

Tesis de Licenciatura

Efecto de la humedad del sustrato sobre el éxito en la incubación de los huevos de la Iguana Colorada (*Tupinambis rufescens*: Squamata, Teiidae)

Menéndez, Analía I.

1997

Tesis presentada para obtener el grado de Licenciado en Ciencias Biológicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis de licenciatura de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the Six-Year Bachelor's Theses Collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Menéndez, Analía I.. (1997). Efecto de la humedad del sustrato sobre el éxito en la incubación de los huevos de la Iguana Colorada (*Tupinambis rufescens*: Squamata, Teiidae). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

http://hdl.handle.net/20.500.12110/seminario_nBIO000516_Menendez

Cita tipo Chicago:

Menéndez, Analía I.. "Efecto de la humedad del sustrato sobre el éxito en la incubación de los huevos de la Iguana Colorada (*Tupinambis rufescens*: Squamata, Teiidae)". Tesis de Licenciado. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1997.

http://hdl.handle.net/20.500.12110/seminario_nBIO000516_Menendez

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
Departamento de Ciencias Biológicas

Tesis de Licenciatura

**“EFECTO DE LA HUMEDAD DEL SUSTRATO SOBRE EL EXITO EN LA
INCUBACION DE LOS HUEVOS DE LA ‘IGUANA COLORADA’**

(*Tupinambis rufescens*: SQUAMATA, TEIIDAE).

Autor: Analía I. Menéndez
Director: Lic. Manuel Quintana
Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia”
Agosto de 1997

INDICE

Pág.

Resumen	1
Introducción	2
Materiales y Métodos	5
Resultados	
Efectos del grado de humedad sobre los huevos	8
Consecuencias sobre los neonatos	14
Discusión	
El flujo de agua	22
Tiempo de incubación y peso de los neonatos	22
Peso de los neonatos como valor indicativo	23
Capacidad de absorción y efectos de la humedad sobre los huevos	23
Vitelo residual	25
Afección por hongos	25
Efecto del grado de humedad sobre los embriones	25
Eficiencia de la incubación	26
Parámetros que no se vieron afectados	27
Conclusiones	28
Bibliografía	29

RESUMEN

Los huevos de *Tupinambis rufescens* “iguana colorada” no son estrictamente cleidoicos (permite el intercambio gaseoso y la menor pérdida o ganancia de agua) y el desarrollo del embrión depende de la temperatura, de la tensión de oxígeno y de la incorporación dinámica de agua (gaseosa y líquida) desde el medio exterior a través de la cáscara flexible. La hembra de *T. rufescens* aporta al embrión en cada huevo sólo una fracción del agua necesaria para el completo desarrollo, por ello la incorporación de agua desde el medio es de vital importancia.

La etapa de incubación de los huevos es la más vulnerable del ciclo de vida de estos individuos, mayormente en ambientes inestables debido a la acción de los factores abióticos.

Por medio de la incubación artificial de las posturas producidas por un plantel de lagartos en cautiverio en el MACN se pudo concretar el objetivo de conocer los efectos, a través de los parámetros asociados con el éxito de la incubación, de diferentes disponibilidades de agua en el sustrato (constantes a lo larga de toda la incubación) y cuando la temperatura permanecía fija en un valor óptimo ($29\pm 1^{\circ}\text{C}$).

Resultó notable el desarrollo a término de embriones en condiciones donde el potencial agua del sustrato era extremadamente bajo. Aún cuando el huevo no incorporó agua desde el medio se completó la formación del embrión, a pesar de originar individuos de reducido tamaño. Por el contrario, cuando el potencial agua fue alto acarrea problemas de contaminaciones fúngicas, perforaciones en la superficie del huevo, casos en que no se completó la formación del embrión, un aumento de la mortalidad y una menor proporción de las eclosiones normales o espontáneas.

Podemos decir entonces, que parece mas tolerable un valor medio a bajo de agua disponible que uno en exceso.

INTRODUCCION

El género *Tupinambis* es de distribución neotropical y comprenden a los téiidos más grandes y de dieta más variada (Milstead 1961, Presch 1973, en Quintana 1991). Se trata de lagartos ovíparos, sexualmente dimórficos y de compleja etología que han colonizado una amplia diversidad de ambientes y climas. Otras de sus características son: madurez sexual tardía y vida reproductiva extensa con una única puesta al año.

Los individuos de esta familia construyen los nidos específicamente para sus huevos excavando un túnel en ángulo dentro del suelo (en Packard 1988).

Tupimanbis rufescens es un lagarto de zonas semiáridas, ambientes muy inestables semi-desérticos que imponen condiciones muy rigurosas a su reproducción.

Se encuentra en Bolivia, Paraguay y Argentina, donde debido al valor de su piel, soportan una presión de caza sostenida e indiscriminada siendo objeto de exportación de cueros curtidos (Quintana 1996).

El número de huevos por puesta abarca un rango amplio y la hembra manifiesta cierto grado de cuidado parental. Estos reptiles se reproducen a comienzos de la primavera cuando se produce la cópula y a finales del verano acumulan reservas energéticas para la subsiguiente recrudescencia gonadal y para el mantenimiento del metabolismo basal en invierno.

Como en otros animales (ej. aves e insectos) los huevos de *Tupinambis* están envueltos por una cáscara protectora que los aísla de su entorno y permite el intercambio gaseoso y la menor pérdida o ganancia de agua, estos huevos reciben el nombre de cleidoicos. En los casos donde los huevos tienen una cáscara permeable que permite el intercambio de agua los huevos no son cleidoicos.

Como es general entre los Squamata, los huevos de *Tupinambis* no son estrictamente cleidoicos, la cáscara es flexible y permite un intercambio substancial de agua y gases respiratorios entre el embrión y el ambiente del nido. Absorben agua a través de la cáscara que está en contacto con el substrato y simultáneamente pierden agua en forma de vapor que eventualmente se condensa en la parte de la cáscara expuesta a la cámara de aire dentro del nido. El desarrollo del embrión depende tanto de la temperatura y de una adecuada tensión de oxígeno como de la incorporación dinámica de agua (gaseosa y líquida) desde el medio externo

Es por esto que el huevo se considera la etapa mas vulnerable del ciclo de vida en ambientes inestables, debido a factores abióticos.

Algunos autores han señalado grandes cantidades de albumen en los huevos de los Squamata, como un importante reservorio de agua cuando ya ha avanzado bastante la incubación. Sin embargo, según Packard los huevos de los Squamata carecen de una capa diferenciada de albumen en el momento de la oviposición; esta fracción sería material del saco del alantoides. Este saco durante la incubación, aumenta de tamaño debido a la acumulación de un fluido claro y semigelatinoso que es liberado cuando se produce alguna ruptura en la superficie de la cáscara del huevo, lo que fácilmente puede ser confundido por albumen. La ausencia de una capa de albumen en los huevos de estos lepidosaurios se ha tomado para indicar que no contienen el agua suficiente, al momento de la oviposición, como para sustentar al embrión hasta el momento de la eclosión (Packard 1988).

Según nuestras propias observaciones en *Tupinambis*, el interior del huevo parece completamente ocupado por el vitelo al momento de la puesta, sin que se diferencie ninguna sustancia albuminoide. Este vitelo provee al embrión todos los nutrientes requeridos en el desarrollo. Además todo el agua conferida al huevo por la hembra para sustentar la embriogénesis se encuentra en este compartimiento, como así también la mayor parte del calcio requerido para la osificación esquelética (una parte minoritaria derivaría de la cáscara, que por cierto está pobremente calcificada).

A medida que transcurre la incubación se incrementa la masa de los huevos ya que la hembra aporta al embrión, en cada huevo, sólo una fracción del agua requerida, siendo insuficiente para el completo desarrollo. Esta fracción de agua corresponde al 60% del peso total del huevo al momento de la puesta, Packard (1988) hace referencia a este tema sobre la familia de esta especie. Por ello la incorporación de agua desde el substrato del nido y en el transcurso de la incubación determina que, en condiciones favorables, el peso inicial de cada huevo se incremente en un 85% (Quintana inédito).

