

SERIE NORMAL DEL DESARROLLO MORFOLOGICO EMBRIONARIO

DE *Podocnemis unifilis* (Troschel, 1848) (TESTUDINATA, PELOMEDUSIDAE)

NORY A. GUZMAN B.

HELA OSMÁ DE BONILLA

Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Biología. Apartado Aéreo 23227. Bogotá, Colombia.

RESUMEN

El desarrollo embriológico de *Podocnemis unifilis* fue estudiado en condiciones silvestres y de laboratorio, desde la anidación hasta la eclosión. Se identificaron 28 fases en los 95 días que comprende su embriogénesis como Serie Normal. Se encontró una estrecha relación entre la progresiva expansión de una zona blanca de la cáscara del huevo y el desarrollo secuencial de las etapas embriogénicas; esta relación se muestra útil como método para identificar externamente la etapa de desarrollo en la que se encuentre el embrión. Se determinó que los huevos de una nidada no eclosionan simultáneamente, debido a que según se observó, los embriones pueden estar en cuatro grados de desarrollo, y su crecimiento es asincrónico. Se definieron además los parámetros físicos que condicionan el éxito del proceso embrionario en este quelonio.

SUMMARY

Embriologic development of *Podocnemis unifilis* on wild and laboratory conditions, from nesting, was monitored. Twenty eight phases, occurring in 95 days were identified, including embriogénesis as a normal series.

A close relationship between the progressive expansion of a white zone of the egg-shell and the sequence development of the embriologic stages was found. This relationship is thought be useful as a method to identify externally the stage of the embryo. It was determined that all the eggs of a nest do not hatch simultaneously, possibly because the embryos were seen to be in 4 different stages of development, and their growth is asynchronous. The physical parameters conditioning effective embryogenic process of this chelonia were registered.

Palabras Claves: Tortugas, *Podocnemis*, Embriología, Morfología embrionaria.

INTRODUCCION

Los informes pioneros de la embriogénesis de Testudinata provienen de estudios efectuados por Agassiz (1857) en *Caretta caretta*, y Mitzukuri (1893,94) en *Clemys leprosa* y *Chrysemis picta belli*. No obstante, sólo la embriogénesis desarrollada bajo una temperatura de incubación se considera Serie Normal (Yntema, 1960).

Las Series Normales se utilizan como referencia para predecir las etapas embrionales y comparar la embriogénesis entre especies. Tales series han sido logradas para *Chelydra serpentina* (Yntema, 1968), *Chrysemys picta belli* (Mahmoud et al., 1973) y *Lepidochelys olivacea* (Crastz, 1982).

Podocnemis unifilis (nc. Tortuga "Terecay"), es un quelonio que habita la Selva Tropical de las cuencas hidrográficas del río Amazonas y río Orinoco. Sobre su reproducción se cuenta con información biogeográfica de los aspectos morfométricos de la anidación (Foote, 1955; Mondolfi, 1955; Medem, 1964; Pritchard, 1984; Vanzolini, 1977; Soini, 1982) y aspectos aislados de la incubación y eclosión (Medem, 1969). Este trabajo aporta detalles sobre el desarrollo embrionario.

MATERIALES Y METODOS

El material se obtuvo de una población silvestre de *Podocnemis unifilis* que anida en playas de ríos del Departamento del meta, Colombia. Se tomaron huevos incubados en la condición silvestre de playas del río Ariari (225 msnm) y río Güéjar (230 msnm) hacia las localidades de San José del Guaviare (2°2'N, 72°80'E) y Puerto Rico (2°2'N, 73°1.3'E). Al laboratorio se trasladaron huevos ubicados en playas del río Acacías (310 msnm) hacia la localidad Las Palmeras (3°55'N, 73°E.). Las unidades se encontraron al rastrear las huellas de la tortuga en la playa; se consideró la presencia de mucosidad oviductal sobre la cáscara de los huevos, como indicio de ovoposición reciente, y se tomó la fecha correspondiente como punto de partida para establecer la secuencia embriológica. Se disecó una nidada de 18 huevos, en el día de su postura, para conocer la sincronía del desarrollo.

En condiciones silvestres se escogieron seis nidadas, considerando un promedio de 20 huevos por nidada (Medem, 1969); dos fueron trasladadas en bolsas plásticas

para reanidarlas, y cuatro se dejaron en su nido original. Se examinaron 10 huevos por nidada en edades de intervalos variables, obteniéndose 13 embriones a partir de los huevos manipulados y 29 de los que no fueron trasladados. Se registró el ciclo diario de la temperatura de incubación silvestre, midiéndola en el aire a 1 m. de altura, y en la arena de anidación a 0, 10, 20 y 30 cm. de profundidad. Se tomó un kilogramo de arena de un nido para averiguar el contenido de agua y las características granulométricas.

Al laboratorio se trasladaron seis nidadas, con 113 huevos en total, los que se rotularon según su posición en capas dentro del nido, sin modificar su ordenamiento y orientación de postura; se cuidó de cubrirlos permanentemente con arena húmeda del nido, tanto al acomodarlos en la caja de traslado, como en el paso a la incubadora.

De cada huevo se registró el diámetro máximo, el mínimo y el peso (Tabla 1).

Tabla 1

Composición de tamaños y pesos en los huevos de seis nidadas de *Podocnemis unifilis* anidados en playas del río Acacias, Meta, Colombia, 1987. n = número de huevos, max = valor máximo, x = medio, DE = desviación estandar.

NIDO	n	DIAMETRO max				DIAMETRO min				PESO			
		min	max	x	DE	min	max	x	DE	min	max	x	DE
1	27	42.8	48.7	45.8	1.3	32.2	34.3	33.4	0.5	28.4	31.9	30.1	0.8
2	25	44.1	48.2	46.5	1.1	29.5	32.9	31.4	0.7	22.7	29.4	27.1	1.4
3	15	44.6	49.2	46.5	1.2	31.3	33.5	32.4	0.6	23.6	29.2	27.6	1.3
4	12	42.3	45.5	43.2	0.9	28.0	39.5	30.9	4.0	20.1	23.0	21.5	0.7
5	13	39.7	43.1	41.0	0.9	22.1	28.0	27.0	1.5	17.7	19.8	18.5	0.6
6	21	41.4	47.3	44.6	1.5	30.6	34.2	33.2	0.9	23.2	32.4	28.8	2.3
tot.	113	39.7	49.2	45.0	2.1	22.1	39.5	31.8	2.4	17.7	32.4	26.6	4.0

La incubación se realizó con una fuente de calentamiento de aire, colgada a una distancia de 70 cm. sobre cuatro contenedores de vidrio con arena del nidal. A 10 cm. de profundidad se estandarizó una temperatura de 30° y humedad de 70%, reguladas con adición de agua de tubería. A ésta profundidad se distribuyeron 67 huevos, considerando el diámetro máximo entre 43 a 48 mm, diámetro mínimo entre 28 a 34 mm, y peso entre 27 a 32 gr. Los primeros cuatro días se extrajeron 3 huevos; uno diario hasta el día 50; y luego, uno cada 5 días. Cada vez, se pesó el huevo, se tomó el diámetro máximo de una zona blanca de la cáscara y se extrajo y pesó el embrión; por separado se pesó la cáscara, el albumen y el vitelo.

