

72
2ej.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

RECEBIDO
1994

REPRODUCCION DE LA TORTUGA DE MAPIMI
Gopherus flavomarginatus (LEGLER 1959)

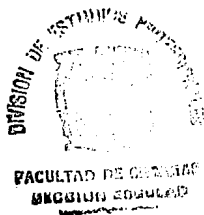
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I O L O G O

P R E S E N T A :

ROLANDO GUILLERMO GONZALEZ TRAPAGA



MEXICO, D. F.

1994

**TESIS CON
FALDA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. EN C. VIRGINIA ABRIN BATULE

Jefe de la División de Estudios Profesionales

Facultad de Ciencias

Presente

Los abajo firmantes, comunicamos a Usted, que habiendo revisado el trabajo de Tesis que realiz(ó)ron el pasante(s) González Trápaga Rolando Guillermo

con número de cuenta 7107892-0 con el Título: _____

~~Reproducción de La tortuga de Mapimi, Gopherus flavomarginatus (Legler 1959)~~

Otorgamos nuestro **Voto Aprobatorio** y consideramos que a la brevedad deberá presentar su Examen Profesional para obtener el título de Biólogo

GRADO	NOMBRE(S)	APELLIDOS COMPLETOS	FIRMA
M. en C. Director de Tesis	Gustavo	Aguirre León	
M. en C.	Maria del Carmen	Uribe Aranzábal	
Dra.	Maricela	Villagrán Santa Cruz	
Biól. Suplente	María Cristina	González Lozano	
M. en C. Suplente	María Teresa	Castrejón Osorio	

**CONTRIBUCION DE MEXICO AL PROGRAMA MAB - UNESCO DE
RESERVAS DE LA BIOSFERA**

**EL PRESENTE ESTUDIO SE DESARROLLO COMO PARTE DEL
PROYECTO # 3109 DE LA WORLD WILDLIFE FOUNDATION
INTITULADO: "A PROGRAM FOR CONSERVATION, HUSBANDRY,
AND MANAGEMENT OF THE ENDANGERED MEXICAN BOLSON
TORTOISE"**

DEDICATORIA

A LA MEMORIA DE MI PADRE

A MI MADRE

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis, M. en C. Gustavo Aguirre León por haberme permitido participar en este proyecto, ofreciéndome al mismo tiempo asesoría y amistad.

A los directivos del Instituto de Ecología en el período en que se llevó a cabo el trabajo de campo, M. en C. Pedro Reyes-Castillo (Director General) y M. en C. Ma. Eugenia Maury (Directora Técnica) por el apoyo recibido para el desarrollo del mismo.

A la M. en C. María del Carmen Uribe Aranzábal, a la Dra. Maricela Villagrán Santa-Cruz, a la M en C. María Teresa Castrejón Osorio y a la biól. María Cristina González Lozano por la revisión del manuscrito y por participar como miembros del jurado.

Al geógrafo Delfino Madrigal Uribe, director de la Facultad de Geografía de la U. A. E. M., y a la bióloga Arcelia González Trápaga, profesora de la misma institución, por su invaluable ayuda para digitalizar e imprimir los mapas que aparecen en este documento.

A los habitantes de los ejidos La Flor, Dgo., La Soledad, Chih. y Las Lilas, Coah., en particular a los sres. Adalberto Herrera (a) "El Chuca" y Juan Francisco Herrera (a) "El Quico" sin cuya ayuda la colecta de los animales y mis estancias en el campo hubieran sido cuestión difícil y árida.

A todos aquellos compañeros del Instituto que en el transcurso de los años me han ofrecido una amistad sincera y desinteresada.

Al Dr. Pablo Licht, de la Universidad de California en Berkeley, por realizar los análisis de las muestras de sangre las cuales fueron colectadas bajo los siguientes permisos:
413-7 070 de SEDUE a nombre de D. J. Morafka para el año de 1985.

413-7 4534 de SEDUE a nombre de D. J. Morafka para el año de 1986.

412.2120.1845 de SEDUE a nombre de D. J. Morafka para el año de 1987.

A mi esposa Mara y a mis hermanos Georgina, Ileana, Arcelia y Sergio, por su apoyo, comprensión y cariño aún en los momentos más difíciles.

INDICE DE MATERIAS

DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
INDICE DE MATERIAS	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE CUADROS	ix
LISTA DE ANEXOS	ix
RESUMEN	x
1. INTRODUCCION	1
1.1. ANTECEDENTES.	1
1.2. DESCRIPCION DE LA ESPECIE.	3
1.3. OBJETIVOS.	5
2. MATERIALES Y METODOS	6
2.1. DESCRIPCION DEL AREA DE ESTUDIO.	6
2.2. TRABAJO DE CAMPO.	6
2.3. OBTENCION DE LOS INDIVIDUOS.	10
2.4. OBTENCION DE LAS MUESTRAS DE SANGRE.	11
2.5. CLASIFICACION DE LAS MUESTRAS DE SANGRE.	13
2.6. TRATAMIENTO ESTADISTICO DE LOS DATOS.	14
3. RESULTADOS	16
3.1. HEMBRAS.	19
3.1.1. Testosterona.	19
3.1.1.1. Hembras no cautivas.	19
3.1.1.2. Hembras cautivas.	21
3.1.2. Estradiol.	22
3.1.2.1. Hembras no cautivas.	22
3.1.2.2. Hembras cautivas.	23
3.1.3. Progesterona.	25
3.1.3.1. Hembras no cautivas.	25
3.1.3.2. Hembras cautivas.	26

INDICE DE MATERIAS
(continuación)

