

NOTA

EFFECTO DE LA TEMPERATURA DE INCUBACIÓN SOBRE ALGUNOS ASPECTOS DE LA ONTOGENIA DE *PHRYNOPS HILARII* (TESTUDINES, CHELIDAE)

Phrynops hilarii es una tortuga acuática que habita preferentemente lagunas, bañados con juncos (*Scirpus* sp.) y vegetación flotante (*Eichornia* sp. y *Lemna* sp.), esteros, arroyos lentos, y cursos fluviales con lecho de fango o arena (Cei, 1993; Cabrera, 1998).

La postura en la Argentina se realiza en noviembre, pudiendo extenderse tres a cuatro meses más (Cei, 1993), aunque se han encontrado huevos a lo largo del mes de mayo en el Parque Nacional Pre-Delta, Entre Ríos (C. Piña, R. Zanella, obs. pers.). Esta tortuga realiza sus posturas en tierra o arena, los cuales una vez puestos los huevos son cubiertos para protegerlos de la predación y para amortiguar el efecto de las temperaturas extremas (Auffenberg, 1969).

Cada uno de los nidos puede alojar de uno a 23 huevos (en general 14 ó 15), aunque el número podría ser dependiente del tamaño y condición fisiológica de cada hembra (Astort, 1984). Las crías eclosionan tras 70 a 140 días de incubación (Rhodin y Mittermeier, 1983; Cei, 1993).

La temperatura ambiente influye en la biología de todos los organismos, pero sus efectos son especialmente marcados en los ectotermos. Al igual que sucede con huevos de otros reptiles, la temperatura durante la incubación podría afectar los huevos de *P. hilarii* dado que el éxito de una incubación sólo es posible dentro de ciertos límites térmicos. En numerosos géneros de tortugas y en todos los cocodrilos estudiados hasta la fecha, influye en la determinación del sexo (Lang y Andrews, 1994; Remor de Souza y Vogt, 1994; Davenport, 1997; Marcovaldi *et al.*, 1997; Mrosovsky *et al.*, 1999;

Godfrey *et al.*, 1999; Piña *et al.*, 2003). También se ha demostrado que afecta la fisiología y el comportamiento a largo término (O'Steen, 1998) o el comportamiento antipredador (Janzen, 1995) y la supervivencia (Shine, 1999; Piña *et al.*, 2003).

Poco es lo que se conoce sobre el período de incubación, el éxito de eclosión, temperaturas posibles de desarrollo y supervivencia en relación a la temperatura de incubación en *Phrynops hilarii*, motivo que estimuló la realización del presente trabajo. Nuestro objetivo es establecer los efectos de la temperatura de incubación sobre diferentes aspectos de la ontogenia y la supervivencia de crías de *P. hilarii*. En el presente trabajo respondemos las siguientes preguntas: 1) ¿afecta la temperatura de incubación al período de incubación de *P. hilarii*?; 2) ¿cuál es la menor temperatura a la cual existe desarrollo embrionario de *P. hilarii*?; 3) ¿varía el éxito de eclosión de *P. hilarii* en relación a la temperatura a la cual se incuban los huevos?; 4) ¿está la supervivencia de *P. hilarii* hasta el año de edad relacionada a la temperatura de incubación?

Utilizamos 37 huevos de *P. hilarii* provenientes de dos nidos. Estos fueron obtenidos de la Estación Zoológica Experimental (EZE) dependiente del Ministerio de Agricultura, Ganadería, Industria y Comercio (MAGIC) de Santa Fe en enero/febrero de 1999.

Cosechamos los huevos el mismo día de la postura. Una vez cosechados, les retiramos la tierra que los cubría, verificamos el estado de cada uno por si se encontraba dañado, y marcamos individualmente mediante un símbolo el nido de origen con un marcador indeleble, conservando su orientación original (Pieau *et al.*, 1984). Distribuimos y asignamos al azar los huevos de cada uno de los nidos a cinco incubadoras, de manera tal de poder utilizar el nido como factor, y descartamos diez que no eran viables.

