

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE HONGOS DEL  
GÉNERO *Fusarium* EN NIDOS DE *Lepidochelys olivacea*  
EN EL TORTUGARIO DEL ÁREA DE USOS MÚLTIPLES  
HAWAII, CHIQUIMULILLA, SANTA ROSA, GUATEMALA.**

**SALOMÉ HERNÁNDEZ PELÉN**

**MÉDICA VETERINARIA**

**GUATEMALA, AGOSTO DE 2020**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE HONGOS DEL GÉNERO  
*Fusarium* EN NIDOS DE *Lepidochelys olivacea* EN EL  
TORTUGARIO DEL ÁREA DE USOS MÚLTIPLES HAWAII,  
CHIQUMULILLA, SANTA ROSA, GUATEMALA.**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN**

**PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD  
POR**

**SALOMÉ HERNÁNDEZ PELÉN**

**Al conferírsele el título profesional de**

**Médica Veterinaria**

**En el grado de licenciado**

**GUATEMALA, AGOSTO DE 2020**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**  
**JUNTA DIRECTIVA**

DECANO:	M.A. Gustavo Enrique Taracena Gil
SECRETARIO:	Dr. Hugo René Pérez Noriega
VOCAL I:	M. Sc. Juan José Prem González
VOCAL II:	Lic. Zoot. Miguel Ángel Rodenas Argueta
VOCAL III:	Lic. Zoot. Alex Rafael Salazar Melgar
VOCAL IV:	P. Agr. Luis Gerardo López Morales
VOCAL V:	Br. María José Solares Herrera

**ASESORES**

**DRA. JACQUELINE ESCOBAR MUÑOZ**

**M.Sc. BERTA ALEJANDRA MORALES MÉRIDA**

## HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE HONGOS DEL GÉNERO  
*Fusarium* EN NIDOS DE *Lepidochelys olivacea* EN EL  
TORTUGARIO DEL ÁREA DE USOS MÚLTIPLES HAWAII,  
CHIQUMULILLA, SANTA ROSA, GUATEMALA.**

Como requisito previo a optar al título de:

**MÉDICA VETERINARIA**

## **ACTO QUE DEDICO A:**

A Dios y la Virgen María: Por permitirme la vida que me ha traído hasta este punto.  
Por guiarme por el buen camino y nunca abandonarme.

A mis padres: Vilma y Mario, por ser incondicionales, pacientes y brindarme su amor cada segundo de mi vida. Por estar conmigo en cada lucha y ser mi respaldo. Este logro es de ustedes.

A mis hermanos: Sara, Anaité y Alejandro, por su apoyo a lo largo de este camino, por hacer de mi vida más completa.

A mis abuelos: Mama Lupe (†), Tuto (†), Quincho (†), Lucy y Luz (†), por ser rayos de luz que iluminan cada día de mi vida y me cuidan donde quiera que estén. Son ejemplos de vida, trabajo duro y perseverancia. Gracias por el entusiasmo que demostraron desde que empecé este camino.

A mi familia: Tíos, primos, sobrinos, padrinos, por brindarme su apoyo incondicional.

## **AGRADECIMIENTOS**

- A Dios: Por prestarme la vida que me ha traído hasta aquí.
- A mis padres: Por su apoyo incondicional, por su amor, por ser quienes han formado la persona que soy hoy.
- A la USAC: Por acogerme tantos años en sus instalaciones y permitirme el inicio de mi formación profesional.
- A la FMVZ: Por ser mi segunda casa y darme los conocimientos necesarios para iniciar mi vocación.
- A ARCAS Hawaii: En especial al Lic. Biol. Alan Marroquín, por abrirme las puertas del parque y permitirme trabajar en las instalaciones para poder contribuir con un granito de arena a la conservación de tortugas marinas en el país.
- A Doña Mayra y Alex: Por apoyarme en este proyecto, consentirme y su ayuda a lo largo de este camino. Son seres maravillosos.
- Al 'Tortu-team': María Renee, Alejandra, José Jorge y Ricardo, por ser parte importante en este proyecto, por su amistad y por esas noches de patrullaje en la playa. Espero profundamente poder volver a trabajar con ustedes.
- A mis compañeros: Mafer, Alexis, George, Roxana, Miguel, Gaby, Karla, Allan, Ana, Walter, Jenny, Mabe y demás personas con las que compartí durante estos años. Hicieron este tiempo inolvidable.

A mis amigos:

A Ana Paula y Paola, por estar a través de los años y que esta amistad maravillosa permanezca fuerte como hasta ahora, a pesar de los miles de kilómetros que nos separan. A Andrea, Anna, Andrés y José, por darme su amistad incondicional y porque sin ustedes, esto no hubiera sido igual. A Alejandra y Zack, por apoyarme y brindarme su amistad durante tantos años. A todos mis amigos, a quienes a través del tiempo han estado presentes. Hacen de este mundo un lugar mejor.

A Dra. Alejandra Rivas,  
Dr. Oswaldo Colón,  
Dr. Víctor Girón:

Por abrirme las puertas desde el inicio, brindarme su confianza y por haberme transmitido sus conocimientos y ser para mí, pilares fundamentales en este camino profesional.

A mis Asesoras:

Alejandra Morales y Jacqueline Escobar, quienes sin ustedes este proyecto, que al inicio parecía ser inalcanzable, no pudiera haberse realizado. Gracias por creer en mí.

# ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	OBJETIVOS.....	3
2.1.	Objetivo General.....	3
2.2.	Objetivos Específicos.....	3
III.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
3.1.	Tortugas Marinas.....	4
3.1.1.	Amenazas de las tortugas marinas.....	4
3.1.2.	Ciclo de vida.....	5
3.2.	<i>Lepidochelys olivacea</i> .....	7
3.2.1.	Éxito de eclosión.....	7
3.2.2.	Conservación en Guatemala.....	8
3.2.3.	Contaminación de tortugarios.....	9
3.3.	Hongos en tortugas marinas.....	9
3.4.	Hongos del género <i>Fusarium</i> .....	9
3.4.1.	<i>Fusarium solani</i> .....	10
3.4.2.	<i>Fusarium oxysporum</i> .....	10
3.4.3.	<i>Fusarium keratoplasticum</i> .....	11
3.4.4.	<i>Fusarium falciforme</i> .....	11
3.5.	<i>Fusarium spp</i> en tortugas marinas.....	11
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
4.1.	Materiales.....	13
4.1.1.	Recursos humanos.....	13
4.1.2.	Recursos de campo.....	13

4.1.3. Recursos biológicos.....	14
4.2. Área de estudio.....	14
4.3. Diseño Experimental.....	15
4.3.1. Diseño del estudio .....	15
4.4. Metodología .....	15
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	19
5.1. RESULTADOS.....	19
5.1.1. Identificación la presencia del hongo del género <i>Fusarium</i> en huevos de <i>Lepidochelys olivacea</i> .....	19
5.1.2 Relación entre los efectos del hongo <i>Fusarium</i> sobre el éxito de eclosión de huevos del tortugario del AUMH. ....	21
5.2. DISCUSIÓN.....	23
5.2.1. Identificación la presencia del hongo del género <i>Fusarium</i> en huevos de <i>Lepidochelys olivacea</i> .....	23
5.2.2 Relación entre los efectos del hongo <i>Fusarium</i> sobre el éxito de eclosión de huevos del tortugario del AUMH. ....	27
VI. CONCLUSIONES.....	30
VII. RECOMENDACIONES .....	31
VIII. RESUMEN.....	32
SUMMARY .....	34
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	35
X. ANEXOS.....	46

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 .....	20
Cuadro 2 .....	20
Cuadro 3 .....	21
Cuadro 4 .....	22
Cuadro 5 .....	23
Cuadro 6 .....	47

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.....	47
Figura 2.....	48
Figura 3.....	48
Figura 4.....	49

## I. INTRODUCCIÓN

En Guatemala los esfuerzos de conservación de tortugas marinas se llevan a cabo a través del uso exclusivo de tortugarios (Montes, 2004, p.3). Como parte del manejo, se recomienda identificar las amenazas que puedan disminuir el éxito de eclosión, como las infecciones microbiológicas, principalmente causadas por hongos (Brofft, Lamb, Walker, Weed y Stephenson, 2018, p.112; Mortimer, 2000, p.200).

La presencia de hongos en nidos de tortugas marinas puede contribuir al fallo en la eclosión de los huevos (Güçlü, Biyik y Şahiner, 2010, p.408). Se ha demostrado que el crecimiento de hongos existe tanto en nidos naturales como en tortugarios, sin embargo, no se ha establecido firmemente si ocurre una mayor contaminación al trasladarlos a tortugario (Patino-Martínez, Marco, Quiñonez, Abella, Muriel y Dieguez, 2012, p.51).

Uno de los hongos más comunes, reportados en nidos de tortugas marinas, pertenecen al género *Fusarium* (Gámez, García, Osorio, Vásquez, Constantino, 2009, p.69; Phillot y Parmenter, 2012, p.17; Sarmiento-Ramírez, Abella, Phillot, Sim, West, Martín et al, 2014, p.1). *Fusarium* sp. se encuentra distribuido mundialmente y tienen un alto nivel de supervivencia en sustratos, incluso hasta décadas sin ninguna modificación en su morfología (Patino-Martínez et al., 2012, p.51). Se ha encontrado que colonizan hábitats marinos (Ávalos, Rosique, Capello & Villarruel, 2018, p.142) y han tomado importancia debido a los efectos negativos que tienen sobre el desarrollo embrionario de las tortugas marinas (Sarmiento-Ramírez et al., 2014, p.192). Sin embargo, otros géneros de hongos microscópicos han sido encontrados en nidos de tortugas marinas.

Existen vacíos de información del estado microbiológico de los nidos de tortugas marinas en Guatemala. Esta tesis se trabajó en el tortugario del Área de

Usos Múltiples de Hawaii, Chiquimulilla, Santa Rosa, perfilándose como una investigación pionera en donde se pretende contribuir al conocimiento de la presencia de hongos microscópicos en nidos de *Lepidochelys olivacea*. En un inicio se esperaba aislar y determinar la presencia del género *Fusarium* por tratarse de un género común en nidos de tortugas marinas, sin embargo, se aisló *Aspergillus* (*A.niger*, *A. terreus* y *A.fumigatus*), *Drechslera* spp., *Paecilomyces* spp., *Penicillium* spp. y *Microsporum gypseum*. Con la información recabada, esta tesis logró identificar los efectos que las especies de hongos poseen sobre el éxito de eclosión, lo que permitirá aportar a la toma de decisiones sobre el manejo del tortugario del Área de Usos Múltiples de Hawaii, Chiquimulilla, Santa Rosa.