Varios factores actúan afectando la temperatura en el nido. Por ejemplo, el incremento de la profundidad hace que la amplitud de los ciclos de temperatura disminuya (Carson y Moses, 1963 en Packard 1988). También son importantes la textura, composición y contenido

de agua en el suelo (Marshal y Holmes, 1979; Taylor y Ashcroft, 1972 en Packard 1988). Muchos estudios han caracterizado la tolerancia térmica en el desarrollo embrionario de los reptiles en laboratorio. Se encontró que en general los embriones tienen menor tolerancia a las altas temperaturas que los individuos adultos. El metabolismo embrionario de los reptiles se correlaciona positivamente con la temperatura: su desarrollo es más rápido en ambientes más cálidos (Dodge et al., 1978; Legler, 1960; en Packard). El desarrollo rápido, con un menor período, y la temprana finalización de la incubación está expresando altas tasas metabólicas. Otro efecto de la temperatura se manifiesta en la relación que guardan el tamaño y peso del neonato con el peso residual del vitelo al cabo de la incubación, en los casos en que la temperatura es más alta el peso del cuerpo del neonato es menor.

Conociendo el efecto de la temperatura sobre la incubación se quiso estudiar el posible efecto que acarrearían diferentes condiciones de humedad, dado que a las condiciones térmicas del ambiente en el momento de la puesta se le suma la imprescindible disponibilidad de agua en cantidades adecuadas para cada fase del período de incubación. A través de la incubación artificial reiterada en años sucesivos de las posturas producidas por un plantel de lagartos en cautiverio en el MACN, se ha podido establecer en $29\pm 1^{\circ}\text{C}$ la óptima térmica, cuando el potencial agua del lecho de incubación se mantiene constante (y en un valor adecuado) a lo largo de todo el proceso.

El objetivo de este trabajo consiste en conocer los efectos de diferentes disponibilidades de agua en el substrato (constantes a lo largo de la incubación) cuando la temperatura permanece fija en un valor conveniente, a través de los parámetros asociados con el éxito de la incubación de los huevos de la "iguana colorada", *T. rufescens*.

Se pretende establecer cual es el valor óptimo de potencial agua en el lecho de incubación para un valor fijo de temperatura, cuya adecuación se determinó anteriormente.

MATERIALES Y METODOS

Los lechos de incubación consistieron en 5 cajas de material plástico (volumen interior: $0,0090475 \text{ m}^3 = 9,0475$ litros) con tapa hermética, con una cantidad fija de vermiculita. Del volumen interior de la caja, el lecho con los huevos ocupa menos de la mitad, con lo que se asegura una cámara de aire conveniente para el normal intercambio respiratorio.

Diferentes cantidades de agua destilada fueron añadidas a la vermiculita en cada caja para producir un rango en los valores correspondientes de potencial agua en este substrato, según las curvas de calibración disponibles en bibliografía para potencial agua en este substrato, oscilan entre -140 y -750 kilopascales (Tracy y Packard 1978).

Los huevos utilizados fueron depuestos en el lacertario experimental del MACN por adultos de *T. rufescens* mantenidos allí en cautividad. Estos adultos tienen su origen en huevos obtenidos de la naturaleza en diciembre de 1991 (en proximidades de Nueva Esperanza, provincia de Santiago del Estero y con la debida autorización de la Dirección provincial de Fauna). Esos huevos fueron incubados artificialmente en el MACN.

Hembras de *T. rufescens* con signos de puesta inminente en los recintos experimentales del MACN fueron transferidas al laboratorio para un mejor control y fueron ubicadas en cajones individuales. Las puestas ocurrieron en noviembre y diciembre de 1995.

Los huevos se pesaron dentro de las 24 horas luego de la puesta para disponer de sus valores iniciales y fueron rotulados individualmente.

Se emplearon las puestas de cinco hembras (integradas por 29, 29, 31, 43 y 35 huevos respectivamente). De cada postura se tomaron al azar 20 huevos y se los ordenó de mayor a menor según el peso, para luego disponerlos en 4 grupos: (1) 1° - 5°

(2) 6° - 10°

(3) 11° - 15°

(4) 16° - 20°

Fueron construídos 5 lechos de incubación similares, que sólo difirieron en la cantidad de agua incorporada. Un huevo de cada uno de estos grupos fue destinado a un lecho diferente, al azar y así sucesivamente con todos los huevos, resultando 20 huevos en cada caja, cuatro

huevos de cada hembra y de diferentes grupos según peso. Los mismos fueron enterrados hasta la mitad en el substrato (vermiculita) de cada caja, simulando las condiciones de los nidos naturales. Un ANOVA de un factor fue utilizado para testear que la distribución de los huevos halla sido aleatoria.

Cajas	vermiculita seca (g)	agua destilada(ml)	agua/vermicul.	potencial agua (kPa)
1	600	120	0.2	-750
2	600	300	0.5	-350
3	600	480	0.8	-200
4	600	660	1.1	-160
5	600	840	1.4	-140

Estos “nidos” se ubicaron en una cámara de incubación (provista de calefactor, termostato y circulador de aire) a una temperatura constante, para minimizar el efecto de la temperatura en este análisis, de $29\pm 1^{\circ}\text{C}$. Este valor se demostró conveniente en experiencias previas.

La rutina de control experimental se describe a continuación:

Periódicamente, antes de sacar las cajas de la cámara de incubación, se registró la temperatura de ese momento, la máxima y la mínima alcanzadas desde el registro anterior y se restaba el reloj.

Las cajas fueron abiertas, retirándose cada huevo previo pincelado para restituir al lecho la vermiculita adherida, se determinó el peso de cada uno mediante una balanza electrónica, con precisión de 0.1 gr. Luego se pesó la caja con el substrato húmedo y se repuso el agua perdida (~ transferida a los huevos), incorporando agua destilada en la cantidad necesaria. Se restablece de esta manera el peso original del sistema (caja + vermiculita + agua). Los huevos, ya pesados, fueron devueltos a su caja, a ésta se le colocó la tapa y se la reubicó en la cámara térmica. Este procedimiento se reiteró cada 7 días hasta el momento de la eclosión.

Además, la vermiculita fue totalmente reemplazada aproximadamente en la mitad del período de incubación para eliminar la posibilidad de algún cambio significativo en el potencial

agua, evitando de este modo errores en la cantidad de agua a ser agregada periódicamente a la vermiculita (Tracy et al.1980).

El tamaño y vitalidad del embrión se monitoreó mediante un ovoscopio (transiluminador) y se examinó asimismo la superficie exterior de los huevos mediante una lámpara UV para detectar la presencia de colonias de microorganismos sobre la cáscara. En caso de encontrar afección del embrión por causa de los microorganismos, el huevo era descartado del tratamiento.

Es indispensable vincular inequívocamente huevo y neonato, es decir, saber de que huevo proviene cada juvenil. Con este objeto, en el momento en que comenzaron las eclosiones, los huevos en cada caja fueron aislados entre si, mediante separadores de material plástico.

Para analizar el éxito de la incubación bajo los distintos regímenes de humedad se estudiaron diferentes parámetros, a saber:

- 1. peso de los neonatos
- 2. longitud hocico-cloaca (LHC)
- 3. longitud total (LT)
- 4. tiempo de incubación de cada huevo
- 5. modo de eclosión
- 6. vitalidad de los neonatos
- 7. proporción de ejemplares mal formados

La cantidad del vitelo remanente es un buen indicador de la “eficiencia de la incubación”. Por eso apenas eclosionado se extrajo de cada huevo el vitelo residual. Este se pesó sobre papel de filtro y fue pesado (peso húmedo), luego se secó en estufa a 70°C durante dos días (peso seco); utilizándose una balanza electrónica digital, con una precisión de 0.1 mg. (el peso del papel filtro fue restado del total para precisar el valor del peso del vitelo).