Las incubadoras consistieron en bateas plásticas de tipo comercial, con diámetro superior de 65 cm, diámetro inferior de 40 cm y una altura de 50 cm, con tapas de telgopor; cubrimos el fondo de las bateas con agua, la cual calentamos con ayuda de un calentador de pecera y mantuvimos la temperatura estable con un termostato de $\pm 0,5^\circ$ C de precisión. Por encima del agua dispusimos una rejilla plástica con material vegetal secado al sol (material de nido), para minimizar la oscilación térmica y el cual humedecemos para mantener elevados índices de humedad según lo aconsejado por Miller *et al.* (1985) y Packard *et al.* (1989, 1991). En todos los tratamientos tuvimos una humedad relativa elevada, aunque ésta no fue medida. Rehidratamos el substrato semanalmente con adición de material de nido nuevo, para asegurar el mantenimiento de un ambiente hídrico constante, e inspeccionamos los huevos periódicamente por si alguno se encontraba dañado.

Asignamos a cada incubadora un tratamiento de temperatura constante a lo largo de todo el experimento. Realizamos cinco tratamientos, 27° , 29° , 31° , 33° y $34,5^\circ$ C ($\pm 0,5^\circ$ C) con la finalidad de abarcar un amplio intervalo de temperaturas. En cada tratamiento colocamos un número mínimo de 5 huevos.

Registramos la temperatura dentro de cada batea mediante un almacenador de datos térmicos (HOBO, Data logger; Onset Computer Corp., Pocasset, MA, USA) colocado sobre los huevos y cubierto con material de nido. Leímos los instrumentos dos veces por día, a fin de mantener un buen control de las temperaturas.

Revisamos las incubadoras diariamente en busca de huevos eclosionados. En aquellos casos en los cuales una vez producida la eclosión del primer huevo de una determinada temperatura, la del resto de los huevos de ese nido se demoraba demasiado, pro-

cedimos a la apertura de otro ejemplar. En aquellos casos en que el embrión presentaba desarrollo completo, colaboramos a la eclosión de los restantes con el objeto de evitar la mortandad de los embriones. Una vez nacidos limpiamos el material de nido adherido a los neonatos y los marcamos mediante un código de amputación de placas córneas marginales, identificatorio de su nido y tratamiento térmico.

- PERÍODO DE INCUBACIÓN (PI): lo definimos como el tiempo transcurrido en días entre la postura y la fractura de la cáscara del huevo de cada uno de los individuos; se estableció al nacer los individuos de cada nido a una determinada temperatura. Determinamos si existían diferencias entre los tratamientos mediante Análisis de Varianza de dos vías previo testeo de la normalidad, y determinamos las diferencias entre los tratamientos mediante un Test de Tukey.

- ÉXITO DE ECLOSIÓN (EE): lo calculamos como el porcentaje de huevos que completaron su desarrollo en función de la cantidad que asignamos a cada tratamiento. El análisis estadístico del éxito de eclosión lo realizamos mediante un test de Chi cuadrado (χ^2).

- TEMPERATURA MÍNIMA DE DESARROLLO: estimamos la temperatura a la cual cesaría el desarrollo total del embrión mediante la fórmula de Georges (1989) y Shine y Harlow (1996):

$$1/(PI_{(x)}/PI_{(A)});$$

donde $PI_{(x)}$ es el PI de cada tratamiento y $PI_{(A)}$ es el PI menor registrado en el experimento.

- SUPERVIVENCIA: utilizamos para su cálculo la proporción de animales que llegaron al año de edad en relación a la cantidad de animales que colocamos en la pileta de cría para cada temperatura de incubación. Para determinar si existieron diferencias entre los tratamientos usamos un test de χ^2 . El α utilizado para determinar diferencias significativas en todos los análisis fue 5%.

Los huevos de los dos nidos cosechados fueron uniformemente esféricos. Al comienzo del experimento todos los huevos utilizados en la experiencia presentaron una pequeña mancha o banda opaca de calcificación, indicadora de que los huevos eran fértiles. El tamaño de postura (18 y 19) fue un poco mayor que el reportado previamente (14-15) en otro trabajo sobre incubación de huevos producidos de animales en cautiverio (Astort, 1984).