3. RESULTADOS (continuación)	
3.1.4. Corticosterona.	28
3.1.4.1. Hembras no cautivas.	28
3.1.4.2. Hembras cautivas.	29
3.2. MACHOS.	31
3.2.1. Testosterona.	31
3.2.2. Corticosterona.	32
4. DISCUSION	35
4.1. OBTENCION Y PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS.	35
4.2. SEPARACION DE LOS GRUPOS DE MUESTRAS.	35
4.2.1. Organismos no cautivos.	35
4.2.2. Organismos cautivos.	38
4.3. TAMAÑO DE LAS MUESTRAS.	39
4.4. CICLOS ANUALES DE HORMONAS.	39
4.4.1. HEMBRAS.	40
4.4.1.1. Testosterona.	40
4.4.1.2. Estradiol.	42
4.4.1.3. Progesterona.	44
4.4.2. MACHOS.	49
4.4.2.1. Testosterona.	49
4.4.3. CORTICOSTERONA.	53
4.4.3.1. Hembras.	55
4.4.3.2. Machos.	56
4.5. EL CICLO REPRODUCTIVO DE <i>GOPHERUS FLAVOMARGINATUS</i>	57
4.5.1. HEMBRAS.	57
4.5.1.1. Niveles hormonales.	57
4.5.1.2. Puestas por año.	60
4.5.1.3. Almacenamiento de esperma.	61
4.5.2. MACHOS.	62
4.5.2.1. Ciclos de testosterona.	62
4.5.2.2. Conductas reproductivas.	63
5. CONCLUSIONES	65
6. LITERATURA CITADA	67
7. ANEXOS	80

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1. DISTRIBUCIÓN DE <i>GOPHERUS FLAVOMARGINATUS</i>	7
Fig. 2. MAPA DE LA RESERVA DE LA BIOSFERA DE MAPIMÍ.	9
Fig. 3. MARCHA ANUAL DE TESTOSTERONA PARA HEMBRAS NO CAUTIVAS.	20
Fig. 4. MARCHA ANUAL DE TESTOSTERONA PARA HEMBRAS CAUTIVAS.	21
Fig. 5. MARCHA ANUAL DE ESTRADIOL PARA HEMBRAS NO CAUTIVAS.	23
Fig. 6. MARCHA ANUAL DE ESTRADIOL PARA HEMBRAS CAUTIVAS.	24
Fig. 7. MARCHA ANUAL DE PROGESTERONA PARA HEMBRAS NO CAUTIVAS.	26
Fig. 8. MARCHA ANUAL DE PROGESTERONA PARA HEMBRAS CAUTIVAS.	27
Fig. 9. MARCHA ANUAL DE CORTICOSTERONA PARA HEMBRAS NO CAUTIVAS.	28
Fig. 10. MARCHA ANUAL DE CORTICOSTERONA PARA HEMBRAS CAUTIVAS.	30
Fig. 11. MARCHA ANUAL DE TESTOSTERONA PARA MACHOS.	32
Fig. 12. MARCHA ANUAL DE CORTICOSTERONA PARA MACHOS.	33
Fig. 13. COMPARACIÓN DE CORTICOSTERONA ENTRE MACHOS Y HEMBRAS NO CAUTIVAS.	54
Fig. 14. ESTEROIDES SEXUALES DE HEMBRAS NO CAUTIVAS.	58

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. PRUEBAS DE NORMALIDAD DE LA DISTRIBUCIÓN DE ESTEROIDES PARA HEMBRAS POR CONDICIÓN.	16
Cuadro 2. PRUEBAS DE VARIABILIDAD DE ESTEROIDES PARA HEMBRAS Y MACHOS.	17
Cuadro 3. COMPARACIÓN DE NIVELES DE ESTEROIDES DE INDIVIDUOS SEMICAUTIVOS.	17
Cuadro 4. COMPARACIÓN DE NIVELES DE ESTEROIDES DE INDIVIDUOS NO CAUTIVOS.	18
Cuadro 5. COMPARACIÓN DE NIVELES DE ESTEROIDES PARA TODAS LAS HEMBRAS.	18
Cuadro 6. EJEMPLOS DE VALORES MÁXIMOS DE PROGESTERONA EN HEMBRAS DE ALGUNAS ESPECIES DE REPTILES.	48
Cuadro 7. NIVELES MÁXIMOS REPORTADOS PARA TESTOSTERONA EN LOS MACHOS DE OTRAS ESPECIES DE REPTILES.	51

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. FORMATO PARA EL ANÁLISIS DE SANGRE DE <i>GOPHERUS FLAVOMARGINATUS</i>	81
Anexo 2. VALORES PROMEDIO DE LOS ESTEROIDES ANALIZADOS.	82

RESUMEN

El objetivo del estudio fue conocer el ciclo reproductivo de la tortuga de Mapimí, *Gopherus flavomarginatus*, en base a la descripción de las variaciones anuales de distintos esteroides relacionados con la reproducción. Para ello se obtuvieron muestras de sangre de animales adultos de los dos sexos, separados por tiempo de permanencia en cautiverio ("No cautivos" y "Cautivos") y colectados dentro del área de la Reserva de la Biosfera de Mapimí. Se abarcó el ciclo anual completo, de la primavera de 1985 (finales de marzo) a la primavera de 1986 (principios de mayo). Los esteroides analizados para las hembras fueron testosterona, estradiol, progesterona y corticosterona, mientras que para los machos fueron testosterona y corticosterona.