RESULTADOS

Previo a otras consideraciones se examinó estadísticamente que la distribución de los huevos en las diferentes cajas haya sido aleatoria. El Análisis de Varianza ($P = 0.986$) no acusó diferencias significativas en el peso inicial de los huevos dispuestos en las distintas cajas.

Efectos del grado de humedad sobre los huevos

En la caja n° 1, en el registro 2, se observó que todos los huevos estaban colapsados y con un peso menor que el original, a su vez aumentó el contenido de agua en el substrato. Recién en el registro 6 los huevos comenzaron a recuperar peso, pero a finales de la incubación vuelven a caer en valores inferiores a los originales hasta el momento de la eclosión (Fig.1a-b).

En la caja n° 2 el peso de los huevos aumentó en forma moderada y sostenida hasta el registro 11, luego disminuyó hasta el momento de la eclosión (Fig.2a-b). Se encontraron siete huevos perforados y con pérdida de alantoides cerca del registro 10. No hubo problemas de hongos en esta caja al igual que en la caja n° 1 (Tabla 1).

En la caja n° 3 los huevos aumentaron de peso de un modo parecido al de la caja 2 hasta los registros 11 y 12 decayendo luego hasta el momento de la eclosión, manteniéndose por arriba de los valores originales (Fig.3a-b). Durante los primeros registros se vieron afectados cuatro huevos por los hongos, debiéndose posteriormente descartarlos de la experiencia. A partir del registro 9 comenzaron a producirse las perforaciones y pérdida de alantoides, resultando en un total de cuatro huevos perforados.

En la caja n° 4 los huevos aumentaron marcadamente de peso (Fig.4a-b) y a partir del registro 10 se encontraron huevos perforados alcanzando un total de ocho huevos, con pérdida de alantoides y algunos casos con hongos.

En la caja n° 5 los huevos alcanzaron los mayores pesos, cayendo abruptamente en el último registro (Fig.5a-b), a partir del registro 10 se produjeron las perforaciones y una gran proporción de huevos se contaminaron (Tabla 1).

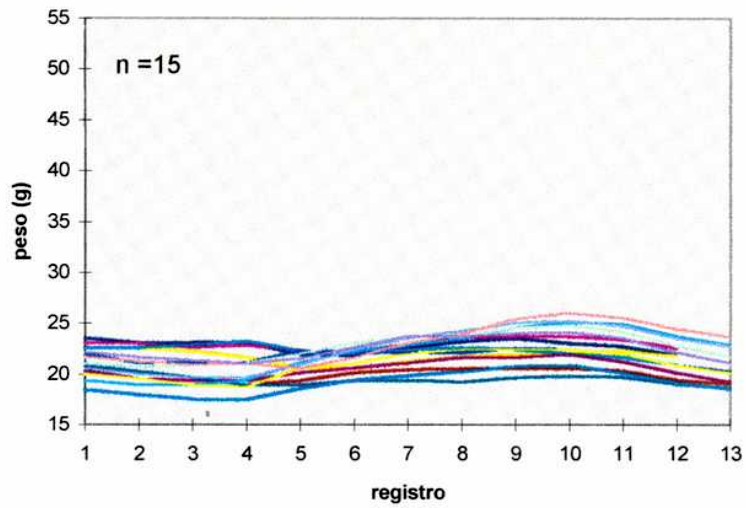


Fig.1a: peso de cada huevo registrado a lo largo de la incubación en la caja 1 (-750 kPa).

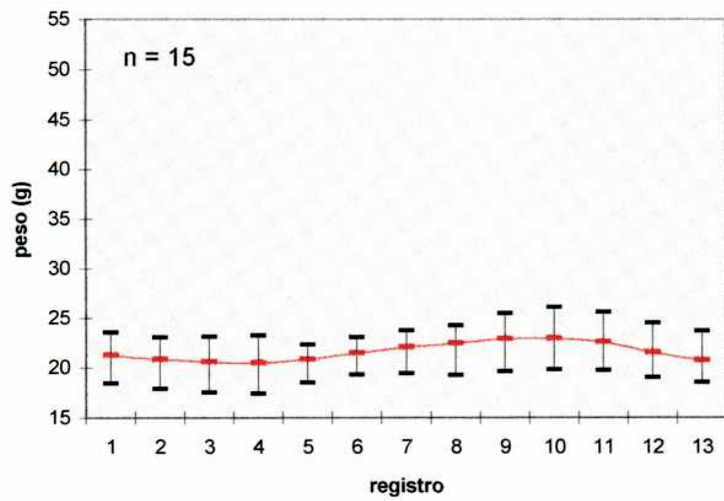


Fig.1b: peso máx., mín.y promedio de los huevos a lo largo de la incubación en la caja 1 (-750 kPa).

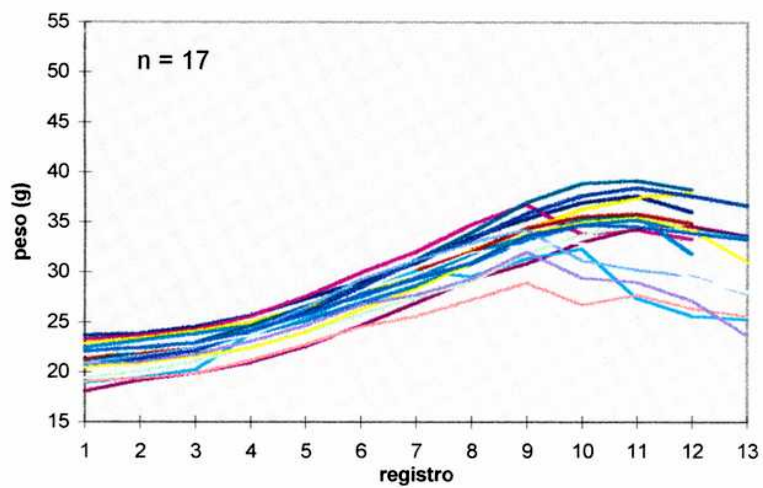


Fig.2a: peso de cada huevo a lo largo de la incubación en la **caja 2** (-350 kPa).

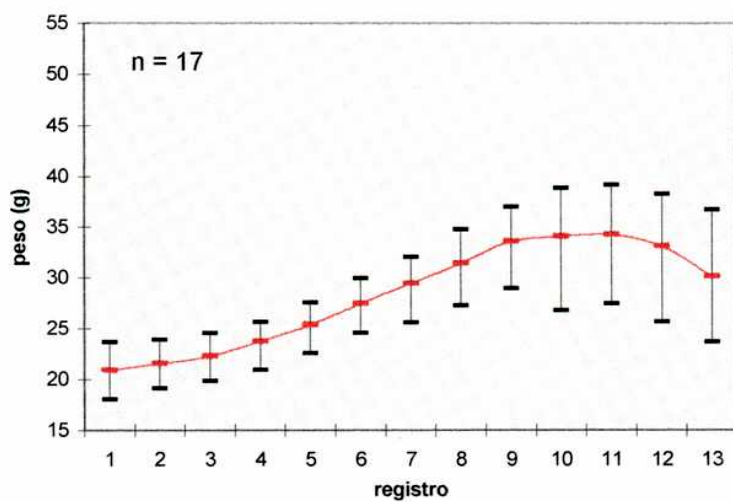


Fig.2b: peso máx., mín.y promedio de los huevos a lo largo de la incubación en la **caja 2** (-350 kPa).