● **PERÍODO DE INCUBACIÓN (PI):** La temperatura de incubación tuvo un efecto significativo en el PI entre los tratamientos ($F= 6,18$; g.l.= 4, 25; $p= 0,002$), influyendo de la misma manera en ambos nidos, pero también encontramos una diferencia en el PI entre los nidos ($p < 0,05$). La temperatura de incubación mostró un efecto inversamente proporcional sobre el PI, reflejando un período más corto para los huevos sometidos a mayor temperatura de incubación, hasta los 33°C. A 34,5°C el PI aumentó, y fue el mayor, a partir de cierta temperatura se produce un efecto directamente proporcional al PI. El PI promedio entre los dos nidos que observamos fue $65 \pm 4,2$ días a 27°C; $58 \pm 5,7$ a 29°C; $53,5 \pm 6,4$ a 31°C; $52 \pm 7,1$ a 33°C y $69,5 \pm 4,9$ días a 34,5°C. El PI registrado a 34,5°C varió del de los tratamientos con menos de 58 días de incubación total, el de la incubación a 33°C de los incubados a 34,5°C, 27°C y 29°C.

Si asumimos el PI de 31°C como una unidad, la incubación a 33°C fue 1,03 veces más corta; la de 29°C fue 1,08, la de 27 fue 1,21 y la de 34,5 fue 1,3 veces más larga que la de 31°C. La temperatura durante la incubación no afectó el tiempo de desarrollo de forma homogénea, su efecto fue mayor entre los tratamientos de 33°C y 34,5°C, seguidos de los incubados a 27°C y 29°C y por los de 29°C y 31°C. La temperatura de incubación parece afectar más en la disminución de la tasa de desarrollo que en su aumento.

● **TEMPERATURA MÍNIMA DE DESARROLLO:** la temperatura mínima de desarrollo estimada, extrapolando de la ecuación de regresión de la tasa de desarrollo en función de la temperatura de incubación, fue de aproximadamente 4°C, es decir a temperaturas de incubación menores de 4°C no habría desarrollo dentro del huevo (Figura 1). Para el cálculo de la regresión excluimos el dato de la incubación a 34,5°C porque a esta temperatura se produjo un aumento del PI.

● **ÉXITO DE ECLOSIÓN (EE):** No encontramos diferencias en el EE de los tratamientos (χ^2 de Pearson= 2,967; g.l.= 4; $p= 0,5634$). De los 37 huevos que obtuvimos, 10 estaban rotos en el nido, al momento de ser encontrados; motivo por el cual los descartamos y sólo pusimos en incubación artificial 27 huevos; de éstos, todos menos uno produjeron crías. El EE de los huevos incubados a temperaturas de 27°, 29°, 31° y 33° C (N= 20) fue del 100% en los cuatro tratamientos, mientras que el EE para el tratamiento térmico de 34,5° C (N= 7) fue del 87,5% (6 individuos nacidos sobre 7 huevos fértiles). La mayor parte de las crías que emergieron de

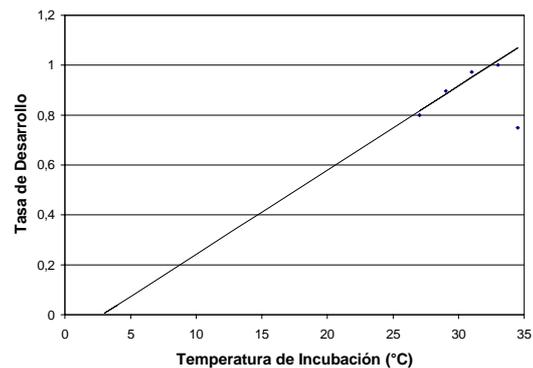


Figura 1. Tasa de desarrollo calculada en función de período de incubación de *Phrynosops hilarii*. Calculamos la temperatura mínima a la cual ocurriría desarrollo durante la incubación extrapolando los datos de la ecuación de regresión Tasa de Desarrollo = $-0,096 + 0,0338$ Temperatura de Incubación (°C) ($R^2 = 95\%$; $F= 37,76$; $p= 0,025$).

huevos incubados a 34,5° C y algunas de las incubadas a 27° C, exhibieron vitelo sin reabsorción completa, y mostraron dificultad en su movilidad.