## II. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo General

- Contribuir al conocimiento de la presencia de hongos del género *Fusarium* en nidos de *Lepidochelys olivacea* en el tortugario del Área de Usos Múltiples Hawaii (AUMH)

### 2.2. Objetivos Específicos

- Identificar la presencia del hongo del género *Fusarium* en huevos de *Lepidochelys olivacea*.
- Establecer la relación entre los efectos del hongo *Fusarium* sobre el éxito de eclosión de huevos del tortugario del AUMH.

### III. REVISIÓN DE LITERATURA

#### 3.1. Tortugas Marinas

A lo largo de la historia, se han descrito distintas familias, incluyendo a dos familias del Jurásico que incluyen algunas especies de tortugas marinas (Pleurosternidae y Thalassemyidae). Las familias extintas son Toxochelyidae y Protostegidae (Frazier, 2001, p.3) y las existentes son Cheloniidae y Dermochelyidae (Lutz & Musick, 1996, p.8; Secretaría CIT, 2004, p.4). Existen siete especies de tortugas marinas. La familia Cheloniidae agrupa seis: *Lepidochelys olivacea* (Parlama), *Eretmochelys imbricata* (Carey), *Chelonia mydas* (tortuga verde), *Caretta caretta* (Cabezona), *Natator depressus* (tortuga plana) y *Lepidochelys kempii* (Lora). La familia Dermochelyidae, únicamente contiene a la especie *Dermochelys coriacea* (Baule) (Frazier, 2001, p.4; Secretaría CIT, 2004, p.5).

##### 3.1.1. Amenazas de las tortugas marinas

Las tortugas marinas presentan una alta mortalidad por causas naturales y antropogénicas (Secretaría CIT, 2004, p.7). Estas tienen una baja probabilidad de supervivencia de los neonatos y juveniles para llegar a convertirse en adultos, ya que cualquier fuente de mortalidad significativa de adultos y juveniles representa una seria amenaza (Frazier, 2001, p.15). Se estima que la relación de supervivencia y mortalidad es 1:1000 (Abreu-Grobois, 2000, p.5).

Históricamente, han sido utilizadas para consumo de carne, piel, huevos y productos elaborados con sus caparazones (WWF, 2014). Sin embargo, en las últimas décadas, se han añadido a estos usos, otras amenazas, como lo son el tráfico ilegal de huevos a gran escala, la pesca incidental, pérdida de hábitats y

degradación y contaminación de playas en donde anidan (James y Melero, 2014, p.117). También se pueden añadir la contaminación con plástico, caza de ejemplares adultos, depredadores y patógenos, como virus causantes de fibropapilomatosis y enfermedades micóticas (Sarmiento-Ramírez et al., 2014, p.1).

### **3.1.2. Ciclo de vida**

Los machos y hembras adultos reproductivamente activos migran desde las zonas de alimentación hacia las de reproducción, aunque algunos podrían ser residentes (Varo et al., 2015, p.5). Generalmente, el cortejo y la cópula son en aguas cercanas a las playas de anidación y, como en otras especies de tortugas marinas se presenta el fenómeno de la filopatría (Frazier, 2001 p.10; Varo et al., 2015, p.16). Este fenómeno consiste en regresar a las regiones donde nacieron para reproducirse y posteriormente anidar (Lara-Uc y Mota-Rodríguez, 2014, p.11). Se cree que utilizan distintos mecanismos para realizar este comportamiento, como siguiendo campos magnéticos, concentraciones químicas del agua y características geográficas del área de nacimiento (Spotila, 2004, p.26).

Los huevos son depositados en los nidos que las hembras construyen en la playa, arriba de la línea de la marea alta (Frazier, 2001, p.6). Estos nidos tienen una profundidad aproximada de 40 cm y diámetro de 21.49 cm (Vega y Robles, 2005, p.48). En general las hembras de esta especie reanidan entre 1 y 3 veces por temporada (Varo et al, 2015, p11).

La incubación ocurre sin ningún cuidado parental (Frazier, 2001, p.6) y puede durar de 45 a 65 días, dependiendo de la temperatura de incubación (Chacón et al., 2007, p.22; Spotila, 2004, p.14). Existe un proceso fisiológico llamado determinación de sexo mediante temperatura (Mrosovsky y Pieau, 1991, p.170; Vogt y Flores-Villela, 1986, p.21). Esto significa que la temperatura de incubación es la que determina el sexo de los neonatos (Lara-Uc y Mota-Rodríguez, 2014, p.11; Morales-

Mérida, 2009, p.88; Vogt y Flores-Villela, 1986, p.21). Este proceso ocurre durante el segundo tercio de la incubación (Frazier, 2001, p.6). La temperatura en donde se obtiene un 50% de cada sexo es llamada temperatura pivotal (Mrosovsky y Pieau, 1991, p.178). Si la temperatura se encuentra por debajo de la temperatura pivotal, se produce una mayor cantidad de machos y si se encuentra arriba de esto se producen más hembras (Frazier, 2011, p.6).

Al momento que los neonatos alcanzan la superficie, se dirigen hacia el mar. Estos manifiestan distintas respuestas a estímulos, como lo son la gravedad (geotaxis negativa); temperatura (actividad reducida en altas temperaturas); intensidad de la luz (fototropotaxis positiva); color de la luz (atracción a longitudes de onda de baja intensidad); dirección de la luz (son sensibles a la luz visible a menos de 30° arriba del horizonte); a la forma de los objetos (aversión a siluetas elevadas y a ciertas formas) (Frazier, 2001, p6). La fase de neonato dura desde la eclosión hasta el momento en que el animal se alimenta de manera independiente y ya no requiere primordialmente de la fuente de energía del saco vitelino (Frazier, 2001, p.7).

Al entrar en la zona oceánica, se inicia la fase juvenil del ciclo de vida de las tortugas marinas (Frazier, 2001, p.7). Después de alcanzar la fase de madurez y llegar a la edad de primera reproducción, los adultos migran de sus áreas de alimentación a las áreas de anidación (Lara-Uc y Mota-Rodríguez, 2014, p.11). Usualmente estos sitios se localizan cerca del lugar en donde nacen o en áreas cercanas (Frazier, 2001, p.10). Para el pacífico hay anidaciones solitarias durante todo el año, con mayor cantidad en la época lluviosa, es decir, entre julio y diciembre (Chacón et al., 2007, p.22; Lara-Uc y Mota-Rodríguez, 2014, p.11). Al concluir la temporada de reproducción, los adultos migran para retornar a sus respectivas áreas de alimentación (Frazier, 2001, p.10).

### **3.2. *Lepidochelys olivacea***

La parlama se considera la tortuga marina más abundante a nivel mundial (James y Melero, 2014, p.118). Sin embargo, muchos aspectos de su biología y ecología continúan sin conocerse (Varo et al., 2015, p.6). Se encuentra en la lista roja de UICN catalogada como vulnerable y su población continúa decreciendo (Abreu-Grobois y Plotkin, 2008).

La parlama tiene una amplia distribución a nivel mundial (Spotila, 2004, p.131). Sus zonas de alimentación, anidación y rutas de migración abarcan áreas tropicales (excepto en el Golfo de México) y subtropicales en los océanos Pacífico, Índico y Atlántico (Varo et al, 2015, p.8). En el pacífico su distribución abarca desde las playas de México hasta Perú (Barrientos, Ramírez y Páez, 2014, p.438).

La edad media de la madurez sexual en la parlama se ha estimado en torno a los 10 a 15 años (Danemann y Ezcurra, 2007, p.459; Lara-Uc y Mota-Rodríguez, 2014, p.11; Varo et al., 2015, p.11). Tiene un intervalo de reanidación de 14 a 28 días (Barrientos-Muñoz et al., 2014, p.443) y anida cada dos años aproximadamente (Lara-Uc y Mota-Rodríguez, 2014, p.12). En Guatemala se ha registrado que *Lepidochelys olivacea* pone un aproximado de 92 huevos por nido (Muccio, 2017, p.14), los cuales eclosionan alrededor de 50 días, dependiendo de la temperatura (Morales-Mérida, 2009, p.11). La temperatura pivotal en tortuga parlama en el pacífico se encuentra en promedio de 29.13°C (Chacón et al., 2007, p.22).

#### **3.2.1. Éxito de eclosión**

El éxito de eclosión es el número de neonatos que eclosionan o rompen el cascarón y que alcanzan la superficie de la playa (Miller, 2000, p. 148). Mientras ocurre la eclosión, los huevos están aún dentro del nido y toma de 1 a 7 días para que los neonatos abandonen el nido (Frazier, 2001, p.6). Para la costa del Pacífico

de Guatemala, se reporta entre un 88% a 92% de éxito de eclosión en tortugarios (Muccio y Flores, 2015, p.36).

### **3.2.2. Conservación en Guatemala**

Las leyes de regulación de comercio varían entre países, así como la implementación y control de su cumplimiento (Varo et al., 2015, p.7). En Guatemala, los esfuerzos de conservación se han basado exclusivamente en el uso de tortugarios (Morales-Mérida, 2009, p.4). Un tortugario, según el Consejo Nacional de Áreas Protegidas (CONAP, 2017), se define como “una unidad de conservación de tortugas marinas, destinado a incubar huevos originados de cuota de conservación, decomisos, donaciones u otras situaciones eventuales, con la finalidad de liberar neonatos nacidos hacia el mar”. La cuota de conservación en Guatemala representa un 20% del nido de parlama, el cual es entregado a un tortugario por el colector o “parlamero” y poder comercializar el resto del nido en un plazo de 24 horas (Cúmez, 2018, p.18; Muccio, 2017, p.7). En las costas de Guatemala, existen 29 tortugarios registrados ante el CONAP (PNUD, 2018).

Los tortugarios deben ser utilizados como último recurso y únicamente cuando la protección de huevos de tortugas marinas en la playa no es posible (Malmierca, 2018, p.9; Morales-Mérida, 2009, p.27). Estos deben establecerse solo como una medida temporal mientras se continúan los esfuerzos que permitan resolver las amenazas fundamentales en los nidos naturales (Morales-Mérida, 2009, p.27). Actualmente se considera a Guatemala como uno de los últimos países en la región en donde la utilización de huevos todavía está permitida libremente, por lo que es necesario reevaluar la efectividad y cumplimiento de la estrategia de conservación de las tortugas marinas que visitan el país (Muccio, 2017, p.5).

### **3.2.3. Contaminación de tortugarios**

Uno de los principales problemas del uso de tortugarios, es el acumulo de posibles agentes patógenos en la arena que se utiliza para la incubación de los huevos tras el uso a través de los años de la misma arena (Patino-Martínez et al., 2012, p.47). Se sabe también que, en el proceso de relocalización, aumenta la probabilidad de contaminación con microorganismos debido a la alta densidad de nidos ubicado en los tortugarios (Patino-Martínez et al., 2012, p.48).