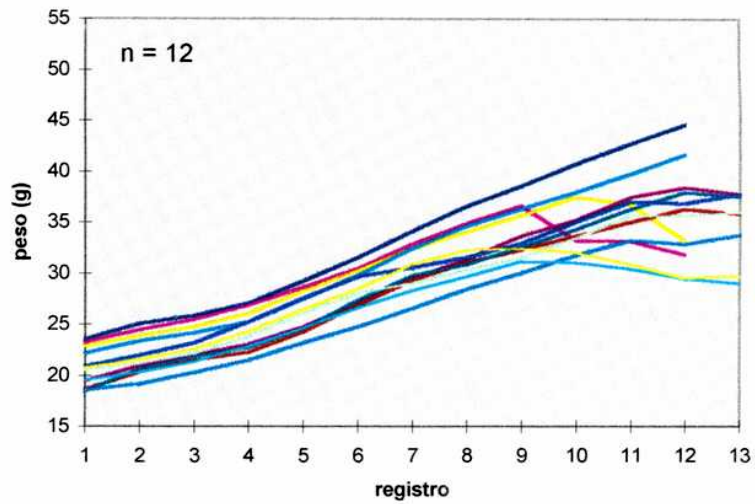


Fig.3a: peso de cada huevo a lo largo de la incubación en la **caja 3** (-200kPa).

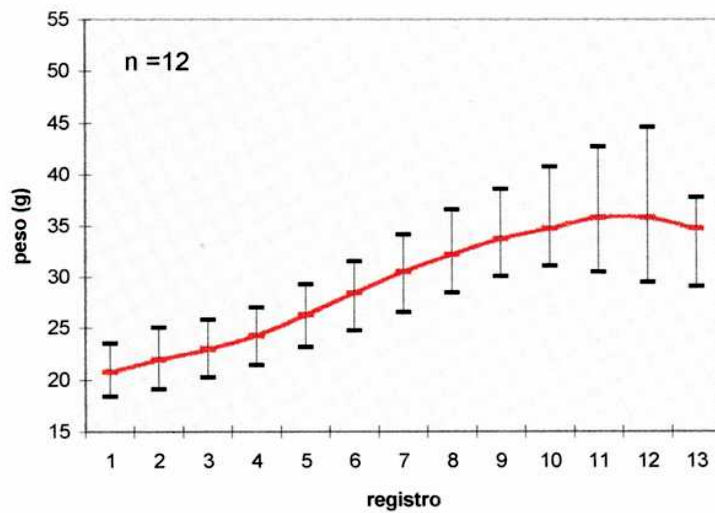


Fig.3b: peso máx., mín.y promedio de los huevos a lo largo de la incubación en la **caja 3** (-200 kPa).

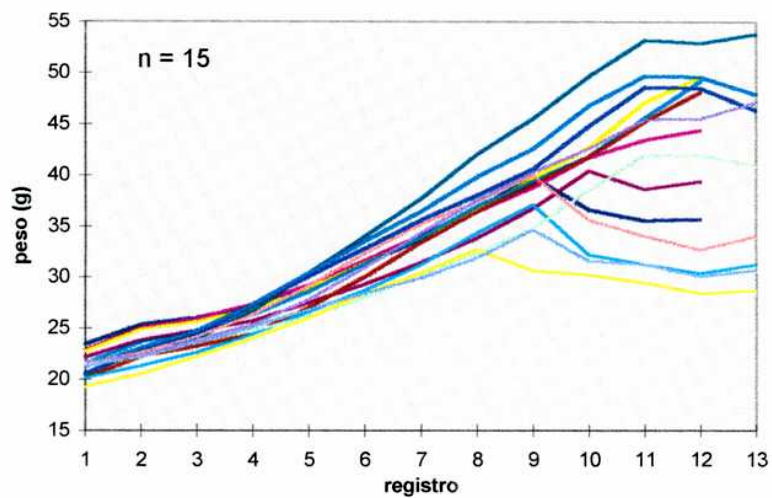


Fig.4a: peso de cada huevo registrado a lo largo de la incubación en la **caja 4** (-160).

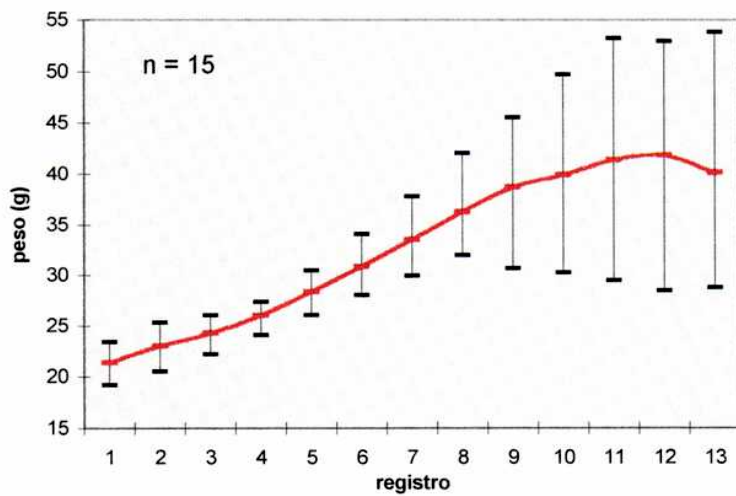


Fig.4b: peso máx., mín.y promedio de los huevos a lo largo de la incubación en la **caja 4** (-160).

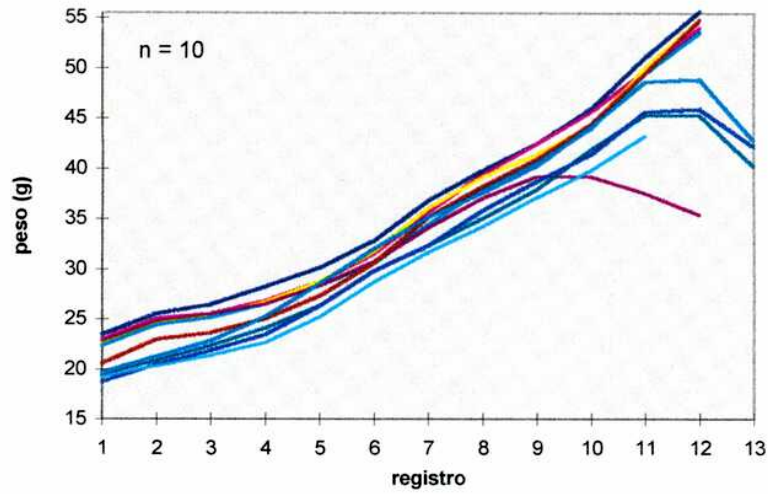


Fig.5a: peso de cada huevo registrado a lo largo de la incubación en la **caja 5** (-140).

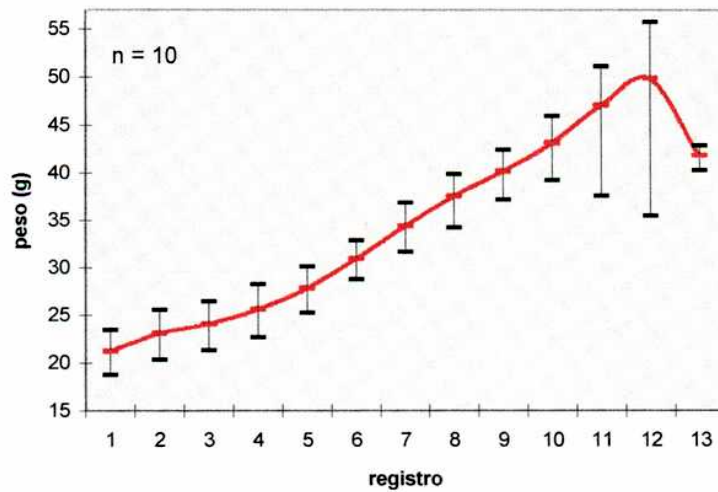


Fig.5b: peso máx., mín.y promedio de los huevos a lo largo de la incubación en la **caja 5** (-140).

El momento de la incubación en el que comenzaron a producirse las perforaciones es el mismo para todas las humedades en donde esto ocurrió. En la caja n° 2, 4 y 5 se observaron en el registro 10 y en la caja n° 3 en el registro 9.

En la figura 6 se pueden observar las curvas promedio de las cinco cajas en forma comparativa. El peso de los huevos de todas las cajas aumentó a lo largo de la incubación, con excepción de la caja con menor disponibilidad de agua.