● **SUPERVIVENCIA:** Durante el año de experiencia murieron ocho individuos, siete de los cuales provinieron de las incubaciones a temperaturas extremas, tres a 27°C y cuatro a 34,5°C; el restante a 31°C. La supervivencia de los animales estuvo relacionada a la temperatura de incubación, ésta fue menor a las temperaturas extremas (27° y 34,5°C; $\chi^2= 10,352$; g.l.= 4; p= 0,036).

● **INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN EL PERÍODO DE INCUBACIÓN:** Tal como fuera observado en otras tortugas de agua dulce, la temperatura a la cual se desarrollaron los huevos influyó en la duración de la incubación de *P. hilarii*, aún considerando el reducido tamaño de la muestra (Booth, 1998). Este acortamiento del PI en respuesta a la temperatura coincide con los datos de Roosenburg y Kelley (1996) para *Malaclemys terrapin*; Janzen (1993) en la tortuga de caparazón blando liso (*Apalone mutica*), y Choo y Chou (1987) en *Trionyx sinensis*.

La disminución del período de incubación en los huevos de *P. hilarii* a medida que aumentó la temperatura podría deberse a que, por tratarse de individuos ectotermos, un aumento en la temperatura produce un incremento en la tasa metabólica lo cual da como resultado un acortamiento en el período de desarrollo de los mismos (Zug, 1993). En la tortuga de laguna esto parece ocurrir hasta una temperatura óptima (33°C) a partir de la cual se produce un aumento en el PI. Los datos previos sobre PI para *P. hilarii* corresponden a la incubación natural (de 70 a 140 días; Rhodin y Mittermeier, 1983; Cei, 1993), los cuales son mayores que los que reportamos en este trabajo bajo incubación artificial.

Descartando la incubación a 34,5°C, el período de incubación más largo (65 días a 27°C) es sólo el 25% más exten-

so que el de 33°C (52 días). Esta diferencia de 13 días, estadísticamente significativa, en 6°C (33°C – 27°C), en el PI puede deberse a que las primeras posturas tienen todo el verano para desarrollarse (un período máximo de 90 días), y las de la segunda pueden pasar el invierno y nacer en la primavera o verano siguiente (más de 180 días) ya que los huevos de *P. hilarii* tienen la capacidad de ser viables aún mantenidos a temperaturas bajas durante largos períodos de tiempo (C. Piña, obs. pers.). Contrariamente, en el lagarto *Bassiana duperreyi* (Scincidae) el efecto de la temperatura es mucho más marcado (85% en 6°C, 24°C – 30°C) y las hembras seleccionan lugares más cálidos para realizar la postura puesto que de otra forma no tendrían tiempo suficiente para completar el desarrollo (Shine y Harlow, 1996).

En el presente trabajo, la temperatura de incubación afectó el PI influyendo en ambos nidos de igual manera, el mayor PI se registró a 34,5°C y el menor a 33°C. Sin embargo, encontramos una diferencia entre ellos (el nido 1 en cada temperatura tuvo un PI mayor que el nido 2), que quizás podría ser atribuido al efecto de un factor genético, o a otra causa no contemplada en este estudio. El mayor PI que encontramos fue a 34,5°C y estaría relacionado al hecho que esta temperatura se encontraría cercana al límite superior viable de incubación de la especie, esta situación fue reportada previamente en lagartos por Harlow y Shine (1999) y Viets *et al.* (1993). El alargamiento de la incubación al aumentar la temperatura reflejaría estrés térmico (Harlow y Shine, 1999) e indicaría que la temperatura óptima está por debajo de 34,5°C.

