abierto hasta el canal neurentérico. El último estadio que describe es el 31, el cual corresponde a la eclosión. Los autores mencionan que hay características en el desarrollo embrionario de *D. coriacea* que son diferentes de otras tortugas marinas, como es la estructura y la evolución de la región branquial, la formación y el desarrollo del caparazón y el desarrollo de los miembros.

4.- OBJETIVOS

- ◊ Establecer una serie de las fases normales del desarrollo embrionario de la tortuga marina *Dermochelys coriacea*, basada en la morfología externa de los organismos.
- ◊ Proporcionar las bases embriológicas para organizar los datos de campo y de laboratorio y así iniciar estudios prácticos que nos ayuden a manipular correctamente los huevos e incrementar los porcentajes de eclosión.
- ◊ Incluir los datos de esta serie a las tablas de desarrollo embrionario ya existentes.

5.- MATERIAL Y MÉTODO

Para la realización de este trabajo se utilizaron 348 huevos de tortuga marina *Dermochelys coriacea* colectados en el Playón de Mexiquillo, Michoacán, ubicado entre los 102° 48' 49" y 102° 55' 17" de longitud W, y entre los 18° 05' 23" y 18° 08' 19" de latitud N, en la localidad "El Farito" aproximadamente a 8 km del poblado de Caleta de Campos (Fig. A), con el permiso No. 08038433304108 de la Secretaria de Pesca de fecha 26 de marzo de 1984.

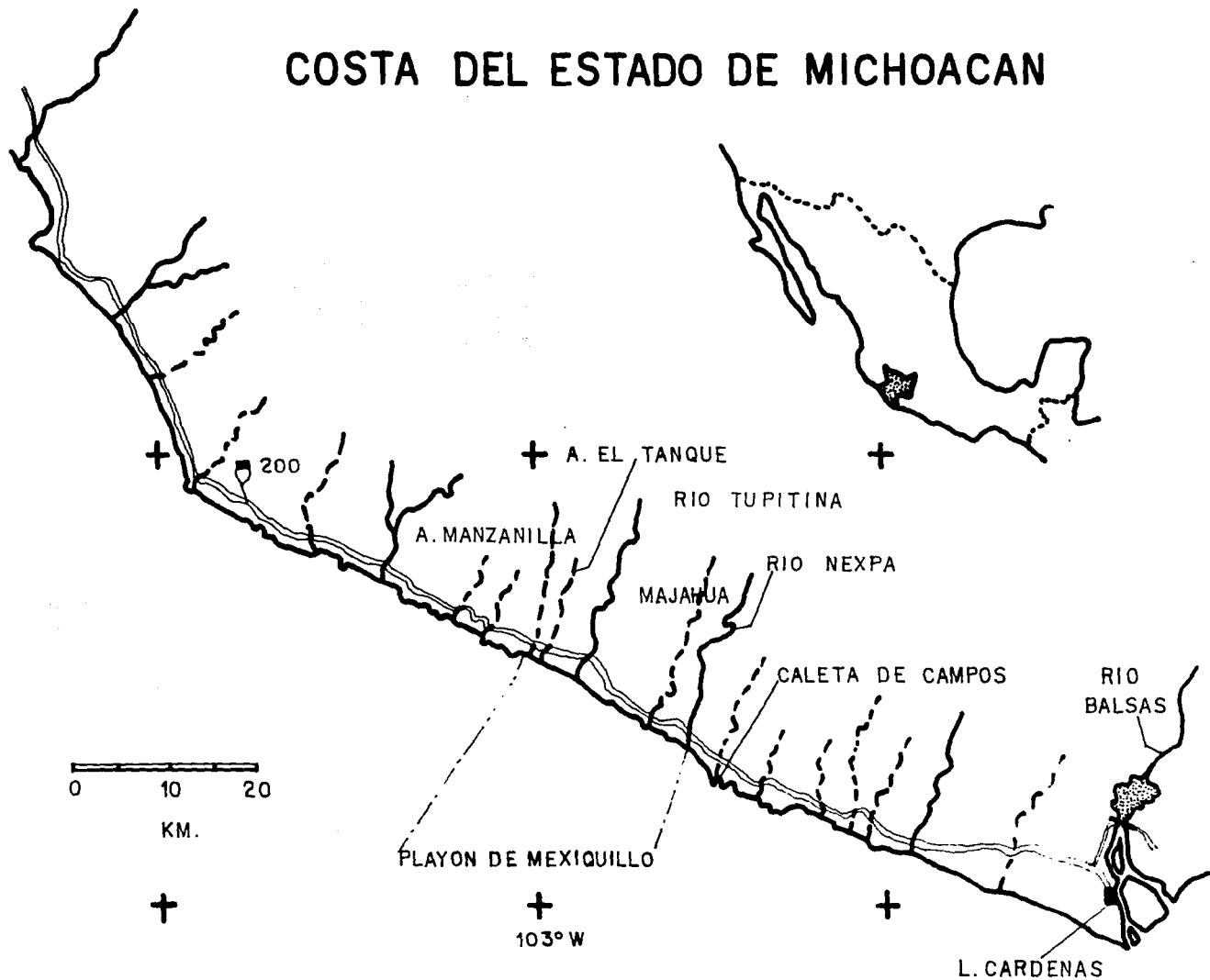
A) MÉTODO DE CAMPO.

Los huevos se colectaron colocando una bolsa de plástico bajo la cloaca de la tortuga en el momento de la oviposición. El material colectado se dividió en dos partes:

1.- LOTE 1 (incubados en laboratorio). Se colectaron 136 huevos el 26 de febrero de 1984. Los huevos provinieron de dos tortugas, la tortuga 1 oviposité 70 huevos, ésta tortuga tenía la marca de la aleta posterior F3308, la tortuga 2 sin marca oviposité 66 huevos. Los huevos se depositaron en dos cajas de poliuretano de 35.0 cm de largo, 26.5 cm de ancho y 20.5 cm de alto, las cuales contenían una capa de 5.0 cm de arena húmeda en el fondo sobre la que se colocaron los huevos los cuales se cubrieron con más arena húmeda. Cada caja con 68 huevos, se trasladaron en automóvil al Laboratorio de Embriología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, donde fueron incubados 48 hrs. después de la oviposición en una incubadora Leland Wilson, a 30°C.

2.- LOTE 2 (incubados en el campo). Se colectó el 26 de marzo de 1984. Se reubicaron 212 huevos en la playa, las muestras provinieron de tres tortugas: la tortuga 1 con número de marca F5201 oviposité 68 huevos, de la tortuga 2 sin marca se obtuvieron 76 huevos y la tortuga 3 sin marca puso 68 huevos.

COSTA DEL ESTADO DE MICHOACAN



LOCALIZACION DE LA ZONA DE TRABAJO.

figura A.-

Los huevos se incubaron en 53 nidos de 50 cm de profundidad con cuatro huevos cada uno. El número de muestras y la profundidad de los nidos se definió arbitrariamente, con el fin de abrir el nido una sola vez y no perturbar el desarrollo embrionario de otros huevos. Estos nidos fueron dispuestos al azar en hileras perpendiculares al mar (Fig. B y C). Cuatro veces al día se cuantificó la temperatura ambiente y la temperatura de la arena a 15 cm de profundidad. Para tal efecto, se utilizó un termómetro marca Proper y se determinó la temperatura media diaria. Los nidos en la playa se destaparon cada día para coleccionar cuatro huevos, a los cuales se les marcaba con lápiz sobre el cascarón la fecha de su extracción, se midió el diámetro y se anotaron las observaciones del estado general de ellos al ser coleccionados. A las muestras obtenidas de este lote, se les inyectó formol al 10% en amortiguador de fosfatos al 1 M con una jeringa y se guardaron en una cubeta de plástico llena con el mismo fijador dejándose así al menos por 24 hrs.

B) MÉTODO DE LABORATORIO.

En el laboratorio se obtuvieron embriones del lote 1 (incubación en laboratorio); al igual que los nidos del lote 2 (incubados en el campo) las cajas de poliuretano se abrieron cada 24 horas para extraer 4 huevos, inyectarles fijador y anotar los mismos datos antes mencionados para las muestras del lote 2.

◊ Extracción de embriones

Los embriones se obtuvieron colocando en un cristizador solución salina al 0.9%; dentro del cual con unas tijeras se cortó el cascarón lo más alejado posible del área blanca (mancha blanca que aparece externamente en el cascarón), teniendo cuidado que la yema no se rompiera. Se localizó el embrión en la masa de vitelo y se cortó cuidadosamente esa zona, lo más distante del embrión. Enseguida, con la ayuda de unas pinzas de punta fina y una aguja de disección se tomó la membrana vitelina y se separó del vitelo tratando de quitar aquel adherido al embrión; posteriormente se pasó a una caja de Siracusa con solución salina, donde se quitó la mayor cantidad posible

de vitelo que aún quedara en la membrana vitelina. En otra caja de Siracusa con salina limpia, se colocó el embrión con el dorso hacia arriba. Con la ayuda de una pipeta Pasteur, se extrajo toda la solución salina extendiéndose el embrión al mismo tiempo. Se fijó con una solución de aldehído fórmico al 4% con amortiguador de fosfatos al 1 M.

◊ Clasificación de embriones

La serie del desarrollo embrionario está integrada por embriones incubados a temperatura controlada a 30°C (lote 1) y por embriones incubados a temperatura ambiente en nidos reubicados en la playa (lote 2). Todos los embriones se agruparon en función de las estructuras presentes (tomando como guía la serie que describe Yntema en 1968) y se les asignó un estadio. Con los embriones obtenidos de ambos lotes se formaron tres grupos de acuerdo a su tamaño:

Primer grupo: **MICROSCÓPICOS**, comprende los embriones pequeños desde el inicio de la incubación de 2 a 16 días, los cuales se procesaron *in toto* empleando la técnica de tinción en bloque con verde luz (Apéndice 1). Se observaron al microscopio y con la ayuda de una cámara clara se elaboraron esquemas a escala y también se tomaron microfotografías. Los primeros estadios se definieron con base en los cambios en la forma del blastoporo, la diferenciación del notocordo, pliegues neurales y cefálicos. Posteriormente por el número de somitas, vesículas encefálicas, corazón, hendiduras faríngeas y arcos branquiales.

Segundo grupo: **MACROSCÓPICOS SIN PIGMENTACIÓN**, incluye a los embriones que por su tamaño no se pueden procesar en el portaobjetos. Su edad es de 16 a 30 días de incubación. Estos ejemplares se conservaron en solución fijadora en una caja de Petri para ser observados y dibujados con la ayuda de la cámara clara. Se tomaron fotografías con lentillas de acercamiento. Los embriones de este grupo se caracterizan por que en ellos ya no es posible la observación de somitas ni de otras estructuras internas.

VEGETACIÓN

1 ⁶⁴	15 ⁶¹	28 ⁵¹	38 ⁵⁵	48 ⁶⁶
2 ⁶⁶	16 ⁶⁸	29 ⁵²	39 ⁵⁶	49 ⁶⁵
3 ⁶²	17 ⁶⁵	30 ⁵⁸	40 ⁵⁷	50 ⁶⁸
4 ⁶²	18 ⁶⁶	31 ⁶⁴	41 ⁶²	51 ⁶⁵
5 ⁶²	19 ⁶⁸	32 ⁶⁵	42 ⁶³	52 ⁶⁸
6 ⁶⁵	20 ⁶⁵	33 ⁶⁸	43 ⁶⁷	53 ⁶⁶
7 ⁶⁸	21 ⁶⁸	34 ⁶²	44 ⁶⁸	
8 ⁶⁸	22 ⁶⁴	35 ⁶⁸	45 ⁶²	
9 ⁶⁶	23 ⁶⁵	36 ⁶²	46 ⁶²	
10 ⁶⁵	24 ⁶⁴	37 ⁶⁸	47 ⁶²	
11 ⁶⁴	25 ⁶⁶			
12 ⁶⁴	26 ⁶²			
13 ⁶⁵	27 ⁶⁸			
14 ⁶⁶				

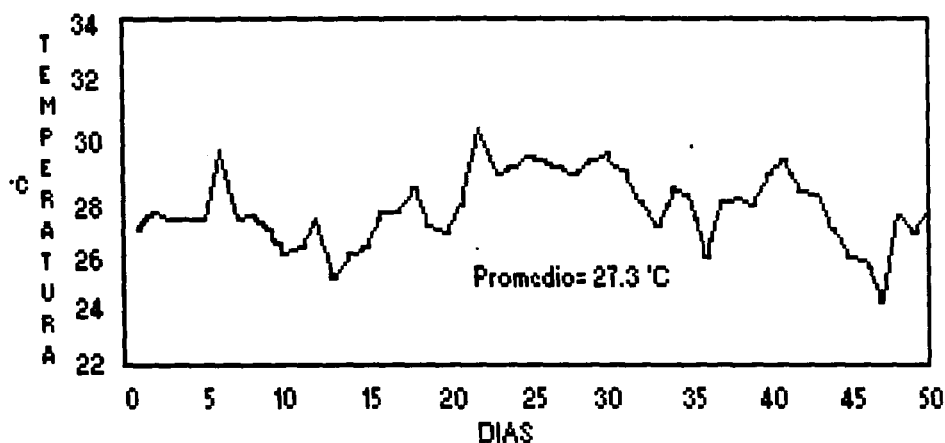
MAR

Figura B: Distribución de los nidos reubicados en la playa



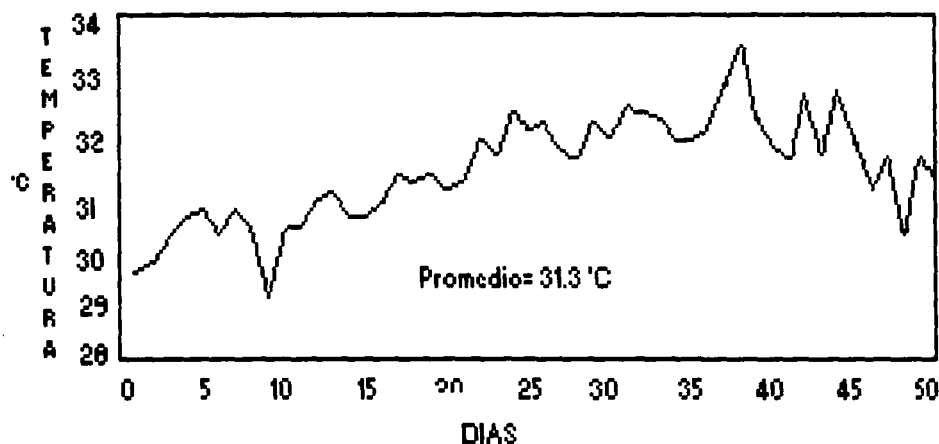
Figura C: Colocación de huevos en nidos reubicados en la playa Mexiquillo, Mich. Lote 2, cada estaca nos indica que hay un nido.

TEMPERATURA AMBIENTE



Gráfica 1.- Temperatura ambiente durante 50 días de incubación en en el Playón de Mexiquillo, Mich.

TEMPERATURA DE LA ARENA



Gráfica 2.- Temperatura de la arena a 15 cm de profundidad durante 50 días de incubación , en Playón de Mexiquillo, Mich.

Tercer grupo: MACROSCÓPICOS CON PIGMENTACIÓN, está constituido por embriones cuyo tamaño y pigmento no permiten su observación en la cámara clara. Se valoraron datos de crecimiento tales como largo total, largo y ancho del caparazón y largo de la aleta anterior derecha (medidas curvas y rectas). Su edad es de 28 a 53 días de incubación. Para la clasificación de estos embriones se considera la pigmentación del embrión y cambios en las extremidades y el caparazón.

Las medidas curvas se hicieron con una cinta metálica flexible de 0.5 cm de ancho y 100 cm de largo, cuya mínima unidad es 1 mm. Las medidas rectas se tomaron con un vernier marca Scala, calibrado a 12 cm. cuya unidad mínima es una décima de mm.

6.- RESULTADOS

De los 348 huevos utilizados para la realización de esta serie embriológica se obtuvieron los siguientes resultados. Del lote 1 (136 huevos de incubadora) se produjeron 19 embriones con desarrollo normal, lo que representa el 13.9% de este lote, 6 embriones poco desarrollados (respecto al tiempo que tenían de incubados) que es el 4.4%, 4 embriones malformados (caparazón deprimido) que es el 2.8% y 107 huevos en donde no se encontró embrión, representando el 78.6%. Del lote 2 (212 huevos de nidos reubicados) se obtuvieron 73 embriones con desarrollo normal, que es el 34.4%, 21 embriones poco desarrollados, que es el 9.9%, 10 malformados que es el 4.7%, 84 huevos en donde no se encontró embrión, que representa el 39.6% y 24 huevos perdidos por inundación del nido, que representa el 11.3%, (Tabla 2).

Tomando en cuenta ambos lotes se obtuvieron en total 92 embriones con desarrollo normal (26.4%), 27 embriones poco desarrollados (7.7%), 14 embriones malformados (4%), 24 huevos perdidos por inundación de los nidos (6.8%) y 191 huevos sin embrión (54.8%) (Tabla 2).

Los 92 embriones que se consideraron con desarrollo normal se agruparon en tres categorías de acuerdo al proceso que se les dio en el laboratorio.

Grupo 1: EMBRIONES MICROSCÓPICOS. Se incluyeron 34 embriones de 1 a 16 días de incubación y se elaboraron 34 preparaciones, de las que se seleccionaron 28, realizándose su esquema. Se determinó del estadio 1 al 16, tomando el criterio de presencia o ausencia de estructuras. Para describir cada estadio se consideran todos los embriones que presentan estructuras y grado de desarrollo semejante (Tabla 3, 4).