Se obtuvo un total de 60 embriones; los embriones de hasta 15 mm de longitud se fijaron con glutaraldehído (5%); los de mayor tamaño se fijaron con Zenker, y luego, todos fueron fotografiados a escala para medir la longitud de extremo a extremo, siguiendo la curvatura dorsal y las dimensiones máximas de longitud,

anchura y altura de la región que limita el carapax. Las medidas fueron realizadas utilizando un curvímeter de aproximación 0.1 mm.; una balanza de aproximación 0.001 mm, y los respectivos datos se analizaron según correlación estadística. Los embriones menores de 15 días se incluyeron en resina epóxica, y los menores de 30 días, en parafina; de esta manera se realizaron secciones histológicas seriadas que permitieron confirmar las observaciones morfológicas externas. Los embriones mayores de 20 días se procesaron en coloración diferencial hueso-cartílago con rojo de alizarina (Dawson, 1926). Adicionalmente se realizó un ensayo con los 48 huevos restantes, de diámetro máximo entre 40 y 43 mm., diámetro mínimo entre 22 y 28, y peso entre 17 y 27 gr; estos huevos fueron repartidos para incubación (a 30°C y 70% HR) al aire, en arena de "cantera" y en arena del nidal natural.

RESULTADOS

Las condiciones de incubación establecidas en el laboratorio permitieron un desarrollo embrionario exitoso de *Podocnemis unifilis*. Se obtuvo una Serie Normal, de 95 días, secuenciada en fases. Las fases describen las observaciones realizadas, y las imágenes relacionan a escala los diferentes cambios observados, señalando sólo los rasgos evidentes:

Fase 1. **ZONULA EMBRIONARIA:** en el día de postura se observa sobre el saco vitelino una agrupación de células con tendencia a la distribución bilateral (-->). (Fig. 1.1).



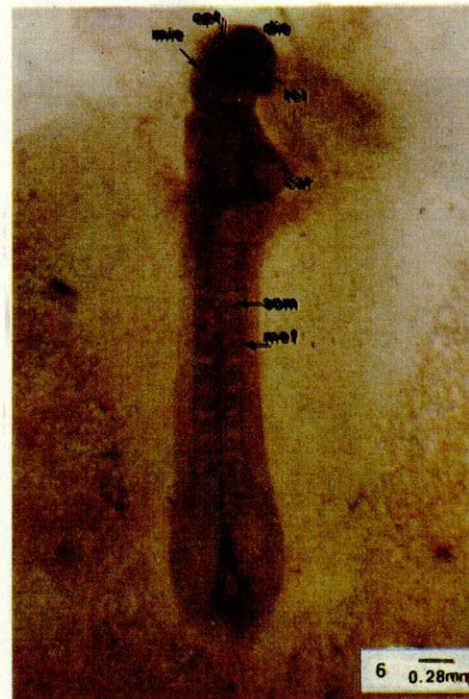
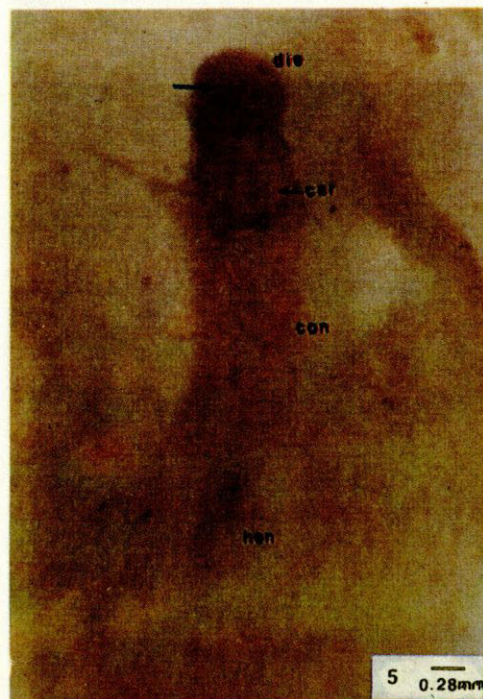


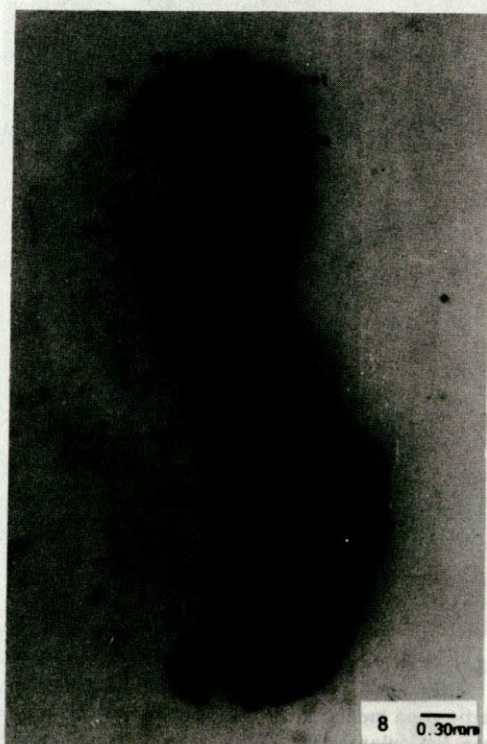
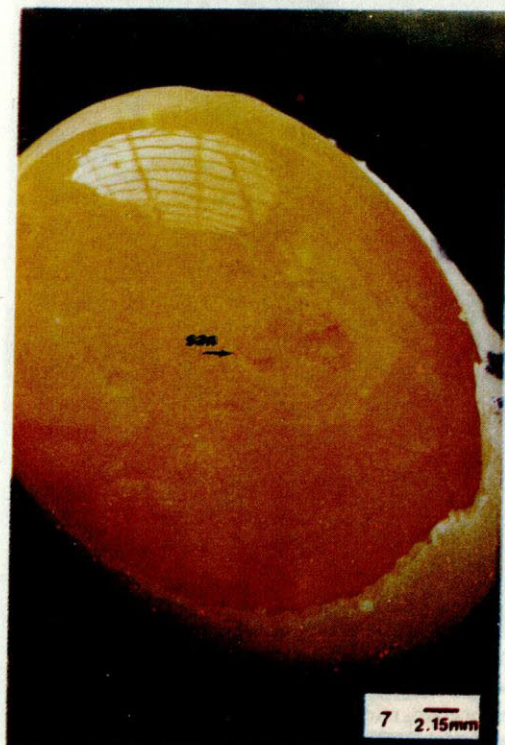
Fig. 1. Serie Normal del Desarrollo Embrionario de la Tortuga *Podocnemis unifilis*, en las fases 1 a 6. ant= zona anterior, car= primordio cardiaco, con= contornos, die= diencéfalo, hen= nodo Hensen, med= zona media, mef= tubos mesonefricos, mes= mesencéfalo, mie= mielencéfalo, neu= tubo neural, opt= vesículas ópticas, pos= zona posterior, pro= prosencéfalo, son= somitas, tel= telencéfalo

Fase 2. **DELIMITACION EMBRIONARIA:** el segundo día, la agrupación celular se encuentra distribuída en un plano, con una zonación anterior (ant), media (med) y posterior (pos). (Fig. 1.2).

Fase 3. **CONFIGURACION EMBRIONARIA:** al tercer día se observa el tubo neural (neu); en la región cefálica aparece el prosencéfalo (pro) con las vesículas ópticas (opt), y en la región corporal se encuentra el mesencéfalo (mes) y rombencéfalo (rom), como una prolongación tubiforme. (Fig. 1.3).

Fase 4. **PRIMORDIO CARDIACO:** a los 4 días, en la región cefálica se sitúan las masas oculares y la proyección del telencéfalo (tel); en la región media se encuentra el primordio cardiaco (card), y la región posterior establece sus contornos (con). (Fig. 1.4).