● **ÉXITO DE ECLOSIÓN:** El EE fue alto en las cinco temperaturas utilizadas en este experimento. Trabajos previos con tortugas reportan altos índices de eclosión al igual que los encontrados en

este trabajo (Boby y Brooks, 1994; Choo y Chou, 1987; Rhen y Lang, 1995). El EE de *Caiman latirostris* fue reducido a 34,5°C (Piña *et al.*, 2003), otros resultados reportados sobre crocodilios (Lang y Andrews, 1994; Webb *et al.*, 1987) muestran que 34°C es una temperatura fuera del rango óptimo para la mayoría de las especies estudiadas, de hecho es letal para *Caiman crocodilus*, *Crocodylus palustris*, *C. moreletti*, *C. siamensis*, *C. porosus* y *Gavialis gangeticus*. Según estos datos pareciese que *P. hilarii* puede soportar temperaturas elevadas durante la incubación en comparación con los cocodrilos reportados y *Chlamydosaurus kingii* (Harlow y Shine, 1999). En este último trabajo los animales eclosionados del tratamiento a mayor temperatura tuvieron problemas neurológicos y los producidos a menor temperatura desarrollo incompleto, aunque no existieron diferencias entre los tratamientos en el EE (Harlow y Shine, 1999). En nuestro trabajo los animales producidos a 27°C y 34,5°C presentaron características similares a los de las temperaturas extremas de Harlow y Shine (1999).

● **TEMPERATURA MÍNIMA DE DESARROLLO:** La temperatura mínima de desarrollo calculada en este estudio es menor a las reportadas en trabajos previos, Shine y Harlow (1996) reportan la temperatura mínima de desarrollo para 17 especies (Scincidae= 6, Agamidae= 4, Elapidae= 3, Colubridae= 2, Gekkonidae= 1 y Typhlopidae= 1) con un rango de temperaturas mínimas de 13,8°C a 19,3°C. La inusual temperatura mínima propuesta para *P. hilarii* podría estar relacionada al hecho que los huevos pueden pasar el invierno y continuar viables hasta la temporada siguiente. Otra posible explicación a la inusualmente baja temperatura mínima de desarrollo puede ser la extrapolación a valores tan distantes (de 27°C a 4°C) y posiblemente sea necesario en un futuro incubar a temperaturas menores

para no extrapolar en un rango tan amplio.

● **SUPERVIVENCIA:** La supervivencia de los animales hasta el año de edad estuvo relacionada a la temperatura de incubación. Obtuvimos las menores tasas de supervivencia en las temperaturas extremas testeadas en este experimento (27° y 34,5°C). Al nacimiento encontramos animales provenientes de los tratamientos de 27° y de 34,5°C que tenían el vitelo sin absorber completamente, además de dificultad en su movilidad. La presencia de vitelo sin absorber es una fuente de posibles infecciones que puede haber disminuido la supervivencia de los animales (Matsushima y Ramos, 1995). Sumado al vitelo sin absorber y la dificultad de movilidad de estos animales, el hecho que los animales producidos de la incubación de 34,5°C fueron más pequeños que los de los demás tratamientos (datos no reportados), nos hace suponer que en la naturaleza estos animales hubiesen tenido aún una menor supervivencia; Janzen *et al.* (2000) encontraron que neonatos de la tortuga *Trachemys scripta* más pequeños tuvieron una menor supervivencia en la naturaleza que los de mayor tamaño. Hemos registrado en diferentes ocasiones animales de mayor tamaño mordiendo o intentando morder el vitelo de estos animales. Estudios realizados en *Chelydra serpentina* demostraron que la incubación a temperaturas medias tuvieron una mejor tasa de supervivencia y crecimiento que los animales producidos a temperaturas bajas (Boby y Brooks, 1994; Mc Knight y Gutzke, 1993). Rhen y Lang (1995) no encontraron diferencias en la supervivencia de *C. serpentina* incubadas a tres temperaturas diferentes (24°C, 26,5°C y 29°C) pero en su trabajo reportan que temperaturas más extremas (menores a 22,5°C y mayores a 30°C) han causado un aumento en la mortandad de embriones y neonatos. Los resultados reportados en supervivencia de tortugas

varían, pero por lo general la incubación a temperaturas extremas tienen mayor mortandad que las intermedias, al igual que los resultados que encontramos en este trabajo.

Agradecimientos. Queremos agradecer a G. Haro por los comentarios hechos durante el desarrollo del trabajo y la revisión del primer borrador de este trabajo. A A. Manzano y F. Cruz por los comentarios hechos al manuscrito original y a M. Cabrera por sus comentarios y revisión de la versión final. A los integrantes del Proyecto Yacaré, P. Amavet, P. Donayo, N. Frutos, E. Gallo, A. Imohf, A. Larriera, M. Medina, V. Parachú, y P. Siroski, quienes nos posibilitaron el desarrollo del presente estudio en sus instalaciones y por la ayuda recibida por el mantenimiento de los animales durante el primer año de vida. C. Piña es becario de posgrado del CONICET.