Grupo 2: EMBRIONES MACROSCÓPICOS SIN PIGMENTACIÓN. Se contó con 11 embriones de 17 a 22 días, de los que se seleccionaron 10 y se realizó su esquema. Se agruparon en los estadios 17, 18,19 y 20 (Tabla 3, 4).

Grupo 3: EMBRIONES MACROSCÓPICOS CON PIGMENTACIÓN. se contó con 47 embriones de 28 a 53 días de los cuales se escogieron 21 y se agruparon en los estadios del 21 al 28 (Tabla 3, 4).

Haciendo un análisis de los resultados obtenidos en los tres grupos se han definido 28 estadios.

La medida que se da en los resultados al describir los estadios del primer y segundo grupo, es la medida del embrión que se está representando, ya que no hay gran cantidad de muestras como para obtener una media. En el caso de los embriones del tercer grupo se proporciona la medida media de las muestras obtenidas (Tabla 4).

Se presenta una gráfica de las temperaturas que se obtuvieron en el campo durante 50 días de incubación, en la que se representa la temperatura ambiente con una media de 27.3 °C (Gráf. 1) y la temperatura superficial de la arena con una media de 31.3 °C (Gráf. 2).

La media del diámetro de los huevos fue de 5.2 cm. En el estado general de los huevos en nidos reubicados en la playa podemos observar los siguientes casos: huevos con mancha blanca que generalmente contenían un embrión, huevos sin mancha blanca con embrión (en huevos incubados en laboratorio), huevos con pequeñas manchas verdes o cafés, huevos resorbidos, huevos "rasguñados", huevos con el vitelo agrietado y endurecido, huevos con el vitelo y albumen líquido. Los nidos inundados donde no se encontraron huevos fueron el 23, 24, 25, 26, 27 y el 37 (Fig. B) que estaban localizados más cerca al mar. En los huevos incubados en el laboratorio, se observan los mismos casos excepto huevos con rasguños.

Tabla 2.- Resumen del estado de las muestras obtenidas de huevos de la tortuga *Dermochelys coriacea* en el Playón de Mexiquillo, Mich.

	LOTE 1 136 huevos incubados a 30 °C.	%	LOTE 2 212 huevos de nidos reubicados en la playa.	%	TOTAL	%
Embriones con desarrollo normal	19	13.9	73	34.4	92	26.4
Embriones poco desarrollados. (respecto al tiempo que tenían de incubados)	6	4.4	21	9.9	27	7.7
Embriones malformados. (caparazón deprimido y/o cabeza deprimida)	4	2.8	10	4.7	14	4
Huevos sin embrión evidente	107	78.6	84	39.6	191	54.8
Huevos perdidos	0	0	24	11.3	24	6.8
TOTAL DE EMBRIONES	136	99.7	212	99.9	348	99.7

Tabla 3.- Clasificación de embriones de *Dermochelys coriacea*, agrupados por estadios y tiempo promedio de incubación. *Los huevos incubados en nidos reubicados correspondientes a los días del 23 al 27 se perdieron por inundación de los nidos.

GRUPO	No. DE EMBRIONES	ESTADIOS	DÍAS APROX. DE INCUBACIÓN
GRUPO 1 MICROSCÓPICOS	34	DEL 1 AL 16 16 ESTADIOS	1 AL 16
GRUPO 2 MACROSCÓPICOS SIN PIGMENTACIÓN	11	DEL 17 AL 20 4 ESTADIOS	17 AL 22
			23 AL 27*
GRUPO 3 MACROSCÓPICOS CON PIGMENTACIÓN	47	DEL 21 AL 28 8 ESTADIOS	28 AL 53
TOTAL	92	28 ESTADIOS	1 AL 53

ESTADIOS: GRUPO I

ESTADIO 1

3 a 5 días de incubación en nido reubicado. Embrión formado por tres áreas dispuestas de la siguiente forma: externamente se encuentra el área opaca que se caracteriza por estar en contacto con el vitelo; hacia dentro hay una zona más clara que es el área pelúcida y excéntricamente a ésta se observa el disco embrionario de forma ovalada con un diámetro aproximado de 1.2 mm a 1.5 mm. El margen posterior coincide con los límites del área opaca y del área pelúcida. El disco embrionario presenta en la región posterior una acumulación celular más densa que corresponde a la placa primitiva y en cuyo centro se observa una depresión (Fig. 1; Foto 1.1)

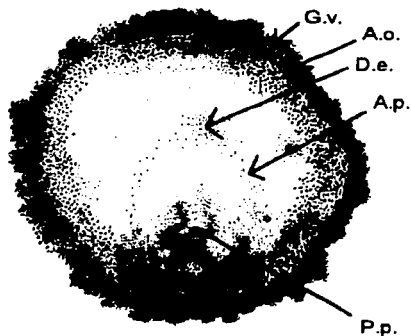


Fig. 1. Estadio 1. Vista ventral. A.o. Área opaca, A.p. Área pelúcida, D.e. Disco embrionario, G.v. Gránulos de vitelo, P.p. Placa primitiva.

ESTADIO 2

4 días de incubación en nido reubicado. Embrión cuyo disco embrionario de forma ovalada presenta un diámetro anteroposterior de 1.2 mm. La depresión de la placa primitiva es ahora una hendidura horizontal que corresponde al blastoporo. Alrededor de ella se observa una acumulación celular. El disco embrionario está desplazado ligeramente hacia el centro del área pelúcida y sus bordes son más oscuros (Fig. 2; Foto 1.2, 1.3).

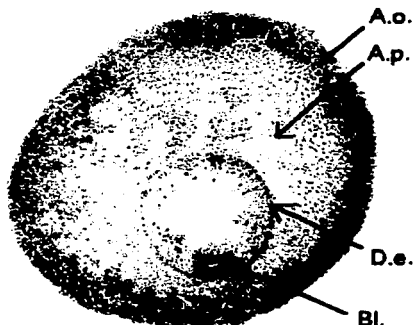


Fig. 2. Estadio 2. Vista ventral. A.o. Área opaca, A.p. Área pelúcida, Bl. Blastoporo, D.e. Disco embrionario.

ESTADIO 3

3 días de incubación a 30 °C. Embrión que presenta el disco embrionario ovalado de 1.7 mm de diámetro. Su porción cefálica es ligeramente más angosta que la caudal. El blastoporo se observa arqueado debido a la formación de los labios laterales. El acumulo celular de la región caudal se observa más desplazado en dirección cefálica que en los estadios previos (Fig. 3; Foto 1.4).

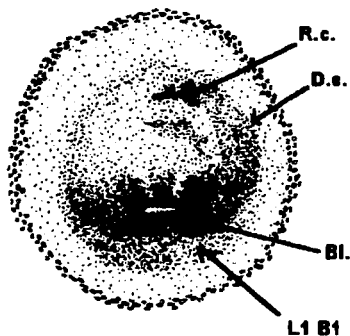


Fig. 3. Estadio 3. Vista ventral. Bl. Blastoporo, D.e. Disco embrionario, Ll bl. Labio lateral del blastoporo, R.c. Región cefálica.

ESTADIO 4

4 días de incubación en nido reubicado. El disco embrionario está colocado casi en el centro del área pelúcida. Sus bordes son más oscuros. Su forma predominante es circular. Tiene un diámetro de 0.9 mm. El blastoporo es más alargado y más cerrado. Hay una gran masa celular dispuesta en la región cefálica (Fig. 4; Foto 1.5, 1.6).

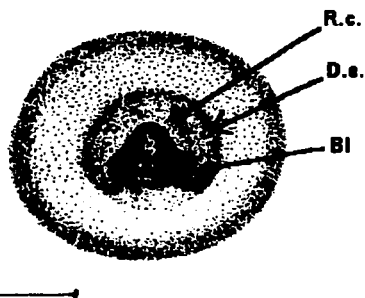


Fig. 4. Estadio 4. Vista ventral. Bl. Blastoporo, D.e. Disco embrionario, R.c. Región cefálica.

ESTADIO 5

3 días de incubación en nido reubicado. Ocupa gran parte del espacio correspondiente al área pelúcida. Su longitud cefalocaudal es de 1.0 mm. En la región anterior presenta el pliegue cefálico. Se ha formado la mayor parte del tubo neural, el cual se extiende a lo largo del embrión, en la parte posterior del tubo, se observa una abertura como poro que corresponde al canal neurentérico. En la parte media se observa la formación de 3 pares somitas (Fig. 5; Foto 1.7).

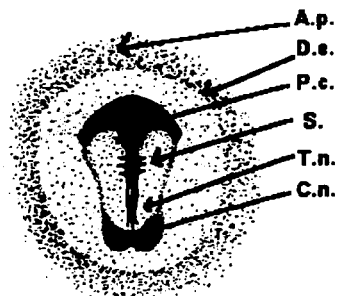


Fig. 5. Estadio 5. Vista ventral. A.p. Área pelúcida, C.n. Canal neurentérico, D.e. Disco embrionario, P.c. Pliegue cefálico, S. Somitas, T.n. Tubo neural.

ESTADIO 6

3 y 7 días de incubación en nido reubicado y 4 días a 30 °C. Embrión de 1.0 a 1.4 mm de longitud recta. El neuroporo anterior forma la ampolla neural. La tubulación de la placa neural sigue progresando hacia la región caudal donde persiste el canal neurentérico. Los labios laterales del blastoporo se ven más alargados y aproximados a unirse en su extremo distal. En la parte media del embrión se

observan de 4 a 7 siete pares de somitas (Fig. 6.1, 6.2, 6.3; Foto 2.1, 2.2 2.3).

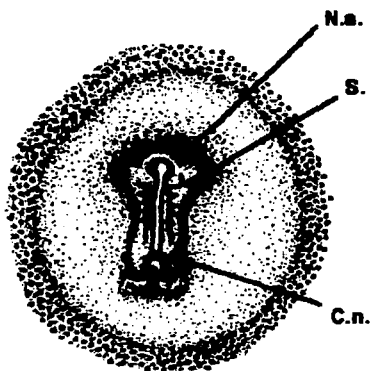


Fig. 6.1. Estadio 6. Vista ventral. C.n. Canal neurentérico, N.a. Neuroporo anterior, S. Somitas.

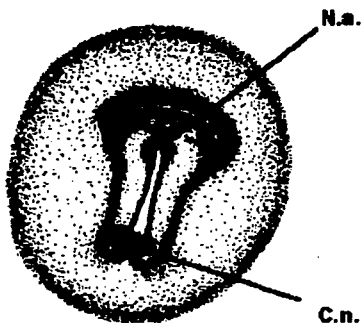


Fig. 6.2. Estadio 6. Vista ventral. C.n. Canal neurentérico, N.a. Neuroporo anterior.

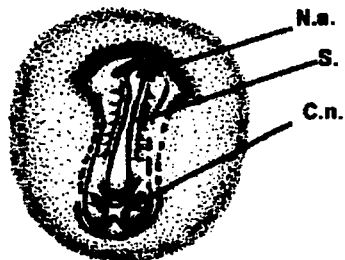


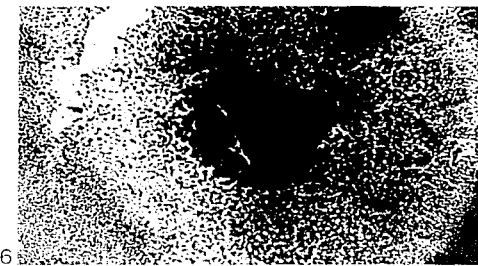
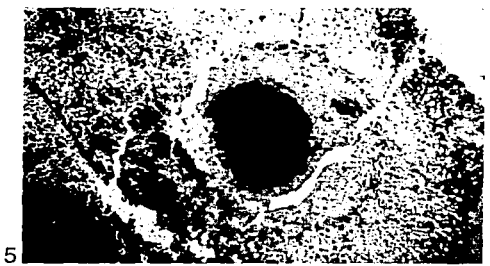
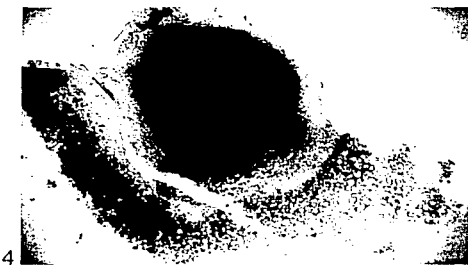
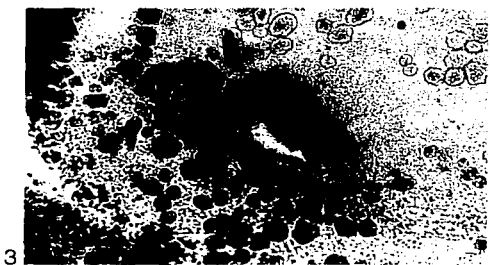
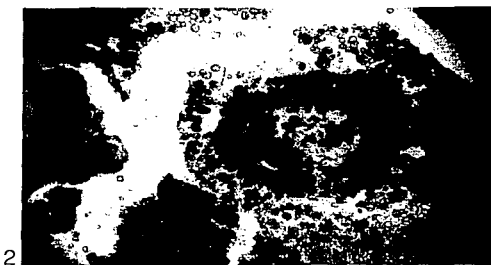
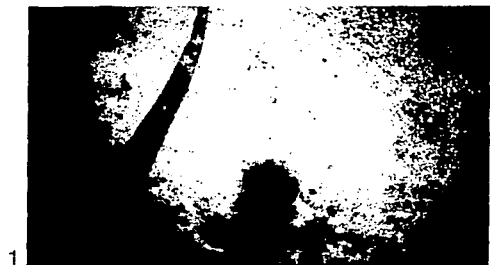
Fig. 6.3. Estadio 6. Vista ventral. C.n. Canal neurentérico, N.a. Neuroporo anterior, S. Somitas.

ESTADIO 7

5 a 7 días de incubación en nido reubicado. Embrión de 1.5 a 1.6 mm de longitud recta. Se observa hacia la región anterior el desarrollo de las vesículas cefálicas primarias (prosencefalo, mesencefalo y rombencefalo), en tanto que en la región caudal los labios laterales del blastoporo se han unido en sus extremos y forman el neuroporo posterior. La formación del pliegue del intestino anterior aparece en forma de dedo de guante. El corazón en desarrollo forma en este momento un tubo en forma de Y invertida cuyas ramificaciones caudales son visibles y corresponden al seno venoso. Se observan 8 pares de somitas y un noveno en formación (Fig. 7.a, 7.b; Foto 2.4, 2.5).

LAMINA 1

EMBRIONES GRUPO I. Estadios 1 al 5.



Fotografía 1.

Estadio 1. Vista ventral de disco embrionario con placa primitiva.

Fotografía 2.

Estadio 2. Vista ventral de disco embrionario con blastoporo.

Fotografía 3.

Estadio 2. Acercamiento de disco embrionario con blastoporo horizontal.

Fotografía 4.

Estadio 3. Vista ventral de disco embrionario con blastoporo en herradura.

Fotografía 5.

Estadio 4. Vista ventral de disco embrionario con un mayor desplazamiento de células hacia la región cefálica.

Fotografía 6.

Estadio 4. Acercamiento de disco embrionario.

Fotografía 7.

Estadio 5. Vista ventral de embrión donde el disco embrionario ocupa ya gran parte del área pelágica.

Fotografía 7.

Estadio 5. Vista ventral de embrión donde el disco embrionario ocupa ya gran parte del área pelágica.

LA BARRA EQUIVALE A UN M.M.

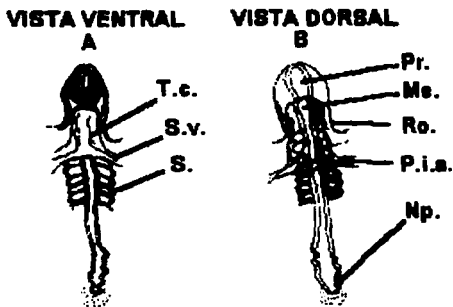


Fig. 7. Estadio 7. a) Vista ventral. b) Vista dorsal. Me. Mesencéfalo, Pr. Prosencéfalo, Ro. Romboencéfalo, Np. Neuroporo posterior, P.i.a. Pliegue del intestino anterior, S. Somitas, S.v. Seno venoso, T.c. Tubo cardíaco.

ESTADIO 8

7 días de incubación en nido reubicado y 8 días a 30 °C. Embrión de 3.3 a 3.6 mm de longitud recta en el que se observa la porción anterior del tubo neural que se ha alargado y diferenciado en las vesículas cefálicas secundarias: telencéfalo, diencéfalo, mesencéfalo, metencéfalo y mielencéfalo. En el diencéfalo hay unas regiones dilatadas en forma de bolsa que son las vesículas ópticas. En el telencéfalo se observa la placa olfatoria. En el mielencéfalo se marcan las vesículas óticas, en esta región del embrión se observa una ligera curvatura hacia la región ventral del mismo mientras que el resto del cuerpo permanece recto. El corazón ha cambiado de forma tubular a una forma más redondeada. En la parte caudal la fusión de los pliegues neurales no se ha completado y se observa la formación del pliegue caudal. Hay de 16 a 18 pares de somitas (Fig. 8.1, 8.2; Foto 3.1, 3.2).