### **3.3. Hongos en tortugas marinas**

Se ha demostrado que existe la presencia de hongos tanto en huevos relocalizados a tortugarios como en nidos naturales. Los huevos infértiles, no desarrollados o muertos en los nidos pueden propiciar las infecciones fúngicas, obteniendo nutrientes y alcanzar huevos sanos en el nido, en donde la actividad proteolítica y lipolítica de las hifas pueden permitir penetrar el saco vitelino (Patino-Martínez et al., 2012, p.51). La presencia fúngica también impide el intercambio gaseoso, invade el tejido embrionario completamente o absorbe el calcio del cascarón (Patino-Martínez et al, 2012, p.51-52; Phillot y Parmenter, 2014, p.297). A pesar de ello, no se ha determinado si la mayor contaminación ocurre cuando son relocalizados a los tortugarios (Patino-Martínez et al., 2014, p.51).

En la última década, la contaminación con hongos se ha atribuido principalmente a hongos del género *Fusarium* (Sarmiento-Ramírez et al., 2014).

### **3.4. Hongos del género *Fusarium***

Los hongos del género *Fusarium* son organismos Eucariotas (Stanchi, 2007, p.465). Estos pertenecen al filo Ascomycota (Monzón y Rodríguez, 2006, p.3). Su

reproducción puede ser sexual o asexual, tienen un cuerpo denominado micelio y son heteromorfos (Stanchi, 2007, p.465)

En estudios realizados en tortugas marinas se han encontrado las especies *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* (Patino-Martínez et al., 2012, p.51; Sarmiento-Ramírez et al., 2010, p.312; Phillot, Parmenter & Limpus, 2004, p.701), *Fusarium keratoplasticum* y *Fusarium falciforme*. (Sarmiento-Ramírez et al., 2014). *Fusarium solani* ha sido el hongo que más ha sido encontrado, principalmente en nidos de *Caretta caretta* y *Dermochelys coriacea* (Sarmiento-Ramírez et al., 2014, p.1; Patino-Martínez et al., 2012, p.51).

#### **3.4.1. *Fusarium solani***

Es una especie cosmopolita y es encontrada en una gran variedad de sustratos (Tapia y Amaro, 2014, p.86). En Agar Dextrosa Papa son de color blanco crema con escaso micelio. El esporodoquio se produce en abundancia y puede ser color blanco crema, azul o verde. Generalmente no produce pigmentos en este agar, pero pueden observarse pigmentos marrones o violetas (Leslie y Summerell, 2006, p.250). Crecen de 25°C a 37°C. En cuanto a su patogenicidad en animales, se describe que es tóxico o patogénico directamente con tortugas y otras especies de animales (Leslie y Summerell, 2006, p.254).

#### **3.4.2. *Fusarium oxysporum***

Es una especie saprófita común del suelo. Es la especie de *Fusarium* que se encuentra mayormente distribuida (Leslie y Summerell, 2006, p.212). Se ha recuperado de algas marinas (Leslie y Summerell, 2006, p.213).

### **3.4.3. *Fusarium keratoplasticum***

Es una especie que se encuentra en plantas y el suelo (Chehri, Salleh y Zakaria, 2015, p.459). Se caracteriza por la producción de hifas densas y 3 macroconidas septadas cortas (Chehri et al., 2015, p.470).

### **3.4.4. *Fusarium falciforme*.**

Puede encontrarse en el suelo, la corteza de los árboles, algas y algunos alimentos como el arroz (Chehri et al., 2015, p. 559, 560). Tiene una colonia de aproximadamente 3 cm, con una coloración de blanca a amarilla (Chehri et al., 2015, p.469).

### **3.5. *Fusarium spp* en tortugas marinas**

A lo largo de los años, se han realizado estudios acerca de este hongo en tortugas marinas. En un estudio realizado en Cabo Verde, se encontró que *Fusarium solani* es el responsable de la mortalidad en masa tanto de nidos naturales como relocalizados a tortugarios (Sarmiento-Ramírez et al., 2014, p.1). En otro estudio con huevos de Baule (*Dermochelys coriacea*), se demostró mediante un desafío con cascaras de huevo, que la contaminación con hongos del género *Fusarium*, no influye en el éxito de eclosión, pero sí en el peso y tamaño de los neonatos (Patino-Martínez et al., 2012, p.51). En un estudio realizado por Keene, Soule y Paladino (2014, p.51), se aisló a *Fusarium spp* en fluido cloacal de *Lepidochelys olivacea* en Costa Rica.

En un estudio realizado en Estados Unidos por Brofft y colaboradores (2018, p.111) se determinó la presencia de *Fusarium keratoplasticum* y *Fusarium falciforme* en huevos no eclosionados de tortuga Cabezona (*Caretta caretta*) en diferentes

regiones de Jekyll Island, Georgina, Estados Unidos. La prevalencia de *Fusarium falciforme* fue mayor en el sur de Jekyll Island, mientras que *Fusarium keratoplasticum* fue mayor en el norte (Brofft et al., 2018, p.117).

En otro estudio realizado por Keene y colaboradores (2014, p.49), se aisló *Fusarium* en fluido cloacal en Parlamas en Costa Rica. Sin embargo, no fue aislado en huevos. Esto lo atribuyen a las posibles propiedades antimicrobianas por parte del fluido cloacal. A pesar de ello, no descartan la posibilidad de una contaminación con *Fusarium* si el área de incubación está contaminada o el nido es sometido a estrés ambiental.

*Fusarium* spp. también ha sido ligado a enfermedades en tortugas marinas adultas. En un caso reportado de Hialohifomicosis Cutánea en *Caretta* en un estanque de rehabilitación en España, se determinó que *Fusarium solani* era el agente causal. En dicho estudio, se atribuyó la enfermedad micótica a la contaminación por *F. solani* presente en la arena del estanque de rehabilitación y al mal estado inmunológico de la tortuga (Cabañes, Alonso, Castellá, Alegre, Domingo & Pont, 1997, p.3343)

## **IV. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1. Materiales**

#### **4.1.1. Recursos humanos**

- 1 estudiante investigadora
- 2 asesoras de tesis
- Guarda recursos ARCAS

#### **4.1.2. Recursos de campo**

- Caldo nutritivo
- Medio de cultivo en placa (Agar Sabouraud)
- Hielera
- Hielo seco
- Hisopos estériles
- DataLoggers (Hobo® Pendant)
- Programa HoboWARE®
- Computadora
- Bolsas plásticas transparentes
- Vara medidora
- Cinta Métrica flexible
- Cinta métrica 20 mts
- Linterna de cabeza
- Bolsas ziploc
- Marcador permanente
- Masking tape

### **4.1.3. Recursos biológicos**

- 10 nidos de *Lepidochelys olivacea*

## **4.2. Área de estudio**

El estudio se llevó a cabo en el tortugario Hawaii, administrado por la ONG Asociación de Rescate y Conservación de Vida Silvestre (ARCAS) en el Área de Usos Múltiples Hawaii (AUMH).

El Área de Usos Múltiples Hawaii se encuentra localizada entre el Océano Pacífico y la frontera entre áreas agrícolas y el bosque manglar del Canal de Chiquimulilla. Se encuentra ubicada a una distancia de 150 km de la ciudad capital y a 65 km de la cabecera municipal de Chiquimulilla. En el área se encuentran presente las aldeas El Cebollito y El Hawaii y los caseríos Las Mañanitas, El Rosario y El Dormido. Cuenta con una extensión aproximada de 36.5 km. cuadrados, colindando al Norte con el Municipio de Cuilapa, al Oeste con la Aldea Pasaco y Moyuta (Jutiapa), al Sur con el Océano Pacífico y al Oeste con el municipio de Guazacapán (Organismo Judicial de Guatemala, 2016, p.2).

El clima de la región es cálido húmedo, sin estación fría bien definida y con escaso régimen de lluvias. La precipitación pluvial varía de 1538 a 2073 milímetros, promedio total anual. La temperatura media mensual oscila entre 23.9 y 30 grados centígrados (López, 2011, p.16). Según Holdrick, el clima es Bosque seco subtropical (MAGA, 2002).

### **4.3. Diseño Experimental**

#### **4.3.1. Diseño del estudio**

El diseño del estudio fue experimental, prospectivo, de corte longitudinal. Se considera un estudio experimental debido a sus características de controlar los factores en ambos grupos, tanto en el grupo control como el que será evaluado (Universidad de Valencia, 2011). Es también de carácter longitudinal ya que el estudio establece una secuencia temporal en relación con la causa, en este caso a la secuencia de cultivos microbiológicos de cada nido. Esto tipos de estudios recopilan datos a lo largo del tiempo (Universidad de Valencia, 2011). Se consideró un estudio prospectivo debido a que se observan las causas presumibles y se evaluó longitudinalmente para observar las posibles consecuencias (UVA, 2013).

### **4.4. Metodología**

La toma de datos se realizó durante la temporada de anidación de año 2019, en los meses de septiembre y octubre, en el área de influencia del Área de Usos Múltiples Hawaii (AUMH) y su tortugario. Para encontrar los nidos se realizaron dos patrullajes nocturnos, entre las 20:00 y 5:00 horas, en búsqueda de parlamas anidadoras.

Para contribuir al conocimiento de la presencia de hongos del género *Fusarium* en nidos de parlama, se realizaron tres hisopados, los cuales consistieron en la toma directa de muestra frotando un hisopo estéril sobre la cáscara de huevos en diferentes momentos de la cadena de relocalización (Tangarife-Castaño, Flórez-Muñoz y Mesa-Arango, 2015, p.220). Se tomaron un total de 10 nidos de parlama, de los cuales 5 fueron relocalizados en condiciones naturales frente al tortugario del AUMH y los otros 5 fueron trasladados a los tortugarios del AUMH, en las condiciones habituales de manejo. Los primeros 5 nidos permitieron tener un control

sobre el posible foco de contaminación de *Fusarium*, aunque finalmente se detectaron otros géneros de hongos microscópicos, pues se realizó un hisopado inmediatamente luego de la puesta de los huevos por parte de la hembra anidadora (sin haber cerrado el nido), otro al momento en que se relocalizaron los huevos a los nuevos nidos y otro al momento de realizar la exhumación de los nidos.

Al momento en que se encontró una hembra anidadora, se esperó a que dejara de desovar y antes de que cerrar el nido, se movió a la tortuga y se tomó un primer hisopado. Este fue de huevos sin evidencia de arena sobre ellos. De igual manera se tomaron ciertos parámetros que permitieron replicar las condiciones naturales de los nidos para su relocalización en la playa y en tortugario: la profundidad desde la superficie de la arena hasta la parte superior de los huevos y desde la superficie hasta el fondo de la cámara del nido; utilizando para ello un tubo de PVC milimetrado (vara medidora). También se midió el diámetro de la cámara de los huevos utilizando una cinta métrica metálica (Vega y Robles, 2005, p.46). Toda la información, incluyendo el número de nido fue registrada en la bitácora de campo (Cuadro 6).