Los resultados indican que el comportamiento de los esteroides sexuales de hembras de *Gopherus flavomarginatus* es similar al de otras especies de tortugas estudiadas hasta la fecha. La testosterona actúa como un posible precursor del estradiol, con un máximo antes del inicio de la época de oviposición y otro de menor magnitud antes del período de recrudescencia ovárica en otoño-invierno. El estradiol muestra variaciones que se pueden relacionar con los diferentes períodos de desarrollo ovárico, es decir, maduración folicular en primavera y recrudescencia ovárica en otoño, mientras que la progesterona alcanza su nivel máximo antes de la etapa de oviposición y el mínimo al finalizar ésta. En hembras se detectaron diferencias significativas, de acuerdo al tiempo de permanencia en cautiverio, para los tres esteroides sexuales analizados, las que pueden deberse a los reducidos números de muestra del grupo cautivo, (en promedio, 3 individuos muestreados por mes), o bien a diferencias intrínsecas entre los grupos. Por su

parte, los machos tienen un ciclo reproductivo en donde la testosterona alcanza sus niveles máximos en el verano, aproximadamente seis meses después del inicio de la temporada reproductiva, aunque concurrente con la fase de mayor actividad sexual, que ocurre entre agosto y septiembre. En vista de que las hembras comienzan a ovipositar desde marzo, al finalizar el invierno y cuando la actividad sexual es todavía leve, es probable que el esperma utilizado para las fecundaciones del año en curso se produzca y transfiera durante la temporada reproductiva del año anterior, siendo retenido a través del invierno en el tracto reproductivo de hembras.

Una diferencia encontrada en este estudio con respecto a estudios previos se refiere a los altos niveles circulantes de esteroides sexuales, en particular testosterona, la que es cuando menos 2 veces superior a la concentración reportada en cualquier otro vertebrado.

La situación de la corticosterona como indicador de situaciones de estrés es semejante en los dos sexos ya que al contrario de lo reportado para otras especies de reptiles, en *G. flavomarginatus* la manipulación, transporte y confinamiento de los organismos no parecen incidir de manera importante en los niveles de corticosteroides, teniendo éstos un comportamiento muy regular. Las variaciones observadas reflejan más bien las condiciones ambientales desfavorables, p. ej., sequía, presentándose en los dos sexos niveles circulantes máximos durante la primavera, antes de la temporada de lluvias, y en otoño, durante el período de letargo invernal.

1. INTRODUCCION

1.1. ANTECEDENTES.

Los estudios ecológicos de vertebrados consideran como una parte fundamental el conocimiento de las características reproductivas de sus poblaciones. Hasta hace unos cuantos años para esta clase de estudios era necesario el sacrificio de una parte de los ejemplares colectados, ya que la necropsia y la histología eran los únicos métodos seguros para evaluar la condición reproductiva del individuo. Por razones obvias este tipo de enfoque no puede aplicarse a aquellas especies cuyas poblaciones naturales se ven afectadas seriamente por las actividades humanas. En vista de que los datos obtenidos sobre reproducción son indispensables para conocer el potencial biótico de los organismos y así poder planear programas de manejo realistas para aquellas especies raras, amenazadas, en peligro de extinción, o protegidas por leyes especiales (Whittier y Crews 1987), y dado que uno de los objetivos de dichos programas es el mantenimiento de la diversidad genética, que en última instancia depende de una reproducción exitosa (Wildt 1989), se han aplicado desde hace aproximadamente 30 años técnicas de laboratorio desarrolladas tiempo atrás para mejorar la reproducción de especies domésticas de aves y mamíferos. En consecuencia, los primeros estudios sobre la fisiología reproductiva en poblaciones de vertebrados silvestres se realizaron con especies de mamíferos asumiéndose que en los demás grupos de vertebrados la naturaleza y función de hormonas sería básicamente la misma que, o reflejaría las etapas evolutivas hacia la condición mamiferoide (Licht 1979). Los avances recientes en bioquímica y fisiología de hormonas en peces, anfibios y reptiles han

demostrado que éste no es el caso, reconociéndose en la actualidad la importancia que estos grupos tienen si se desea poder llegar a entender la historia evolutiva de las influencias fisiológicas sobre la conducta reproductiva de los vertebrados (Crews y Silver 1985) así como sobre otros procesos indispensables que han permitido asegurar a los organismos una regulación cada vez más precisa de su funcionamiento, que les ha ayudado a enfrentarse a situaciones ambientales nuevas (Fontaine 1984).

Dentro de los reptiles han sido pocos los organismos estudiados con suficiente profundidad como para poder conocer a detalle la endocrinología de su reproducción, y los trabajos se han hecho básicamente en especies de zonas templadas. De éstas, la más estudiada ha sido *Anolis carolinensis* (Sauria: Iguanidae), un animal ovíparo que habita el sureste de los Estados Unidos (Licht 1967, Cuellar et al. 1972, Crews 1975, 1977, Mason y Adkins 1976, McNicol y Crews 1979, Guillette y Jones 1980, 1982, Jones et al. 1983, Greenberg, D. et al. 1984, Greenberg, N. et al. 1984). Otras especies estudiadas han sido *Thamnophis sirtalis parietalis* (Serpentes: Colubridae), un animal vivíparo que es el reptil con distribución más norteña dentro del Hemisferio Occidental (Camazine et al. 1980, Garstka y Crews 1981, Garstka et al. 1982, Bona-Gallo y Licht 1983, Whittier et al. 1987, Krohmer y Crews 1989), y *Chrysemys picta* (Testudines: Emydidae), una tortuga dulceacuícola de amplia distribución geográfica (Callard et al. 1976a, b, Klicka y Mahmoud 1977, Callard et al. 1978, Ganzhorn y Licht 1983, Licht et al. 1985, Gist et al. 1990). Otras especies de tortugas en las que también se ha caracterizado la endocrinología reproductiva han sido *Chelydra serpentina* (Klicka y Mahmoud 1972, Lewis et al. 1979, Mahmoud et al. 1987, Mahmoud et al. 1989), *Sternotherus*

odoratus (McPherson et al. 1982, Mendonça 1987a, b), *Chelonia mydas* (Licht et al. 1979, Licht et al. 1980, Owens y Morris 1985), *Caretta caretta* (Owens y Morris 1985, Wibbels et al. 1987a, b, Wibbels et al. 1990). Dentro del género *Gopherus*, Taylor (1982) describió aspectos estacionales del ciclo reproductivo de *G. polyphemus*, incluyendo datos de la histología de las gónadas de ambos sexos y su endocrinología, mientras que en *G. agassizii* se describió el ciclo reproductivo de individuos semicautivos de los dos sexos incluyéndose los niveles de esteroides sexuales (Lance et al. 1994, Rostal et al. 1994).