Literatura citada

- ASTORT, E. D. 1984. Dimorfismo sexual secundario de *Phrynops (Phrynops) hilarii* (D. y B., 1835) y su conducta reproductora en cautiverio (Testudines-Chelidae). *Rev. Mus. Arg. Cs. Nats., Zool.* 13: 107-113.
- AUFFENBERG, W. A. 1969. Tortoise Behavior and Survival. Rand McNally, Chicago.
- BOBYN, M. L. & R. J. BROOKS. 1994. Interclutch and interpopulation variation in the effects of incubation condition on sex, survival, and growth of hatchling snapping turtles (*Chelydra serpentina*). *J. Zool.* 233: 233-257.
- BOOTH, D. T. 1998. Incubation of turtle eggs at different temperatures: Do embryos compensate for temperature during development? *Physiol. Zool.* 71: 23-26.
- CABRERA, M. R. 1998. Las Tortugas Continentales de Sudamérica Austral. Edic. del autor. Córdoba (Rep. Argentina); 108 pp.+6 láms.
- CEI, J. M. 1993. Reptiles del noroeste, nordeste y este de la Argentina. *Mus. Reg. Sci. Nat. Torino, Monogr.* 14: 1-949.
- CHOO, B. L. & L. M. CHOU. 1987. Effect of temperature on the incubation period and hatchability of *Tryonix sinensis* Wiegmann eggs. *J. Herpetol.* 21: 230-232.
- DAVENPORT, J. 1997. Temperature and the life-history strategies of sea turtles. *J. Therm. Biol.* 22: 479-488.
- GEORGES, A. 1989. Female turtles from hot nests: is it duration of incubation or proportion of development at high temperatures that matters? *Oecologia* 81: 323-328.
- GODFREY, M. H.; A. F. D'AMATO; M. A. MARCOVALDI & N. MROSOVSKY. 1999. Pivotal temperature and predicted sex ratios for hatchling hawksbill turtles from Brazil. *Can. J. Zool.* 77: 1465-1473.
- HARLOW P. & R. SHINE. 1999. Temperature-dependent sex determination in the frillneck lizard, *Chlamydosaurus kingii* (Agamidae). *Herpetologica* 55: 205-212.
- JANZEN, F. J. 1993. The influence of incubation temperature and family on eggs, embryos, and hatchlings of the smooth softshell turtle (*Apalone mutica*). *Physiol. Zool.* 66: 349-373.
- JANZEN, F. J. 1995. Experimental evidence for the evolutionary significance of temperature-dependent sex determination. *Evolution* 49: 864-873.
- JANZEN, F. J.; J. K. TUCKER & G. L. PAUKSTIS. 2000. Experimental analysis of an early life-history stage: selection on size of hatchling turtles. *Ecology* 81: 2290-2304.
- LANG, J. W. & H. ANDREWS. 1994. Temperature-dependent sex determination in Crocodylians. *J. Exp. Zool.* 270: 28-44.