El traslado de los huevos se hizo en un período de 1 hora desde que la hembra anidó hasta su relocalización. Éstos se trasladaron en una bolsa plástica transparente manteniendo la posición que tenían en el nido natural hasta llegar al sitio de relocalización. Un segundo hisopado se realizó luego de colocar los huevos en cada uno de los nidos relocalizados. Posterior al hisopado, a cada nido, se le colocó un dispositivo DataLogger (Hobo® Pendant) programados para el registro de las temperaturas a cada hora durante el período de incubación. Al finalizar la exhumación, los datos se descargaron en el programa HOBOWare® y se determinaron las temperaturas mínimas, máximas y el promedio de cada uno de los nidos. Estos datos se utilizaron para compararlos con las temperaturas de crecimiento de los hongos según la literatura y poder determinar si hubo algún efecto de esta sobre el desarrollo de los hongos y desarrollo embrionario.

Los nidos relocados en playa fueron sembrados en el área de playa frente a los tortugarios, identificando cada nido según fue numerado en la bitácora de campo. Para ubicar los nidos relocados en la playa se hizo una triangulación mediante cinta métrica de 20 metros, anotando las distancias de los paralelos de los tortugarios hacia el nido (Figura 1) (Ávila y Meraz, 2008, p.25). Los nidos relocados en el tortugario fueron identificados de acuerdo con lo registrado en la bitácora de campo.

Los medios de cultivo previo a ser utilizados fueron almacenados en una hielera con hielo seco. El hisopado fue realizado a 10 huevos seleccionados al azar del estrato medio de los nidos relocados. En el momento de la toma de muestra, se hizo una siembra directa en placa con Agar Saboraud. El hisopo de madera estéril fue humedecido con caldo nutritivo y almacenado en la placa de Agar con el fin de aumentar las posibilidades de crecimiento del hongo (figura 2). Las muestras se identificaron con un marcador permanente sobre la placa de Agar Saboraud y selladas con cinta adhesiva.

Las muestras fueron cultivadas y analizadas en el Laboratorio ULTRALAB División Veterinaria, ubicado en la 6ta Avenida 1-56, Zona 10, en la Ciudad de Guatemala bajo las condiciones de cultivo propias del laboratorio. Este análisis de muestras en laboratorio profesional permitió determinar la presencia de cualquier especie de hongo microscópico, distinta a *Fusarium*. El traslado de las muestras al laboratorio fue en una caja de plástico a temperatura ambiente en un período de 24 a 48 horas después de la toma de muestra.

Un tercer hisopado se realizó al momento de la exhumación, muestreando 10 cáscaras al azar, para luego sembrarlos en la placa de agar previamente descrito. Las exhumaciones correspondientes se realizaron a los cincuenta días de incubación para nidos relocados en condiciones naturales y cinco días después

de la emergencia del primer neonato para los nidos relocalizados en tortugario (figuras 3 y 4). El proceso de exhumación se realizó según la metodología propuesta por Miller (2000, p.148), que establece porcentajes de éxito de eclosión de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\text{Éxito de Eclosión (\%)} = \frac{\text{\#cascarones}}{\text{\#cascarones} + \text{\#HSDA} + \text{\#HNE} + \text{\#ETNE} + \text{\#D}} \times 100$$

Dónde:

HSDA: Huevos sin desarrollo aparente

HNE: Huevos no Eclosionados

ETNE: Embriones a término no eclosionados

D: Depredados

Para inferir sobre los efectos de *Fusarium spp* o cualquier hongo microscópico encontrado sobre el éxito de eclosión de nidos de parlama, se compararon sus efectos negativos según la teoría y el éxito de eclosión obtenido a partir de la exhumación, determinando si la presencia de hongos pudo haber tenido efectos negativos sobre dicho porcentaje. Ya que se tuvo la oportunidad de medir las temperaturas a lo largo del periodo de incubación, también se evaluó alguna relación de esta con los hallazgos de este estudio.

## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. RESULTADOS

#### 5.1.1. Identificación la presencia del hongo del género *Fusarium* en huevos de *Lepidochelys olivacea*.

Se aislaron 4 géneros y 4 especies de hongos en cultivos realizados en nidos de *Lepidochelys olivacea*. Como se observa en los Cuadros 1 y 2, el género *Fusarium*, no fue encontrado en ninguna de las condiciones de los nidos (naturales o tortugario). Sin embargo, se logró aislar 8 especies de hongos: *Aspergillus* (*A. terreus*, *A. fumigatus*, *A. niger*), *Drechslera* spp., *Paecilomyces* spp., *Penicillium* spp. y *Microsporum gypseum*.

El Cuadro 1 muestra que, en los nidos relocalizados a condiciones naturales, el hongo con mayor incidencia fue *A. fumigatus*, tanto inmediatamente después de la oviposición como al relocalizar los huevos a nidos en condiciones naturales frente al Parque AUMH. Al momento de la exhumación, posterior al proceso de incubación, únicamente se observó a *Penicillium* spp., mientras que *A. terreus* fue aislado únicamente en el primer nido, tanto en el momento de la oviposición como en la relocalización. Los géneros *Drechslera*, *Paecilomyces* y *Aspergillus*, fueron aislados una única vez: en la oviposición, relocalización y exhumación, respectivamente.

Cuadro 1: Géneros y especies encontradas en nidos relocalizados en condiciones naturales durante la ovoposición (sin intervención), al relocalizar los huevos a nidos en playa y en la exhumación.

<b>NIDO</b>	<b>OVIPOSICIÓN</b>	<b>RELOCALIZACIÓN</b>	<b>EXHUMACIÓN</b>
1	<i>Aspergillus terreus</i>	<i>Aspergillus terreus</i>	<i>Penicillium</i> spp.
2	<i>Drechslera</i> sp.	<i>Paecilomyces</i> sp.	<i>Penicillium</i> spp.
3	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Penicillium</i> spp.
4	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus</i> spp.
5	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Penicillium</i> spp.

En el Cuadro 2, se observa que en los nidos relocalizados a condiciones de tortugario, no se determinó la presencia del género *Fusarium*, sin embargo, el género con mayor incidencia fue *Aspergillus*. Las especies aisladas fueron: *A. fumigatus*, *A. niger* y *A. terreus*. La especie *Mycrosporium gypseum* fue aislada únicamente en un nido en condiciones de relocalización al tortugario. También se observó que tres cultivos dieron negativo a las 48 horas de incubación.

Cuadro 2: Géneros y especies encontradas en nidos relocalizados a condiciones de tortugario durante la ovoposición (sin intervención), al relocalizar los huevos y en la exhumación.

<b>NIDO</b>	<b>OVIPOSICIÓN</b>	<b>RELOCALIZACIÓN</b>	<b>EXHUMACIÓN</b>
1	negativo	<i>Aspergillus terreus</i>	<i>Aspergillus</i> sp.
2	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus</i> sp.
3	<i>Aspergillus niger</i> ; <i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	negativo
4	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus</i> spp.
5	negativo	<i>Mycrosporium gypseum</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>

### 5.1.2 Relación entre los efectos del hongo *Fusarium* sobre el éxito de eclosión de huevos del tortugario del AUMH.

En los diez nidos estudiados, no se encontró el género *Fusarium*, por lo no se realizó una asociación de los posibles efectos que este hongo podría tener sobre el éxito de eclosión. Sin embargo, sí se realizó de los posibles efectos de los hongos que sí fueron encontrados en los nidos, en sus diferentes condiciones.

En el Cuadro 3 se observa que el éxito de eclosión en los nidos relocalizados en condiciones naturales fue de 0% en la totalidad de los nidos. En total se incubaron 467 huevos, en donde 370 no tuvieron desarrollo aparente. Se determinó que en los nidos 1, 3 y 4 si hubo presencia de desarrollo en fases iniciales, teniendo 97 huevos no eclosionados. Ninguno de los huevos mostró signos de depredación. En los nidos 1, 2, 3 y 5 se aisló *Penicillium* spp. al momento de la exhumación mientras que únicamente en el nido 4 se aisló *Aspergillus* spp.

Cuadro 3. Éxito de eclosión nidos relocalizados a condiciones naturales

NIDO	HUEVOS	CASCARONES	HSDA	HNE	ETNE	DEPREDADOS	% ECLOSIÓN	ESPECIES
1	108	0	105	3	0	0	0.0	<i>Penicillium</i> spp.
2	94	0	94	0	0	0	0.0	<i>Penicillium</i> spp.
3	95	0	39	56	0	0	0.0	<i>Penicillium</i> spp.
4	82	0	44	38	0	0	0.0	<i>Aspergillus</i> spp.
5	88	0	88	0	0	0	0.0	<i>Penicillium</i> spp.
<b>TOTAL</b>	467	0	370	97	0	0	-	-

Nota: HSDA (Huevos sin Desarrollo Aparente); HNE (Huevos no Eclosionados); ETNE (Embriones a Término no eclosionados)

El éxito de eclosión en nidos relocalizados a condiciones de tortugario varió entre 59.8% a 93.6% (Cuadro 4). En total se incubaron 475 huevos, en donde se obtuvieron 346 neonatos, 2 huevos sin desarrollo aparente, 90 huevos no eclosionados y 37 embriones a término no eclosionados. En los nidos 3, 4 y 5, se observó un éxito de eclosión es menor y se observó una alta cantidad de huevos no

eclosionados, congruente a que el número de huevos incubados fue mayor que en los nidos 1 y 2. En los nidos 1, 2, 4 y 5 se aisló *Aspergillus* spp., mientras que en el nido 3 el cultivo dio negativo a las 48 horas de incubación.

Cuadro 4. Éxito de eclosión nidos relocalizados a tortugario y hongos encontrados durante la exhumación.

NIDO	HUEVOS	CASCARONES	HSDA	HNE	ETNE	DEPREDADOS	% ECLOSIÓN	ESPECIES
1	83	74	1	1	7	0	89.2	<i>Aspergillus</i> sp.
2	78	73	1	1	3	0	93.6	<i>Aspergillus</i> sp.
3	112	72	0	34	6	0	64.3	negativo
4	90	60	0	26	4	0	66.7	<i>Aspergillus</i> spp.
5	112	67	0	28	17	0	59.8	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<b>TOTAL</b>	475	346	2	90	37	0	-	-

Nota: HSDA (Huevos sin Desarrollo Aparente); HNE (Huevos no Eclosionados); ETNE (Embriones a Término no eclosionados)

Dado que fue posible medir las temperaturas mediante el uso de un dispositivo de registro de temperaturas (Datalogger), en los nidos relocalizados a ambas condiciones estudiadas, se obtuvieron las temperaturas máximas y promedio a lo largo del período de incubación (55 días) de los diez nidos (Cuadro 5). En los nidos relocalizados en playa, se mostraron temperaturas de hasta 39.33°C. En los nidos relocalizados en tortugario, la temperatura máxima registrada fue de 36.40°C.