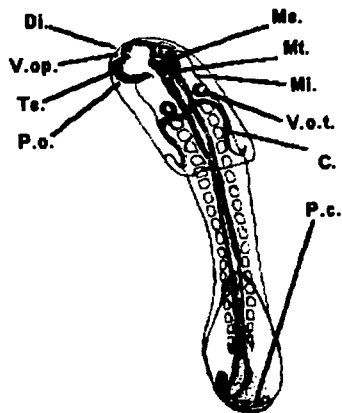


Fig. 8. 1. Estadio 8. Vista ventral. C. Corazón, Di. Diencéfalo, Me. Mesencéfalo, P.o. Placa olfatoria, P.c. Pliegue caudal, Te. Telencéfalo, V.op. Vesícula óptica, V.ot. Vesícula ótica.

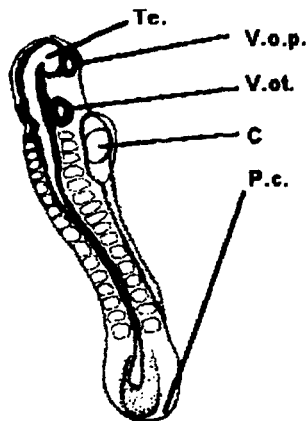
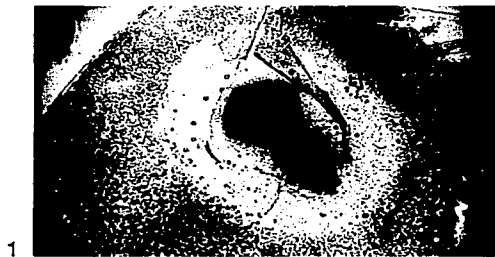


Fig. 8. 2. Estadio 8. Vista lateral. C. Corazón, P.c. Pliegue caudal, Te. Telencéfalo, V.ot. Vesícula ótica, V.op. Vesícula óptica.

LAMINA 2

EMBRIONES GRUPO I. Estadios 6 al 7.



Fotografía 1.
Estadio 6. Vista ventral.
Fotografía 2.
Estadio 6'. Vista ventral.
Fotografía 3.
Estadio 6". Vista ventral.
Fotografía 4.
Estadio 7. Vista ventral.
Fotografía 5.
Estadio 7. Vista dorsal.

LA BARRA EQUIVALE A UN MM.

ESTADIO 9

7 días de incubación en nido reubicado y 9 días a 30 °C. Embrión de 3.5 a 3.9 mm de longitud recta. En el diencéfalo la vesícula óptica se ha invaginado formando la copa óptica o cáliz óptico y en su margen ventral se observa la fisura coroidea y el cristalino. El corazón es ahora una estructura más notable y se ha empezado a plegar, el ventrículo es la región más prominente y se encuentra anterior a las aurículas, y en la parte posterior se observa el seno venoso. Se observan ahora 20 a 21 pares de somitas. En la región caudal se observa el primordio de los miembros posteriores y el primordio de la cola (Fig. 9.1, 9.2; Foto 3.3).

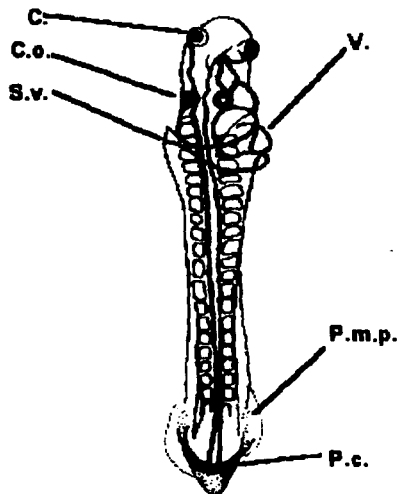


Fig. 9.1. Estadio 9. Vista dorsal. C. Cristalino, C.o. Copa óptica, P.c. Primordio de la cola, P.m.p. Primordio de los miembros posteriores, S.v. Seno venoso, V. Ventrículo.

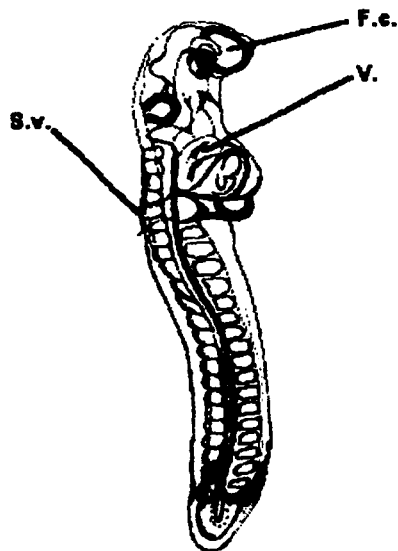


Fig. 9.2. Estadio 9. Vista lateral. F.c. Fisura coroidea, S.v. Seno venoso, V. Ventrículo.

ESTADIO 10

9 a 10 días de incubación en nido reubicado y a 30°C. Embrión de 4.4 a 4.7 mm de longitud recta. Hay una invaginación horizontal ensanchada en la región cefálica, posterior a las vesículas ópticas, que corresponde al estomodeo o cavidad bucal. En la región branquial o faríngea se observan 4 arcos aórticos. El corazón es la estructura que se observa con más movimiento y ahora se observa en otra posición con las aurículas anteriores al ventrículo. Hay de 23 a 25 pares de somitas (Fig. 10.1, 10.2; Foto 3.4, 3.5, 3.6).

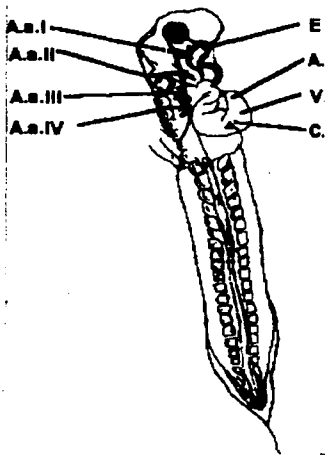


Fig. 10.1. Estadio 10. Vista ventral. A.a.I. Arco aórtico I., A.a.II. Arco aórtico II, A.a.III. Arco aórtico III, A.a.IV. Arco aórtico IV, A. Aurícula, C. Corazón, E. Estomodeo, V. Ventrículo.

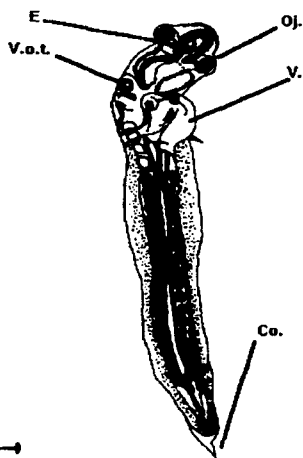


Fig. 10.2. Estadio 10. Vista dorsal. Co. Cola, E. Estomodeo, Oj. Ojo, V. Ventrículo, V.Ot. Vesícula ótica.

ESTADIO 11

9 días de incubación en nido reubicado y 12 días a 30 °C. Embrión de 5.4 a 6.3 mm de longitud recta y

5.4 a 6.9 mm de perímetro curvo dorsal, en el cual se observa que la región cefálica se va flexionando ligeramente en el sentido ventral del embrión debido al gran crecimiento de esta marcándose la flexión cefálica y la flexión cervical. La vesícula olfatoria se observa próxima al ojo. En la región branquial se delimitan 4 arcos aórticos. El corazón se observa como una estructura redondeada, en él no se pueden identificar bien las cámaras cardíacas por lo que no es posible describir la posición exacta de éstas, pero se infiere que las aurículas están ahora a nivel del ventrículo o más arriba de él. Entre el décimo tercer par de somitas se observan unas estructuras tubulares que corresponden al mesonefros. Se cuentan 26 pares de somitas (Fig. 11.1, 11.2; Foto 4.1, 4.2).

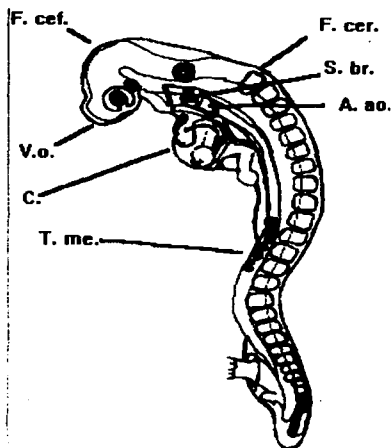
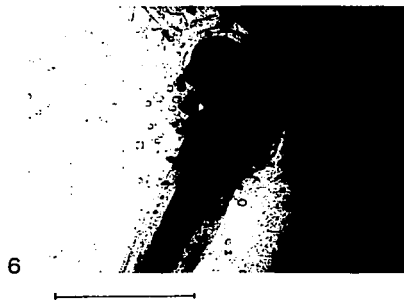
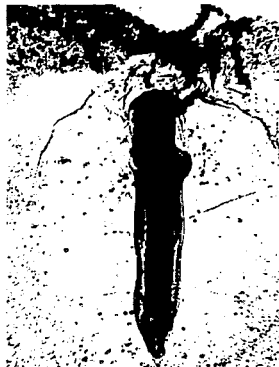


Fig. 11.1. Estadio 11. Vista lateral. A.ao. Arcos aórticos, C. Corazón, F.cef. Flexión cefálica, F.cer. Flexión cervical, T.me. Túbulos mesonéfricos, V.o. Vesícula olfatoria, S.br. Surcos branquiales.

LAMINA 3

EMBRIONES GRUPO I. Estadios 8 al 10.



Fotografía 1.
Estadio 8. Vista ventral.
Fotografía 2.
Estadio 8. Vista ventral, acercamiento
de región cefálica.
Fotografía 3.
Estadio 9. Vista dorsal.
Fotografía 4.
Estadio 10. Vista ventral.
Fotografía 5.
Estadio 10'. Vista dorsal.
Fotografía 6.
Estadio 10'. Vista dorsal, acercamiento
de región cefálica.
LA BARRA EQUIVALE
A UN MM.

Fig. 11.1. Estadio 11. Vista lateral. A.a.o. Arcos aórticos, C. Corazón, F.cef. Flexión cefálica, F.cer. Flexión cervical, T.me. Túbulo mesonéfrico, V.o. Vesícula olfatoria, S.br. Surcos branquiales.

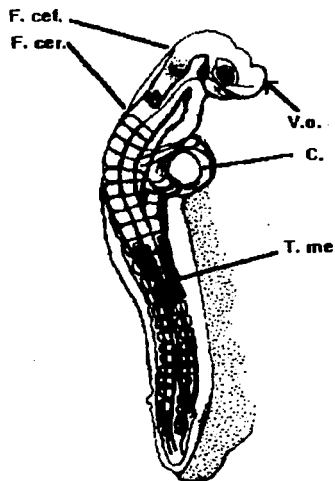


Fig. 11.2. Estadio 11. Vista lateral. C. Corazón, F.cef. Flexión cefálica, F.cer. Flexión cervical, T.me. Túbulo mesonéfrico, V.o. Vesícula olfatoria.

ESTADIO 12

10 días de incubación en nido reubicado y 13 días a 30 °C. Embrión de 6.5 a 7.6 mm de longitud recta y 6.8 a 8.0 mm de perímetro curvo dorsal. La región cefálica ha adquirido mayor volumen respecto a la región caudal. En la región faríngea hay ahora 5 arcos aórticos, 5 arcos branquiales. Los procesos maxilar y mandibular avanzan hacia la región cefálica. Los túbulo mesonéfricos se localizan al nivel del décimo al décimo séptimo par de

somitas. Los primordios de los miembros anteriores se sitúan entre los pares 11 y 15 y los de los miembros posteriores de los pares 23 al 26. En la región caudal se observa una placa circular que corresponde a la cloaca. La cola tiene un largo de 6 somitas. Se pueden contar de 26 a 32 pares de somitas (Fig. 12.1, 12.2; Foto 4.3, 4.4).

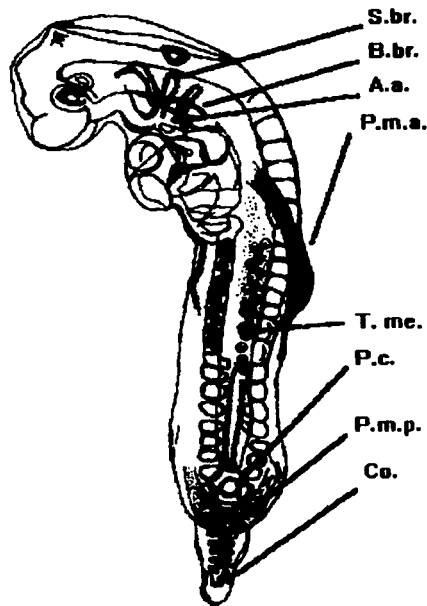


Fig. 12.1. Estadio 12. Vista lateral. A.a. Arcos aórticos, B.br. Bolsas branquiales, Co. Cola, P.c. Placa cloacal, P.m.a. Primordio del miembro anterior, P.m.p. Primordio del miembro posterior, S.br. Surcos branquiales, T.m.e. Túbulo mesonéfrico.

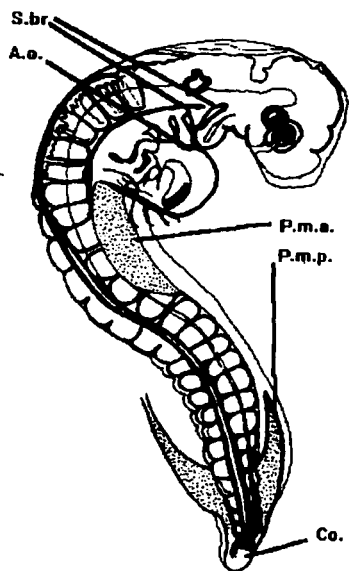


Fig. 12.2. Estadio 12. Vista lateral. A.a. Arcos aórticos, Co. Cola, P.m.a. Primordio del miembro anterior, P.m.p. Primordio del miembro posterior, S.br. Surcos branquiales.

ESTADIO 13

13 a 15 días de incubación en nido reubicado. Embrión de 9.0 a 9.2 mm de longitud recta y 8.7 a 9.0 mm de perímetro curvo dorsal. Se observan 5 arcos aórticos. El primer arco ha tenido mayor desarrollo originando los procesos maxilar y mandibular las cuales se sitúan ahora en la parte posterior al ojo. Se marcan 43 pares de somitas. Los primordios de las extremidades anteriores han aumentado en volumen, van del par número 8 al par 11 de somitas, los primordios de las extremidades inferiores abarcan del par 19 al 25.

La cola tiene un largo de 18 somitas y en otro embrión se empieza a curvar como gancho, en el dorso del embrión se observa un ligero pliegue en la región donde se formará el caparazón (Fig. 13.1, 13.2; Foto 4.5, 4.6).

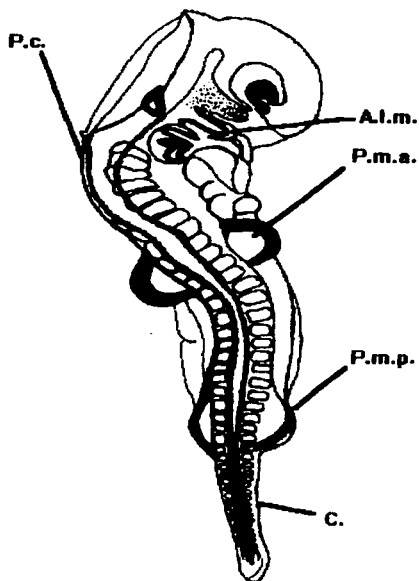


Fig. 13.1. Estadio 13. Vista lateral. A.I.m. Arco I mandibular, Co. Cola, P.c. Pliegue del caparazón, P.m.a. Primordio del miembro anterior, P.m.p. Primordio del miembro posterior.

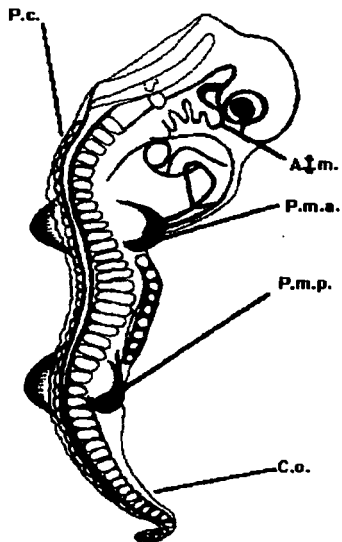


Fig. 13.2. Estadio 13 avanzado. Vista lateral. A.I.m. Arco I mandibular, Co. Cola, P.c. Pliegue del caparazón, P.m.a. Primordio del miembro anterior, P.m.p. Primordio del miembro posterior.

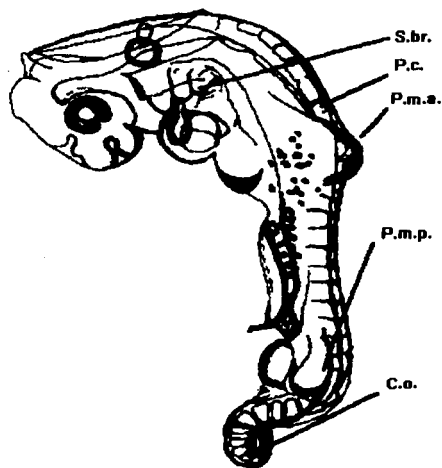


Fig. 14. Estadio 14. Vista lateral. Co. Cola, P.c. Pliegue del caparazón, P.m.a. Primordio del miembro anterior, P.m.p. Primordio del miembro posterior, S.br. Surcos branquiales.

ESTADIO 14

13 días de incubación en nido reubicado. Embrión de 11.5 mm de longitud recta y 11.7 mm de perímetro curvo dorsal. La prolongación maxilar se ha extendido más que la mandíbula. Se delimitan claramente 3 surcos branquiales. Se pueden contar 40 pares de somitas, pero en la región cefálica ya no son distinguibles. El pliegue del caparazón está más engrosado. Los primordios de los miembros posteriores se han empezado a alargar y ocupan 5 somitas del 20 al 25. La cola tiene una longitud de 19 somitas y el extremo de ésta se haya más enroscada que en el estadio anterior (Fig. 14; Foto 4.7).