Fase 5. **OCHO SOMITAS:** a los 5 días, la región cefálica presenta el primordio de rostro prolongado hacia adelante, y el diencéfalo (dien) se diferencia por sus vesículas ópticas laterales (--»); en la región media se observa la bolsa cardíaca y en la región posterior los contornos toman la forma de barras desde el nodo de Hensen (Hen). (Fig. 1.5).



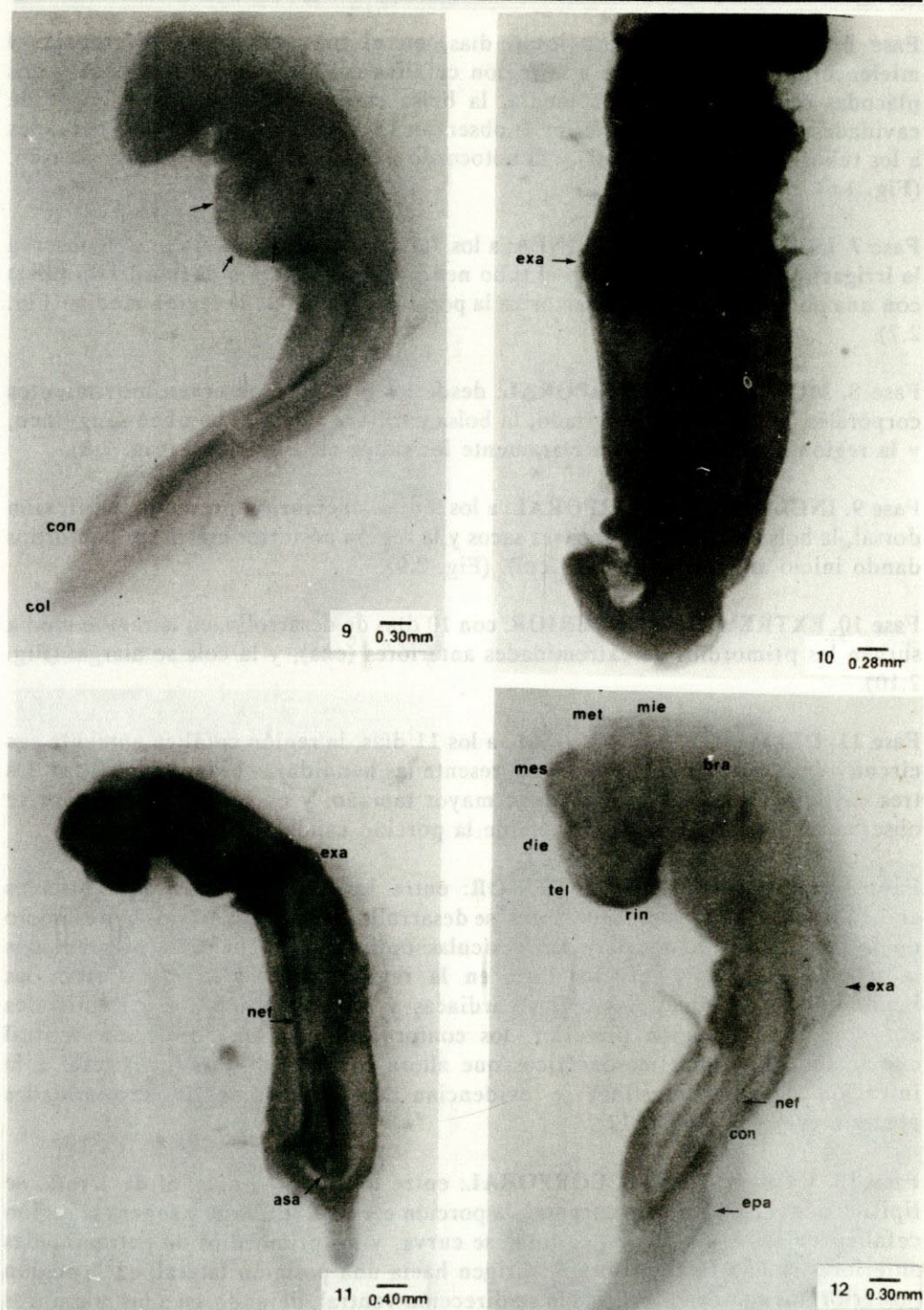


Fig.2. Serie Normal del Desarrollo embrionario de la Tortuga *Podocnemis unifilis* en las fases 7 a 12. asa= asa intestinal, bra= hendiduras branquiales, col= cola, exa= extremidad anterior, exp= extremidad posterior, met= metencéfalo, rin= rinencéfalo

Fase 6. DOCE SOMITAS: a los 6 días, en el tubo neural se diferencia el mielencéfalo (mie) posterior a la región cefálica con sus circunvoluciones y dos plácotas óticas; en la región media, la bolsa cardíaca muestra sus esbozos de cavidades; y en la región posterior se observan 12 pares de somitas (som) paralelos a los tubos mesonéfricos (mef) y al notocordo hasta antes del proceso de Hensen. (Fig. 1.6).

Fase 7. IRRIGACION SANGUINEA: a los 7 días, sobre el saco vitelino se observa la irrigación sanguínea (san); en el tubo neural se diferencia el metencéfalo (met) con una porción cervical que sectoriza la porción cefálica de la región media. (Fig. 2.7).

Fase 8. MOVIMIENTO CORPORAL: desde los 8 días se observan movimientos corporales, el encéfalo sectorizado, la bolsa cardíaca inicia el bombeo sanguíneo, y la región posterior muestra claramente los tubos mesonéfricos. (Fig. 2.8).