Cuadro 5. Temperaturas registradas en nidos relocalizados a condiciones naturales en playa y a condiciones de tortugario.

NIDO	CONDICIONES NATURALES		CONDICIONES DE TORTUGARIO	
	MÁXIMA	PROMEDIO	MÁXIMA	PROMEDIO
1	38.82°C	36.07°C	36.07°	33.46°
2	38.15°C	35.56°C	35.86°	32.94°
3	39.05°C	35.46°C	36.07°	33.27°
4	39.05°C	35.99°C	35.86°	33.42°
5	39.33°C	36.33°C	36.40°	33.36°

## 5.2. DISCUSIÓN

### 5.2.1. Identificación la presencia del hongo del género *Fusarium* en huevos de *Lepidochelys olivacea*.

Los cultivos realizados permitieron obtener las especies de hongos microscópicos, aislados de huevos en nidos de *Lepidochelys olivacea*, en distintos momentos de la cadena de relocalización en el Área de Usos Múltiples Hawaii (AUMH). Esta cadena se refiere al momento en que los huevos son ovipuestos, el momento inmediato luego de que se relocalizan los huevos a condiciones naturales relocalizados en la playa frente al parque del AUMH o a condiciones de tortugario, y finalmente al momento de hacer la exhumación, posterior a la incubación y emergencia de los neonatos. En este estudio se esperaba encontrar hongos del género *Fusarium* dada la frecuencia de este en nidos de tortugas marinas. Que, aunque no se logró encontrar en ninguna condición, sí se encontraron especies de hongos que pueden llegar a ser patógenos para los huevos de tortugas marinas. Se aislaron cepas de *Aspergillus* sp., *Drechslera* sp., *Paecilomyces* sp. y *Penicillium* spp. en condiciones naturales (Cuadro 1), y cepas de *Aspergillus* sp. y *Microsporium gypseum* en condiciones de tortugario (Cuadro 2).

En algunos estudios, las especies de hongos comúnmente aislados en nidos de *Lepidochelys olivacea* han sido *Aspergillus* spp., *Chrysosporium* spp., *Penicillium* spp. (Elshafie, Al-Bahry, AlKindi, Ba-Omar, y Mahmoud, 2007, p.268; Güçlü, Bıyık & Ahiner, 2010, p.408), *Fusarium* spp. (Güçlü, Bıyık y Ahiner, 2010, p.408; Phillot y Parmenter, 2001a, p.715, Sarmiento-Ramírez et al., 2014, p.192), *Pseudallescheria boydii* (Phillot y Parmenter, 2001a, p.715). También se han realizado estudios de caracterización de la microbiota en cloacas de tortugas marinas, en donde se ha encontrado: *Fusarium* spp., *Geotrichum* spp., *Mucor* spp., *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp. (Keene et al., 2014, p.51).

En este estudio, el hongo más frecuente fue *Aspergillus* sp. Esto coincide con las investigaciones mencionadas y con otras realizadas en tortugas marinas donde se reconoce como el más abundante (Elshafie, Al-Bahry, AlKindi, Ba-Omar, y Mahmoud, 2007, p.268; Güçlü, Bıyık y Ahiner, 2010, p.409; Phillot, Parmenter y Limpus, 2004, p.702). El género *Aspergillus* generalmente se encuentra en sustratos de climas cálidos, material en descomposición y puede sobrevivir a distintos ambientes, por lo que es común encontrarlo en ambientes tropicales y subtropicales (Costa, Melo y Gonçalves, 2015, p. 1197).

El rango de temperatura óptima del género *Aspergillus* varía según la especie. En general, las condiciones de crecimiento óptimas para el género son de 30 a 33°C (Carrillo, 2003, p.47). Para *Aspergillus fumigatus*, se encuentra de los 10°C hasta 55°C, siendo el óptimo 40 – 42°C. (Carrillo, 2003, p.47); para *Aspergillus niger*, de 10°C hasta 37°C (Arrúa, Moura, Fernández & Casal, 2013, p.144). En los nidos relocalizados en tortugario, donde hubo mayor presencia de dicho género, la temperatura máxima registrada fue de 36.40°C (Cuadro 5). Esto muestra que este género tiene capacidad de resistir altas temperaturas y poder desarrollarse, aunque se sobrepase de su rango máximo.

Un aspecto importante de los hongos del género *Aspergillus* es que suelen ser productores de micotoxinas. *A. niger* puede ser capaz de resistir los rayos solares y a la sequía, aunque la exposición prolongada a estos factores disminuye la viabilidad de las esporas (Arrua et al., 2013, p.144). A pesar de ser un hongo comúnmente encontrado y productor de micotoxinas, asociándose a mortalidad embrionaria en el género *Caretta caretta* (Mo, Caballero y Salas, 1992 p.81), el género *Aspergillus* ha sido aislado en nidos exitosamente eclosionados (Güçlü, Bıyık y Ahiner, 2009, p.411), lo que concuerda con el hecho que en nidos relocalizados en tortugario, el éxito de eclosión no se vio afectado.

Un hongo encontrado únicamente en hongos relocalizados a condiciones naturales al momento de la exhumación fue *Penicillium* spp. El género *Penicillium* es de los hongos mesofílicos más abundante en la naturaleza (Güçlü, Bıyık y Ahiner, 2009, p.412). El aumento de humedad relativa y el crecimiento de la vegetación y junto con esto, aumento de la temperatura y lluvia en el área, contribuye al aumento de esporas en el aire (Güçlü, Bıyık y Ahiner, 2010, p.412). Es conocido por sus propiedades micotóxicas, las cuales son perjudiciales para huevos durante el periodo de incubación (Rosado-Rodríguez y Maldonado, 2016, p.269). En este estudio fue aislado únicamente en nidos relocalizados en playa al momento de la exhumación. Las temperaturas en esas condiciones fueron de hasta 39.33°C (Cuadro 5). Según distintos estudios, la temperatura de incubación óptima de *Penicillium* es de 20°C a 30°C, aunque puede llegar a los 42°C (Gutierrez, 2017, p.21).

*Penicillium* ha sido aislado en cloacas de distintas tortugas marinas (Keene, Soule & Paladino, 2014, p.53) En el estudio realizado por Rosado-Rodríguez y colaboradores (2016, p.270), se aisló *Penicillium* únicamente de la capa exterior de huevos, pero no del contenido de huevos no eclosionados. Cabe mencionar que los hongos deben penetrar las capas orgánicas e inorgánicas de los huevos para utilizar el tejido embrionario como fuente de nutrientes (Güçlü, Bıyık y Ahiner, 2009, p.412).

Otro hongo aislado en este estudio, durante la relocalización de un nido en playa, fue *Paecilomyces*. En otros estudios se ha aislado dicho hongo, en conjunto con *Cladosporium* spp., en nódulos pulmonares en *Chelonia mydas* (Orós, Torrent y Déniz, 2005, p.20) y en anacondas adultas (*Eunectes marinus*) con lesiones granulomatosas en mandíbula (Nardoni, Papini, Marcucci y Mancianti, 2008 p.164). A pesar de esto, no es comúnmente el agente etiológico primario de enfermedades micóticas (Maud, Wellehan, Terrell, Jacobson, Heard y Kimbrough, 2005, p.15).

El rango de temperatura de crecimiento del género *Paecilomyces* varia de 30°C a 40°C (Luangsa-Ard, Houbraken, van Doorn, Hong, Borman, Hywel-Jones y Samson, 2011, p.142). Se encuentra asociado a *Penicillium*, por lo que en ocasiones es probable confundir estos dos hongos al momento de su identificación microscópica (Glazebrook, Campbell, Thomas, 1993, p.143; Maud, Wellehan, Terrell, Jacobson, Heard y Kimbrough 2005, p.17).

Otra especie aislada de condiciones naturales fue *Drechslera* spp., especie proveniente de un género poco descrito en tortugas marinas. Se ha aislado, en conjunto con *Scolecobasidium* en lesiones necróticas cutáneas en *Eretmochelys imbricata* (Domiciano, Domit, Trigo, Alcântara, Headley, y Bracarense, 2014, p126). No ha habido estudios que mencionen su efecto sobre el desarrollo embrionario y el éxito de eclosión.

*Microsporum gypseum* fue aislado únicamente en condiciones de tortugario. Es un dermatofito geofílico asociado a la descomposición de las fuentes de queratina en el ambiente, siendo de los dermatofitos patógenos más comunes en animales (The Center for Food Security & Public Health, 2005, p.1). Ya que es un hongo comúnmente encontrado en el suelo, puede llevar a la conclusión que el hallazgo de dicho hongo debe atribuírsele a la contaminación del sustrato (Ajello, 1953, p.165).

En este estudio hay cultivos tomados en el momento de la exhumación que dieron negativo al cultivo. Se cree que el fluido cloacal de tortugas marinas tiene acción antibiótica y antimicótica. En el estudio de Keene, Soule y Paladino (2014, p.53), se determinó que el fluido cloacal es capaz de inhibir por pocos días el crecimiento fúngico, protegiéndolo brevemente de la invasión fúngica al nido. Después de 3 días de incubación, la actividad antifúngica y microbiana desciende, probablemente por disminución de la actividad proteica del fluido cloacal. (Phillot y Parmenter, 2012, p.9).

El género *Fusarium* es distribuido mundialmente y tiene un índice de supervivencia alto en el suelo (Patino-Martínez et al., 2012, p.51). Es considerado oportunista y su temperatura optima de crecimiento es de 29.7°C ( $\pm 1.2$ ) para *Fusarium falciforme*, 29.7°C ( $\pm 1.5$ ) para *Fusarium keratoplasticum* y 28°C para especies del complejo de *Fusarium solani* (Sarmiento-Ramírez et al., 2014, p.3), aunque puede llegar incluso hasta 37°C (Tapia & Amaro, 2014, p.86). Las temperaturas registradas en este estudio sobrepasan las temperaturas óptimas de crecimiento de este hongo, pudiendo ser la razón de no haber aislado este género.

### **5.2.2 Relación entre los efectos del hongo *Fusarium* sobre el éxito de eclosión de huevos del tortugarío del AUMH.**

En los nidos monitoreados durante este trabajo no se encontró el género *Fusarium*, como fue discutido previamente. Por tal razón, no se logró hacer una relación entre los efectos de este hongo sobre el éxito de eclosión. Sin embargo, sí se puede observar presencia de otros géneros y especies de hongos en los nidos y sus diferentes condiciones de la cadena de relocalización. En condiciones naturales, se aislaron los hongos *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Paecilomyces* spp. y *Drechslera* spp. (Cuadro 1) y en condiciones de tortugarío se aisló *Aspergillus* spp. y *Microsporum gypseum* (Cuadro 2).