1.2. DESCRIPCION DE LA ESPECIE.

La importancia del presente trabajo radica en que es el primer estudio sobre la endocrinología de la reproducción en la tortuga de Mapimí, *Gopherus flavomarginatus* y de los pocos trabajos realizados a la fecha en este campo sobre el género *Gopherus* en particular. A continuación se describen algunas de las características biológicas de la especie, que se han obtenido a partir de una serie de estudios que forman parte de la línea de investigación que sobre su autoecología ha desarrollado el Instituto de Ecología, A. C. desde el año de 1979, en colaboración con la Universidad de California en Dominguez Hills.

La tortuga de Mapimí, tortuga del Bolsón o tortuga llanera (*G. flavomarginatus*) es una especie relativamente nueva para la ciencia, descrita por Legler en 1959, y es el reptil terrestre de mayor talla en Norteamérica (Legler 1959, Legler y Webb 1961).

G. flavomarginatus pasa la mayor parte de su vida en madrigueras que alcanzan hasta los 7 m. de longitud y una profundidad de hasta 3 m., realizando actividades tales como la

alimentación y la reproducción en el escaso tiempo que pasa sobre la superficie terrestre (Adest et al. 1989a). Esta característica, aunada a un notable desarrollo del sentido de la audición y a su alta sensibilidad a las vibraciones (Bramble 1982), la hacen un organismo de difícil acceso para su estudio. De acuerdo con la interpretación de Adest et al. (1989a), el uso de madrigueras por la tortuga de Mapimí es un reflejo de su historia evolutiva reciente, más relacionada en el pasado con áreas de pastizales templados que con las condiciones climáticas que prevalecen actualmente en el Desierto Chihuahuense, al que ahora está confinada.

El ciclo de vida de esta especie es estacional y se caracteriza por picos de actividad en primavera y verano (Morafka et al. 1981), y actividad restringida en otoño e invierno (entre los meses de noviembre a marzo, según Adest et al. 1989a), ocurriendo ocasionalmente asoleo y forrajeo limitado, debido a que las plantas anuales utilizadas principalmente como alimento no están disponibles y porque prevalecen las bajas temperaturas en esta época del año (Morafka et al. 1981). La estación de apareamiento comienza en primavera (finales de marzo- principios de abril), siendo máxima en agosto y septiembre, y la de anidación comprende de marzo a agosto, siendo máxima en junio (Morafka et al. 1981, Aguirre et al. 1987).

1.3. OBJETIVOS.

Los objetivos de este trabajo fueron:

- 1.- Conocer el ciclo reproductivo de *G. flavomarginatus* en base a las fluctuaciones anuales en la concentración de distintos esteroides.
- 2.- Una vez descrito dicho ciclo, relacionarlo con las etapas del ciclo de actividad de esta especie.

2. MATERIALES Y METODOS

2.1. DESCRIPCION DEL AREA DE ESTUDIO.

El área de estudio está situada dentro de la Reserva de la Biosfera de Mapimí, establecida como zona de protección ecológica en el Estado de Durango por decreto presidencial del 19 de julio de 1979. Su extensión es de 103,000 ha y está localizada entre los 26° 20' y 26° 52' de latitud norte, y los 103° 58' y 103° 32' de longitud oeste, en el área fisiográfica conocida como Bolsón de Mapimí, la cual forma parte de la Mesa Central del Norte del Altiplano Mexicano. La altitud oscila entre los 1100 y 1350 msnm. El clima es de tipo árido. La temperatura mensual promedio varía entre un mínimo de 11°C en enero-febrero y un máximo de 28°C durante el verano. La precipitación media anual es de 230 mm, aunque hay una marcada irregularidad en años sucesivos, además de una notable estacionalidad de las lluvias, concentrándose aproximadamente el 80% entre junio y septiembre. La Reserva está ubicada en el Desierto Chihuahuense (fig. 1, pág. 7), con un predominio de especies arbustivas que le dan la fisonomía de matorral. Están representados los matorrales rosetófilo (magueyal: *Agave* spp.), crasicaule (nopalera: *Opuntia* spp.) y micrófilo inerte (gobernadora: *Larrea divaricata*) y ocupa grandes extensiones el pastizal de sabaneta (*Hilaria mutica*) (Halfiter et al. 1980).