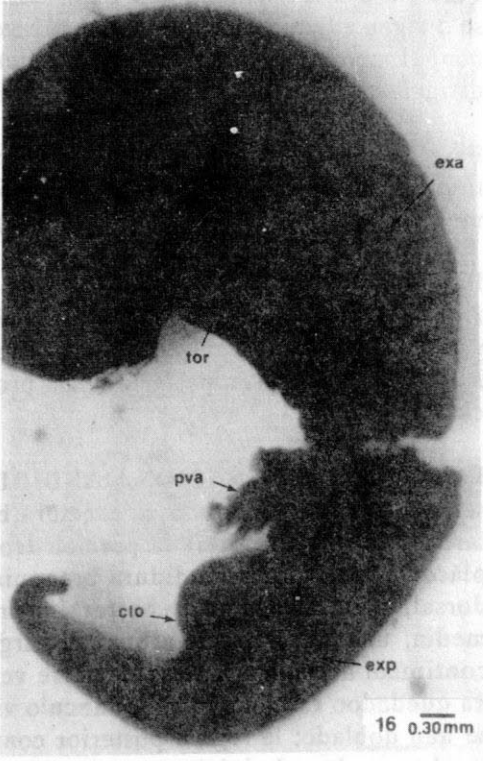
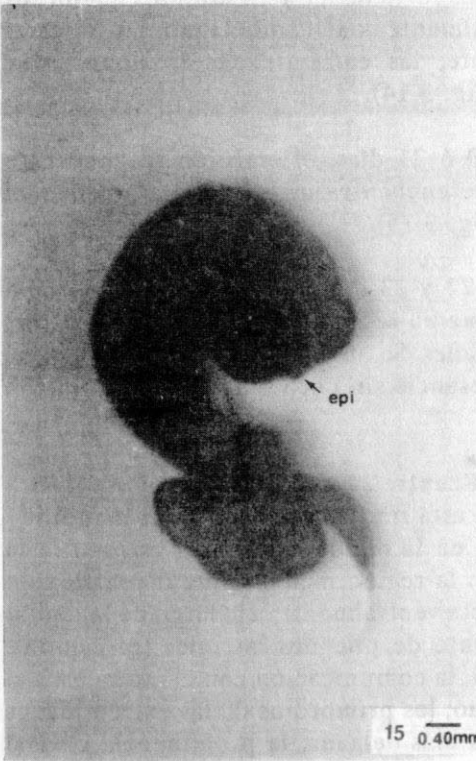
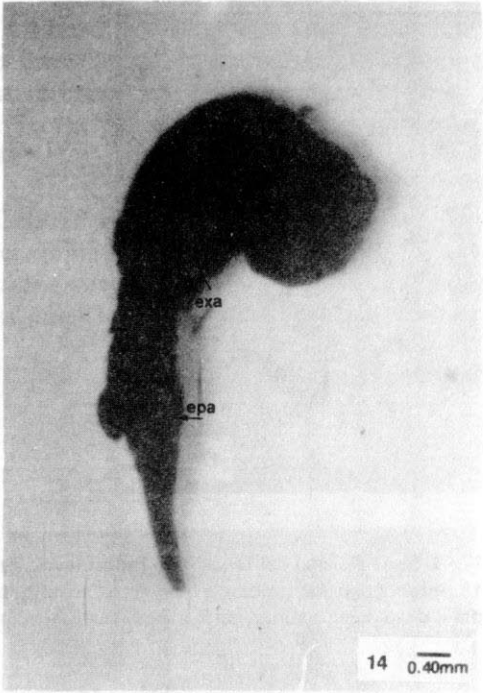
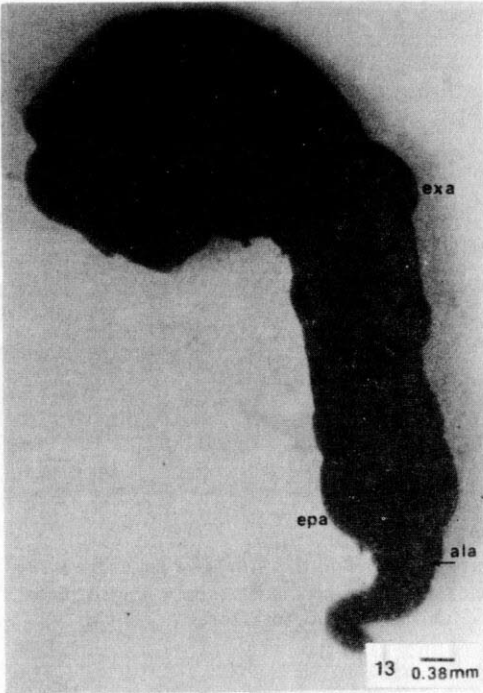
Fase 9. INCLINACION CORPORAL: a los 9 días, el embrión presenta una flexión dorsal, la bolsa cardíaca exhibe tres sacos y la región posterior cierra sus contornos dando inicio al proceso de cola (col). (Fig. 2.9).

Fase 10. EXTREMIDAD ANTERIOR: con 10 días de desarrollo, en la región media surgen los primordios de extremidades anteriores (exa), y la cola se alarga. (Fig. 2.10).

Fase 11. DELIMITACION CAUDAL: a los 11 días, la región cefálica aumenta sus circunvoluciones, la región cervical presenta las hendiduras branquiales (bra), las tres cavidades cardíacas presentan un mayor tamaño, y en la región posterior se observa El asa intestinal (asa) antes de la porción caudal. (Fig. 2.11).

Fase 12. EXTREMIDAD POSTERIOR: entre los 12 y 14 días, las vesículas encefálicas se observan protuberantes, se desarrolla el rinencéfalo (rin) con el inicio de la configuración bucal, y las vesículas ópticas se encuentran pigmentadas mostrando claramente el cristalino; en la región cervical se manifiestan las hendiduras branquiales, las bolsas cardíacas y los primordios de extremidades anteriores; en la región posterior, los contornos tienen una dirección ventral enmarcando los tubos mesonéfricos que ahora son más destacados; lateral a la inserción del asa intestinal se evidencian los primordios de extremidades posteriores (exp). (Fig. 2.12).

Fase 13. CURVAMIENTO CORPORAL: entre los 15 y 16 días, el desarrollo se tipifica por el curvamiento corporal; la porción cervical se alarga y separa la región cefálica: en la región media, el dorso se curva, y los primordios de extremidades anteriores se han flexionado y se dirigen hacia una posición lateral; en la región posterior, los contornos prosiguen su dirección ventral, dejando así a los miembros posteriores en su posición, y la bolsa alantoidea (ala) se encuentra bien definida desde la unión del asa intestinal. (Fig. 3.13).



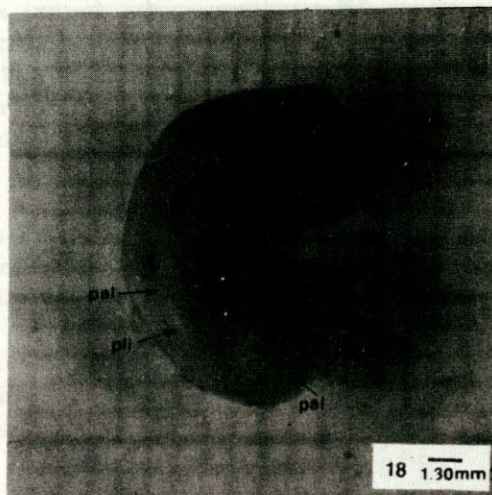


Fig. 3. Serie Normal del Desarrollo Embrionario de la Tortuga *Podocnemis unifilis* en las fases 13 a 18. ala= bolsa alantoidea, arm= arcos mandibulares, clo= protuberancia cloacal, epi= epifisis pineal, pal= despliegue palmar, pli= pliegues laterales, pva= pedúnculo vitelino, tor= torax

Fase 14. CONFINAMIENTO DEL VIENTRE: entre los 17 y 19 días, los contornos se dirigen a la región media y se unen ventralmente confinando la porción visceral con el pedúnculo vitelino; simultáneamente, las extremidades flexionadas se dirigen hacia su posición latero-ventral. (Fig. 3.14).

Fase 15. SEMILUNA CORPORAL: con 20 ó 21 días, el embrión se encuentra totalmente curvado en la región cefálica se encuentra un mayor desarrollo del mesencéfalo con la epífisis pineal (epi). (Fig. 3.15).

Fase 16. DELIMITACION CLOACAL: con 22 y 23 días, se configura la porción frontal con la abertura bucal; en la región media se ha conformado el tórax (tor) y el pedúnculo vitelino (pva) en las extremidades. Se observa una coyuntura a nivel medio; y en la región posterior, una protuberancia sin poro señala la delimitación cloacal (clo). (Fig. 3.16).

Fase 17. DETERMINACION MANDIBULAR: entre 24 y 25 días, la región cefálica se encuentra estructurada; la abertura bucal está limitada por los arcos mandibulares (arm); se conforma la porción frontal; en la región cervical se encuentra la plácoda ótica y una hendidura branquial; en la región media se atenúa la flexión dorsal, mientras la porción pectoral se proyecta ventralmente; a lo largo de la región media, una línea lateral esboza el surgimiento de pliegues laterales (pli) que se continúan hasta la cola; tras el cierre ventral, la comunicación con el asa intestinal ha quedado restringida al pedúnculo vitelino; los primordios de las extremidades se han doblado; la región posterior continúa más delgada; la prominencia cloacal se eleva, y la cola inicia un proceso de acortamiento. (Fig. 3.17)

Fase 18. LAMINAS MARGINALES: a los 26 y 27 días, el surgimiento de las láminas marginales cobra relevancia a lo largo de la línea lateral de la región media, y es evidente el despliegue palmar (pal) de los miembros; la región cefálica y pectoral cambian su tamaño, y la región posterior se acorta y engruesa con el curvamiento de la cola en dirección al vientre (Fig. 3.18).