Ha habido distintos estudios que investigan la relación entre la presencia de hongos y el éxito de eclosión. En el estudio realizado por Güçlü, Bıyık y Ahiner (2009, p.412), se determinó que hubo correlación positiva entre el número total aislado de hongos y muerte embrionaria en el nido, pero encontrando también nidos con presencia de hongos exitosamente eclosionados (p.411). En Muro Alto, Costa, Melo y Gonçalves (2015, p. 1197) obtuvieron un éxito reproductivo de 86.96% en donde la cantidad de unidades formadoras de colonias era menor y había menor diversidad fúngica. Las condiciones naturales de desarrollo anormales y las condiciones de estrés ambiental son las que favorecen la entrada de hongos oportunistas, proveyéndose así de nutrientes y propiciando la entrada de las hifas a huevos adyacentes (Phillot y Parmenter, 2001b, p.1341).

Durante las exhumaciones en condiciones naturales de este estudio, se encontraron huevos con desarrollo en sus fases iniciales. Se determinó que hubo huevos que se desarrollaron hasta el estadio 13, la cual se lleva a cabo aproximadamente a los 15 días post incubación, de acuerdo con los 31 estadios propuestos por Crastz (1982, p.113). En otros nidos, hubo desarrollo entre los estadios 1 al 3, siendo hasta los 3 días post incubación. Se cree que los hongos no matan a los embriones en las primeras fases del desarrollo, es decir en las primeras 48 horas, ya que el desvanecimiento de la tiza ocurre en este periodo (Phillot y Parmenter, 2001a, p.715).

A pesar de haber encontrado hongos que puedan afectar el éxito de eclosión de los nidos, que en caso de los nidos relocalizados en condiciones naturales fue cero (Cuadro 3), pueden también estar involucradas las altas temperaturas registradas (Cuadro 5), sobrepasando la tolerancia térmica de *Lepidochelys olivacea*.

En estudios previos, se han relacionado las temperaturas de incubación y el éxito de eclosión, obteniendo que los nidos incubados a temperaturas que

sobrepasan los 35°C tuvieron poco o ningún desarrollo embrionario (Bezy, Valverde y Plante, 2014, p. 7; Valverde, Wingard, Gómez, Tordoir y Orrego, 2010, p.83). Cabe recalcar que la muerte embrionaria dependerá del tiempo en que pase la temperatura por encima de la temperatura letal y no el hecho de alcanzar dicha temperatura, pudiendo tener periodos de enfriamiento que pueden salvar a los embriones del sobrecalentamiento (Valverde et al., 2010, p.83). Esto apoya el porqué, a pesar de haber obtenido temperaturas de hasta 36.40°C (Cuadro 5) y hongos aislados en nidos de tortugario, el éxito de eclosión fue mayor en comparación con nidos relocalizados en condiciones naturales.

## VI. CONCLUSIONES

- El género *Fusarium* no estuvo presente en los nidos relocalizados en ambas condiciones de estudio (natural y tortugario) posiblemente porque las temperaturas a las que fueron incubados sobrepasan las temperaturas óptimas de crecimiento de este hongo.
- La metodología para determinar la presencia de *Fusarium* spp. permitió identificar la presencia de *Penicillium* spp., *Drechslera* spp., *Paecilomyces* spp. y *Aspergillus fumigatus* en nidos relocalizados en condiciones naturales y *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. terreus* y *Microsporium gypseum* en nidos relocalizados en tortugario.
- No se realizó la relación del éxito de eclosión con la presencia de *Fusarium* spp., dado que no se aisló dicho género. Sin embargo, se realizó la relación con los hongos aislados.
- El éxito de eclosión de nidos naturales fue de cero, pudiendo haber sido afectado las altas y prolongadas temperaturas registradas, sobrepasando la temperatura letal para *Lepidochelys olivacea*, propiciando así la entrada de hongos oportunistas como *Penicillium* spp.
- El éxito de eclosión de nidos relocalizados a tortugario fue de 59.8% a 93.6%, habiendo sido identificado el género *Aspergillus* en dichos nidos.

## VII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar estudios posteriores en esta línea de investigación, ya que es de suma importancia conocer que microorganismos pueden afectar el éxito de eclosión, principalmente en un país como Guatemala, donde la única manera de conservación de *Lepidochelys olivacea* es mediante el uso de tortugarios, con aras a utilizar playas como sitios naturales de anidación.
- Se recomienda realizar este tipo de estudios en otras áreas de anidación de esta especie dentro de la costa sur de Guatemala, para poder identificar la presencia de otros posibles agentes micóticos que puedan afectar el éxito de eclosión.
- Es necesario identificar la microbiota natural de los huevos de esta especie y determinar si puede haber contaminación con otro tipo de microorganismos en distintas etapas de la cadena de relocalización.
- Es necesario tomar medidas de higiene y prevención al momento de realizar estudios con tortugas marinas, ya que algunas de las especies aisladas en este estudio pueden ser causantes de enfermedades en humanos.

## VIII. RESUMEN

En Guatemala, los tortugarios son la única herramienta de conservación para la liberación de neonatos de *Lepidochelys olivacea*. El velar por su buen funcionamiento es indispensable, principalmente en sus medidas de higiene y prevención de patógenos. Una de las principales amenazas dentro de los tortugarios es la disminución en el éxito de eclosión debido a infecciones fúngicas, principalmente las atribuidas al género *Fusarium*.

El objetivo de este estudio experimental-longitudinal fue contribuir al conocimiento de la presencia de hongos del género *Fusarium* en nidos de *L. olivacea* en el tortugario del Área de Usos Múltiples Hawaii, y su efecto en el éxito de eclosión. Se realizaron hisopados microbiológicos a 10 nidos durante la temporada de anidación 2019. 5 nidos fueron relocalizados en condiciones naturales y 5 en condiciones de tortugario. A cada nido se le realizaron tres tomas de muestra, tomando 10 huevos al azar, al momento de la oviposición, previo a su relocalización y al realizar las exhumaciones. Las muestras fueron trasladadas al Laboratorio ULTRALAB División Veterinaria para su análisis. El éxito de eclosión de cada nido fue obtenido mediante una fórmula standard propuesta en el año 2000.

Se obtuvo un éxito de eclosión promedio del 74% en condiciones de tortugario, mientras que en condiciones naturales fue de 0%. La ausencia del género *Fusarium* en ambas condiciones, se atribuye al aumento de las temperaturas de incubación por encima del rango óptimo de crecimiento de este hongo. Sin embargo, se logró determinar la presencia de otros géneros de hongos.

Los hongos encontrados con mayor frecuencia fueron *Penicillium* spp., para condiciones naturales y *Aspergillus* spp., en ambas condiciones de estudio. Ambos géneros tienen la capacidad de resistir y poder desarrollarse a altas temperaturas. Los géneros *Paecilomyces* spp. y *Drechslera* spp. se identificaron

solamente a condiciones naturales, mientras que a *Microsporium gypseum* se lo identificó en tortugario.

Es necesario que se continúen estudios sobre esta línea de investigación debido a la existencia de vacíos de información del estado microbiológico de los nidos de tortugas marinas en Guatemala.

## SUMMARY

Hatcheries are the only conservation strategy for *Lepidochelys olivacea* (Olive Ridley) in Guatemala. Ensuring its proper maintenance is essential, mainly its hygiene and pathogen prevention measures. One of the main threats during the incubation period is the decrease in hatching success due to fungal infections, mainly those attributed to *Fusarium*.

This study pretended to identify the presence of *Fusarium* in *L. olivacea* nests at the Área de Usos Múltiples Hawaii hatchery and its effect on the hatching success. Microbiological swabs were taken from 10 nests during the 2019 nesting season. Five nests were incubated under natural conditions and five were moved to the hatchery under regular conditions. Three samples were taken from each nest: at the oviposition, before the relocation and during the nest exhumations. All samples were transferred to ULTRALAB División Veterinaria laboratory for their analysis. The hatching success of each nest was obtained using a standard formula proposed in 2000.

The hatching success obtained from the hatchery was 74%, while in natural conditions was 0%. *Fusarium* was not identified, and it was attributed to the increased temperatures, above the optimal growth range for this fungus, during the incubation period. Despite *Fusarium* was not found, it was possible to identify the presence of other fungi.

*Penicillium* spp. was mainly found in natural conditions and *Aspergillus* spp., in both natural and hatchery conditions. Both genera can resist and develop at high temperatures. *Paecilomyces* spp. and *Drechslera* spp. were identified only under natural conditions, while *Microsporium gypseum* was identified in the hatchery.

It is necessary to continue this type of research due to the lack of information on the microbiological status of sea turtle nests in Guatemala

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu-Grobois, A & Plotkin, P. (2008). *Lepidochelys olivacea*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2008: <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T11534A3292503.en>.
- Abreu-Grobois, A. (2000). Genética poblacional y filogeografía de las tortugas marinas golfina (*Lepidochelys olivacea*) y Laúd (*Dermochelys coriácea*) en el pacífico mexicano (Proyecto G-007). Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. Informe Final SNIB-CONABIO proyecto No. G007. México, D.F.
- Ajello, L. (1953). The Dermatophyte, *Microsporum gypseum*, as a saprophyte and parasite. *The journal of investigative dermatology*, 21(3), 157-171. <https://doi.org/10.1038/jid.1953.86>
- Arrúa, A., Moura, J., Fernández R. y Cazal, C. (2013). *Aspergillus* y Micotoxinas. *Revista Médica*, 2, 141-164.
- Ávalos, A., Rosique, J., Capello, S., y Villarruel, J. (2018). Ascomicetos (Fungi: Ascomycota) del Parque Estatal Agua Blanca, Mucspana, Tabasco, México. *Acta Botánica Mexicana*, 122: 141-154. <http://dx.doi.org/10.21829/abm122.2018.1261>
- Ávila, J., y Meraz, J. (2008). Metodología de una marcación de nidos *In situ* de *Lepidochelys olivacea* en La Escobilla, Oaxaca. *Ciencia y Mar*, 12(34), 25-28.
- Barrientos-Muñoz, K., Ramírez-Gallego, C., y Páez, V. (2014). Ecología de anidación de la tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*) (Cheloniidae) en la Playa El Valle, Pacífico Norte, Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, 19(3), 437-445.