2.2. TRABAJO DE CAMPO.

El trabajo de campo se realizó en aquellos sitios con mayor densidad de tortugas, definidos como colonias con una débil estructura social (Aguirre et al. 1984), ubicados entre 1

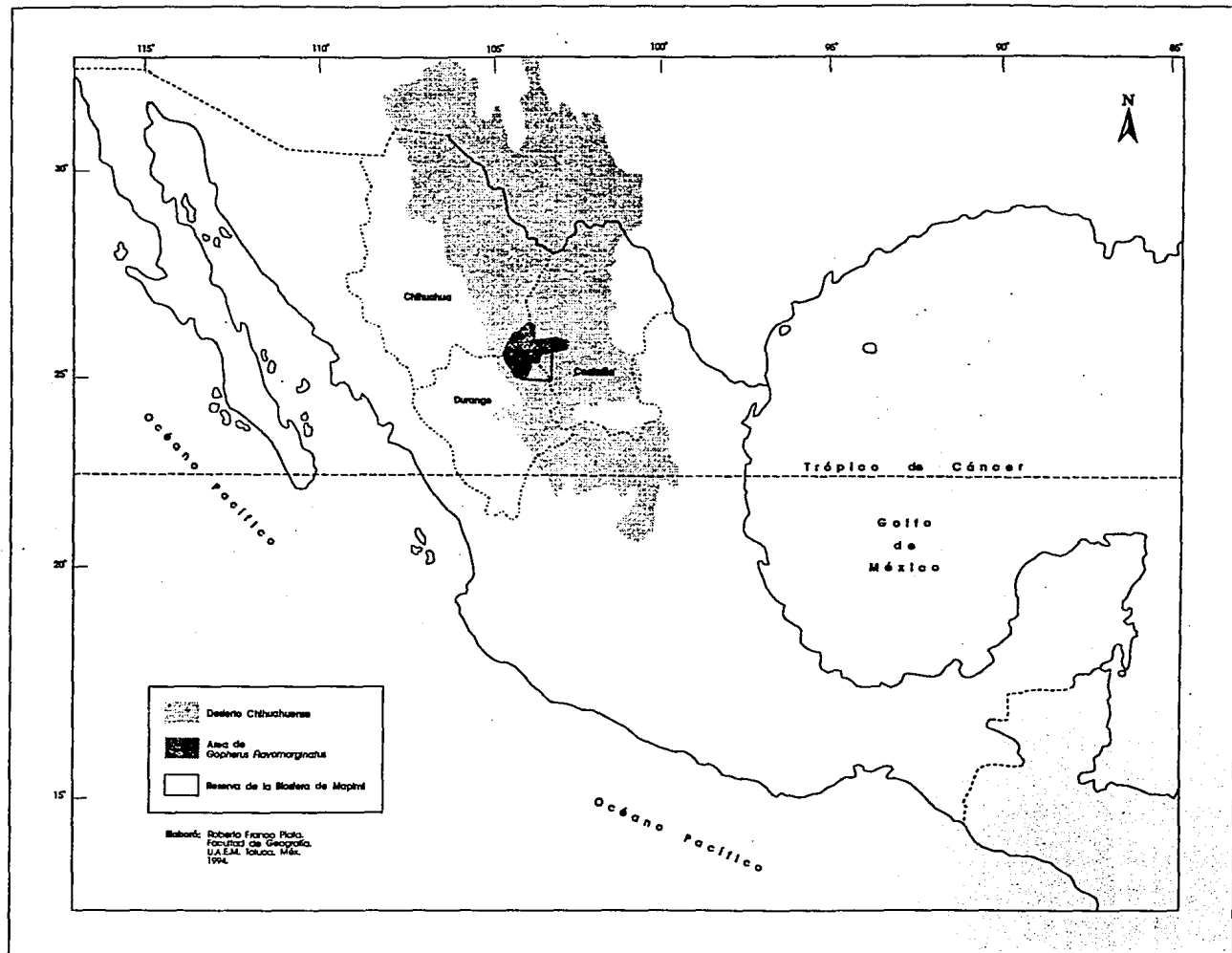


Fig. 1. DISTRIBUCIÓN DE *GOPHERUS FLAVOMARGINATUS*.

y 5 km al norte del Laboratorio del Desierto, y en zonas comprendidas dentro de los ejidos de La Flor, Dgo., Las Lilas, Coah., y La Soledad, Chih. (fig. 2, pág. 9), efectuándose un promedio de dos visitas diarias a cualquiera de estos sitios, entre las 09:00 y las 12:00 hrs. y las 17:00 y las 19:00 hrs.

Como ya se indicó, los eventos principales del ciclo reproductivo anual de *G. flavomarginatus* ocurren en primavera y verano (Morafka et al. 1981, Morafka 1982), y en consecuencia el muestreo se diseñó para cubrir un ciclo anual completo, entre marzo de 1985 y mayo de 1986, dentro de las siguientes fechas:

PRIMAVERA 1985

Fecha 1, del 3 al 9 de abril.

Fecha 2, del 28 de abril al 7 de mayo.

Fecha 3, del 25 de mayo al 1 de junio.

Fecha 4, del 13 al 18 de junio.

VERANO 1985

Fecha 5, del 2 al 10 de julio.

Fecha 6, del 24 al 28 de julio.

Fecha 7, del 23 de agosto al 6 de septiembre.

OTOÑO 1985

Fecha 8, del 5 al 8 de octubre.

Fecha 9, del 8 al 12 de noviembre.

Fecha 10, del 18 al 21 de diciembre.