ESTADIO 15

11 días de incubación en nido reubicado. Embrión de 8.6 mm de longitud recta y 8.7 mm de perímetro curvo dorsal. El segundo arco aórtico o hioideo se ha desarrollado notablemente hacia la región caudal. Aparece el seno cervical por delante de la vesícula ótica. Se observan el tercero, cuarto y quinto arcos aórticos. Se pueden contar 39 pares de somitas. Las extremidades anteriores abarcan del par 9 al 13 y son más largas que anchas y las posteriores del 23 al 25. El pliegue del caparazón está más engrosado y la cola tiene una longitud de 14 somitas (Fig. 15; Foto 4.8).

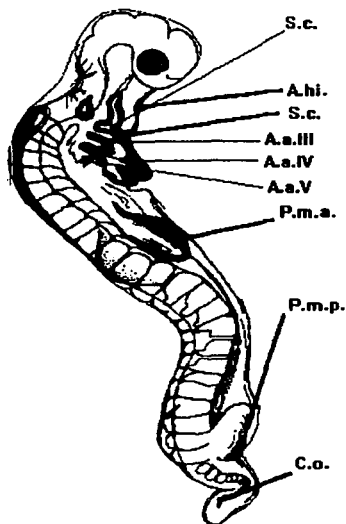


Fig. 15. Estadio 15. Vista lateral. A.a.III Arco aórtico III, A.a.IV Arco aórtico IV, A.a.V Arco aórtico V, A.hi. Arco hioideo, Co. Cola, P.m.a. Primordio del miembro anterior, P.m.p. Primordio del miembro posterior, S.c. Seno cervical.

ESTADIO 16

16 días de incubación a 30 °C. Embrión de 6.4 mm de longitud recta y 6.1 mm perímetro curvo dorsal. Las curvaturas del cuerpo del embrión dan la impresión de una curvatura regular y continua. En el extremo anterior del telencéfalo se observa la vesícula olfatoria más ensanchada. Se aprecian 4 arcos aórticos. El seno cervical se ha reducido. Los surcos duros branquiales están aún abiertos pero recubiertos por el borde posterior de los arcos que las preceden. Ya no es posible contar todas las somitas. Las extremidades anteriores abarcan del par 6 al 10, y en las posteriores no es posible delimitar la

correspondencia somática. El pliegue del caparazón se encuentra delimitado en la parte dorsal del embrión. La longitud de la cola es de 14 somitas (Fig. 16; Foto 4.9).

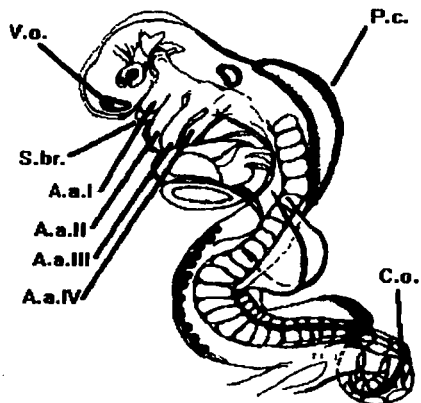


Fig. 16. Estadio 16. Vista lateral. A.a.I Arco aórtico I, A.a.II Arco aórtico II, A.a.III Arco aórtico III, A.a.IV Arco aórtico IV, Co. Cola, S.br. Surcos branquiales, P.c. Pliegue del caparazón, V.o. Vesícula olfatoria.

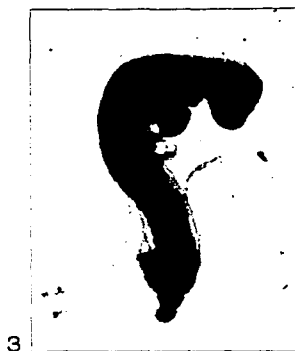
GRUPO II

ESTADIO 17

16 días de incubación en nido reubicado. Embrión de 17.5 a 21.6 mm de longitud recta y 16.8 a 26.8 mm de perímetro curvo dorsal. Se observa la primera región pigmentada del embrión, en el ojo donde se forma un anillo de color gris claro alrededor del cristalino excepto a nivel de la fisura coroidea. Se observa un canal que va de la nariz al ojo, el canal nasolagrimal. En la región cervical se marcan aún tres arcos branquiales. (Fig. 17; Foto 5.1).

LAMINA 4

Embriones Grupo I. Estadios 11 al 16.



Fotografía 1.
Estadio 11. Vista lateral.
Fotografía 2.
Estadio 11. Vista lateral, acercamiento de región cefálica.
Fotografía 3.
Estadio 12. Vista lateral.
Fotografía 4.
Estadio 12. Vista lateral, acercamiento de región cefálica.
Fotografía 5.
Estadio 13.
Fotografía 6.
Estadio 13.
Fotografía 7.
Estadio 14.
Fotografía 8.
Estadio 15.
Fotografía 9.
Estadio 16.

LA BARRA EQUIVALE A UN MM.

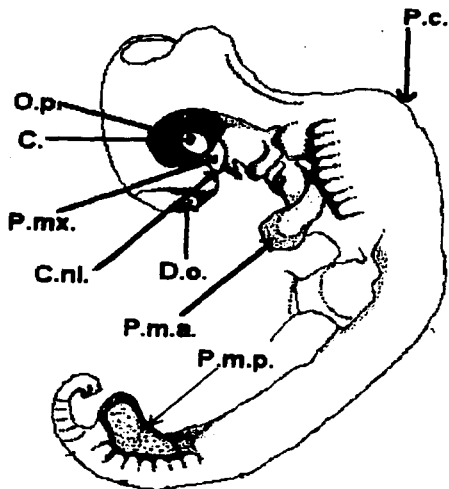


Fig. 17. Estadio 17. Vista lateral. C. Cristalino, C.nl. Canal nasolagrimal, D.o. Depresión olfatoria, O.p. Ojo pigmentado, P.c. Pliegue del caparazón., P.m.a. Primordio miembro anterior, P.m.p. Primordio miembro posterior, P.mx. Primordio del maxilar.

ESTADIO 18

17 días de incubación a 30 °C. Embrión de 27.9 mm de longitud recta y 26.8 mm de perímetro curvo dorsal. Los ojos son de mayor tamaño que en los estadios previos y tienen un aspecto globoso con una ligera pigmentación grisácea. La maxila es más prominente que la mandíbula y tiene forma de gancho terminado en triángulo. El seno cervical se ha reabsorbido y en esta región quedan aun marcados los surcos de los arcos branquiales. La protuberancia cardiaca es de menor tamaño. Las extremidades han empezado a adquirir la forma de paleta: Las anteriores miden 2.1 mm de longitud, en las posteriores el extremo anterior no está aún bien delimitado. En el caparazón no es posible determinar todavía los

límites anteriores y posteriores. La cola es puntiforme con un ligero doblez en forma de gancho (Fig. 18; Foto 5.2).

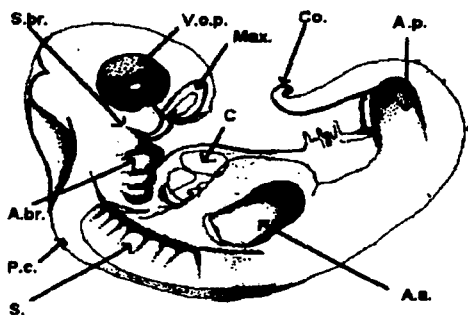


Fig. 18. Estadio 18. Vista lateral., A.a. Aleta anterior, A.br. Arcos branquiales, A.p. Aletas posteriores, C. Corazón, Co. Cola, Max. Maxila, P.c. Pliegue del caparazón, S. Somitas, S.br. Surco branquial, V.op. Vesícula óptica.

ESTADIO 19

20 días de incubación en nido reubicado. Embrión de 30.9 mm de longitud recta y 25.7 mm de perímetro curvo dorsal. La vesícula del cristalino y la vesícula óptica son marcadamente distintas. La vesícula óptica se aprecia como una de las regiones más pigmentadas del embrión. En la parte superior de la maxila se observan dos pequeños orificios que corresponden a los nostrilos. El cuello se ve más grueso y los arcos branquiales son menos perceptibles externamente, pero se marcan aún dos. La silueta de los somitas se marca claramente en ciertas regiones. Las extremidades

son más anchas en su porción distal, las anteriores tienen una longitud de 2.1 mm. El caparazón es todavía un pliegue en el dorso del cuerpo en el que aún no se marcan las quillas características de ésta especie (Fig. 19; Foto 5.3).

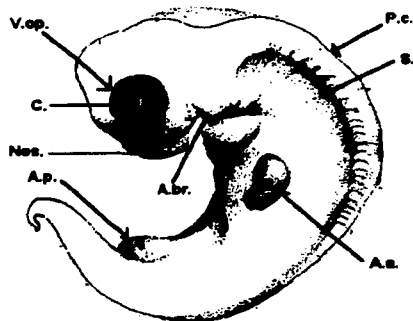


Fig. 19. Estadio 19. Vista lateral. A.a. Aleta anterior, A.br. Arcos branquiales, A.p. Aleta posterior, C. Cristalino, Nos. Nostrilos, P.c. Pliegue del caparazón, S. Somitas, V.op. Vesícula óptica.

ESTADIO 20

22 días de incubación a 30 °C. Embrión de 29.4 mm de longitud recta y 27.8 mm de perímetro curvo dorsal. Los ojos tienen más volumen que en los estadios anteriores con una pigmentación más acentuada, y se marca el párpado alrededor de ellos. En la región branquial ya no son perceptibles externamente los surcos superficiales que forman las bolsas branquiales quedando cubiertos por piel. La extremidad anterior derecha mide 2.9 mm de longitud, presenta forma de paleta sin dígitos, con la parte distal más

ancha que la base y en la parte media muestra flexión de aproximadamente 45° de arco. Las extremidades posteriores se encuentran más desarrolladas. En el caparazón no hay ningún cambio notable (Fig. 20; Foto 5.4).

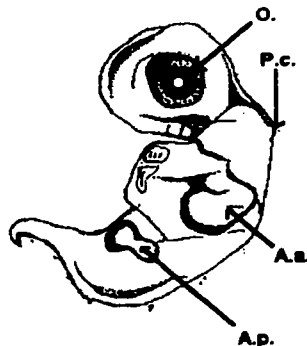


Fig. 20. Estadio 20. Vista lateral. A.a. Aleta anterior, A.p. Aleta posterior, O. Ojo, P.c. Pliegue del caparazón.

GRUPO III

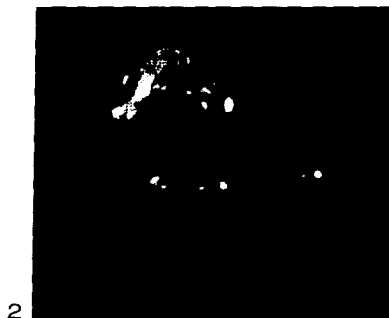
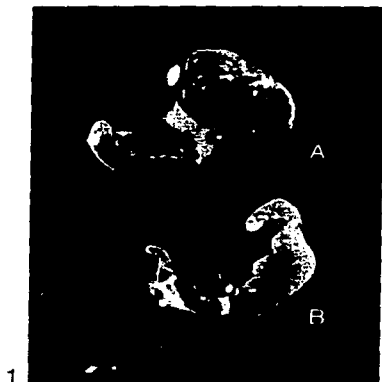
Debido a que en este grupo se obtuvo el mayor número de embriones, las medidas de longitud curvas y rectas se expresarán en promedio de las muestras obtenidas por estadio.

ESTADIO 21

28 días de incubación en nido reubicado. Embrión de 24.5 mm longitud recta y 39 mm de perímetro curvo dorsal. Debido al tiempo transcurrido entre el estadio anterior

LAMINA 5

Embriones Grupo II. Estadios 17 al 20.



Fotografía 1.
Estadio 17.
Fotografía 2.
Estadio 18.
Fotografía 3.
Estadio 19.
Fotografía 4.
Estadio 20.

LA BARRA EQUIVALE A UN M.M.

y el presente se observan cambios notables. Los ojos se ven rodeados por el rudimento de un párpado a lo largo del margen posterior y en su margen inferior por un delgado borde, la fisura corioidea esta cerrada y tiene un color azul gris con un arco externo color café. La mandíbula o hueso dentario tiene forma triangular con la punta engrosada con un margen a cada lado. La maxila o hueso premaxilar presenta una terminación en forma de gancho doble la cual coincide con la terminación de la mandíbula inferior en forma de triángulo. Sobre la punta del hocico se ve un pequeño punto blanco que corresponde a la carúncula, la región branquial es más ancha y cilíndrica. Se delimita el margen del caparazón y sobre él se observan plaquetas hexagonales. Las extremidades empiezan a tomar la proporción del adulto, y en adelante se pueden llamar aletas. En ellas se marcan ligeramente 5 divisiones interdigitales. Las extremidades anteriores son de mayor tamaño que las posteriores, las cuales se aproximan en la región caudal. La aleta posterior derecha cubre la cola. La aleta anterior derecha tiene una longitud de 7.7 mm (curva). En la base de las 4 aletas se observan principios de pigmentación. El margen del caparazón está bien delimitado y sobre éste se marcan los 7 cordones o quillas características de la especie, entre ellas y los bordes laterales del caparazón existen principios de pigmentación. El caparazón tiene ahora una longitud central de 18.5 mm y un ancho de 12.0 mm (medidas rectas) y 21.5 mm y 17.5 de ancho (medidas curvas). En el plastrón se observan 4 quillas

longitudinales y una en el centro, la cual es penetrada por la apertura de la hernia umbilical. La prominencia genital es tan larga como las aletas posteriores. (Foto 6.1).

ESTADIO 22

30 días de incubación en nido reubicado. Embrión de 33.0 mm de longitud recta y 43.7 mm de perímetro curvo dorsal. En la región cefálica los ojos son menos globosos observándose ahora un borde más engrosado rodeando a todo el órgano. En la maxila las 2 terminaciones en pico cubren la mandíbula que aún no está pigmentada. Los nostrilos sobresalen como 2 pequeños orificios arriba de la carúncula. Sobre el caparazón la pigmentación esta más difundida, teniendo un color café claro y las plaquetas hexagonales se marcan con mayor claridad. El caparazón mide 22.0 mm de longitud central y 14.0 mm de ancho (medidas rectas) y 24.7 mm de largo y 22.5 mm de ancho (medidas curvas). Las 7 quillas sin pigmentación. Con respecto a las aletas, la anterior derecha mide 11.0 mm (curva) y llega a la mitad del caparazón. Las cuatro aletas presentan una pigmentación más oscura en la base que en la parte distal. Las anteriores terminan en triángulo y las posteriores en palma. La hernia umbilical es bastante notable. Los genitales se hallan cubiertos cada vez más por las aletas posteriores (Foto 6.2).

ESTADIO 23

32 días de incubación en nido reubicado. Embrión de 39.0 mm de longitud recta y 51.3 mm de

perímetro curvo dorsal. En este estadio se presentan cambios notables en la pigmentación. Puede ser gris o café oscuro en el caparazón, aleta y cuello. Comienza a colorearse la parte del plastrón de un color café o gris muy claro. El caparazón mide ahora 27.6 mm de largo central, 18.9 mm de ancho (medidas rectas) y 30.8 mm de largo central, 25.3 mm de ancho (medidas curvas). La aleta anterior derecha mide 14.1 mm (Foto 6.3).

ESTADIO 24

34 días de incubación en nido reubicado. Embrión de 43.8 mm de longitud recta y 55.3 mm de perímetro curvo dorsal. Los ojos ya no presentan aspecto globoso o abombado. Son de menor tamaño y en la parte inferior del engrosamiento que los rodea se observan unos pliegues pequeños que corresponden a los párpados superior e inferior. La cabeza se ha flexionado ventralmente. Sobre el hocico se aprecia la carúncula más prominente. La pigmentación se presenta ahora en todo el cuerpo, en la cabeza, cuello, aletas y caparazón (a excepción de la quillas), es gris oscura y el plastrón está ligeramente pigmentado de café claro; las plaquetas hexagonales que cubren el cuerpo de la tortuga sobresalen más sobre éste fondo oscuro. El caparazón mide 31.5 mm de longitud central y 19.1 mm de ancho (medidas rectas), y 33.0 mm de largo central y 28.3 mm de ancho (medidas curvas). Las aletas son más rígidas y en las regiones axilar e inguinal presenta pliegues. La aleta anterior derecha mide 18.8 mm de largo. La hernia

umbilical y el genital no se han modificado (Foto 6.4).

ESTADIO 25

40 días de incubación en nido reubicado. Embrión de 56.8 mm de longitud recta y 64.0 mm de perímetro curvo dorsal. En este embrión se hace más pronunciada la curvatura del caparazón. La pigmentación de todo el cuerpo es negra, a excepción del plastrón y los bordes laterales de la mandíbula en donde sigue siendo más clara que en otras partes del cuerpo. El caparazón ahora mide 41.6 mm de largo central y 26.5 mm de ancho (medidas rectas) y 46.0 mm de largo y 35.3 mm de ancho (medidas curvas). La aleta anterior derecha mide 31.0 mm de longitud (Foto 6.5).

En este estadio cabe hacer notar la presencia de una membrana que se encuentra en la parte superior interna del cascarón adherida al corion, dispuesta en anillos de un diámetro aproximado de 27 mm. Estos anillos presentan una consistencia dura y transparente. Esta membrana de disposición anular se sigue presentando en los huevos de los embriones de 43, 44 y 45 días.