Se observó que la caja n° 1 difiere en forma significativa del resto de las cajas en el peso final de los huevos ($P < 0.001$) así también la caja 2 difiere en forma significativa de las cajas 4 ($P < 0.002$) y 5 ($P < 0.001$) y la caja 3 de la número 5 ($P = 0.013$). Si se comparan de manera agrupada las cajas 2 y 3 con las cajas 4 y 5 resulta en una diferencia significativa ($P < 0.001$).

La tendencia general del peso de los huevos es aumentar con la disponibilidad de agua, se observa que los pesos finales son mayores a medida que la disponibilidad de agua se incrementa desde la caja 1 a la 5 (Fig.7).

Consecuencias sobre los neonatos

El tiempo de incubación no guarda relación con los diferentes grados de humedad oscilando entre 75 y 82 días para cualquiera de ellos, en condiciones de temperatura constante durante toda la experiencia.

En la caja n° 1 (-750 kPa), los huevos se colapsaron y la consecuencia de esto en algunos de los neonatos, fueron anomalías físicas en detrimento de la supervivencia. También se encontraron deformaciones físicas en algunos de los neonatos de la caja con mayor humedad (-140 kPa), (Tabla 2).

El peso de los neonatos no está relacionado con la cantidad de agua absorbida por sus respectivos huevos durante la incubación (Fig.8). Sin embargo, el peso de los juveniles a término (vivos y muertos) de la caja n° 2 difiere significativamente de los de las caja n° 1 y n° 3 ($P < 0.001$), pero no se observaron diferencias significativas entre el peso de los neonatos de los tratamientos de los ejemplares de cada caja con respecto a la que precede y a la siguiente en términos de humedad. En el caso del peso de los nacidos, se mantiene la diferencia significativa

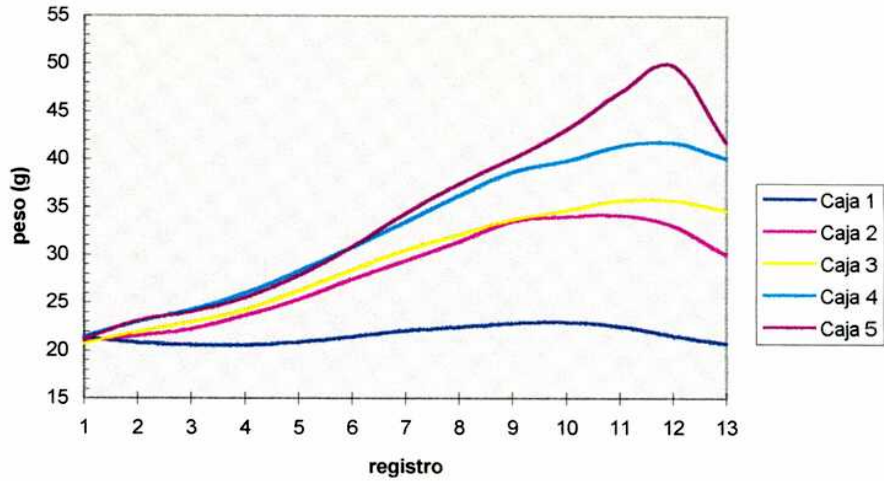


Fig.6: variación del peso (promedio) del huevo en el curso de la incubación en las 5 cajas experim

PROMEDIOS	Caja 1	Caja 2	Caja 3	Caja 4	Caja 5
21.24	20.826667	20.6667	21.34	21.13	
20.78	21.466667	21.85	22.98	23	
20.546667	22.2	22.858333	24.19333	23.95	
20.473333	23.62	24.18333	25.92	25.5	
20.833333	25.3	26.208333	28.24667	27.77	
21.4	27.4	28.35	30.79333	30.82	
22.02667	29.34	30.43333	33.41333	34.33	
22.40667	31.326667	32.075	36.17333	37.42	
22.813333	33.506667	33.6083	38.633	40.06	
22.92	33.993333	34.616667	39.8	43.08	
22.52	34.13333	35.658333	41.33333	47	
21.506667	33.026667	35.658333	41.76	49.822	
20.68182	30	34.6375	40.06667	41.73	

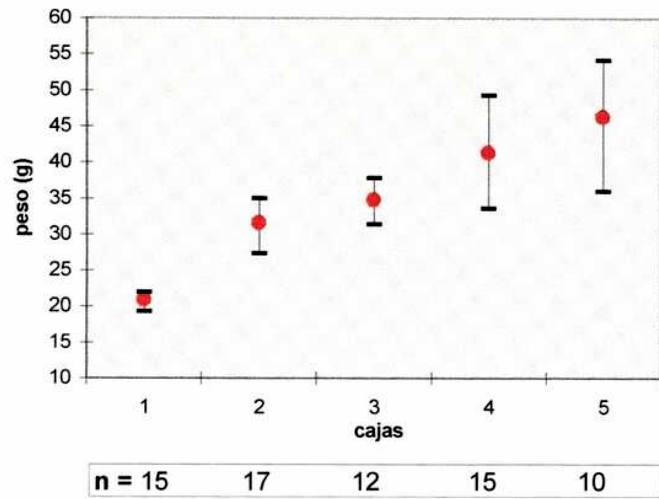


Fig.7: peso final de los huevos

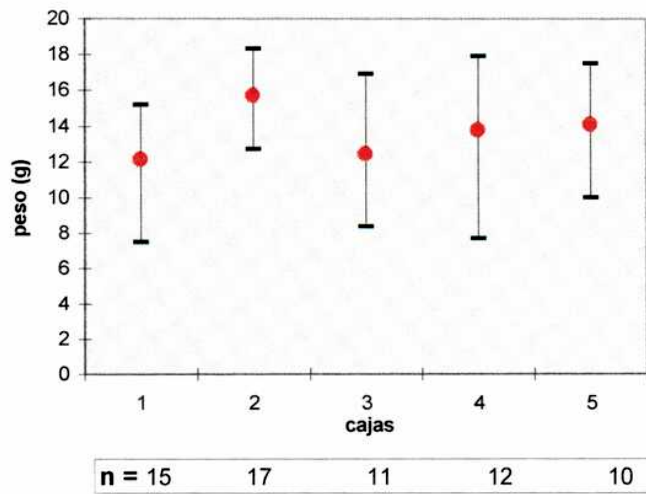


Fig.8: peso de neonatos (vivos y muertos)

de la caja nº 2 con respecto a la nº 1 y la nº 3, (Fig.9), sin observarse nuevamente, diferencias significativas entre los individuos de los tratamientos restantes de a pares contiguos.

En el peso seco del vitelo residual de cada caja (Fig.10) se puede observar una relación complementaria con el peso de los neonatos, explicado de otra manera, cuando el peso del neonato es mayor, la cantidad de vitelo residual correspondiente a dicha humedad es menor.

Se calculó un índice de eficiencia de la incubación dado por el cociente entre el peso de los juveniles que llegaron a término y el peso seco del vitelo residual de los huevos correspondientes. Los valores hallados, en orden de magnitud son: 30.03 (caja 2), 16.86 (caja 4), 15.12 (caja 5), 9.05 (caja 1) y 8.62 (caja 3), (Fig.11).

La relación entre el peso de los neonatos y el peso inicial de cada huevo correspondiente, se estudió a través de técnicas de regresión funcional (método del eje mayor, regresión modelo II). No se halló relación significativa entre las dos variables ($r = 0.15$).

Se estudió la relación funcional de las tres variables morfométricas principales: longitud hocico-cloaca (LHC), longitud total (LT) en mm. y peso en gr. para el total de los neonatos.

Se observó que existe una correlación positiva entre LHC y el peso de los neonatos ($r = 0.78$), entre el largo total LT y el peso de los neonatos ($r = 0.82$), y por último entre LHC y LT ($r = 0.93$), utilizando la prueba estadística anteriormente mencionada.

Los valores de LHC y peso de los neonatos en cada tratamiento individual no están correlacionados ($\alpha: 0.05$).