INVIERNO 1985-1986

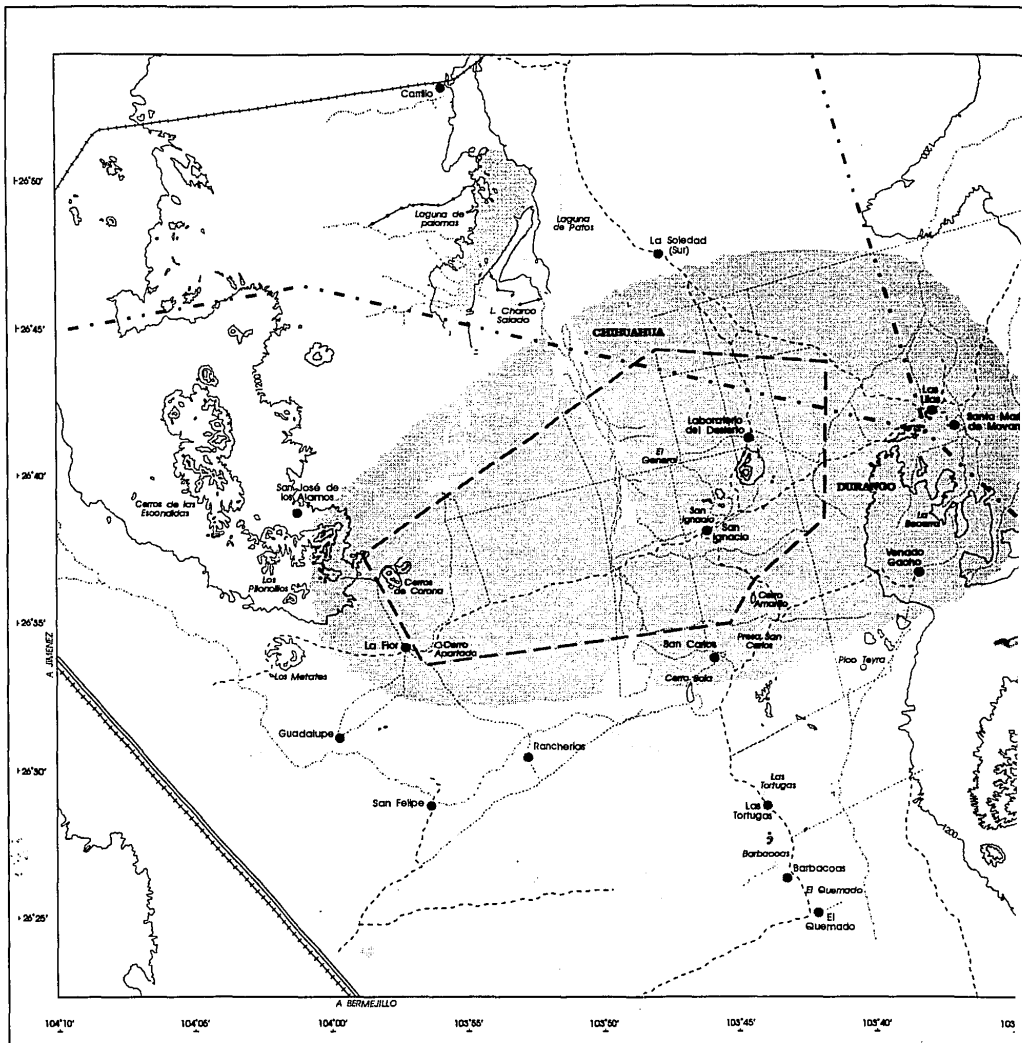
Fecha 10, 22 de diciembre.

Fecha 11, del 22 al 26 de febrero.

PRIMAVERA 1986

Fecha 12, del 28 de marzo al 8 de abril.

Fecha 13, del 25 de abril al 7 de mayo.



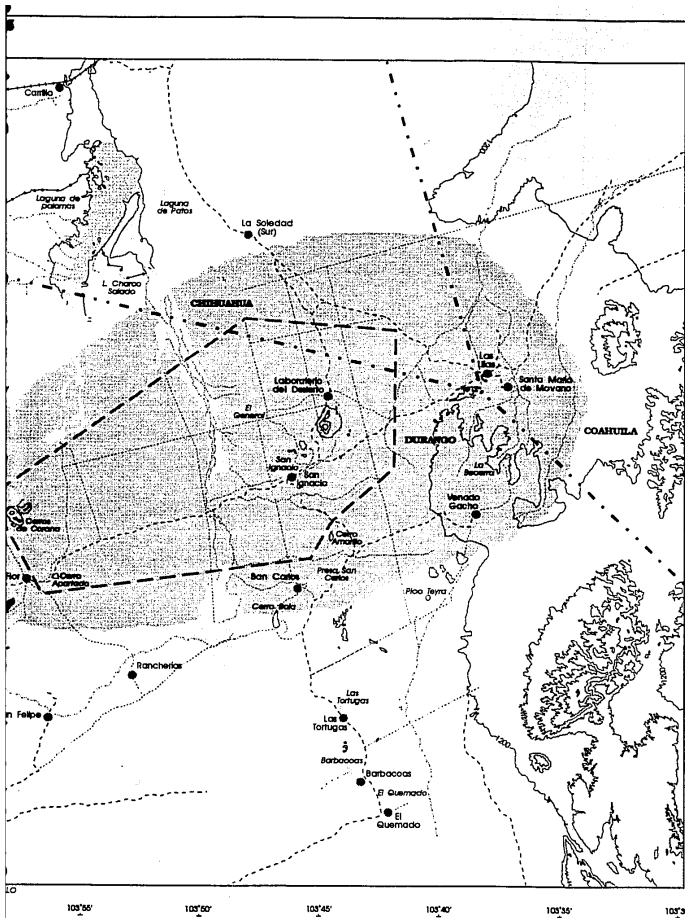


Fig. 2. MAPA DE LA RESERVA DE LA BIOSFERA DE MAPIMÍ

- 1100— REPRESENTACION DEL RELIEVE CURVA DE NIVEL CADA 100m.
- VÍAS TERRESTRES
- CARRETERA
- TERRACERIA
- BRECHA
- VEREDA
- FERROCARRIL
- BACOS HIDROGRÁFICOS
- CORRIENTE INTERMITENTE
- CUERPO DE AGUA PERMANENTE
- CUERPO DE AGUA INTERMITENTE
- ZONA SUJETA A INUNDACION
- CANAL
- LÍMITES
- DIVISION POLITICA
- ZONA NUCLEO
- ZONA DE AMORTIGUAMIENTO
- ZONA DE INFLUENCIA
- ASENTAMIENTO HUMANO

Fuente: Carta a escala 1:50,000 del Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, S.P.F. (1979).