ESTADIO 26

45 días de incubación en nido reubicado. Embrión de 63.6 mm de longitud recta y de 76.3 mm de perímetro curvo dorsal. En la región de los ojos se observa claramente un párpado inferior y un superior. En los bordes laterales de la mandíbula la pigmentación es blanca con gris, el plastrón tiene una coloración café

oscuro o gris entre las cinco quillas. El cuerpo esta notablemente curvado rodeando al saco vitelino. El caparazón mide 41.5 mm de largo central y 30.1 mm de ancho (medidas rectas) y 51.0 mm de largo central y 37.0 mm de ancho (medidas curvas). La aleta anterior derecha mide 44.0 mm de largo y ambas aletas anteriores se juntan en la parte posterior del caparazón. En este estadio también se presenta la membrana adherida al corion del huevo (Foto 6.6).

ESTADIO 27

50 días de incubación en nido reubicado. Embrión de 64.0 mm de longitud recta y 76.3 mm de perímetro curvo dorsal. Los ojos se observan más alargados, casi en un plano vertical. El párpado inferior es más grueso. El cuerpo aún se encuentra notablemente curvado. Esto se puede demostrar comparando las medidas rectas con las curvas. El caparazón tiene una longitud central de 43.3 mm y un ancho de 32.5 mm (medidas rectas) y una longitud central de 48.6 mm y un ancho de 35.6 mm (medidas curvas). La aleta anterior derecha mide 45.5 mm de largo (Foto 6.7).

ESTADIO 28

53 días de incubación en nido reubicado. Embrión de 88.5 mm de longitud recta de y 90.6 mm de perímetro curvo dorsal. Las escamas que están sobre los ojos carecen de pigmentación. El cuerpo ha perdido la curvatura tan pronunciada y ha tomado la posición normal más aplanada. En el caparazón resaltan más las quillas de color blanco, éste mide 58.0 mm

de largo central y 37.0 mm de ancho (medidas rectas) y 58.5 mm de largo central y 48.5 mm de ancho (medidas curvas). En las crías donde la hernia umbilical se ha cerrado se observa bien la quilla central la cual esta formada por dos hileras de escamas. En los bordes de las aletas se delimita una pequeña línea de escamas blancas y los pliegues en la axila y en la ingle ahora están más marcados. La aleta anterior derecha mide 60.2 mm. Gran parte de las crías eclosionan con la hernia umbilical cerrada, pero hay otras que lo hacen con una parte del vitelo fuera del cuerpo (Foto 6.8).

LAMINA 6

Embriones Grupo III. Estadios 21 al 28.



Fotografía 1.	Fotografía 3.	Fotografía 5.	Fotografía 7.
Estadio 21.	Estadio 23.	Estadio 25.	Estadio 27.
Fotografía 2.	Fotografía 4.	Fotografía 6.	Fotografía 8.
Estadio 22.	Estadio 24.	Estadio 26.	Estadio 28.

LA BARRA EQUIVALE A UN MM.

Tabla 4.- Resumen de los 28 estadios obtenidos en este trabajo.

GRUPO 1.- EMBRIONES MICROSCÓPICOS

ESTADIO	MUESTRAS OBTENIDAS	EDAD DÍAS	LONGITUD mm.	ESTRUCTURAS PRESENTES
1	2	3 5	1.2 1.5 diámetro	Área opaca. Área pelúcida. Disco embrionario ovalado. Placa primitiva.
2	1	4	1.2 diámetro anteroposterior	Área opaca. Área pelúcida. Disco embrionario ovalado. Blastoporo con abertura horizontal.
3	1	3*	1.7 diámetro	Área opaca. Área pelúcida. Disco embrionario más ancho en la región caudal. Blastoporo en forma de herradura.
4	1	4	0.9 diámetro	Disco embrionario redondo en el centro del área pelúcida. Blastoporo más alargado y cerrado.
5	1	3	1.0 diámetro	Disco embrionario ocupa casi toda el área pelúcida. Pliegue cefálico. Parte del tubo neural. Neuroporo posterior. Canal Neurentérico. 3 pares de somitas.
6	3	3 4* 7	1.2 1.4 1.0 longitud recta	Neuroporo anterior formando la ampolla neural. Persiste el canal neurentérico. 4 a 7 pares de somitas.
7	2	5 7	1.5 1.6 longitud recta	Vesículas encefálicas primarias: prosencéfalo, mesencéfalo y rombencéfalo. Pliegue del intestino anterior. Tubo cardíaco en forma de Y invertida. 8 pares de somitas.
8	2	7 8*	3.3 3.6 longitud recta	Vesículas encefálicas secundarias: telencéfalo, diencéfalo, mesencéfalo, metencéfalo y mielencéfalo. Vesículas ópticas. Placa olfatoria. Vesículas óticas. Pliegue caudal. 16 a 18 pares de somitas.
9	2	7 9*	3.9 3.5 longitud recta	Copa óptica con fisura coroidea y cristalino. El corazón inicia plegamiento. Primordio de los miembros posteriores y de la cola. 20 a 21 pares de somitas.

*embriones incubados en incubadora a 30°C

continúa...

ESTADIO	MUESTRAS OBTENIDAS	EDAD DÍAS	LONGITUD mm.	ESTRUCTURAS PRESENTES
10	2	9 10*	4.7 4.4 longitud recta	Aparece estomodeo o cavidad bucal. 4 arcos aórticos internamente y 4 arcos branquiales externamente. De 23 a 25 pares de somitas.
11	2	9 12*	6.3 long. recta 6.9 perímetro curvo dorsal 5.4 long. recta 5.4 perímetro curvo dorsal	Aparecen flexiones cefálica y cervical. 4 arcos aórticos. Entre el 10o. y 13avo. par de somitas, se observan estructuras tubulares que corresponden al mesonefros. 26 pares de somitas.
12	2	10 13*	7.6 long. recta 8.0 perímetro curvo dorsal 6.5 long. recta 6.8 perímetro curvo dorsal	Región faríngea con 5 arcos aórticos y 5 arcos branquiales. Primordios de los miembros anteriores y posteriores. En la región caudal se marca la cloaca. La cola tiene 6 somitas de largo. 26 a 32 pares de somitas.
13	2	13 15	9.2 long. recta 8.7 perímetro curvo dorsal 9.0 long. recta 9.0 perímetro curvo dorsal	Se observan 5 arcos aórticos y 5 arcos branquiales. Los primordios de las extremidades anteriores se encuentran del par de somitas del 8 al 11 y posteriores del 19 al 25. En la región dorsal se observa un ligero pliegue donde se formará el caparazón. La cola tiene un largo de 18 somitas. 43 pares de somitas.
14	1	13	11.5 long. recta 11.7 perímetro curvo dorsal	Delimitación más clara de 3 surcos branquiales. Primordios de los miembros posteriores más alargados. Pliegue del caparazón más engrosado. Cola enroscada con una long. de 19 somitas. Se pueden contar 40 pares de ellas, aunque en la región cefálica se dificulta su observación.

*embriones incubados en incubadora a 30°C.

continúa...

continuación tabla 4...

ESTADIO	MUESTRAS OBTENIDAS	EDAD DÍAS	LONGITUD mm.	ESTRUCTURAS PRESENTES
15	1	11	8.6 long. recta 8.7 perímetro curvo dorsal	2o. arco aórtico muy desarrollado formando un espacio llamado seno cervical. Se observan 5 arcos aórticos. Pliegue del caparazón más engrosado. Se cuentan 39 pares de somitas. Las extremidades anteriores van del par 9 al 13 de somitas, más largas que anchas; las posteriores van del par 23 al 25. La longitud de la cola es de 14 somitas.
16	1	16*	6.4 long. recta. 6.1 perímetro curvo dorsal	Seno cervical reducido. Se aprecian 4 arcos aórticos. En el extremo anterior del telencéfalo se observa la vesícula olfatoria ensanchada. Pliegue del caparazón bien delimitado. No es posible contar con precisión el número de somitas. Las extremidades anteriores abarcan del par 6 al 10. La long. de la cola es de 14 somitas.

*embriones incubados en incubadora a 30°C.

continúa...

continuación tabla 4...

GRUPO 2.- EMBRIONES MACROSCÓPICOS SIN PIGMENTO

ESTADIO	MUESTRAS OBTENIDAS	EDAD DÍAS	LONGITUD mm.	ESTRUCTURAS PRESENTES
17	2	16 16	17.5 long. recta 16.8 perímetro curvo dorsal 21.6 long. recta 26.8 perímetro curvo dorsal	1a. región pigmentada del embrión, son los ojos excepto en la región de la fisura coroidea. Se marcan 3 arcos branquiales. No es posible contar el número de somitas, ni la longitud de la cola.
18	1	17*	27.9 long. recta 26.8 perímetro curvo dorsal	Los ojos son de mayor tamaño, de aspecto globoso y con una ligera pigmentación grisácea. La maxila es más prominente que la mandíbula, y tiene forma de gancho doble terminado en triángulo. Las extremidades adquieren forma de paleta. La anterior derecha mide 2.1 mm. No se marcan los límites del caparazón. La cola es puntiforme. No se observan ya las somitas. El seno cervical se ha reabsorvido. La protuberancia cardíaca es de menor tamaño.
19	1	20	30.9 long. recta 25.7 perímetro curvo dorsal	La vesícula óptica es la región más pigmentada del cuerpo. Aparecen los nostrilos. Engrosamiento de la región cervical. Las extremidades se ensanchan distalmente, la anterior derecha mide 2.1 mm. El caparazón es todavía un pliegue en el dorso del cuerpo.
20	1	22*	29.4 long. recta 27.8 perímetro curvo dorsal	Aumento de volumen y pigmentación ocular. No se perciben los surcos branquiales. La extremidad anterior derecha mide 2.9 mm. Las posteriores se encuentran más desarrolladas. En el caparazón no hay ningún cambio notable.

*embriones incubados en incubadora a 30°C.

continúa...

continuación tabla 4...

GRUPO 3.- EMBRIONES MACROSCÓPICOS CON PIGMENTO

ESTADIO	MUESTRAS OBTENIDAS	EDAD DÍAS	LONGITUD mm.	ESTRUCTURAS PRESENTES
21	2	28	24.5 long. recta 39.0 perímetro curvo dorsal	Ojos rodeados por el rudimento de un párpado inferior con pigmentación azul grisácea, con un halo externo café. La mandíbula tiene forma triangular con la punta engrosada y un margen a cada lado. La maxila termina en forma de gancho doble que coincide con el extremo anterior de la mandíbula. Aparece la carúncula. Se delimita el margen del caparazón. Se marcan 5 divisiones interdigitales. La aleta anterior derecha mide 7.7 mm. Principios de pigmentación en las bases de las aletas. En el caparazón se marcan las siete quillas características de la especie. En el plastrón se observan 4 quillas y una al centro cubierta por la abertura de la hernia umbilical. El caparazón tiene una long. central de 18.5 mm y un ancho de 12.0 mm. (medidas rectas) y 21.5 mm de largo central y 17.5 mm de ancho (medidas curvas).
22	2	30	33.0 long. recta 43.7 perímetro curvo dorsal	Los ojos se observan menos globosos con el borde más engrosado. La maxila se desarrolla más que la mandíbula y la cubre anteriormente. Los nostrilos sobresalen por arriba de la carúncula como dos pequeños orificios. La pigmentación del caparazón es más difusa de color café claro, con plaquitas hexagonales. La aleta anterior derecha mide 11.0 mm. El caparazón mide 22.0 mm de largo central, 14.0 mm de ancho (medidas rectas) y 24.7 mm de largo central y 22.5 mm de ancho (medidas curvas).

*embriones incubados en incubadora a 30°C.

Continua...

continuación tabla 4...

ESTADIO	MUESTRAS OBTENIDAS	EDAD DÍAS	LONGITUD mm.	ESTRUCTURAS PRESENTES
23	3	32	39.0 long. recta 51.3 perímetro curvo dorsal	Hay cambios notables en la pigmentación. El caparazón, aletas y cuello son gris o café oscuro. El plastrón es más claro. La aleta anterior derecha mide 14.1 mm. El caparazón tiene una long. central de 27.6 mm y 18.9 mm de ancho (medidas rectas) y 30.8 mm y 25.3 mm (medidas curvas).
24	3	34	43.8 long. recta 55.3 perímetro curvo dorsal	Los ojos se han aplanado. Se delimitan los párpados superior e inferior. El plastrón es de color café claro. El resto del cuerpo es gris obscuro, casi negro. La aleta anterior derecha mide 18.8 mm. El caparazón mide 31.5 mm de long. central y 19.1 mm de ancho (medidas rectas) y 33.0 mm de largo central y 28.3 mm de ancho (medidas curvas).
25	3	40	56.8 long. recta 64.0 perímetro curvo dorsal	La curvatura del caparazón es más pronunciada. La pigmentación de todo el cuerpo es negro a excepción del plastrón. La aleta anterior derecha mide 31.0 mm. El caparazón mide 41.6 mm de largo y 26.5 mm de ancho (medidas rectas) y 46.0 mm y 35.3 mm de ancho (medidas curvas).
26	3	45	63.6 long. recta 76.3 perímetro curvo dorsal	El párpado superior es más ancho que el inferior. Las aletas se aproximan caudalmente, envolviendo la cola. La aleta anterior derecha mide 44.0 mm. El caparazón mide 41.5 mm de largo central y 30.1 mm de ancho (medidas rectas) y 51.0 mm de largo y 37.0 mm de ancho (medidas curvas).

*embriones incubados en incubadora a 30°C.

continúa...

continuación tabla 4...

ESTADIO	MUESTRAS OBTENIDAS	EDAD DÍAS	LONGITUD mm.	ESTRUCTURAS PRESENTES
27	3	50	64.0 long. recta 76.3 perímetro curvo dorsal	Los ojos se han alargado en el sentido vertical. El cuerpo se encuentra notablemente curvado. La aleta anterior derecha mide 45.5 mm. El caparazón mide 43.3 mm de long. recta y 32.5 mm de ancho (medidas rectas) y 48.6 mm. de largo y 35.6 mm de ancho medidas curvas)
28	2	53	88.5 long. recta 90.6 perímetro	Las escamas que están sobre los ojos carecen de pigmentación. El cuerpo ha perdido la curvatura tan pronunciada y ha tomado la posición normal más aplanada. La hernia umbilical ha cerrado o permanece abierta con un poco de vitelo. Hay una línea de escamas blancas y pliegues en las axilas e ingles que están más marcados. La aleta anterior derecha mide 60.2 mm. Las medidas del caparazón son de 58.0 mm de long. y 37.0 mm. de ancho (medidas rectas), las medidas curvas son de 58.5 mm de largo y 48.5 mm de ancho.

*embriones incubados en incubadora a 30°C.

7. DISCUSIÓN

Los criterios que con mayor frecuencia se emplean para distinguir un estadio de otro en la elaboración de tablas sobre el desarrollo embrionario de un organismo son: (1) la edad del embrión, (2) su tamaño y (3) sus peculiaridades morfológicas (Balinsky, 1979). La presente serie embriológica esta basada en los cambios morfológicos de los embriones, considerando que estos cambios estan normalmente relacionados con el tiempo de incubación o edad del embrión a temperatura controlada. La edad y el tamaño se utilizaron como datos de referencia o complementarios a las características morfológicas del embrión.

En las tablas o series de estadios embrionarios de tortugas se observa que la mayoría de los autores utilizan las características morfológicas del embrión para definir sus estadios. Sin embargo Miller (1985), encontró que aún optando por este criterio las diferencias que hay entre las descripciones de cada autor resultan principalmente de:

- 1.El grado de desarrollo de las características usadas.
- 2.Aumento proporcional del desarrollo expresado en %.
- 3.Temperatura de incubación.
- 4.Tiempo de desarrollo en el cual el estadio fue definido.

Con respecto al punto 1 las características más utilizadas para la descripción de los primeros estadios en este trabajo y en los trabajos revisados (Yntema, 1968; Crastz, 1982; Renous, *et al.*, 1989; Guyot, *et al.*, 1994) fueron: la forma y el tamaño del disco embrionario, la forma del blastoporo, el desarrollo de pliegues neurales y del notocordo, en estadios posteriores el número de somitas, el desarrollo de la región cervical, arcos branquiales, hendiduras faríngeas, arcos aórticos, corazón y los embriones más desarrollados se basan en el crecimiento de las extremidades, del caparazón y en la pigmentación.

El punto 2 se refiere a la cronología de los estadios expresado por un porcentaje del periodo de incubación basada en huevos incubados a temperatura controlada lo cual se maneja distinto en todos los trabajos revisados, ya que en muchos de ellos incluyendo este se obtuvieron embriones de nidos reubicados y embriones de incubadora.

El punto 3, la temperatura de incubación también varió en todos los trabajos incluyendo los realizados directamente con la especie *Dermochelys coriacea*, por ejemplo Renous *et al.* (1989) incubó a 27°C y a 31.5°C y Miller (1985) a 29°C y en este trabajo se incubó a 30°C en incubadora (lote 1).

Dado que el presente trabajo se realizó en la temporada 1983-1984, no se tuvo acceso a la información posterior como son los trabajos de Miller (1985), Renous (1988) y Renous *et al.* (1989), para comparar los resultados obtenidos más cercanamente y tratar de uniformar estos datos con la serie que elaboró Miller en 1985 de todas las especies de tortugas marinas. Lo que se pudo observar es que los estadios encontrados en el presente trabajo coinciden en su mayoría con los encontrados en la tabla de Renous *et al.*, (1989), que es la única tabla que se ha realizado describiendo sólo a esta especie y esta basada en la tabla de Miller (1985).