El momento de la incubación en el que comenzaron a producirse las perforaciones es el mismo para todas las humedades en donde esto ocurrió. En la caja nº 2, 4 y 5 se observaron en el registro 10 y en la caja nº 3 en el registro 9.

Las tablas 1 y 2 muestran los resultados de forma cuantitativa para las cinco cajas de incubación:

Tabla1

CAJAS (N=20)	Periodo de incubación (días)	Afectados por hongos (n° huevos)	Perforados (n° huevos)	Peso Max. promedio (g)	Variación en peso (%)	
					max	min
1	76 - 81	0	0	22.92	30.05	-4.81
2	75 - 82	0	7	34.13	92.2	51.6
3	77 - 82	4	4	35.66	105.98	56.52
4	77 - 81	4	8	41.76	163.72	59.37
5	77 - 80	7	2	49.82	167.32	63.68

Tabla2.

CAJAS (N=20)	Mortalidad Total	Eclosiones normales	No nacidos espontáneamente (embriones a término*)		Malformados (n° indiv.)	Vitelo residual (g)	Peso de Neonatos (g)	
			vivos	muerdos			peso seco	promedio
1	0.30	0.45	0.25	0.05	2 (0.10)	1.64	12.70	7.5 - 15.2
2	0.25	0.75	0.00	0.10	0 (0.00)	0.80	15.61	12.7 - 17.9
3	0.75	0.20	0.05	0.30	3 (0.15)	2.03	12.42	12.0 - 14.4
4	0.60	0.35	0.15	0.25	2 (0.10)	1.21	14.00	9.9 - 17.9
5	0.80	0.15	0.05	0.30	0 (0.00)	1.50	14.70	11.6 - 17.3

* Los huevos fueron abiertos por el experimentador, dado que no eclosionaron ya largamente cumplido el período de incubación.

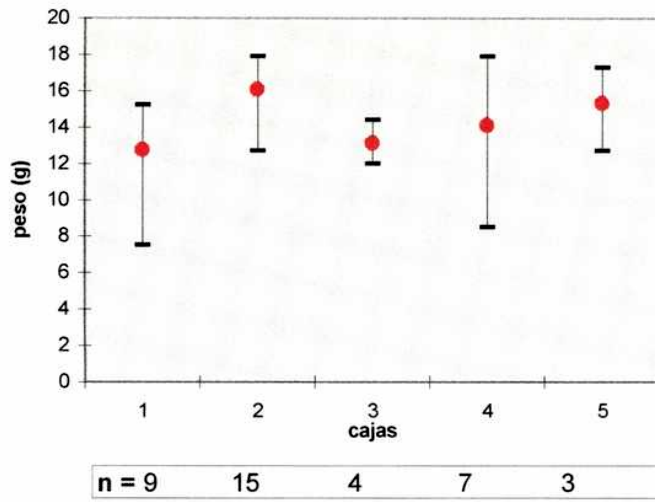


Fig.9: pesos de los juveniles nacidos sin ayuda

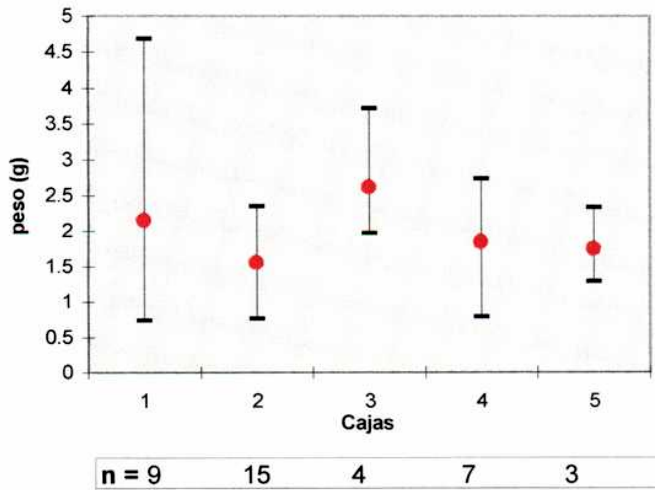


Fig.10: peso seco del vitelo residual

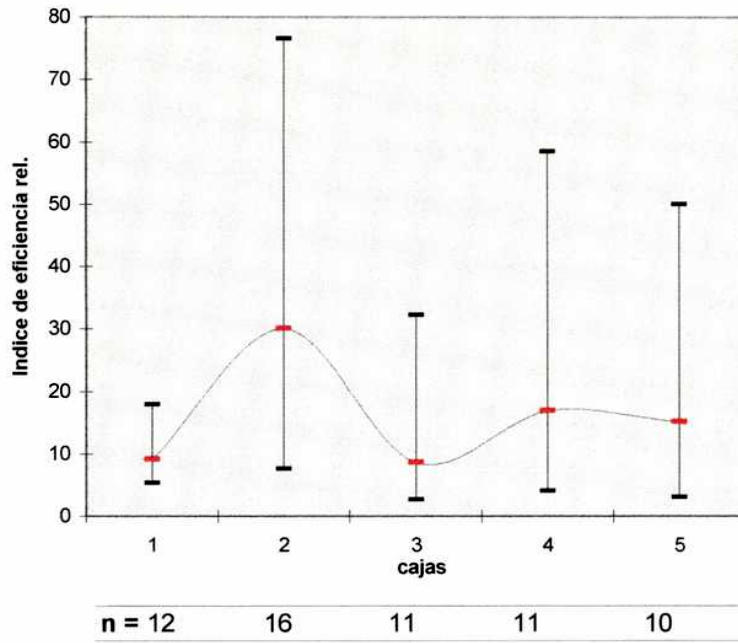


Fig.11: valores de eficiencia relativa de la incubación artificial en las cinco cajas experimentales (peso de neonato (g.)/peso seco del vitelo residual (g.))