- Bezy, V., Valverde, R., y Plante, C. (2014). Olive Ridley sea turtle hatching success as a function of microbial abundance and the microenvironment of *in situ* nest sand at Ostional, Costa Rica. *Journal of Marine Biology*, 2014, 1-10. doi: 10.1155/2014/351921.
- Brofft, J., Lamb, M., Walker, M., Weed, C. y Stephenson, K. (2018). Detection of potential fungal pathogens *Fusarium falciforme* and *F. keratoplasticum* in unhatched loggerhead turtle eggs using a molecular approach. *Endangered Species Research*, 36, 111-119. doi: <https://doi.org/10.3354/esr00895>
- Cabañes, F., Alonso, J., Castella, G., Alegre, F. Domingo, M., y Pont, S. (1997). Cutaneous Hyalohyphomycosis caused by *Fusarium solani* in a Loggerhead Sea Turtle (*Caretta caretta*). *Journal of clinical microbiology*, 35 (12), 3344-3345.
- Carrillo, L. (2003). Aspergillus. En L. Carrillo. *Los hongos de los Alimentos y Forrajes* (eds). (p.44-60). Universidad Nacional de Salta. Argentina. Recuperado de: <http://www.microbiota.com.ar/sites/default/files/4aspergilos.pdf>
- Chacón, D., Sánchez, J., Calvo, J., Ash, J. (2007). *Manual para el manejo y la conservación de las tortugas marinas en Costa Rica; con énfasis en la operación de proyectos en playa y viveros. Sistema Nacional de Áreas de Conservación (SINAC), Ministerio de Ambiente y Energía (MINAE). Gobierno de Costa Rica.* Recuperado de: <http://wwf.panda.org/?153801/wwwpandaorglacmarineturtlesmanualviveros>
- Charif, T. (2016). *Lepidochelys olivacea*. Recuperado de: <http://www.seaturtle.org/library/>
- Chehri, K., Salleh, B., y Zakaria, L. (2015). Morphological and Phylogenetic Analysis of *Fusarium solani* Species Complex in Malaysia. *Microbial Ecology*, 69, 457-471. doi 10.1007/s00248-014-0494-2

- CONAP. (2017). Resolución 03-17-2017. Normativo sobre Manejo y Conservación de Tortugas Marinas.
- Costa, M.S., Melo, C., y Oliveira, L. (2015). Mycobiota from the eggs, nests and stillbirths of *Eretmochelys imbricata* Linneus 1766 (Testudines: Cheloniidae) in Pernambuco State, Brazil. *African Journal of Microbiology Research*, 9, 1195-1199. doi: 10.5897/AJMR2015.7389.
- Crastz, F. (1982). Embryological stages of the marine turtle *Lepidochelys olivacea* (eschscholtz). *Revista de Biología Tropical*, 30(2), 113-120.
- Cúmez, B. (2018). Evaluación del éxito de eclosión en nidos de tortuga marina *Lepidochelys olivacea* y su relación con el manejo en tortugarios del Pacífico de Guatemala. Tesis de Pregrado. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
- Danemann, G & Ezcurra, E. (2007). *Bahía de Los Ángeles: Recursos naturales y comunidad*. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales: México.
- Domiciano, I., Domit, C., Trigo, C., Alcântara, B., Headley, S. y Bracarense, A. (2014). Phaeohyphomycoses in a free-ranging Loggerhead Turtle (*Caretta caretta*) from Southern Brazil. *Mycopathologia*, 178, 123-128. doi: 10.1007/s11046-014-9769-x.
- Elshafie, A., Al-Bahry, S., Alkindi, A., Ba-Omar, T., y Mahmoud, I. (2007). Mycoflora and Aflatoxins in Soil, Eggshells, and Failed Eggs of *Chelonia mydas* at Ras Al-Jinz, Oman. *Chelonian Conservation and Biology*, 6, 267-270. doi: 10.2744/1071-8443(2007)6[267:MAAISE]2.0.CO;2.
- Frazier, J. (2001). Generalidades de la historia de vida de las tortugas marinas. En Eckert, K & Abreu, F. (Eds.), *Conservación de Tortugas Marinas en la Región del Gran*

*Caribe: Un Diálogo para el Manejo Regional Efectivo.* (pp 3-18). WIDECAST Conservation Materials Distribution Center

Gámez, S., García, L., Osorio, D., Vásquez, J., y Costantino, F. (2009). Patología de las tortugas marinas (*Lepidochelys olivacea*) que arribaron a las playas de Cuyutlán, Colima, México. *Revista Veterinaria de México*, 40(1), 69-78.

Glazebrook, J.S., Campbell, R., y Thomas, A. T. (1993). Studies on an ulcerative stomatitis - obstructive rhinitis - pneumonia disease complex in hatching and juvenile sea turtles *Chelonia mydas* and *Caretta caretta*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 16, 133-147. doi: 10.3354/dao016133.

Güçlü, Ö., Biyik, H., y Şahiner, A. (2010). Mycoflora identified from loggerhead turtle (*Caretta caretta*) egg shells and nest sand at Fethiye beach, Turkey. *African Journal of Microbiology Research*, 4(5), 408-413.

Gutierrez, I. (2017). Evaluación del efecto de condiciones de cultivo sobre la conidiogénesis en *Penicillium* sp. (HC1). Tesis de Posgrado. Universidad Nacional de Colombia. Colombia.

Hart, C., Ley, C., Maldonado, A., Zavala, A., y Abreu, F. (2014). Nesting Characteristics of Olive Ridley Turtles (*Lepidochelys Olivacea*) On El Naranjo Beach, Nayarit, Mexico. *Herpetological Conservation and Biology*, 9(2): 524-534.

James, R., y Melero, D. (2014). Anidación Y Conservación De La Tortuga Lora (*Lepidochelys Olivacea*) En Playa Drake, Península De Osa, Costa Rica (2006 A 2012). *Revista de Biología Tropical*, 63(1), 117-129.

Keene, E., Soule, T., y Paladino, F. (2014). Microbial isolations from Olive Ridley (*Lepidochelys olivacea*) and East Pacific Green (*Chelonia mydas Agassizzi*) Sea

Turtle Nests in Pacific Costa Rica and standard testing of cloacal fluid antimicrobial properties. *Chelonian Conservation and Biology*, 13(1), 49-55. doi: <https://doi.org/10.2744/CCB-1051.1>

Lara-Uc, M. y Mota-Rodríguez, C. (2014). Conociendo a la Tortuga Golfina, *Lepidochelys olivacea* (Eschscholtz, 1829). *Bioma*, 24(2), 9-17.

Leslie, J.F. & Summerell, B.A. (2006). *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell: Estados Unidos Americanos.

López, J. (2011). Caracterización de los Sitios de Nidificación de Aves Acuáticas del Orden Ciconiiformes en la Costa del Pacífico de Guatemala. Tesis de Pregrado. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala

Luangsa-Ard, J., Houbraken, J., van Doorn, T., Hong, S., Borman, A., Hywel-Jones, N. y Samson, R. (2011). *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. *FEMS microbiology letters*, 321, 141-149. doi: 10.1111/j.1574-6968.2011.02322.x.

Lutz, P., Musick, J. (1996). *The biology of sea turtles*. CRC Press: Estados Unidos Americanos.

MAGA. (2002). Mapa de Zonas de Vida de Holdridge. Recuperado de: <http://web.maga.gob.gt/wp-content/blogs.dir/13/files/2013/maps/nac/250/ambientales/vegetacion/zonas-de-vida.pdf>

Malmierca, A. (2018). Análisis del éxito de incubación de la tortuga lora (*Lepidochelys olivacea*) en función del manejo de nidos. Tesis de Pregrado. Universidad Science Tech. Costa Rica.

- Maud, M., Wellehan, J., Terrell, S., Jacobson, E., Heard, D. y Kimbrough, J. (2005). Shell and Systemic Hyalohyphomycosis in Fly River Turtles, *Carettochelys insculpta*, caused by *Paecilomyces lilacinus*. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*, 15, 15-19. doi: 10.5818/1529-9651.15.2.15.
- Miller, J. (2000). Determinación del Tamaño de la Nidada y el Éxito de Eclosión. En Eckert, K., Bjorndal, K., Abreu-Grobois, M., Donnelly, M. (Eds). *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas* (pp. 143-149). SSC/IUCN Marine Turtle Specialist Group: Estados Unidos Americanos.
- Mo. C., Caballero, M., & Salas, I. (1992). Microorganism infection of Olive Ridley Eggs. *Copa: Ciencia, Organismos y Programas de ACG*. P. 81-84. <http://copa.acguanacaste.ac.cr:8080/handle/11606/515>
- Montes, N. (2004). *Estimación de la abundancia relativa de tortugas marinas que anidan en las costas de Guatemala*. Tesis de Pregrado. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
- Monzón, A., Rodríguez, L. (2006). Infecciones Causadas por el Género *Fusarium*. Recuperado de: <http://seimc.org>
- Morales-Mérida, A. (2009). *Relación entre la duración del período de incubación y la proporción de sexos de las tortugas marinas *Lepidochelys olivacea* en la Reserva Natural de Usos Múltiples Monterrico (RNUMM)*. Tesis de Pregrado. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
- Mortimer, J.A., (2000). Reducción de las amenazas a los huevos y a las crías: Los viveros. En Eckert, K., Bjorndal, K., Abreu-Grobois, M., Donnelly, M. (Eds). *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas* (pp. 199-203). SSC/IUCN Marine Turtle Specialist Group: Estados Unidos Americanos.

- Mrosofsky, N. y Pieau, C. (1991). Transitional range of temperature, pivotal temperatures and thermosensitive stages for sex determination in reptiles. *Amphibia-Reptilia*, 12(1), 169-179.
- Muccio, C. & Flores, E. (2015). Guía para la conservación de las tortugas marinas en Guatemala, con énfasis en el manejo de tortugarios. Recuperado de: <http://www.arcasguatemala.org/wp-content/uploads/Arcas-Guia-conservacion-2015.pdf>
- Muccio, C. (2017). Análisis Situacional de la Conservación de la Tortuga Marina en Guatemala. Recuperado de: <http://arcasguatemala.org/wp-content/uploads/Analisis-Situacional-8-2017Corto.pdf>
- Nardoni, S. Papini, R., Marcucci, G.M. y Mancianti, F. (2008). Survey on the fungal flora of the cloaca of healthy pet reptiles. *Revue de Medecine Veterinaire*, 159(3), 159-165.
- Organismo Judicial de Guatemala. (2016). Decreto No. 16-2016: *Ley que declara Área Protegida el Área de Usos Múltiples Hawaii*. No. 16-2016. Diario de Centroamérica. Recuperado de: <http://ww2.oj.gob.gt/es/QueEsOJ/EstructuraOJ/UnidadesAdministrativas/CentroAnalisisDocumentacionJudicial/cds/CDs%20leyes/2016/pdfs/decretos/D16-2016.pdf>
- Oros, J., Delgado, C., Fernández, L., y Jensen, H. S. (2004). Pulmonary Hyalohyphomycosis caused by *Fusarium* spp in a Kemp's Ridley Sea Turtle (*Lepidochelys kempii*): an immunohistochemical study. *New Zealand Veterinary Journal*, 52(3), 150-152
- Orós, J., Torrent, A., Calabuig, P., y Déniz, S. (2005). Diseases and causes of mortality among sea turtles stranded in the Canary Islands, Spain (1998-2001). *Diseases of Aquatic Organisms*, 63, 13–24. doi:10.3354/dao063013