Fase 19. FISIONOMIA DEL QUELONIO-CARAPAX: entre los 28 a 30 días, los cambios involucran la disposición circular del embrión, aparece la región dorsal del caparazón o carapax (cap); aumenta la capacidad encefálica, se alarga el cuello con flexionamiento nuchal (nuc), en tanto que los miembros se encuentran flexionados en dirección al cuerpo. (Fig. 4.19).

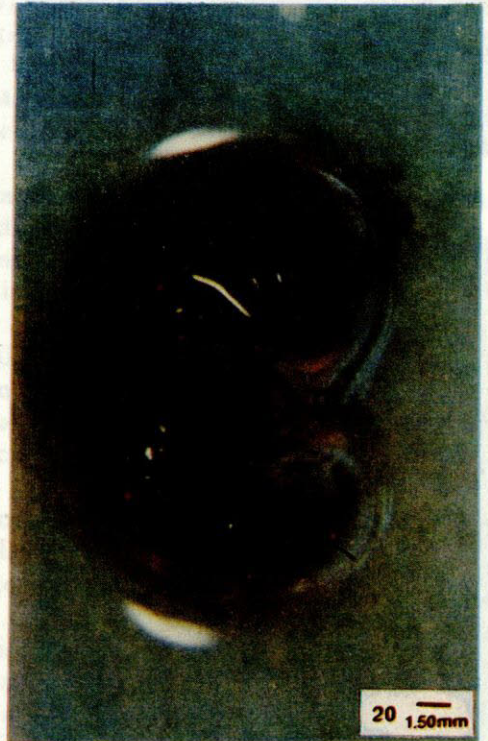
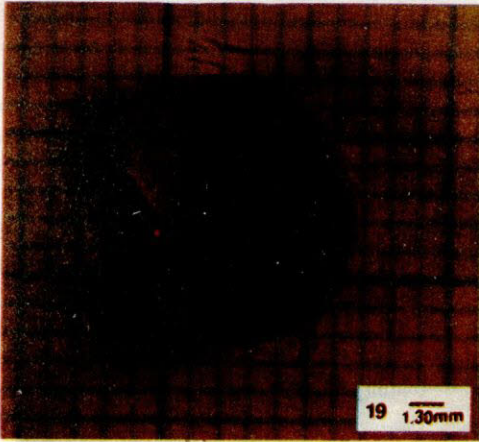




Fig.4. Serie Normal del Desarrollo Embrionario de la tortuga *Podocnemis unifilis* en las fases 19 a 24. bce= bóveda cefálica, cap= carapax, cos= costillas, cvc= columna vertebral, etp= entoplastrón, fal= falanges, fem= fémur, fib= fíbula, hum= húmero, mep= mesoplastrón, muc= flexión nugal, pla= plastrón,

Fase 21. **PROCESO CARTILAGINOSO:** entre los 38 y 44 días, la morfogénesis embrionaria ha completado la configuración de quelonio, iniciándose el proceso cartilaginoso; en la región cefálica se observan los párpados; la caja craneana rostral y frontal muestran la típica fisonomía de este quelonio, con los agujeros nasales bien establecidos y el surco interorbital propio del género *Podocnemis*; los arcos mandibulares adquieren su articulación más atrás de la posición ocular, donde se esboza el opérculo del oído externo; se adquirió la propiedad de retracción nugal lateral, de tal manera que el cuello presenta pliegues dérmicos; el carapax presenta las láminas laterales, el alineamiento de las láminas dorsales y las franjas costales, bien definidas; las láminas del plastrón también se delinean, y el entoplastrón resalta en posición pectoral; los miembros se observan flexionados, y las interdigitaciones se completan hasta delimitar los dedos; la papila cloacal se estableció en el primer tercio de la longitud de la cola. (Fig. 4.21).

Fase 22. **PROCESO OSEO:** 1 entre los 45 y 47 días, el proceso de osificación se inicia en los arcos mandibulares, en la columna vertebral (cvc), en las costillas (cos), en el extremo caudal, en el entoplastrón (etp), y en el centro de los huesos húmero (hum), fíbula (fib), fémur (fem) y tibia (tib). (Fig. 4.22).

Fase 23. **PROCESO OSEO - 2:** con los 48 ó 49 días, el proceso óseo alcanza la bóveda cefálica (bce), el mesoplastrón (mep), las extremidades y la cola. (Fig. 4.23).

Fase 24. **PROCESO CORNEO:** entre el día 50 y 55, el embrión alcanza un grado de desarrollo en el cual el borde mandibular y el caparazón se cornifican, comenzando por los extremos hacia el centro; el proceso óseo se completa en la bóveda cefálica y en las falanges (fal) de los miembros. (Fig. 4.24).

Fase 25. **PIGMENTACION:** entre los 60 y 66 días, el embrión adquiere la pigmentación pardo-oscuro del caparazón y una coloración pardo-clara en la epidermis; al completarse el proceso óseo, el cuerpo adquiere mayor consistencia y la extensión palmar adquiere la configuración de garra. (Fig. 5.25).

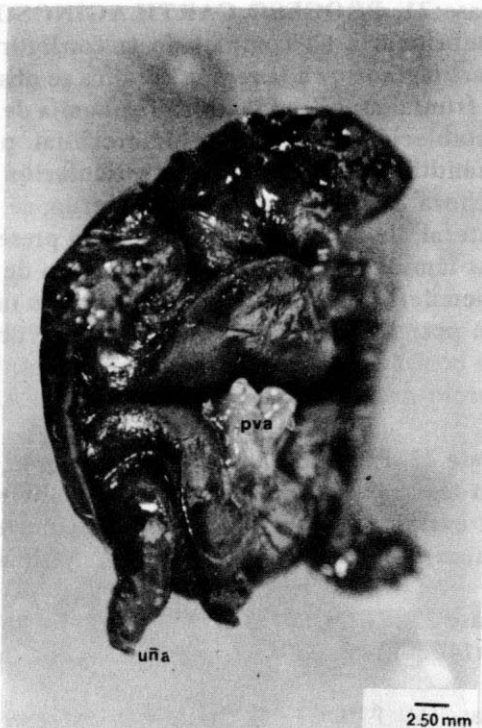
Fase 26. **RESORCION VITELINA:** desde los 70 a 80 días, el embrión presenta una carúncula rostral sobresaliente; se observan las uñas (uña), y los bordes de las láminas marginales del carapax aparecen con pigmentación amarilla. (Fig. 5.26).

Fase 27. **ECLOSION:** en los 85 días, el embrión ha desarrollado el patrón de manchas amarillas de la cabeza y del borde del caparazón; así mismo se desarrollan las escamas de las patas y éstas tienen una configuración de remos; a esta edad tiende a ocurrir la eclosión de neonatos con resorción de vitelo incompleta, y puede observarse el saco vitelino a nivel umbilical. A los 90 días ocurre la eclosión de neonatos con su agujero umbilical cerrado, la coloración del carapax gris-oscuro, la del plastrón gris-rosada y la de la piel, gris-clara, aunque más oscura en la región dorsal. (Fig. 5.27).