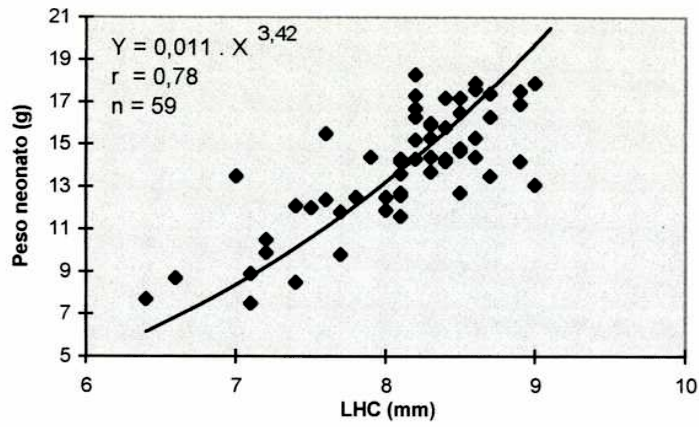


Fig.12a

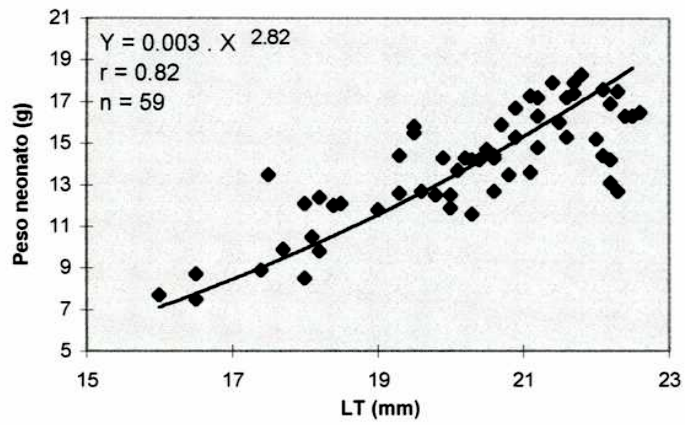


Fig.12b

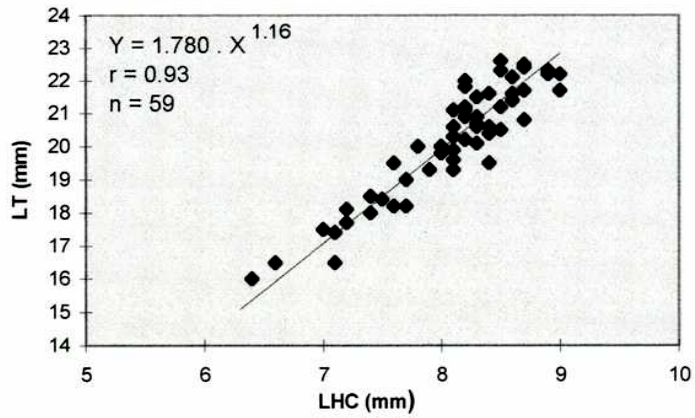


Fig.12c

DISCUSION

El flujo de agua

El agua se mueve desde el sustrato hacia el interior de los huevos y sale de los mismos hacia la cavidad del nido. Esta entraría al huevo desde el sustrato (en estado líquido y gaseoso) y saldría del huevo a la atmósfera del nido (Packard et al. 1977 y Tracy et al. 1978 en Thompson 1986). El movimiento sigue algunas condiciones indicadas por las propiedades hídricas del medio.

La magnitud del flujo de agua depende de la diferencia de potencial a través de la cáscara del huevo que puede ser positiva (el huevo absorbe agua desde el medio), nula (no hay intercambio evidente de agua) o negativa (el huevo cede agua al medio).

En los nidos naturales pueden aparecer estas tres condiciones durante la incubación, intercambiando agua en forma líquida y de vapor, siendo mas significativo el intercambio líquido (Thompson 1986).

Tiempo de incubación y peso de los neonatos

Un elemento clave para el desarrollo exitoso de los embriones en los Squamata es la temperatura. En experiencias previas, donde se mantuvo la humedad constante y una serie de valores establecidos para la temperatura durante toda la incubación, se ha observado para *T. rufescens* que el momento de la eclosión se adelantaba a medida que la temperatura era mayor, es decir, que el período de incubación disminuye con el aumento de la temperatura como una función exponencial negativa (Quintana inédito). Se observó además que de los huevos incubados con altas temperaturas nacían individuos de peso muy bajo, no así, de los incubados a temperaturas menores, por lo tanto, el peso de los neonatos disminuye con el aumento de la temperatura.

Al analizar los efectos de distintas humedades sobre estos dos parámetros se observó, en los resultados de este trabajo, que las variaciones en la humedad no afecta a la duración del período de incubación, como así tampoco se ven diferencias significativas entre el peso de los

neonatos en las diferentes humedades de incubación. Lo que si se ve afectado por la humedad es el n de los que llegan a término en cada caja.

Peso de los neonatos como valor indicativo:

Para evaluar los resultados de la incubación artificial, el peso resulta la variable de elección debido a su “significado metabólico”. La alta correlación observada entre el peso de los neonatos y las variables LHC y LT (fig.12a-b) valida la decisión de tomar el peso como valor indicador. Permite relacionar la masa del huevo y de su contenido original en vitelo (al momento de la puesta) con su traducción -su producido- en el neonato. (El tamaño según LHC ó LT resulta un mal indicador pues no tiene en cuenta el contenido energético *per se* del neonato: juveniles *gordos y flacos*). Con este criterio, en el análisis de la relación funcional entre variables se ha dado preponderancia al peso.

Capacidad de absorción y efectos de la humedad sobre los huevos

Los huevos de *T. rufescens* tienen una gran capacidad de absorción de agua. Normalmente, los huevos absorben agua a tasa constante durante el primer período de incubación aumentando de peso hasta alcanzar un máximo y luego hay una caída en el peso de los huevos, indicando que en el último período hay pérdida y no absorción de agua, hasta la eclosión. Esto es lo que se espera cuando las condiciones ambientales son favorables.

En este trabajo los huevos aumentaron su peso a lo largo de la incubación, este aumento estuvo relacionado con la disponibilidad de agua en cada caja. No se observa la acción de ningún mecanismo regulador de la entrada de agua al huevo, se vió que a mayor disponibilidad de agua mayor absorción y por ende un aumento mayor en el peso del huevo.

Aparentemente, los huevos deben absorber más agua de la que pierden desde la superficie de la cáscara expuesta a la cavidad del nido.

No obstante, en la caja con menor disponibilidad de agua, los huevos cedieron agua al sustrato, en el transcurso de la primera mitad de la incubación, lo que sugiere una diferencia de potencial negativa entre sustrato y huevo. Esto fue la causa de la disminución en el peso de los huevos, produciendo un nuevo estado donde la diferencia de potencial se hizo positiva. Así se

originó, en los registros sucesivos, una recuperación del peso que disminuyó nuevamente a finales de la incubación hasta alcanzar valores por debajo de los iniciales.

En la caja nº 2 se vió una variación en el peso de los huevos como la esperada en condiciones ambientales favorables (Fig.2b). Esta humedad permitió que la gran mayoría de los huevos llegaran a término con éxito, siendo además la que alcanzó el mayor índice de eficiencia de la incubación (Fig.11).

La humedad de la caja nº 3 mostró una variación en el peso de los huevos similar a la 2, sin embargo se observó la pérdida de una alta proporción de huevos ocasionada por la presencia de hongos (Tabla 1).

Aunque la proporción de agua de esta caja halla sido considerada óptima en experiencias previas, el hecho de que en esta experiencia se incubasen en condiciones prácticamente herméticas, favoreció la proliferación de colonias micóticas en la superficie de los huevos.

En la caja nº 4 se encontraron huevos contaminados por hongos ya que la humedad de la misma favorecía su proliferación. Además, en esta caja se halló la mayor proporción de huevos perforados debido a la alta presión interna, generada por una excesiva absorción de agua (Tabla 1).

En la caja nº 5, la alta disponibilidad de agua permitió que los huevos absorbiesen líquido de tal manera que alcanzaron los valores más altos en el peso, comparados con las otras cajas (Fig.6). Además se formó un microclima propicio para la proliferación de hongos derivados de contaminaciones.

En las condiciones de esta experiencia es muy evidente la incorporación de agua en forma líquida y de vapor en la primer parte del período de incubación. Resulta menos claro el flujo de agua hacia y desde el huevo en una etapa más adelantada de la incubación, cuando los huevos alcanzan su máximo peso (transcurrido más del 70% del período de incubación).

Cuando el huevo pierde agua en las etapas avanzadas lo hace únicamente en forma gaseosa. La presencia de agua en la superficie exterior del huevo en las cajas 2, 3, 4 y 5 debe atribuírse al efecto de condensación (“transpiración”).

Bajo estas condiciones experimentales, la caja de incubación se mantuvo cerrada de modo hermético, definiendo una atmósfera interna saturada de vapor de agua. Ello impidió el flujo de agua desde el huevo hacia el exterior.

En condiciones naturales la atmósfera en la cámara del nido no permanece saturada. El huevo puede perder el agua que absorbió en exceso en algún momento determinado (ej., si las lluvias causan un anegamiento ocasional del suelo).

Vitelo residual:

La separación del vitelo de los huevos de la caja n° 1 fue un trabajo engorroso no pudiendo ser realizada correctamente, dado que se encontró una masa concentrada con todos los anexos embrionarios, debido a la escasa disponibilidad de agua. Es por esto que en la figura 10 se observa que el rango en el peso del vitelo residual, en esta caja, exhibe gran amplitud.

Los resultados muestran claramente que los individuos de mayor peso son los que aprovecharon mejor el vitelo disponible en el huevo y los individuos con los mayores valores de peso se encontraron en la caja n° 2.

Afección por hongos:

Los huevos incubados en las condiciones más húmedas, sufrieron una alta mortalidad debido a la invasión por microorganismos patógenos (hongos y bacterias) a favor de un ambiente propicio para su proliferación. No obstante no se encontraron afecciones de este tipo en las cajas n° 1 y 2, atribuyéndose este hecho a que las condiciones ambientales no fueron propicias por falta de humedad.