- Patino-Martínez, J., Marco, A., Quiñonez, L., Abella, E., Muriel, R., y Diéguez, J. (2012). How Do Hatcheries Influence Embryonic Development of Sea Turtle Eggs? Experimental Analysis and Isolation of Microorganisms in Leatherback Turtle Eggs. *Journal of Experimental Zoology*, 317, 47–54. doi: 10.1002/jez.719
- Phillot, A. y Parmenter, C. (2001a). The Distribution of failed eggs and the appearance of fungi in artificial nests of green (*Chelonia mydas*) and loggerhead (*Caretta caretta*) sea turtles. *Australian Journal of Zoology*, 49, 713-718.
- Phillot, A. y Parmenter, C. (2001b). The ultrastructure of sea turtle eggshell does not contribute to interspecies variation in fungal invasion of egg. *Canadian Journal of Zoology*, 84, 1339-1344.
- Phillott, A. y Parmenter, C. (2012). Anti-fungal properties of sea turtle cloacal mucus and egg albumen. *Marine Turtle Newsletter*, 134, 17-21.
- Phillot, A., y Parmenter, C. (2014). Fungal colonization of Green Sea Turtle (*Chelonia mydas*) nests is unlikely to affect hatchling condition. *Herpetological Conservation and Biology*, 9(2), 297-301.
- Phillot, A., Parmenter, C., y Limpus, C.J. (2004). Occurrence of microbiota in Eastern Australian sea turtles' nests. *Memories of the Queensland Museum*, 49(2), 701-703.
- PNUD. (2018). Todos podemos contribuir a la conservación de las tortugas marinas. Recuperado de: <http://www.gt.undp.org/content/guatemala/es/home/ourperspective/ourperspectivearticles/2018/01/19/todos-podemos-contribuir-a-la-conservaci-n-de-las-tortugas-marinas.html>

- Rojas, D. (2015). *Microcultivo en Hongos*. Recuperado de: [https://www.academia.edu/21781951/Microcultivo\\_de\\_hongos](https://www.academia.edu/21781951/Microcultivo_de_hongos)
- Rosado-Rodríguez, G. & Maldonado-Ramírez, S. (2016). Mycelial Fungal Diversity Associated with the Leatherback Sea Turtle (*Dermochelys coriacea*) nests from Western Puerto Rico. *Chelonian Conservation and Biology*, 15(2), 265-272. doi: 10.2744/CCB-1217.1.
- Sarmiento-Ramírez, J., Abella, E., Martín, M., Tellería, M., López-Jurado, L., Marco, A., Diéguez-Uribeondo, J. (2010). *Fusarium solani* is responsible for mass mortalities in nests of loggerhead sea turtle, *Caretta caretta*, in Boa vista, Cape Verde. *Fems Microbiol Lett*, 312, 192-200. doi:10.1111/j.1574-6968.2010.02116.x
- Sarmiento-Ramírez, J., Abella, E., Martín, M., Tellería, M., López-Jurado, L., Marco, A., Diéguez-Uribeondo, J. (2014). Global Distribution of Two Fungal Pathogens Threatening Endangered Sea Turtles. *PLoS ONE*, 9(1), 1-9. doi: 10.1371/journal.pone.0085853
- Secretaría CIT. (2004). *Una introducción a las especies de tortugas marinas del mundo*. Secretaría Pro Tempore de la Convención Interamericana para la Protección y Conservación de las Tortugas Marinas (CIT), San José, Costa Rica. Recuperado de: <http://www.iacseaturtle.org/docs/publicaciones/5-EspeciesTortugasMarinasMundoesp.pdf>
- Spotila, J. (2004). *Sea Turtles: a complete guide to their biology, behavior, and conservation*. The Johns Hopkins University Press: USA.
- Stanchi, O. (2007). *Microbiología Veterinaria*. InterMedica: Argentina.

- Tangarife-Castaño, V., Flórez-Muñoz, S., Mesa-Arango, A. (2015). Diagnostico micológico: de los métodos convencionales a los moleculares. *Medicina y Laboratorio*, 21(5-6), 211-242.
- Tapia, C., Amaro, J. (2014). Género Fusarium. *Revista Chilena de Infectología*, 31(1), 85-86.
- The Center of Food Security & Public Health. (2005). Dermatophytosis. Recuperado de: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.738.6243&rep=rep1&type=pdf>
- UM. (s.f). *Cultivo sobre cuadrado de agar: microcultivo*. Recuperado de: [https://www.um.es/micologia/unidad\\_2/u2\\_etapa\\_2/index.html](https://www.um.es/micologia/unidad_2/u2_etapa_2/index.html)
- Universidad de Valencia. (2011). *Tipos de Estudio*. Recuperado de: <https://www.uv.es/invsalud/invsalud/disenyo-tipo-estudio.htm>
- UVA. (2013). *Diseño de la Investigación*. Recuperado de [https://alojamientos.uva.es/guia\\_docente/uploads/2013/475/46197/1/Documento3.pdf](https://alojamientos.uva.es/guia_docente/uploads/2013/475/46197/1/Documento3.pdf)
- Valverde, R., Wingard, S., Gómez, F., Tordoír, M., y Orrego, C. (2010) Field lethal incubation temperature of Olive Ridley sea turtle *Lepidochelys olivacea* embryos at a mass nesting rookery. *Endangered species Research*, 12, 77-86. doi: 10.3354/esr00296
- Varo, C., Monzón, C., Carrillo, M., Calabuig, P., Liria, A. (2015). *Tortuga olivácea – Lepidochelys olivacea*. En: Salvador, A., Marco, A. (Eds.), *Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles*. (pp 1-28) Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. <http://www.vertebradosibericos.org/>

Vega, A. y Robles, Y. (2005). Descripción del proceso de anidación y biometría de hembras, huevos y nidos en tortuga golfina *Lepidochelys olivacea* (eschscholtz, 1829) en isla de cañas, pacífico panameño. *Tecnociencia*, 7(2), 43-55.

Vogt, R. y Flores-Villela, O. (1986). Determinación del sexo en tortugas por la temperatura de incubación de los huevos. *Ciencia*, 37(1), 21-32.

WWF. (2014). *Tortugas marinas. Una especie Amenazada*. Recuperado de [https://www.wwf.es/nuestro\\_trabajo\\_/especies\\_y\\_habitats/tortugas\\_marinas/](https://www.wwf.es/nuestro_trabajo_/especies_y_habitats/tortugas_marinas/)

Zelaya-Cerezo, L. (2016). *Influencia de la densidad de siembra en el éxito de eclosión y duración del período de incubación, en huevos de tortuga marina Lepidochelys olivacea, en viveros de incubación del Parque Nacional Hawaii, Chiquimulilla, Santa Rosa*. Tesis de Pregrado. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.

# **X. ANEXOS**

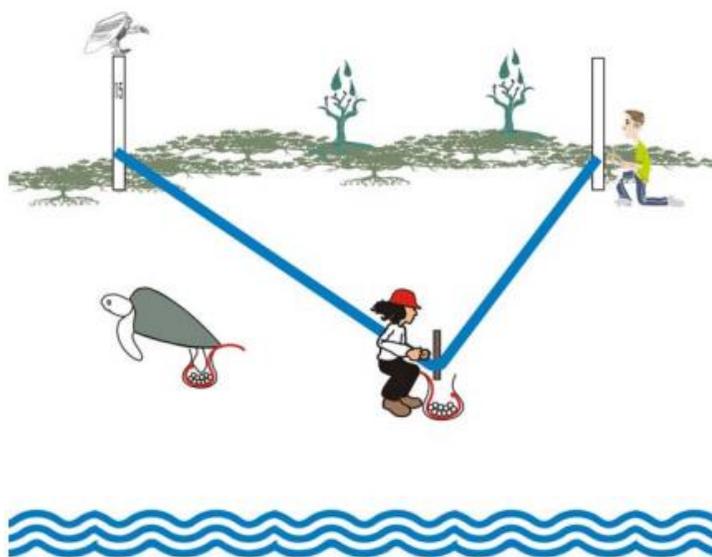
## Cuadro 6

Información sobre los parámetros tomados durante la oviposición.

No.	Fecha	Hora	Distancia a Marea Alta (metros)	Distancia a vegetación (metros)	Profundidad primer huevo (cm)	Ancho (cm)	Fondo de cámara (cm)	No. Huevos	Playa/Tortugario	Fecha estimada eclosión
1	04/08/19	8:14 PM	34	8.6	15	30	35	108	playa	13/09/19
2	11/08/19	8:40 PM	39	en vegetación	15	21	-	83	tortugario (H1)	25/09/19
3	12/08/19	12:40 AM	-	11.27	13	35	30	94	playa	21/09/19
4	12/08/19	9:20 PM	14.40	18.40	-	33	29	78	tortugario (K1)	26/09/19
5	15/08/19	8:04 PM	27.70	6.96	15	24	33	95	playa	24/09/19
6	16/08/19	8:36 PM	-	en vegetación	18	28.35	35	112	tortugario (E2)	30/09/19
7	16/08/19	9:37 PM	33.60	14.20	20	28	35	82	playa	25/09/19
8	16/08/19	9:40 PM	37.27	13.7	-	28	34	90	tortugario (D2)	30/09/19
9	17/08/19	1:00 AM	40.8	11.20	11	22	33	112	tortugario (E3)	01/10/19
10	20/08/19	9:00 PM	26.87	5.30	22	25	34	88	playa	29/09/19

## Figura 1

Representación de método de triangulación para relocalización de nidos en condiciones naturales. Tomado de Ávila & Meraz, 2008 (p.27)



**Figura 2**

Realización de toma de hisopado en huevos previo a la relocalización en condiciones de tortugario.



**Figura 3**

Realización de exhumaciones de nidos relocalizados en tortugario



**Figura 4**  
Clasificación de huevos en momento de exhumación



A: huevo sin desarrollo aparente. B: Huevos no eclosionados. C: cáscaras

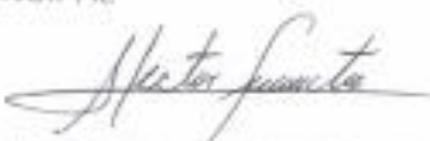
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE HONGOS DEL GÉNERO  
*Fusarium* EN NIDOS DE *Lepidochelys olivacea* EN EL  
TORTUGARIO DEL ÁREA DE USOS MÚLTIPLES HAWAII,  
CHIQUMULILLA, SANTA ROSA, GUATEMALA.

f.   
Salomé Hernández Pelón

f.   
Dra. M.V. Jacqueline Escobar Muñoz  
ASESOR PRINCIPAL

f.   
M.Sc. Berta Alejandra Morales Mérida  
ASESOR

f.   
M.Sc. Héctor Fuentes Rousselin  
EVALUADOR

IMPRIMASE

f.   
M.A. Gustavo Enrique Taracena Gil  
DECANO