Renous *et al.*, (1989) iniciaron sus descripciones con estadios más avanzados que los encontrados en este trabajo (estadio 10, lo cual equivale al estadio 5 de este trabajo) como se puede observar en la tabla 5. Esto se puede deber a que los autores tuvieron objetivos muy particulares al hacer su trabajo, enfocados principalmente al estudio de la región faríngea de esta especie, a algunas características del desarrollo del caparazón y al desarrollo de miembros.

Todos los autores utilizan parámetros morfológicos similares para describir sus estadios pero con diferentes tiempos y temperaturas de incubación.

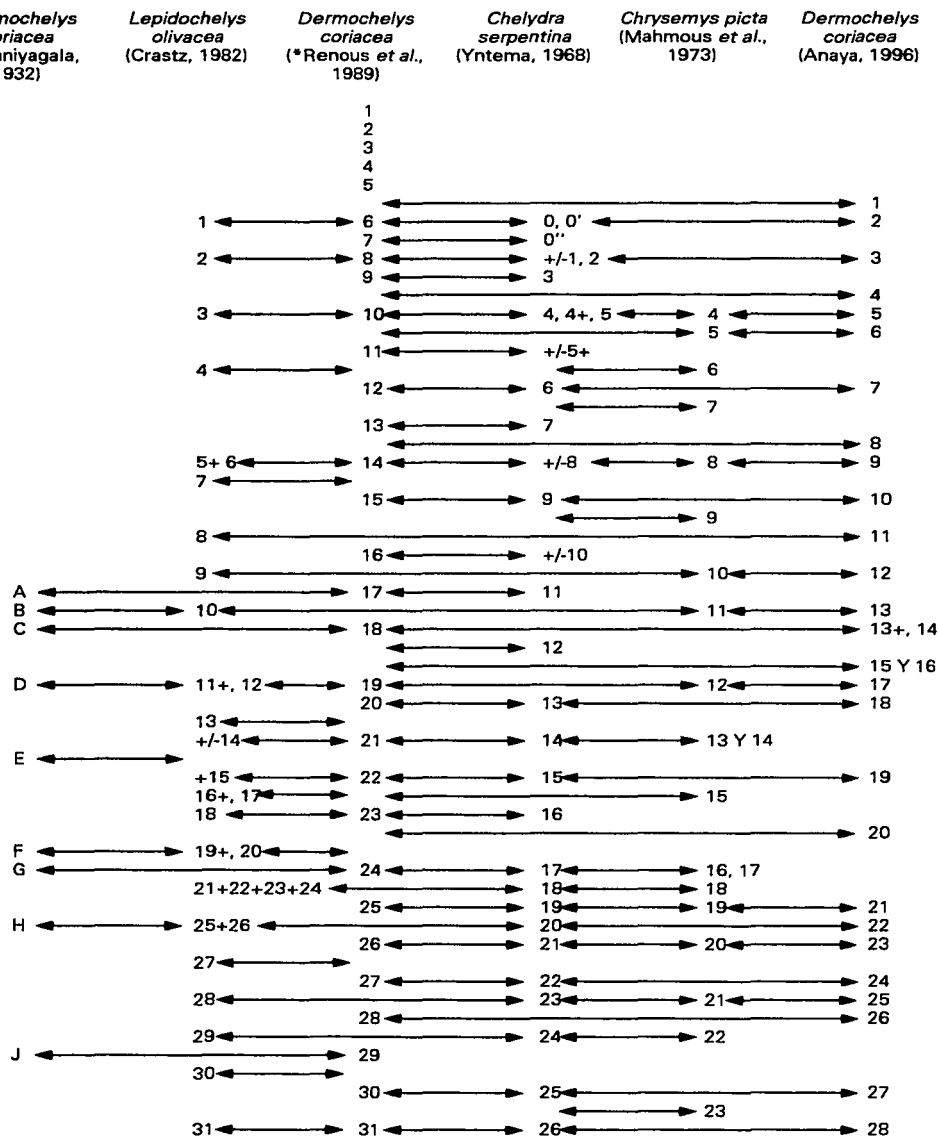
Para hacer más gráfica la comparación entre estadios, Renous *et al.* (1989), elaboraron una tabla donde correlacionan las series del desarrollo embrionario de algunos Quelonios, la cual se retomará en este trabajo (Tabla 5), para agregar los resultados obtenidos aquí.

En las series de desarrollo embrionario revisadas se observa que la mayoría de los autores, estudian la parte del desarrollo referente al periodo de incubación por ser más accesible a la obtención de muestra y no requerir que la madre sea intervenida o sacrificada. Sin embargo, en la tabla 5 vemos que Miller (1985) pudo obtener embriones de la tortuga *Chelonya mydas* en segmentación, con los cuales definió 5 estadios previos a la oviposición. Como se mencionó en los antecedentes de este trabajo, la mayoría de las tablas sobre desarrollo embrionario inician sus descripciones con embriones en estado de gástrula a excepción de Miller (1985). En el presente trabajo, el primer estadio encontrado es una gástrula temprana, ya que sobre la placa primitiva aún no se puede ver un blastoporo sino una depresión en el centro de la placa primitiva que corresponderá al blastoporo de estadios posteriores.

Durante la colecta de las muestras para este trabajo se obtuvieron varias preparaciones en donde se representa el estadio 1, un estadio con esta misma descripción se encontró en el trabajo de Brachet (1921), quien describe un disco embrionario en *Caretta caretta* de forma ovalada, excéntrico al área pelúcida, que presenta en la región posterior una acumulación celular más densa que corresponde a la placa primitiva con una depresión al centro como fosa. Por lo que se recomienda que en trabajos posteriores de la embriología de la tortuga se ponga atención en la identificación de este estadio 1 que puede ser confundido con huevos no desarrollados.

La placa primitiva de las tortugas se considera homóloga de la línea primitiva de las aves y al blastoporo de los anfibios. Brachet (1921) menciona que la placa primitiva en los reptiles se deprime en el centro formando una fosa relativamente profunda. Quizá por esto no se aprecia en el disco.

Tabla 5.- Comparación y equivalencias de estadios embrionarios de algunos quelonios con los encontrados en el presente trabajo.



* Los estadios de *Dermochelys coriacea* encontrados por Renous, et al. (1989), están basados en la tabla de desarrollo embrionario de tortugas marinas que propone Miller (1985).

embrionario de la tortuga una línea primitiva como en las aves que marque superficialmente el camino que siguen las células al invaginarse.

En el presente trabajo se estudió la morfología externa y no se puede observar el camino que siguen las diferentes capas celulares al introducirse al embrión (proceso de gastrulación). No obstante, se cita la información recopilada a este respecto. De acuerdo a estudios realizados en reptiles, Nelsen (1953), menciona que la formación del hipoblasto y la migración de las células notocordales y mesodermales están correlacionadas en los reptiles, particularmente en el grupo de las tortugas. También menciona que la extensión en la cual la notocorda se invagina, varía en las diferentes especies de reptiles y que en los lagartos y las serpientes el desarrollo es mayor que en las tortugas.

En el segundo estadio de este trabajo vemos una similitud con el estadio 0 citado por Yntema (1962) en cuanto a la forma de hendidura horizontal de la apertura de la placa primitiva, esta hendidura es ahora el blastoporo y una diferencia con respecto al desplazamiento del disco embrionario hacia el centro del área pelúcida, ya que en aquel, el disco no presenta este desplazamiento.

Durante la gastrulación en las aves se observa que la línea primitiva se va alargando de manera que el área pelúcida pierde su forma circular y se hace piriforme con el extremo estrecho dirigido caudalmente. En el caso del embrión de tortuga los hallazgos son diferentes, se observa que la porción cefálica del disco embrionario es ligeramente más angosta que la caudal. La forma de hendidura que toma el blastoporo es muy característica en los embriones de tortuga y de otros reptiles como los de la víbora *Vipera aspis* (Hubert y Defaure, 1965) y *Traimopis sirtalis sirtalis* (Zentgraf, 1962). Así vemos que el estadio 1 de Yntema (1962) y el 1 de Crasta (1962) y la descripción de Brachet (1921), coinciden con este estadio 0 en la forma del blastoporo.

Cabe observar también que el disco embrionario se ha desplazado un poco más hacia el centro del área pelúcida y se va extendiendo considerablemente dentro de ella. Se observa además una ligera migración de células hacia la parte cefálica del disco, lo cual confiere un color oscuro a esa área. No se marca superficialmente un canal como la línea primitiva de las aves.

En el cuarto estadio se observa que el disco embrionario tiene un menor tamaño con respecto a los estadios anteriores. Esto podría ser interpretado como si se tratase de un embrión de menor talla o enano, ya que presenta estructuras que corresponden a un desarrollo normal. Se observa un mayor número de células desplazadas a la región cefálica. La placa neural aún no parece iniciar la tubulación y el embrión se observa como una estructura triangular.

En el quinto estadio observamos una gran cantidad de cambios, empezando por el disco embrionario que como menciona Brachet (1921), se va extendiendo hasta ocupar todo el espacio del área pelúcida, lo cual también coincide con los trabajos de Yntema (1968) y de Crastz (1982). En este estadio el blastoporo ha perdido su forma horizontal debido a que al irse alargando el embrión hacia la región caudal la placa primitiva se "estira" y esto hace que los labios laterales y cefálicos del blastoporo confluyan. Entre los labios, las células del centro de la placa se comprimen y construyen como una especie de tapón, parecido al tapón vitelino de los anfibios, y como en éstos, el tapón regresa al lugar donde emergió y degenera por necrosis, todo esto hace que el blastoporo se reduzca a un pequeño orificio. Esta reducción es debida a un retroceso del labio cefálico y a la confluencia de los labios laterales (Brachet, 1921). Observamos también que la placa neural se ha plegado para formar el tubo neural. De acuerdo a Nelsen (1953), en los reptiles, aves como el pato, embriones de humano y otros mamíferos, existe un canal neural transitorio, el cual conecta el arquenterón con la parte caudal del tubo neural ya formado, sin

embargo, en este estadio la parte caudal del tubo persiste aun en forma de placa.

A partir de este estadio se puede tener un punto más de comparación de estos resultados con los de Renous *et al.* (1989) en donde este estadio 5 sería el estadio 10 o 10- (menos avanzado), ya que el proceso cefálico está más desarrollado en Renous *et al.* (1989) y su estadio 10 tiene 4 pares de somitas. Este estadio 5 coincide en muchos aspectos con el estadio 4 descrito por Yntema (1968), ya que tanto en uno como en otro se han formado tres pares de somitas y se observa el canal neurentérico.

El estadio 6 no muestra mucha diferencia con el estadio anterior, excepto por los pliegues de la placa neural que continúan fusionándose a lo largo del cuerpo. En este caso la región anterior se observa cerrada formando la ampolla neural, en los estadios 4 y 5 de la tortuga *Chelydra serpentina* se tiene el mismo número de somitas que en el estadio 6 de este trabajo, pero Yntema (1968) describe que los pliegues neurales permanecen abiertos en su porción anterior. Con respecto a Renous *et al.* (1989), este estadio 6 se encuentra menos desarrollado que su estadio 11, pues los autores describen ya las vesículas encefálicas primarias. El estadio 11 y el 6 de este trabajo coinciden en los 6 pares de somitas.

En el estadio 7, se observa el ensanchamiento de la ampolla neural formándose las vesículas cefálicas primarias, en otros organismos como el pollo de 29 a 30 horas (Harrison, 1975), se observan también las vesículas primarias y otras estructuras que coinciden con este estadio del pollo, ambos presentan nueve pares de somitas y el corazón alargado como tubo, sin embargo, en este estadio 7 no se observan aún los arcos aórticos como en el pollo o como en la tortuga *Chelydra serpentina* o como el estadio 12 de Renous *et al.* (1989). Esto puede deberse a la posición en la que están montados los embriones de tortuga de esta serie. Con respecto al trabajo de Yntema (1968), el estadio más parecido es el 6 en cuanto al número de somitas (8 pares) al de

Renous *et al.* (1989) al estadio 11 con 6 pares de somitas y este trabajo con 8 pares. Con respecto a las estructuras craneales Yntema (1968) no menciona la aparición de divisiones cefálicas, sólo la presencia de las vesículas ópticas. Indica también la persistencia del neuroporo anterior. En general este estadio no coincide con el estadio 12 de Renous *et al.* (1989). Entre el estadio 7 y 8 tal vez sería posible encontrar estadios intermedios como el estadio 12 y 13 de Renous *et al.* (1989), con embriones de 8, 10 y 13 pares de sometas, aparición de vesículas ópticas y óticas con el neuroporo anterior cerrado, la aparición de los primeros arcos aórticos y principios de plegamiento del tubo cardíaco.

En el estadio 8 la región anterior del tubo continúa diferenciándose y en ella se ven estructuras como la placa olfatoria y las vesículas ópticas. Suponemos la presencia del primer arco faringeo, aunque no se observa en la preparación, ya que éste origina la mandíbula, la maxila y a los nostrilos. El corazón es la estructura que sufre más cambios y la posición que va adquiriendo éste define un parámetro importante en la determinación de los estadios. En este estadio el corazón ha dejado de ser una estructura tubular, observándose con más volumen ligeramente plegado y dirigido hacia adelante. El proceso de plegamiento se produce por la profundización de los surcos auriculoventricular derecho y bulboventricular izquierdo (Junqueira y Zago, 1978). Con respecto al trabajo de Renous *et al.* (1989) este estadio 8 es menos avanzado que su estadio 14.

En el estadio 9 observamos que en el tubo cardíaco hay una región plegada y más notable que corresponde al ventrículo. En los siguientes estadios el corazón continúa plegándose. Los arcos faringeos se desarrollan en un sentido craneocaudal, nunca están presentes todos ellos. Aparecen además los arcos aórticos, que son vasos arteriales que se observan en el interior de los arcos faringeos. Este estadio 9 coincide con muchas estructuras del estadio 14 de Renous *et al.* (1989), aunque este último tiene menor número de pares de somitas.

En el estadio 10, el único cambio notable es el desplazamiento de la aurícula, la cual se dirige hacia la región cefálica del tubo cardíaco. Coincide con el estadio 15 de Renous *et al.* (1989), pero este último tiene estructuras más avanzadas como son los primordios de los miembros anteriores y posteriores.

En el estadio 11 hay tres arcos branquiales y 25 pares de somitas. Cuando en *Chelydra serpentina* se presentan 24 pares de somitas y se observan 4 arcos branquiales. Por lo anterior es posible suponer que el desarrollo faríngeo en ambas especies es semejante y que sus estadios son aproximadamente equivalentes. La aurícula migra en el sentido cefálico anterior por encima del ventrículo y el seno venoso ocupa todavía una posición posterior. A partir de este estadio sería importante observar si se encuentra presente la membrana de adherencia que mencionan Black y Sawyer (1981), en embriones de *Caretta caretta*, adicional a la zona de adhesión de la membrana vitelina al cascarón (mancha blanca). Estos autores mencionan que esta segunda membrana está bien desarrollada a los 11 días de incubación a 28 °C, lo que equivale a 20 días a 20 °C en *Chelydra serpentina* o sea al estadio 10 de Yntema (1968), y 16 de Renous *et al.* (1989). Lo anterior corresponde a los estadios 11 y 12 del presente trabajo (Tabla 5). La observación de ésta membrana en *Dermochelys coriacea*, sería de gran utilidad para el manejo del huevo, ya que como mencionamos anteriormente, estas membranas mantienen al embrión en la parte superior del huevo y la ruptura de alguna de ellas provocada por el movimiento causaría la muerte del embrión. Limpus *et al.* (1979), mencionan que el porcentaje de avivamiento disminuye si el huevo se mueve entre 12 hrs. y 14 días después de que éste ha sido puesto y Black y Sawyer (1981), piensan que los huevos de tortuga pueden ser movidos durante las 48 primeras horas o después de los 40 días. En éste trabajo se obtuvo un porcentaje de avivamiento muy bajo en los huevos que se trasladaron al laboratorio. Las causas son desconocidas. Cabe mencionar que los embriones de los estadios 9, 10 y 11 de este trabajo no están tan curvos como los embriones de los estadios 14, 15 y 16 de Renous *et al.* (1989).

En los embriones del estadio 12 la flexión de la región cefálica es evidente y lo será cada vez más en estadios sucesivos. Hay cuatro arcos aórticos. El primero recibe también el nombre de mandibular, el segundo hioideo o espiracular, el tercero formará las arterias carótidas y el cuarto también denominado sistémico, es el principal conducto sanguíneo hacia todo el sistema circulatorio. En el corazón es difícil identificar claramente, en vista lateral, el cambio de posición de las cámaras cardíacas. Por analogía con el pollo de 45-48 hrs., en donde el ventrículo está ahora por debajo de la aurícula, y el cono arterioso se ha extendido hacia adelante y se ha dividido en los dos primeros pares de arcos aórtico, podemos inferir que en la tortuga, la región de la aurícula va ascendiendo y puede encontrarse al nivel del ventrículo, o un poco más arriba. Con respecto al trabajo de Renous *et al.* (1989), coincide con el estadio 17 en la localización de los miembros anteriores y posteriores.

En el estadio 13 observamos 5 arcos branquiales y vemos que el primero se ha prolongado hacia la región cefálica para formar la maxila y la mandíbula. El estadio 13 es semejante al estadio 11 de Yntema (1968), con 5 arcos aórticos y branquiales en ambos estadios, el proceso maxilar extendido hacia el ojo y la flexura cervical más acentuada.