Es válido destacar que las perforaciones y pérdida de alantoides incrementa la posibilidad de contaminación por microorganismos.

Efecto de grado de humedad sobre los embriones

La dirección del flujo de agua depende de si el contenido del huevo tiene un potencial mayor o menor que el del substrato. Cuando el contenido de agua fue bajo en el substrato (caja n°1), la dirección del agua fue desde los huevos hacia el substrato, notándose un colapsamiento

en la forma de los huevos, además la cáscara resultó proporcionalmente mucho más gruesa y resistente que en las demás cajas. Estas variables ocasionaron la aparición de individuos mal formados, los cuales presentaban deformaciones características en columna vertebral (lordosis, escoliosis caudal -cola en zig-zag-, etc.) y cráneo (prognatismo, caída del arco superciliar, etc.). Además se encontraron individuos que no habían completado su desarrollo embrionario, aún cuando los demás huevos en su caja ya habían eclosionado. Por lo tanto el agua absorbida por los huevos es de gran importancia para los embriones: para mantener un balance con la transpiración que haga viable el normal desarrollo del embrión pero también para mantener la turgencia de los huevos, cuya pérdida propicia la aparición de malformaciones óseas.

En las cajas 3 y 4 también se observa la presencia de individuos malformados (Tabla 2), en este caso responden a efectos diferentes que en los huevos incubados con la menor humedad. Aquí, los valores superiores de humedad provocan en el huevo un aumento de la turgencia (por una elevada presión interna), dando lugar a individuos que presentan anomalías, algunas de ellas específicas, tales como cráneo aplastado, ojos atrofiados, deformaciones de columna, cola enroscada y mandíbula inferior acortada entre otras. Se advierten además, problemas en el desarrollo embrionario ocasionando individuos muy débiles, de bajo peso y que mueren aún dentro del huevo, sin llegar a eclosionar.

Curiosamente, en la caja de mayor humedad no se han encontrado casos de malformación. Es posible que la presión interna aborte el desarrollo embrionario en etapas más tempranas ya que en esta caja se observa, la máxima mortalidad total.

En la caja nº 2 los individuos no presentaron malformaciones físicas (Tabla 2). Lo destacable de los individuos incubados en esta humedad es que el peso de los juveniles a término (vivos y muertos) y de los nacidos es significativamente mayor que en los individuos incubados en las humadades más próximas. Este hecho indica dos cosas: que la humedad de la caja nº 2 es beneficiosa para el desarrollo de los embriones y que un cambio tanto incremental como decremental en la humedad ocasionan distintas clases de problemas durante el desarrollo embrionario antes descritos.

Eficiencia de la incubación:

El índice de eficiencia de la incubación alcanza el mayor valor para la caja n° 2, (fig.4), siendo las condiciones de esta caja las que posibilitaron el mejor aprovechamiento del vitelo y por ende una mayor eficiencia en el desarrollo embrionario.

Parámetros que no se vieron afectados:

Se puede observar que no existe relación largo-peso que dependa del tratamiento, la humedad no afecta la relación tamaño-peso del neonato (ver anexo).

Se observó que tanto diferentes valores de temperatura (en experiencias anteriores) como de humedad del medio tienen una gran influencia sobre la incubación de los huevos de *Tupinambis rufescens*, pero cada una tiene efecto sobre distintos parámetros.

CONCLUSIONES

En las condiciones de esta experiencia de incubación artificial (a temperatura constante y variando el contenido de agua en el sustrato):

-Los valores mas altos de humedad afectan la supervivencia global de los embriones en el transcurso de la incubación. Se reconocen dos causas principales: 1) el desarrollo de fungosis sobre la cáscara del huevo que afectan al vitelo contenido y al embrión en desarrollo.

2) la incorporación en exceso de agua conduce a una turgencia exagerada, con valores de presión interna visiblemente incompatibles con el normal desarrollo, y que se refleja en mortalidad embrionaria, malformaciones y perforación de la cáscara del huevo. Esto último determina pérdida de material de los anexos embrionarios y expone a los mayores riesgos de contaminación.

-Valores demasiado bajos de potencial-agua son causa también de deformaciones físicas en los neonatos. En este caso parece haber una causa “mecánica” en el sentido que el colapsamiento del huevo restringe el espacio disponible para el embrión, resultando afectado el desarrollo del sistema esquelético.

-En contrario de lo que registra la bibliografía consultada, se ha verificado el desarrollo a término de embriones en condiciones de bajísimo potencial agua del sustrato. Aún cuando el huevo no incorporó agua desde el nido -e incluso perdió masa con respecto a la del momento de la puesta - la formación del embrión resultó completa, aún cuando de tamaño muy reducido.

-No fue afectado el tiempo de incubación ni la relación entre las principales variables morfométricas en los neonatos (peso, LHC, LT).

-En las condiciones de esta experiencia, parece mas tolerable un valor medio a bajo de pKa que otro excesivo.

Los resultados y conclusiones de este trabajo son aplicables en el planeamiento de manejo sustentable, en la región donde esta especie sufre una presión de caza indiscriminada.

BIBLIOGRAFIA

-Birchard G. F. and Marcellini D.(1996). Incubación time in reptilian eggs. ©1996 The Zoological Society of London (1996) **240**, 621-635.

-Brazaitis P., and Wise M. (1994). Conservation of commercially important reptiles today: an analysis based on crocodilians, pp.209-221. En J. B. Murphy, K. Adler, and J. T. Collins (eds.), *Captive Management and Conservation of Amphibians and Reptiles*. Society for the Study of Amphibians and Reptiles, Ithaca (New York).

-Mittermeier R. A. and Carr J. L. (1994). Conservation of reptiles and amphibians: a global perspective, pp.27-34. En J. B. Murphy, K. Adler, and J. T. Collins (eds.), *Captive Management and Conservation of Amphibians and Reptiles*. Society for the Study of Amphibians and Reptiles, Ithaca (New York).

-Packard, G. C., Packard M. J. (1988). The physiological ecology of reptilian eggs and embryos. En *Biology of the Reptilia* vol.16-B, 525-585 Ed. C. Gans New York: Alan R. Liss.

-Quintana M. G. (1991). Estimaciones sobre morfometría y crecimiento de la "Iguana Colorada" -*Tupinambis rufescens* (Sauria, Teiidae)- en la Argentina. *Revista del MACN e Instituto Nacional de Investigación de las Ciencias Naturales. Ecología*, Tomo III, n° 4,1991.

-Quintana M. G. (1996). Valores reproductivos de la "Iguana colorada" -*Tupinambis rufescens* (Sauria, Teiidae)- en la Argentina. *Revista del MACN e Instituto Nacional de Investigación de las Ciencias Naturales* N° 132:1-9, 1996.

-Sinervo B. 1994. Manipulation of clutch and offspring size in lizards: mechanistic, evolutionary, and conservation considerations, pp.183-193. En J. B. Murphy, K. Adler, and J. T. Collins (eds.), *Captive Management and Conservation of Amphibians and Reptiles*. Society for the Study of Amphibians and Reptiles, Ithaca (New York).

-Thompson M. B. (1986). Water exchange in reptilian eggs. *Physiol. Zool.* 60 (1):1-8 ©1987 by The University of Chicago.

-Tracy C. R. (1980). Water relations of Parchment-shelled Lizard (*Sceloporus undulatus*) eggs. *Copeia*, 1980 pp.478-482.

-Tracy C. R., Packard G. C., and Packard M. J. (1978). Water relations of chelonian eggs. pp.378-386 ©1978 by The University of Chicago.

-Yanosky A. A., Mercoli C. (1991). Temperaturas internas y frecuencias de muda en crías de *Tupinambis teguixin* (Reptilia: Teiidae) bajo condiciones controladas. Cuadernos de Herpetología vol.6, nº 4, 1991. Asociación Herpetológica Argentina.