Fase 28. **NEONATO:** con 95 días, el neonato completa su embriogénesis; estando en el nido, busca la arena húmeda; pero si lo coloca en agua, se sumerge y busca las zonas de mayor temperatura y alejadas de la luz. El cráneo está cubierto por 6 pares de láminas córneas: prefrontales, premaxilares, postmaxilares, mandibulares,



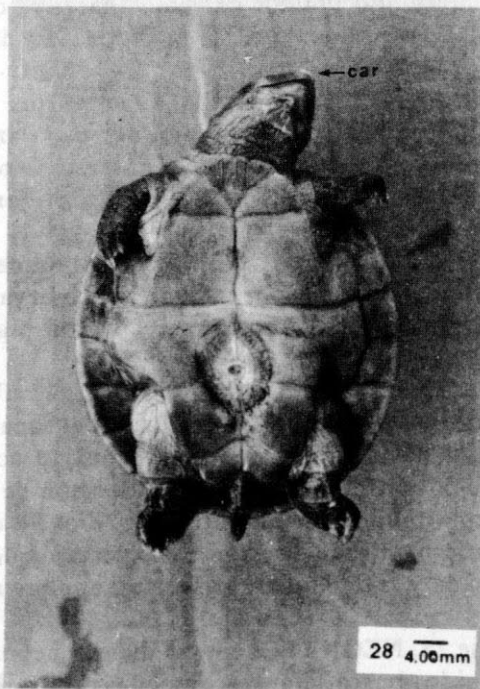
25 2.50mm



2.50 mm



27 10.00mm



28 4.00mm

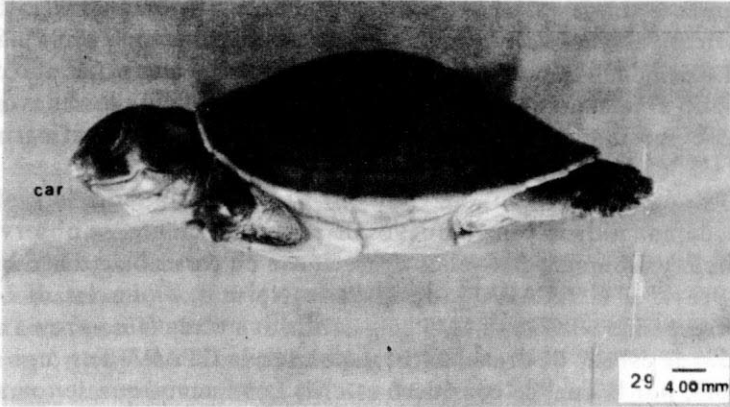


Fig. 5. Serie Normal del Desarrollo Embrionario de la Tortuga *Podocnemis unifilis* en las fases 25 a 28. car= carúncula rostral, uña= uñas

postfrontales y parietales, donde se observan manchas amarillas en diseños propios de la especie; las cavidades ópticas son elipsoides, recubiertas por un párpado carnoso; la pupila es negra y bordeada de un círculo amarillo, seguida del iris, área de coloración parda con punteaduras verde-iridiscentes; el cojín olfatorio cuadrangular presenta un vestigio de carúncula rostral (car) en el borde superior; la cavidad óptica tiene una configuración hexagonal; la altura del techo de la cabeza coincide con la distancia en la ventana nugal del caparazón; la longitud del cuello es la mitad de la longitud de la cabeza. El carapax es ovalado, con textura rugulosa, y está conformado por 12 láminas marginales (las posteriores más grandes), 5 láminas vertebrales y 8 láminas costales; entre la segunda y tercera vertebrales se presenta la quilla del caparazón. El plastrón está conformado por 13 láminas: una gular, 2 intergulares, 2 humerales, 2 pectorales, 2 abdominales, 2 femorales y 2 anales; la cicatriz del ombligo se encuentra entre las abdominales y femorales; la amplitud del caparazón a nivel pectoral es mayor que a nivel femoral, y la amplitud a nivel nugal es el doble que a nivel anal. El borde de las láminas marginales, el borde de las pectorales e inguinales del plastrón, presentan pigmentación amarilla. Los miembros anteriores tienen las garras más desarrolladas que los posteriores, y éstos más desarrollados los pliegues dérmicos, de los cuales el más distal tiene una serie de 7 escamas lenticulares. La cola presenta, dorsalmente, un par seriado de 11 a 13 escamas córneas, y ventralmente, una fila de 7 a 9, hasta el borde del poro cloacal. (Fig. 5.28 y 29).

El crecimiento alcanzado por cada uno de los embriones estudiados como Serie Normal, se muestra en la Fig. 6, así como la distribución puntual por edades de la longitud total del embrión y de la longitud, ancho y altura de la región que limita el carapax.

La información sobre el diámetro máximo y mínimo del huevo indica que estas variables están asociadas significativamente ($p=0,001$) con la variable peso del huevo ($r=0.71$ y $r=0.72$). La variable longitud mayor de la aureola está asociada

significativamente con la variable longitud total del embrión ($r=0.90$), y ésta última lo está significativamente con la variable alto del caparazón ($r=0.97$). Se encontró que no están asociados el tamaño y el peso del embrión, y que el tamaño del embrión no está asociado al tamaño del huevo. Aunque el peso total de los huevos en la capa inferior puede ser mayor, no se encontró una tendencia significativa sobre la distribución de los huevos en el nido.

Al disecar toda una nidada con 18 huevos de postura reciente, se observó que todos presentan vitelo y albúmen, 3 de ellos aparecieron en estadio de disco blastodermal (como fase previa a la ETAPA 1 de la Serie Normal), 7 en estadio de gástrula primaria (corresponde a la Etapa 1), 5 en gástrula avanzada (fase previa a la ETAPA 2), 2 en estadio de esbozo de órganos (corresponde a la ETAPA 2), y uno no presentó área embrional, por lo cual se consideró estéril. Los huevos que se tomaron para el ensayo de incubación al aire y en arena de "cantera", no presentaron embriogénesis, y los huevos restantes, incubados en arena de una playa de anidación, presentaron un desarrollo embrionario hasta la ETAPA 10 de la Serie Normal.

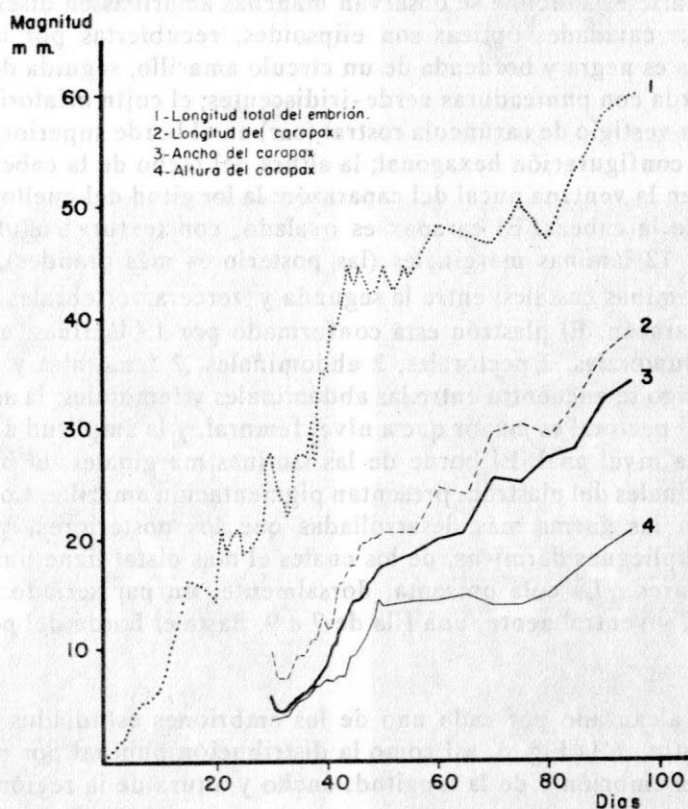


Figura 6 - Distribución del crecimiento alcanzado por los embriones de *Podocnemis unifilis* estudiados como Serie Normal.