En otra muestra del estadio 13 más avanzada, los embriones se distinguen por que la cola empieza a doblarse hacia atrás como en los estadios 13 de Yntema (1968), 11 de Crastz (1982) y 18 de Renous *et al.* (1989). Esta curvatura coincide con la aparición de los primordios de los miembros. En este estadio y en el siguiente no es posible contar con precisión el número de somitas.

En el estadio 14 el segundo arco branquial se ha empezado a alargar hacia la región caudal. De acuerdo a Junqueira y Zago (1978), el cartílago de este arco desaparece en su región media. La porción ventral formará el asta menor y parte del cuerpo del hueso hioides, mientras que la región dorsal se

transformará en la apófisis, estiloides del temporal y en el tercer huesecillo del oído. Las tortugas tienen oído medio e interno. Coincide en muchas estructuras con el estadio 18 de Renous *et al.* (1989) como la presentación más evidente del pliegue del caparazón, el número de somitas, el proceso maxilar y el borde posterior de los arcos tiende a extenderse y a recubrir a los siguientes como se aprecia también en el estadio 15 de este trabajo. Un detalle importante es que en este estadio muchos autores como Raynaud *et al.* (1981) y Raynaud *et al.* (1983) han descrito estructuras epiteliales dentro de la parte distal de los arcos debidas a la acumulación de células de origen ecto-endodérmico, los autores indican que son estructuras de existencia temporal, Deraniyagala (1939) las encontró en su estadio B y los llamó nódulos branquiales. Renous *et al.* (1989) encontraron estas estructuras epiteliales en sus estadios 18 a 20 y aún se cuestionan si es posible considerar estas estructuras como un carácter más primitivo de esta especie de tortugas.

En el estadio 15, los miembros anteriores de los embriones van adquiriendo una forma alargada y los posteriores una forma triangular. Los miembros posteriores son más cortos que los anteriores. Con respecto al trabajo de Renous *et al.* (1989) este estadio no coincide con ninguno, ya que su estadio 19 está más desarrollado. Este estadio coincide con el estadio 12 y 13 de Yntema (1968), en el desarrollo de la región cervical el crecimiento del arco hioideo que limita el seno cervical anteriormente y que los primordios de los miembros anteriores en su estadio 13 son más largos que anchos.

En el Estadio 16 se observan 4 arcos aórticos. Al final, los reptiles solo conservan tres arcos aórticos. El tercero, el cuarto y el sexto (Álvarez del Villar, 1979). Romer (1973), menciona que las carótidas nacen en las tortugas por un tallo separado directamente del corazón, no del tercer arco aórtico, como en otros vertebrados. El embrión que representa este estadio tiene las características morfológicas correctas y se seleccionó por la claridad con que se ven sus estructuras, pero el tamaño es ligeramente menor al de otros estadios menos avanzados (6.1 mm de perímetro curvo dorsal).

El estadio 17 corresponde al segundo grupo (embriones macroscópicos sin pigmentación), es muy similar al estadio 19 de Renous *et al.* (1989) en ambos estadios el embrión presenta el ojo pigmentado y el embrión inclinado en una curvatura regular como rodeando al vitelo.

El estadio 18 tiene presenta ya características distintivas de la especie *Dermochelys coriacea*, la primera de ellas es el desarrollo de la maxila en forma de gancho terminada en triángulo, con la mandíbula mucho más pequeña. Coincide con el estadio 20 y 21 de Renous *et al.* (1989) en la marca de los arcos branquiales en la región cervical, en el alargamiento de los miembros y la forma de paleta que han adquirido aunque en este estadio se ven más desarrollados.

En el estadio 19 la diferencia que se puede observar con respecto al estadio anterior es el aumento de volumen, la región cervical más ensanchada y arcos branquiales menos perceptibles. Equivaldría al estadio 22 de Renous *et al.* (1989) (Tabla 5).

En el estadio 20 no hay cambios notables, excepto que los miembros anteriores están flexionados en la parte media como codos, perdieron su forma de paleta. Creemos importante mencionar que el embrión del estadio 20 (22 días de incubación a 30°C), fue el último obtenido en incubadora y que en nido reubicado no fue posible la obtención de muestras de los días del 23 al 27, debido a que subió la marea y los nidos se inundaron y se perdieron los huevos. A pesar de que faltaron éstas muestras, no se consideró prudente tomar huevos de otro nido ajenos a éstos lotes. De acuerdo a los trabajos que se han tomado como referencia, en estos días ocurre la formación del caparazón, con los rasgos característicos de la especie. Ya que en el estadio 20 de este trabajo aún no se delimitan los márgenes de esta estructura, se puede considerar que hay un estadio faltante entre los estadios 20 y 21 de este trabajo en donde se encuentren embriones en los que se delimiten los

márgenes del caparazón como el estadio 24 de Renous *et al.* (1989). Lo cual coincide con el trabajo de Miller (1985) sobre la embriología de las tortugas marinas en donde se menciona que el caparazón empieza a desarrollarse a partir del estadio 23 y que después de este estadio se empiezan a presentar las diferencias entre las familias Cheloniidae y Dermochelyidae.

En el estadio 24 de Renous *et al.* (1989) se describe la presencia de párpados alrededor de los ojos, aparece la carúncula, se inicia una ligera pigmentación sobre la parte dorsal del cuello cerca al caparazón, los bordes del plastrón se observan anteriormente.

En el tercer grupo (embriones macroscópicos con pigmentación) tenemos embriones a partir de 28 días de incubación en nidos reubicados del estadio 21 al 28, con características distintivas de la especie, como la mandíbula y la maxila antes mencionada, las plaquitas hexagonales sobre el caparazón, las 7 quillas a lo largo de éste y las 4 quillas en el plastrón. Se dice que esta especie de tortuga es la que ha avanzado más en cuanto a las adaptaciones al medio marino, por ejemplo, las plaquitas poligonales que tienen sobre el caparazón y bajo el plastrón, reemplazan a los huesos dérmicos, lo cual reduce significativamente su peso y le permite nadar más rápido. Otra adaptación al medio marino és la forma hidrodinámica de sus aletas, las cuales son proporcionalmente más grandes que las de otras especies de tortugas marinas.

En los siguientes estadios, los embriones se van pigmentando y aumentando de tamaño. El caparazón esta bien delimitado y coincide con los trabajos revisados, la pigmentación se hace presente primero en la parte dorsal del cuello, en la base de las aletas y en el caparazón por sus bordes laterales, en el caso de *Chelydra serpentina*, el caparazón se pigmenta primero en la parte central (Yntema, 1968). La correspondencia de estos últimos estadios con respecto a los de Renous *et al.* (1989) (Tabla 5), se realiza en base a la pigmentación de los embriones, por ejemplo el estadio 23 de este trabajo coincide con el estadio 26 de Renous *et al.* (1989) en la pigmentación del

plastrón. En los estadios siguientes al estadio 23 de este trabajo , las diferencias dadas por la pigmentación del embrión, por la longitud de su caparazón, por la longitud de la aleta anterior derecha, por la curvatura que sigue el embrión sobre el saco vitelino, la cual se va perdiendo a medida que el embrión va reabsorbiendo el vitelo como se menciona más adelante. Por ejemplo en el estadio 25 de 34 días de incubación (nido reubicado) se presenta pigmentación en todo el cuerpo, en el estadio 26 de 40 días de incubación (nido reubicado), el cuerpo se empieza a curvar alrededor del vitelo al igual que en el estadio 27. Es importante notar en el estadio 26 (40 a 45 días nido reubicado), la presencia de una membrana transparente y dura, adherida al corión y dispuesta en anillos, la cual no se ha reportado en la literatura. Sería interesante comprobar si en otros huevos del mismo periodo de incubación se presenta ésta membrana e investigar su función. En el estadio 27 las aletas anteriores han crecido tanto que se juntan en la parte posterior del caparazón, como en el estadio 30 de Renous *et al.* (1989).

En el estadio 28 el cuerpo pierde su curvatura, toma una posición más aplanada y se encontraron algunas crías con el vitelo reabsorbido. En este caso la última muestra se tomó a los 53 días de incubación en nido reubicado y las crías ya estaban completamente formadas (lo cual se considera un periodo de incubación corto comparado con las medias de incubación en esta playa en las temporadas anteriores). En la temporada 1980-1981, la media fue de 65.2 días y en la temporada 1981-1982 de 59.4 días (Benabib, 1983). En los datos recopilados por Pritchard (1971) menciona que el periodo de incubación de la tortuga *Dermochelys coriacea* puede tener un periodo máximo de incubación de 74 días como en Playa Matina, Costa Rica y un periodo mínimo de 55 días en Malaya. Schulz (1978, citada en Pritchard, 1971), reporta que los huevos puestos al final de la temporada eclosionan antes que los puestos al principio. Los huevos del presente trabajo fueron puestos al final de la temporada cuando la temperatura de la arena es mayor. En la playa de Mexiquillo la época de lluvias termina generalmente en el mes de octubre, estos huevos se incubaron en los meses de febrero y marzo, por lo tanto la observación hecha

por Schulz en este caso puede ser válida y esto explicaría los periodos de incubación tan cortos. Otra posible explicación es que normalmente el periodo de incubación se toma desde el momento en que se incuban los huevos hasta que emerge la primera cría, sin embargo dentro del nido las tortugas pueden tener de 3 a 7 días de haber eclosionado antes de emerger (Schulz, 1978, citado en Pritchard, 1971). En este trabajo no se espero a que eclosionaran las crías, sino que los nidos se abrieron y algunas crías ya no presentaban vitelo en la hernia umbilical.

En el caso de los reptiles y de otros animales no mamíferos la velocidad del desarrollo depende de la temperatura del medio ambiente, por lo que las indicaciones acerca de la edad del embrión muchas veces carecen de sentido, a menos que se precise la temperatura a la que se incubaba el embrión. En este caso la edad del embrión se puede considerar para los embriones provenientes de incubadora (lote 1). Para los huevos que se incubaron en la playa, las experiencias que se han tenido con respecto a la edad siempre van relacionadas con la temperatura del ambiente, así vemos por ejemplo que Cornelius (1986), hace un resumen de la biología general de *Lepidochelys olivacea*, *Dermochelys coriacea*, *Chelonya mydas* y *Eretmochelys imbricata*. Menciona que la temperatura de la arena determina la velocidad del desarrollo mientras más alta sea ésta más rápido será el desarrollo del embrión. Los nidos que se incuban a pleno sol alcanzan hasta 35°C. y toman en general de 42 a 45 días de incubación, mientras que los incubados en sombra tardan hasta 65 días, estos datos son proporcionados por el autor refiriéndose en general a las tortugas marinas que anidan en el Parque Nacional De Santa Rosa, Costa Rica. Así, los nidos que son puestos en la misma noche, no eclosionan necesariamente en la misma fecha.

Aunque en el caso de la tortuga *Dermochelys coriacea* el periodo de incubación no es tan corto como el autor menciona, ya que un periodo de incubación corto para esta especie son 55 días.

Así mismo observamos en el trabajo de Renous *et al.* (1989), donde se incuban artificialmente huevos de *Dermochelys coriacea* a 27°C y a 31.5°C, que la velocidad del desarrollo es mayor a 31.5°C, en particular en el transcurso de los primeros estadios. Los autores ejemplifican con el estadio 22, el cual se obtiene en 21 días de incubación a 31.5°C y en 32 días a 27°C, en este trabajo equivale al estadio 19, el cual se obtuvo en 20 días en nido reubicado (31.3°C, que es la medida media de la temperatura superficial de la arena).

A los embriones incubados en nido reubicado no se les puede asignar una edad confiable porque no se tienen datos precisos de la temperatura de incubación, Benabib (1984) observa que el promedio de las temperaturas registradas durante el periodo de incubación en nidos reubicados en la misma temporada de trabajo que el presente estudio fue de 30 a 32 °C. Ella tomó la temperatura con termopares a 75 cm de profundidad de la arena (equivalente a la profundidad promedio de los nidos naturales de *Dermochelys coriacea*. No hay una gran diferencia en la temperatura promedio encontrada por Benabib y la temperatura superficial de la arena reportada en este trabajo (31.3 °C). Es muy importante hacer notar que en algunas tortugas como *Caretta caretta*, una disminución de 1°C en la temperatura se refleja en un incremento de 5 días de incubación (Mrosovsky e Yntema, 1980). Partiendo de este dato podríamos afirmar que puede haber embriones con estructuras semejantes pero de diferentes días de incubación, como se puede apreciar en la Tabla 4. De este modo se podría suponer que los huevos que se encontrasen en nidos cercanos al mar o en lugares sombreados presentarían un desarrollo embrionario más lento por ser la temperatura más baja.

Renous *et al.* (1989), indican en su trabajo con la tortuga laúd, que el desarrollo embrionario disminuye regularmente de 26.5 °C a 30.5 °C y que se mantiene constante entre los 30.5°C y 32°C. Por lo que podríamos suponer que en este trabajo la temperatura promedio de incubación de 31.3°C en la playa y

la de 30°C en el laboratorio no es un factor que nos afecte en la velocidad del desarrollo.

El tamaño del embrión no es una indicación exacta del grado de desarrollo puesto que podemos encontrar embriones que presentan las mismas estructuras y ser de tamaño diferente. Tal es el caso del estadio 16 de este trabajo en donde se observa un cambio muy brusco con respecto al estadio 17. A pesar de su tamaño, menor que otros embriones de estadios anteriores, el estadio 16 presenta estructuras más desarrolladas.

En la tabla 4, podemos observar que en general el tamaño de los embriones no varía bruscamente de un estadio a otro, se encontraron embriones muy pequeños (estadio 4 y estadio 16) con estructuras correspondientes al estadio que ocupan, por ejemplo el estadio 4 tiene un diámetro del disco embrionario menor que el estadio 1, 2 y 3 pero en el se observan estructuras más avanzadas, como el blastoporo en forma horizontal y células migrando hacia la región cefálica. Estos embriones pequeños son diferentes a los embriones poco desarrollados que se reportan en los resultados ya que estos últimos no presentan ni estructura ni talla acordes con el tiempo que tienen de incubación.

Con respecto a la edad se observan algunas variaciones, por ejemplo en el estadio 6 se obtuvieron tres embriones que presentan estructuras semejantes: tienen de 4 a 7 pares de somitas, ambos están en nérula y presentan el mismo grado de tubulación, sin embargo uno tiene 7 días y midió 1.0 mm, otro tiene 4 días (a 30°C) y midió 1.4 mm y el último tiene 3 días y midió 1.2 mm. La edad del primer embrión varió considerablemente con respecto al segundo y tercero. La longitud fue más o menos constante. De acuerdo con estos datos no es conveniente afirmar, en el caso de nidos naturales o reubicados que la edad coincide con el estadio correspondiente porque el grado de desarrollo puede variar de acuerdo a las condiciones del medio ambiente.

Con respecto al diámetro de los huevos, la media obtenida de 5.2 cm coincide con el diámetro normal descrito en la literatura. Deraniyagala (1939) reporta que el intervalo normal del diámetro de los huevos va de 5.0 a 5.4 cm. De acuerdo a los datos recopilados por Hughes *et al.* en 1967 (citado en Pritchard, 1971), la media del diámetro de los huevos obtenidos en Tongalandia es de 5.3 cm. Carr y Ogren (1959), encontraron una media de 5.5 cm en Tortuguero, Costa Rica y 5.1 cm en Playa Matina (Pritchard, 1971). Benabib (1983) reportó una media de 5.1 cm. en el Playón de Mexiquillo, Michoacán.

Respecto al estado general en que se encontraban los huevos, se observó en algunos de ellos la presencia de un círculo blanco en la parte superior, el cual los iba cubriendo conforme tenían más tiempo de incubación, este círculo llamado en el campo "mancha blanca" ha sido observado en *Dermochelys coriacea* por Chan (1989) y en otras especies de tortugas marinas como *Lepidochelys olivacea* (Ewert, 1979), *Caretta caretta*, (Blanck y Sawyer, 1981) y *Chelonia agassizii* (Villanueva, 1981). Estos autores coinciden en que la mancha blanca indica que los huevos han sido fertilizados, lo cual resultó verdadero en la mayoría de los casos de este trabajo. La mancha blanca representa una adherencia de la membrana vitelina al cascarón del huevo (Ewert, 1979). En los reptiles el embrión queda fijado en el interior del cascarón en fases muy tempranas y carece de chalaza que lo mantenga al centro del huevo, como ocurre en las aves (Bustard, 1972). En embriones de *Caretta caretta*, Blanck y Sawyer (1981), encontraron la existencia de una segunda membrana de adherencia, la cual es una extensión del amnios, que se fusiona con la membrana coriónica cerca de la región del ojo del embrión de 11 días de incubación a 28 °C, Estas membranas mantienen al embrión en la parte superior del vitelo y la ruptura de alguna de ellas provocada por el movimiento que causaría la muerte del embrión. Limpus *et al.* (1979), mencionan que el porcentaje de eclosión disminuye si el huevo se mueve entre 12 hrs. y 14 días después de que este ha sido puesto, aunque Blank y Sawyer (1981), piensan que los huevos de tortuga pueden ser movidos durante las 48 primeras horas o

después de los 40 días. En este trabajo los huevos del lote 1 llegaron a la incubadora 48 hrs. después de la oviposición y se obtuvo un porcentaje de avivamiento muy bajo. Se recomienda en trabajos futuros poner atención a la presencia de estas membranas ya que al conocer los tiempos en que aparecen estas se puede poner más cuidado en la reubicación de los huevos y así evitar la mortalidad embrionaria.

En embriones del estadio 26 y 27 (de 40 a 45 días de incubación en nido reubicado), se encontró una membrana transparente y dura adherida al corión del huevo, dispuesta en anillo. Histológicamente se trata de una estructura celular homogénea acidófila.