Instituto de Ecología, A.C. 1990 La Reserva de la Biosfera de Mapimí. Folleto de Divulgación.

Elaboró: Roberto Franco Plata. Facultad de Geografía, U.A.E.M. Toluca, Méx. 1993.



2.3. OBTENCION DE LOS INDIVIDUOS.

La mayoría de los organismos que se utilizaron se sacaron del interior de madrigueras, hallándose algunos afuera de ellas. La captura se realizó mediante varillas de alambre de entre 1 y 3 m de largo, dobladas en uno de sus extremos y utilizadas a manera de ganchos, lo que permitía sujetarlos de la parte inferior de los escudos marginales posteriores para poderlos jalar hacia el exterior. En algunos casos la captura fue manual. Una vez capturados los organismos se identificaban mediante un sistema de numeración basado en marcas ranuradas en los escudos marginales, registrándose los siguientes datos: fecha y hora de la colecta, sexo, presencia de huevos en hembras por palpación inguinal y otras observaciones tales como interacción intraespecífica y actividad. Posteriormente se trasladaron a las instalaciones del Laboratorio del Desierto para obtener las muestras de sangre. También se utilizaron animales cautivos, es decir, animales retenidos bajo condiciones no naturales durante períodos prolongados, incluso años. Estos incluyeron, por un lado, organismos procedentes del campo que habían permanecido dentro del jardín del Laboratorio del Desierto (cautivos "naturales"), y por el otro, los mantenidos como mascotas en zonas urbanas cercanas a la reserva (Torreón, Coah. y Gómez Palacio, Dgo.) con regímenes de alimentación y salud desconocidas, obtenidos mediante decomisos realizados por la delegación regional de S.E.D.U.E. en Gómez Palacio, Dgo. y Torreón, Coah. Antes de conseguir las muestras de sangre, a los organismos cautivos se les efectuó la misma toma de datos que a los organismos capturados en el campo. En cada una de las fechas de muestreo se trataron de obtener 10 individuos adultos de cada sexo, lo que no siempre fue posible, por lo que el número de muestras por período de muestreo fue variable.

2.4. OBTENCION DE LAS MUESTRAS DE SANGRE.

Las técnicas más comunes usadas para la obtención de sangre en reptiles (Frye 1981, Samour et al. 1984) no eran aplicables en este estudio, ya sea porque la cantidad obtenida no era suficiente para los requerimientos del análisis, o bien porque era necesario el sacrificio de organismos, lo que está más allá de toda cuestión al ser *G. flavomarginatus* una especie protegida por la legislación vigente (Morafka et al. 1989). Se optó entonces por el empleo de métodos que redujeran la manipulación de los individuos minimizando en consecuencia el riesgo de lesiones innecesarias. Uno de ellos, conocido como **cardiocentesis** o **punción cardiaca**, ha sido descrito por Frye (1973) (citado en Samour et al. 1984) y consiste en obtener la muestra directamente del corazón a través de un orificio perforado en la región humeropectoral del plastron. Al reducir el tiempo de manipulación de los organismos usualmente a menos de dos 2 minutos, se aminoran los efectos negativos que el cautiverio tiene sobre los mecanismos fisiológicos por lo que es recomendable para este tipo de estudios, aunque se requiere de un entrenamiento previo para su aplicación. En consecuencia, la técnica más empleada fue la de **venipunción yugular**, que consiste en localizar cualquiera de las venas yugulares externas para de ahí extraer la cantidad de sangre necesaria. Dado que la vitalidad de los organismos hacía su manejo sumamente difícil, fue necesario inmovilizarlos mediante agentes químicos (Adest et al. 1989b). Debido a los riesgos implícitos en el uso de anestésicos se optó por el empleo de succinil colina, un relajante muscular, inyectado intramuscularmente en dosis de 0.5 mg por kg de peso corporal en la musculatura humeral de alguno de los miembros anteriores. Dependiendo de la temperatura ambiente y las condiciones de salud de los animales, el efecto se conseguía

Materiales y Métodos

en un lapso de entre 10 y 30 minutos a partir de su inyección, mientras que la recuperación de los organismos se lograba aproximadamente hasta una hora después, aunque lógicamente en los casos en que fue necesaria una dosis extra el tiempo de recuperación fu mayor. Además de la obtención de las muestras sanguíneas, la inmovilización permitió realizar otra serie de actividades tales como sexado de los individuos mediante palpación cloacal y la toma de la temperatura cloacal con termómetros de lectura rápida *Schultheis*[®]. Se utilizó la ventilación manual como un método preventivo para evitar apnea prolongada (Adest *et al.* 1988).

La cantidad mínima de sangre obtenida fue de 3 ml para adultos (Adest *et al.* 1989b) y se recogió en jeringas heparinizadas de 3 cc de capacidad. Todas las muestras de sangre se colocaron en hielo hasta el momento de proceder a su separación. Al menos 2.5 ml de cada muestra fueron centrifugados en una centrífuga clínica de mesa durante 5 minutos para asentar los elementos celulares, mientras que el plasma sobrenadante se separó y almacenó en tubos *Nunc*[®] dentro de nitrógeno líquido, anotando la fecha de la muestra y la identidad y sexo del organismo del que procedía. Las muestras se transportaron al Laboratorio de Endocrinología de Reptiles de la Universidad de California en Berkeley, en donde fueron realizadas las pruebas correspondientes utilizando técnicas específicas de radioinmunoensayos de acuerdo a los métodos descritos por Licht *et al.* (1979) para esteroides sexuales (testosterona, estradiol y progesterona) y por Licht *et al.* (1983) para corticosterona.