Bajo condiciones de incubación silvestres, la embriogénesis de los huevos trasladados en bolsa plástica, presentó retraso en el curso del desarrollo, comparado con el de la Serie Normal, y embriones con igual edad incubatoria no presentaron equivalencia en sus estadios de desarrollo, con desfase de 4 a 14 días. Por el contrario, la embriogénesis en los huevos que no fueron trasladados, muestra equivalencia con el curso del desarrollo de la Serie Normal; sin embargo, en edades mayores de 20 días, se acelera el crecimiento.

En las playas de anidación, la embriogénesis se desarrolla en un ambiente de incubación determinado según los requisitos de la temperatura diaria (Fig. 9). El calor reinante en las playas de anidación tiene una distribución diaria monomodal, típica del comportamiento climático tropical, donde las máximas se alcanzan hacia las 14:00 horas, y las mínimas se presentan hacia las 5:00 horas. Los registros de la temperatura en el aire no superan los de la arena (min. 17°C. max 40°C.), y en las tres localidades visitadas, el promedio (26°C.) varía en menos de tres unidades. Los registros de la temperatura en la arena, muestran que las extremas se presentan en la superficie

Los promedios de 27.5, 28.5 30.5 y 30.5°C a 0, 10, 20 y 30 cm. de profundidad, respectivamente, muestran que la temperatura aumenta de 1 a 3 grados con la profundidad, y hacia los 25 cm. se presenta la menor oscilación diaria (24 a 34°C).

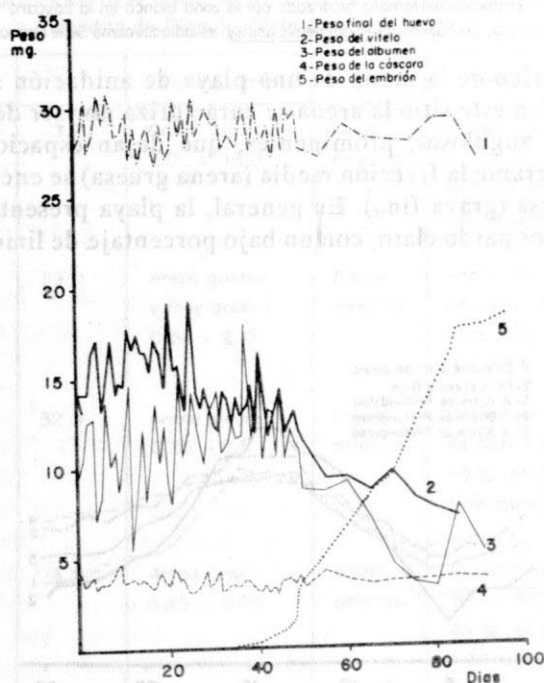


Figura 7 - Distribución del parámetro peso de los huevos y embriones de *Podocnemis unifilis* estudiados como Serie Normal.

Las playas de anidación visitadas, presentaron un grado de inclinación del 30%, y a una distancia de 5 m. desde el curso del río, el nivel freático se encuentra a un metro de profundidad; hacia el medio día, el contenido hídrico en la arena, donde se ubican los huevos (20 cm. de profundidad), fue de 75 cc por kilogramo de arena (medida que se puede reconocer mediante percepción al tacto).

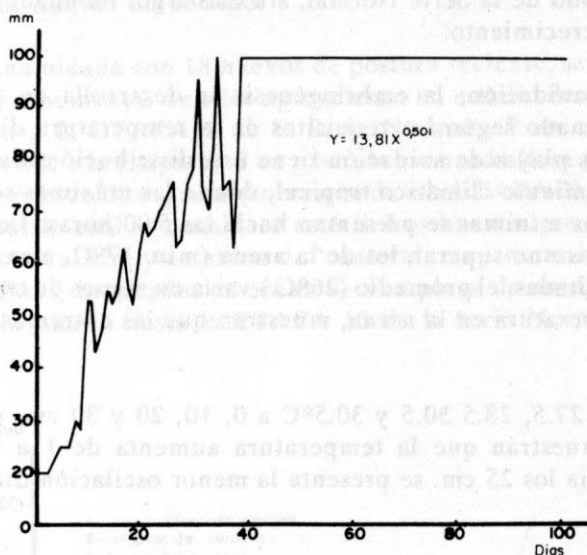


Fig. 8 - Distribución del tamaño alcanzado por la zona blanca en la cascara de cada uno de los huevos de *Podocnemis unifilis* estudiados como Serie Normal.

El análisis granulométrico de la arena de una playa de anidación se muestra en la Tabla 2, se indica que en este sitio la arena se caracteriza por ser de tipo inmadura, con granos de bordes angulosos, prominentes, que dejan espacios relativamente grandes entre grano y grano; la fracción media (arena gruesa) se encuentra en mayor porcentaje que la gruesa (grava fina). En general, la playa presentó arenas de tipo cuarcítica (80%) de color pardo claro, con un bajo porcentaje de limo y arcilla (20%).

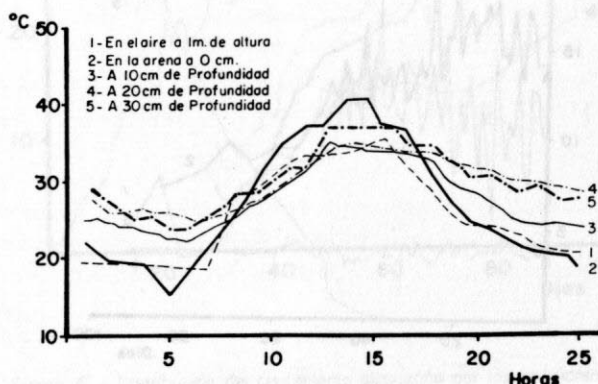


Figura 9 - Distribución de la temperatura promedio diaria en las playas de anidación de *Podocnemis unifilis*. Ríos Guejón, Ariari y Acacías.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

La Serie Normal embrionaria de *Podocnemis unifilis*, se realizó con muestras sin repeticiones de una población local, por lo cual estos resultados son útiles como patrón, haciendo la salvedad por variaciones en las tasas de crecimiento ocasionadas por la temperatura de incubación o por características de la especie asociadas a la distribución geográfica. Un muestreo estadísticamente significativo no es recomendable por cuanto sus poblaciones se encuentran en estado muy vulnerable (IUCN, 1982).

La correlación significativa entre el crecimiento de la zona blanca en la cáscara del huevo y la longitud total del embrión, ($Y=3,89 x + 0,35$), permite proponer un método en que, utilizando medidas de la aureola, éstas sean extrapoladas para determinar la posible etapa embrionaria, edad incubatoria, peso y tamaño del embrión. Este procedimiento es útil porque permite predecir externamente, tanto la embriogénesis como su edad, por ejemplo, en las tareas de monitoreo de nidadas resguardadas con fines de repoblamiento.

Los resultados sobre la sincronización de los grados de desarrollo advierten que en una nidada, el 38% de los embriones se encuentran en un mismo estadio de desarrollo, y el 60% en diferentes estadios. Esto puede obedecer a que el tracto

Tabla 2

Análisis granulométrico de la arena de anidación de *Podocnemis unifilis*, en el río Guejár, hacia la localidad de Piñalito, Meta, Colombia, 1987.