8. CONCLUSIONES

- ◇ Para elaborar esta serie de estadios del desarrollo embrionario de la tortuga marina *Dermochelys coriacea*, se seleccionó como criterio de clasificación la presencia de estructuras externas, ya que la talla y/o la edad varían de acuerdo con las condiciones ambientales, tales como la temperatura y la humedad.
- ◇ La edad del embrión se debe especificar con la temperatura de incubación.
- ◇ El diámetro de los huevos obtenidos en este trabajo coincide con el diámetro normal reportado en la literatura para *Dermochelys coriacea*.
- ◇ Es muy importante notar que el estadio 1 de este trabajo es diferente al reportado en los trabajos recientes de embriología de las tortugas; este estadio (gástrula temprana) se puede confundir con un huevo sin embrión o con embrión mal desarrollado, ya que por costumbre se espera para el estadio 1 un embrión en gástrula más tardía con un blastóporo horizontal situado en la parte caudal del disco embrionario.
- ◇ La forma circular del disco embrionario de la tortuga en fase de gástrula adquiere una forma diferente al disco embrionario de pollo. En el caso de la tortuga *Dermochelys coriacea* se observa que la región cefálica del disco embrionario es ligeramente más angosta que la caudal. En el pollo el extremo estrecho del disco está dirigido caudalmente.
- ◇ La forma de herradura que toma el blastóporo es característica en los embriones de tortuga y de otros reptiles.
- ◇ Comparando este trabajo con el realizado por Renous et al. (1989), Yntema (1968) y Crastz (1982), se observó que la curvatura de la cola de los embriones, coincide con la distinción de los primordios de los miembros anterior y posterior.

9.- LITERATURA CITADA.

- Agassiz, L. 1857. Embriology of the turtle. Contr. Nat. Hist. Vol. II. Boston, U.S. 2:523-621.
- Alvarez del Villar, J. 1979. Anatomía comparada básica. Ed. Trillas. México, D.F., México. 581 pp.
- Balinsky, B. I. 1979. Introducción a la embriología. Ed. Omega. Barcelona. 644 pp.
- Benabib, M. 1983. Algunos aspectos de la biología de *Dermochelys coriacea* en el Pacífico mexicano. Tesis de Licenciatura (Biología). Facultad de Ciencias. UNAM. 82 pp.
- Benabib, M. 1984. Efecto de la temperatura de incubación, la posición del nido y la fecha de anidación en la determinación de sexo de *Dermochelys coriacea*. Tesis de Maestría en Ciencias (Biología). Facultad de Ciencias, UNAM 60 pp.
- Benabib, M y L. Cruz. 1981. Resultados preliminares del trabajo realizado en importantes playas de anidación de *Dermochelys coriacea* en Michoacán. VII Simposio Latinoamericano sobre Oceanografía Biológica. 625-635 pp.
- Blanck, E. C. y R. H. Sawyer. 1981. Hatchery practices in relation to early embriology of the loggerhead sea turtle, *Caretta caretta* (Linné). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 49:163-177.
- Bustard, R. 1972. Sea Turtles. Ed. Collins. London - Sidney. 97-114 pp
- Brachet, A. 1921. Traité d'embriologie des vertébrés. Ed. Masson. Paris, Francia. 602 pp.
- Carr, A. y L. Ogren. 1959. The ecology and migrations of sea turtles, 3, *Dermochelys coriacea* in Costa Rica. Amer. Mus. Novitates. 1958:1-29.
- Chan, E. H. 1989. White spot development, incubation and hatching success of leatherback turtle *Dermochelys coriacea* eggs from Rantau Abang, Malasya. Copeia (1):42-47.
- Cornelius, E. S. 1986. The sea turtles of Santa Rosa National Park. M. V. García (Ed.). Madrid, España. 11-13 pp

- Crastz, F. 1982. Embryological stages of the marine turtle *Lepidochelys olivacea*. Rev. Biol. Tropical. 30(2):113-120.
- Cruz, L.; A. L. Sarti; A. E. Villaseñor; B. Jiménez; M. Robles y T. Ruíz. 1985. Investigación y conservación de la tortuga laúd (*Dermochelys coriacea*) en Mexiquillo, Michoacán. Temporada de anidación 1984-1985. Informe de Trabajo. SEDUE, Subdelegación de Ecología, Michoacán. 40 pp.
- Deraniyagala, P. E. P. 1939. The tetrapod reptiles of ceylan. Vol. I, Testudinales and Crocodilians. Ceylon J. Sci. Colombo Mus. Publ. Londres. 1:25-102.
- Diario oficial de la Federación. 1990. Acuerdo por el que se establece veda para las especies y subespecies de tortuga marina en aguas de jurisdicción federal del Golfo de México y Mar Caribe, así como en las aguas del Pacífico, incluyendo el Golfo de California. Tomo CDXL, No. 22. 31 de mayo 1990.
- Ewert, M. A. 1979. The embryo and its egg development and natural history En: Turtles perspectives and research. Harless M. y Morlock eds. Willey and Sons Publication, NewYork . 313-413 pp.
- Fretey, J. 1978. Mensurations des tortues luths femelles adultes, *Dermochelys coriacea* (Linné) en Guyane Française. Bull. Soc. Zool. France 103(4):1518-1523.
- Fujimoto, T.; A. Ukeshima; Y. Miyayama; F. Horio y E. Ninomiya. 1979. Observations of primordial germ cells in the turtle embryo *Caretta caretta* light microscopic and electron microscopic studies. Dev. Growth Differ. 21:1, 3-10.
- Guyot, G.; C. Pieau y S. Renous. 1994. Développement embryonnaire d'une tortue terrestre, la tortue d'Hermann, *Testudo hermanni* (Gmelin, 1789). Ann. Sc. Nat. Zool. Paris. 15:115-137.
- Harrison, B. M. 1975. Embriology of the chick and pig. W.M.C. Brown Co. Publ. 1:3-121.
- Hubert, J. y J. P. Defaure. 1968. Table de developpement de la vipere aspic: *Vipera aspis*. L. Bull. Soc. Zoo. France. 93:135-148.

- Junqueira, L. C. U. y D. Zago. 1978. Fundamentos de embriología humana. 2^{da}. ed. Ed. El Ateneo. México. 130-145 pp.
- INP. 1990. XXV años de Investigación, conservación y protección de la tortuga marina. 49 pp.
- Limpus, C. J.; V. Backer y J. Miller. 1979. Movements induced mortality of loggerhead eggs. *Herpetologica* 35(4):335-338.
- López, C.; A. L. Sarti y N. García. 1990. Situación actual de las pesquerías de las poblaciones de tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*) y tortuga laúd (*Dermochelys coriacea*) en el sur de Michoacán. *Biología de Campo* 1989-1990. Facultad de Ciencias, UNAM. 89 pp.
- López, C.; A. L. Sarti y N. García. 1991. Tortugas marinas de la costa sur de Michoacán. *Biología de Campo* 1990-1991. Facultad de Ciencias, UNAM. 101 pp.
- López, C.; A. L. Sarti y N. García. 1992. Estudios de las poblaciones de tortugas marinas *Lepidochelys olivacea* (golfina) y *Dermochelys coriacea* (laúd) con énfasis en aspectos conductuales y reproductivos en el Playón de Mexiquillo Michoacán. *Biología de Campo* 1991-1992. Facultad de Ciencias, UNAM. 140 pp.
- López, C.; N. García y S. Karam. 1994. Estrategias reproductivas de *Dermochelys coriacea* en el Playón de Mexiquillo, Michoacán. *Biología de Campo*. Temporada 1993-1994. Facultad de Ciencias, UNAM. 52 pp
- Márquez, M. R. 1990. FAO Species Catalogue. Vol. 11: Sea Turtle of the World. An annotated and illustrated catalogue of sea turtle species known to date. FAO Fisheries Synopsis. No. 125, Vol. 11 Rome, FAO. 1990. 81 pp.
- Miller, J. D. 1985. Embryology of marine turtles. En: C. Gans; F. Billet y P. Maderson (eds.) *Biology of the Reptilia*. Chapter 4, *Develop.* A. 14:270-328.
- Morgan, P. 1989. Occurrence of leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*) in the British Isles in 1988 with reference to a record specimen. En: S. Eckert, K. L. Eckert y T. H. Richardson (eds.). *Proc. ninth annual*

- workshop of the sea turtle conservation and biology. NOAA Tech. Memo. NMFS-SEFC-232 US. Dept. Commerce. 119-120 pp
- Mrosovsky, N. 1983. Conserving sea turtles. The British Herpetological Society c/o. The Zoological Society of London Regent's Park. London. 176 pp.
- Mrosovsky, N. y C. L. Yntema. 1980. Temperature dependence of sexual differentiation in sea turtles, implications for conservation practices. *Biological conservation* 18: 271-280.
- Nelsen, E. O. 1953. Comparative embryology of the vertebrates. Ed. McGraw-Hill Book Company Inc. New York, USA. 982 pp.
- Perran, J. 1981. Historical Decline of loggerhead, ridley and leatherback sea turtles. En: K. Bjorndal (ed.). *Biology and Conservation of Sea Turtles*. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C. 189-195 pp.
- Pritchard, P.C.H. 1971. The leatherback turtle *Dermochelys coriacea*. International Union for conservation of nature and Natural Resources. Morges, Switzerland Monograph 1. 1:1-39.
- Pritchard, P.C.H. y P. Trebbau. 1984. The turtles of Venezuela. Society for the study of Amphibians and reptiles Publish. viii + 403 pp +47 pls + 16 mps.
- Raynaud, A; J. Fretey y M. Clergue-Gazeau. 1981. The occurrence of ephemeral epithelial appendages in the cervical region of the embryos of the leathery turtle, *Dermochelys coriacea*. *Bull Soc Zool France*. 106: 2, 133-136.
- Raynaud, A.; J. Fretey; J. Brabet y M. Clergue-Gazeau. 1983. Animal morphogenesis. A scanning electron microscopic study of the epithelial structures appened to visceral arches of the embryos of the leathery turtle (*Dermochelys coriacea*). *C. R. Acad. Sc. Paris, Ser. III*, 296: 296-302.
- Renous, S.; 1988. Quelques remarques sur le developpement embryonnaire de *Dermochelys coriacea* (Vandelli, 1761). *Mesogee*. 48:85-89.
- Renous, S.; F. Rimblot-Baly; J. Fretey y C. Pieau. 1989. Caractéristiques du développement embryonnaire de la tortue luth, *Dermochelys coriacea* (Vandelli, 1761). *Ann. Sc. Nat., Zool. Paris*. 10:197-229.

- workshop of the sea turtle conservation and biology. NOAA Tech. Memo. NMFS-SEFC-232 US. Dept. Commerce. 119-120 pp
- Mrosovsky, N. 1983. Conserving sea turtles. The British Herpetological Society c/o. The Zoological Society of London Regent's Park. London. 176 pp.
- Mrosovsky, N. y C. L. Yntema. 1980. Temperature dependence of sexual differentiation in sea turtles, implications for conservation practices. *Biological conservation* 18: 271-280.
- Nelsen, E. O. 1953. Comparative embryology of the vertebrates. Ed. McGraw-Hill Book Company Inc. New York, USA. 982 pp.
- Perran, J. 1981. Historical Decline of loggerhead, ridley and leatherback sea turtles. En: K. Bjorndal (ed.). *Biology and Conservation of Sea Turtles*. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C. 189-195 pp.
- Pritchard, P.C.H. 1971. The leatherback turtle *Dermochelys coriacea*. International Union for conservation of nature and Natural Resources. Morges, Switzerland Monograph 1. 1:1-39.
- Pritchard, P.C.H. y P. Trebbau. 1984. The turtles of Venezuela. Society for the study of Amphibians and reptiles Publish. viii + 403 pp +47 pls + 16 mps.
- Raynaud, A; J. Fretey y M. Clergue-Gazeau. 1981. The occurrence of ephemeral epithelial apendages in the cervical region of the embryos of the leathery turtle, *Dermochelys coriacea*. *Bull Soc Zool France*. 106: 2, 133-136.
- Raynaud, A.; J. Fretey; J. Brabet y M. Clergue-Gazeau. 1983. Animal morphogenesis. A scanning electron microscopic study of the epithelial structures appened to visceral arches of the embryos of the leathery turtle (*Dermochelys coriacea*). *C. R. Acad. Sc. Paris, Ser. III*, 296: 296-302.
- Renous, S.; 1988. Quelques remarques sur le developpement embryonnaire de *Dermochelys coriacea* (Vandelli, 1761). *Mesogee*. 48:85-89.
- Renous, S.; F. Rimblot-Baly; J. Fretey y C. Pieau. 1989. Caractéristiques du développement embryonnaire de la tortue luth, *Dermochelys coriacea* (Vandelli, 1761). *Ann. Sc. Nat., Zool. Paris*. 10:197-229.

- Romer, A. S. 1966. Vertebrate Paleontology. 3rd. ed. University of Chicago Press, Chicago, USA.
- Romer, A. S. 1973. Anatomía comparada de vertebrados. 4^a ed. Ed. Interamericana. México. 435 pp.
- Sarti, A. L.; C. López y M. T. Anaya. 1986. Pesquerías de las tortugas marinas de la zona sur del estado de Michoacán y conservación en el Playón de Mexiquillo. Biología de Campo 1985-1986. Facultad de Ciencias, UNAM. 119 pp.
- Sarti, A. L.; A. E. Villaseñor; B. Jiménez; J. Carranza y M. Robles. 1987. Investigación y conservación de las tortugas laúd (*Dermochelys coriacea*) y golfina (*Lepidochelys olivacea*) en Mexiquillo, Michoacán. III Informe de Trabajo. SEDUE, Subdelagación de Ecología, Michoacán. 1986-1987. 75 pp.
- Sarti, A. L.; A. E. Villaseñor; B. Jiménez; J. Carranza y M. Robles. 1988. Investigación y conservación de las tortugas laúd (*Dermochelys coriacea*) y golfina (*Lepidochelys olivacea*) en Mexiquillo, Michoacán. IV Informe de Trabajo. SEDUE, Subdelagación de Ecología, Michoacán. 1987-1988. 46 pp.
- Sarti, A. L.; A. E. Villaseñor; B. Jiménez; J. Carranza y M. Robles. 1989. Investigación y conservación de las tortugas laúd (*Dermochelys coriacea*) y golfina (*Lepidochelys olivacea*) en Mexiquillo, Michoacán. V Informe de Trabajo. SEDUE, Subdelagación de Ecología, Michoacán. 1988-1989. 40 pp.
- Sarti, A. L.; C. López; N. García; C. Ordoñez; L. Gámez; C. Hernández; A. Barragán y F. Vargas. 1993. Protección e investigación de algunos aspectos biológicos y reproductivos de las tortugas marinas *Lepidochelys olivacea* (golfina) y *Dermochelys coriacea* (laúd) en el Playón de Mexiquillo, Michoacán. Informe final. Temporada de anidación 1992-1993. Facultad de Ciencias, UNAM. 34 pp.
- Sarti, A. L.; C. López; N. García; P. Huerta y H. Pineda. 1995. Ecología de la tortuga laúd *Dermochelys coriacea* en el Playón de Mexiquillo, Michoacán, durante la temporada 1994-1995. 31pp.

- Sarti, A. L.; S. Eckert; N. García y A. Barragán. 1996. Decline of the world's largest nesting assemblage of leatherback turtles. *Marine Turtle Newsletter* (74):2-5.
- Shine, R. 1983. Reptilian reproductive modes: the oviparity-viviparity continuum. *Herpetologica* 39(1):1-8.
- Villanueva, A. 1981. Hábitos reproductivos de la tortuga prieta *Chelonia agassizi* (Bocourt, 1868) en la costa de Michoacán. Tesis de maestría. ENCB, IPN. 42 pp.
- Whitmore C. P. y P. Dutton. 1985. Infertility, embryonic mortality and nest-site selection in Leatherback and Green sea turtles in Surinam. *Biol. Conserv.* 34:251-272.
- Yntema, C. L. 1968. A series of stages in the embryonic development of *Chelydra serpentina*. *J. Morphol.* 125: 219-252.
- Zehr, D. R. 1962. Stage in the normal development of the common garter snake, *Thamnophis sirtalis sirtalis*. *Copeia* :322-329.

10.- APÉNDICE

TÉCNICA DE TINCIÓN EN BLOQUE CON VERDE LUZ

- 1) Lavado en agua corriente durante 18 hrs. mínimo para eliminar el fijador.
- 2) Lavar en agua destilada.
- 3) Teñir con verde luz (0.2 g de verde luz, 100 ml. de agua destilada, 20 gotas de ácido acético glacial), diluido al 0.2 % en agua destilada durante 3 min.
- 4) Hacer varios lavados en agua destilada durante media hora
- 5) Un pase de media hora en etanol 35 %.
- 6) Un pase de media hora en etanol 50 %.
- 7) Un pase de media hora en etanol 70 %.
- 8) Un pase de media hora en etanol 96 %.
- 9) Dos cambios en etanol absoluto de media hora cada uno.
- 10) Etanol absoluto/salicilato de metilo 1:1 durante media hora.
- 11) Salicilato de metilo toda la noche.
- 12) Agregar xilol gota a gota durante 15 min.
- 13) Salicilato de metilo/xilol 1:1 durante 15 min.
- 14) Dos pases por xilol de 15 min. cada uno.
- 15) Montar en resina sintética sobre un portaobjetos al cual se han adherido dos capilares de un diámetro ligeramente mayor al espesor del embrión.