- MARCOVALDI, M. A.; M. H. GODFREY & N. MROSOVSKY. 1997. Estimating sex ratios of loggerhead turtles in Brazil from pivotal incubations durations. *Can. J. Zool.* 75: 755-770.
- MATUSHIMA, E. R. & M. C. C. RAMOS. 1995. Algumas patologias na criaçãõ de jacarés no Brasil: 171-187. In: LARRIERA A. Y VERDADE L. M. (eds.), La Conservación y el Manejo de Caimanes y Cocodrilos en América Latina, Vol. 1. Fundación Banco Bica. Santo Tomé, Santa Fe, Argentina.
- MC KNIGHT C.M. & W.H.N. GUTZKE. 1993. Effects of the embryonic environment and of hatchling housing conditions on growth of young snapping turtles (*Chelydra serpentina*). *Copeia* 1993: 475-482.
- MILLER, K.; G. C. PACKARD & M. J. PACKARD. 1985. Hydric conditions during incubation influence locomotor performance of hatchling snapping turtles. *Am. Zool.* 25: 18A.
- MROSOVSKY, N.; C. BAPTISTOTTE & M. H. GODFREY. 1999. Validation of incubation duration as an index of the sex ratio of hatchling sea turtles. *Can. J. Zool.* 77: 831-835.
- O'STEEN, S. 1998. Embryonic temperature influences juvenile temperature choice and growth rate in snapping turtles *Chelydra serpentina*. *J. Exp. Biol.* 201: 439-449.
- PACKARD, G. C.; M. J. PACKARD & G. F. BIRCHARD. 1989. Sexual differentiation and hatching success by painted turtles incubating in different thermal and hydric environments. *Herpetologica* 45: 385-392.
- PACKARD, G.; M. PACKARD & L. BENIGAN. 1991. Sexual differentiation, growth, and hatching success by embryonic painted turtles incubated in wet, and dry environments at fluctuating temperatures. *Herpetologica* 47: 125-132.
- PIEAU, C. L.; J. FRETEY; F. RIMBLLOT & J. LESURE. 1984. Influence de la température d'incubation des oeufs sur la différenciation sexuelle des Tortues. *Acta Zool. et Pathol., Antuerpiensia* 78: 277-296.
- PIÑA, C.; A. LARRIERA, & M. R. CABRERA. 2003. Effect of incubation temperature on incubation period, sex ratio, hatching success, and survivorship in *Caiman latirostris* (Crocodylia, Alligatoridae). *J. Herpetol.* 37: 199-203.
- REMOR DE SOUZA, R., & R. C. VOGT. 1994. Incubation temperature influences sex and hatchling size in the neotropical turtle *Podocnemis unifilis*. *J. Herpetol.* 28: 453-464.
- RHEN, T., & J.W. LANG. 1995. Phenotypic plasticity for growth in the common snapping turtle: Effects of incubation temperature, clutch and their interaction. *Am. Nat.* 146: 726-747.
- RHODIN, A. G. J. & R. A. MITTERMEIER. 1983. Description of *Phrynops williamsi*, a new species of Chelid turtle of the South American *P. geoffroanus* complex: 58-73. In: A. RHODIN & K. MIYATA (eds.), Advances in Herpetology and Evolutionary Biology. Essais in honor of E. E. Williams. Mus. Comp. Zool., Cambridge.
- ROOSENBERG, W. M., & K. C. KELLEY. 1996. The effect of egg size and incubation temperature on growth in the turtle, *Malaclemys terrapin*. *J. Herpetol.* 30: 198-204.
- SHINE, R. 1999. Why is sex determined by nest temperature in many reptiles? *Elsevier Science, TREE* 14: 186-189.
- SHINE, R. & P.S. HARLOW. 1996. Maternal manipulation of offspring phenotypes via nest-site selection in an oviparous lizard. *Ecology* 77: 1808-1817.
- VIETS, B. E.; A. TOUSIGNANT; M. A. NELSON & D. CREWS. 1993. Temperature-dependent sex determination in the leopard gecko, *Eublepharis*

- macularius*. *J. Exp. Zool.* 256: 679-683.
- WEBB, G. J. W.; A. M. BEAL; S. C. MANOLIS & K. E. DEMPSEY. 1987. The effects of incubation temperature on sex determination and embryonic development rate in *Crocodylus johnstoni* and *Crocodylus porosus*: 507-531. In: G. J. W. WEBB, C. MANOLIS & P. J. WHITEHEAD (eds.), *Wildlife Management of Crocodiles and Alligators*. Surrey Beatty and Sons Pty Limited in association with the Conservation Commission of the Northern Territory, Canberra.
- ZUG, G. R. 1993. *Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles*. Academic Press, San Diego, California.
- CARLOS I. PIÑA ¹
BETTINA ARGANAÑARAZ ²
- ¹ Proyecto Yacaré, C.I.C. y T.T.P. - CONICET. Dr. Matteri y España, (3105) Diamante, Entre Ríos, Argentina.
cidcarlos@infoaire.com.ar
- ² Fragueiro 185, 10º "C", (5000) Córdoba, Argentina.
betinapraderio@hotmail.com