Fracción	%	Tamaño mm	Color	Composición lítica
GRUESA	3.8	Grava fina 2.0 - 16.0	Pardo amarilla	Granos mal seleccionados de cuarzo 80 %, fragmento lítico 10 % en conglomerado olomítico de grano subangular.
MEDIA	59.0	Arena gruesa y muy gruesa 0.5 - 2.0	Pardo amarilla	Granos de mediana selección de cuarzo 85 %, fragmento lítico 5 % en arena cuarcítica subangular.
MENOR	32.4	Arena media 0.25 - 0.5	Pardo amarilla	Granos con buena selección de cuarzo 90 %, feldespato 50 %, en arenita cuarcítica subangular.
FINA	4.8	Arena fina 0.25 - 0.05	Pardo amarilla	Granos con buena selección de cuarzo 80 %, limo y arcilla 20 %, en arena cuarcítica subangular.

oviductal en reptiles (Bellairs, 1968) presenta un epitelio estraficado columnar, en cuyas invaginaciones puede retenerse flúidos espermáticos, los cuales, por ejemplo, fecundarían gradualmente en *Podocnemis unifilis*, un promedio de veinte óvulos liberados para conformar una nidada.

La distribución de los huevos en tres capas dentro del nido (Medem, 1969), indica que en condiciones naturales, los embriones se incuban en un gradiente de temperatura proporcional a la profundidad; esto causa asincronía en los ritmos de crecimiento, y por lo tanto, sumado a las diferencias en los grados de desarrollo en la nidada, la eclosión de todos los huevos fértiles no ocurre simultáneamente. Puesto que en promedio, estas nidadas están conformadas por 20 huevos (Medem, 1964), al culminar el período de incubación se espera una eclosión sincronizada de 7 neonatos, y otra pausada de 12, en la que al menos un huevo resultaría estéril.

Comparando las curvas de crecimiento embrionario en las Series Normales de dos tortugas de agua dulce, *Podocnemis unifilis* y *Chrysemis picta bellii* (Mahmoud et. al., 1973) con dos tortugas marinas, *Chelonia mydas* (Gutiérrez, 1981) y *Lepidochelys olivácea* (Crastz, 1982), se encuentra que la duración del período de incubación tiende a ser mayor en especies dulceacuícolas que en marinas, y que los estadios se desarrollan en relación inversa con la duración del período de incubación; consecuentemente, la presencia de estructuras somáticas entre las especies es relativamente proporcional a los días de incubación. Este fenómeno puede obedecer a estrategias evolutivas de las especies, como adaptación de sus poblaciones a las condiciones del habitat.

Podocnemis unifilis es una especie estenoterma que requiere habitar zonas con temperaturas superiores a los 20°C, donde durante el período de sequía, las cuencas de los ríos dejan al descubierto playas de arena cuarcítica apropiadas para la anidación. Por otra parte, la alta evaporación diaria en estas playas con pendiente baja, composición de grano medio y grandes espacios intergranulares, mantienen el ascenso capilar desde el nivel freático, y a su vez, esta condición hace que la humedad del nido y la temperatura tiendan a permanecer más estables a la profundidad en que se encuentra el mayor número de huevos (20 a 26 cm), favoreciéndose así su desarrollo embrionario.

Características diferentes a las mencionadas, por ejemplo, huevos incubados a 30°C, al aire, y en arena de "cantera" no tuvieron éxito. Estos resultados sugieren que en tales medios se dificulta la difusión del oxígeno y del agua hacia el área embrionaria, impidiéndose el desarrollo terminal. Por el contrario, el diseño apergaminado de la cáscara calcárea, que semeja, en un plano, el diseño granular de la arena, es una adaptación estructural que facilita el intercambio con el medio externo, función importante para este tipo de huevos (no cleidoicos). Las características anteriores, tanto como la posición horizontal y de permanente quietud, en respuesta a la ausencia de chalazas en el huevo, son condiciones imprescindibles durante el período de incubación, debido a que pueden limitar el establecimiento de la polarización embrionaria y el éxito de su desarrollo.

Puesto que el período de anidación de *P. unifilis* va desde Perú (julio), a Venezuela (marzo), con una incubación que transcurre en tres meses, se entiende que la eclosión de neonatos ocurre a lo largo de todo el año.

En Colombia, de acuerdo con los informes de MEDEM (1964), la eclosión en el río Guayabero ocurre entre marzo y mayo; en el alto Caquetá, hacia febrero y marzo; en el bajo Caquetá, principalmente en enero; y en el Amazonas, entre octubre y diciembre.

El hecho de haber obtenido un 90% de fertilidad en los huevos seleccionados para realizar la Serie Normal, hace suponer alguna relación entre fertilidad vs. mayor peso y tamaño de los huevos, por cuanto los de menor peso y tamaño, destinados para el ensayo adicional de incubación, no tuvieron éxito. Igualmente, la fertilidad de los huevos favorece las tareas de resguardo de nidadas con fines de repoblamiento, las cuales deben emprenderse prioritariamente en las zonas donde la población humana explota este recurso.

BIBLIOGRAFIA

- AGASSIZ, L. 1857. Contributions to the history of the United States of America. Vols. 1,1 Boston: Litte, Brown.
- BELLAIRS, A. and. R. CARRINGTON 1968. The Word of reptiles. New York Elsevier.
- CRASTZ, F. 1982. Embryological Stages of the Marine Turtle *Lepidochelys olivace* (Eschschottz). Rev. Biol. Tropical 29: 113-120.
- DAWSON, A.B., 1926. A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with Alizarin red "S". Stain Technology, 1, 123.
- FOOTE, L. 1955. Nesting of *Podocnemis unifilis* (Testudines: Pelomedusidae) in the Colombian Amazon. Herpetologica 34 (4): 333-339.
- GUTIERREZ, O. 1981. Algunas observaciones sobre la incubación, anatomía y desarrollo embriológico de la Tortuga verde *Chelonia mydas*. Tesis de Grado en Biología, Universidad de Costa Rica.
- MAHMOUND, I.Y., G.L. HESS, and J. KLIKA 1973. Normal embryonic Stages of the western painted Turtle *Chrysemys picta belli*. j. Morphol. 141: 269-279.
- MEDEM, F. 1964. Morphologie, Oecologie und Verbreitung der Schildkröte *Podocnemis unifilis* in Kolumbien (Testudinata, Pelomedusidae). Senckenb. Biol. 45: 353-368.
- MEDEM, F. 1969. Estudios adicionales sobre Crocodylia y Testudinata del Alto Caquetá y Rio Cagua. Caudasia, 10: 329.
- MITSUKURI, K. 1893. Further studies on the Formation of the germinal layers in *Chelonia*. J. Coll. Sci. Imp. Univ. Tokyo. 5: 35-52.
- MITSUKURI, K. 1894. On the process of gastrulation in *Chelonia*. J. Coll. Sci. Imp. Univ. Tokyo. 6: 227-227.
- MONDOLFI, E. 1955. Anotaciones sobre la biología de tres quelonios de Venezuela. Mem. Soc. Cien. Nat. La SALLE (Caracas) 45: 177-188.
- PRITCHARD, P. Ch. 1984. Turtles of Venezuela. TFH Publications, Neptune, New Jersey, pp: 35-73.
- SOINI, P. 1982. Ecología reproductiva de la Taricaya (*Podocnemis unifilis*) y sus implicaciones en el manejo de la especie. Informe de Pacaya No. 3 Ministerio de Agricultura, Dirección Forestal y de Fauna. Iquitos, Perú.
- VANZOLINI, P. 1977. A Brief Biometrical Note on the reproductive Biology of some South American *Podocnemis* (Testudinata, Pelomedusidae). Papeis Avulsus Zool. (Sao Paulo) 81 (5): 79-102.
- YNTEMA, C.L. 1960. Effects of various temperatures on the embryonic development of *Chelydra serpentina*, Anat. Rec. 136: 305-316.
- YNTEMA, C.L. 1968. A Serie of Stages in the Embryonic Development of *Chelydra Serpentina*. J. Morphol. 125: 219-252.