Las variables antes descritas se registraron en formas como la que se presenta en el anexo 1 (página 81).

2.5. CLASIFICACION DE LAS MUESTRAS DE SANGRE.

Los estudios autoecológicos de la especie realizados con anterioridad en la Reserva de la Biosfera de Mapimí (Adest *et al.* 1989a) han permitido establecer tres categorías de edad de acuerdo a la longitud del caparazón medido en línea recta (LC), las cuales corresponden a jóvenes (rango: 117-198 mm), subadultos (rango: 199-249 mm) y adultos (≥ 250 mm), mismas que se siguieron en el presente trabajo. En vista de que todos aquellos individuos con LC menor a 250 mm aún no han desarrollado caracteres sexuales secundarios externos y debido a la falta de estudios sobre la determinación del sexo en esta especie, su asignación a cualquiera de los sexos es poco confiable. Por otro lado, Rosskopf *et al.* (1982) sugieren que para el análisis de hormonas sexuales en *Gopherus agassizii* se deben tener organismos sexualmente maduros para obtener niveles detectables de esteroides. Por ello y porque el pequeño número de organismos no adultos muestreados (5 individuos en total) se concentraba en los meses de primavera y verano, no se incluyeron los datos de sus concentraciones en los análisis estadísticos.

En condiciones óptimas los individuos procedentes del campo eran sangrados dentro de las 24 horas posteriores a su captura y una vez obtenida la muestra se regresaban al mismo sitio de donde se habían cogido. Sin embargo, en ocasiones era necesario que se les retuviera durante más tiempo para resangrarlos y conseguir una cantidad de sangre suficiente para los análisis hematológicos y serológicos. Debido a que en la literatura están bien documentados los efectos negativos que la manipulación y el cautiverio tienen sobre la fisiología de los vertebrados, particularmente durante la etapa reproductiva (Greenberg y Wingfield 1987), y a que en *G. flavomarginatus* ciertos valores de la química sanguínea (p. ej. glucosa) sugieren que dentro de

Materiales y Métodos

las 24 horas siguientes a su captura se producen alteraciones fisiológicas significativas (Morafka et al. 1986), se decidió *a posteriori* la separación de las muestras de animales procedentes del campo en dos grupos, de acuerdo al tiempo de permanencia en el laboratorio, a fin de poder determinar estadísticamente si dichas alteraciones también son evidentes en los esteroides. Un grupo ("vida libre") se integró con las muestras de organismos cuyo lapso entre la colecta y la obtención de sangre no fue superior a las 24 horas. El otro grupo ("semicautivo") se conformó con la sangre de aquellos organismos con períodos de confinamiento de al menos un día, y se separó arbitrariamente según los días de cautiverio (de uno a cinco días y de seis días en adelante) con el fin de probar si un mayor tiempo de confinamiento producía alteraciones significativas en los niveles de esteroides.

Como ya se mencionó, también en los individuos cautivos se realizó una separación de las muestras, de acuerdo a la procedencia de los organismos.

2.6. TRATAMIENTO ESTADISTICO DE LOS DATOS.

El procesamiento estadístico se realizó con la ayuda del paquete *Statgraphics*[®], versión 2.1 (Statistical Graphics Corp. 1986), previa depuración de los valores hormonales de acuerdo a los criterios antes descritos de edad y procedencia de los animales. Todas las pruebas estadísticas se realizaron a cada sexo por separado. Los esteroides considerados para las hembras fueron testosterona, estradiol, progesterona y corticosterona, mientras que para los machos sólo se tomaron en cuenta la testosterona y la corticosterona, ya que no se obtuvieron datos del ciclo anual completo de los otros dos esteroides.

Las pruebas estadísticas aplicadas fueron las siguientes:

1) Pruebas de χ^2 para bondad del ajuste en los distintos esteroides y condiciones con el fin de determinar si se cumplían las condiciones de la distribución normal para la utilización posterior de pruebas paramétricas. En aquellos casos donde la distribución no era normal, se utilizaron las pruebas no paramétricas alternativas.

2) Comparación de la variación de los grupos considerados (vida libre, semicautivos y cautivos), con el fin de determinar si las muestras poseían grados de variabilidad significativamente diferentes. Para ello se aplicaron pruebas de análisis de varianza de una vía y de Kruskal-Wallis de una vía por rangos para cada esteroide, teniendo como la variable independiente la hormona y como la variable dependiente la condición del individuo.

3) Una vez establecida la variabilidad entre las muestras, se compararon los promedios (*t* de Student) o las medianas (*U* de Mann-Whitney) de cada esteroide por parejas de condiciones (p. ej., semicautivos de uno a cinco días contra semicautivos de seis días o más, vida libre contra semicautivos, etc.) a fin de poder establecer cuál condición era la que difería con respecto a las otras.

4) Además, dentro de la marcha anual de cada esteroide y condición se compararon los promedios y/o medianas de parejas de fechas consecutivas de muestreo con el fin de establecer los momentos del ciclo en el que se manifestaban cambios significativos de los niveles circulantes y poderlos relacionar con los distintos períodos de actividad anual.

Todos los análisis estadísticos consideraron un nivel de significancia del 95%.

3. RESULTADOS

Las pruebas de normalidad de la distribución indicaron que para las hembras la mayoría de los esteroides no cumplían con los requisitos de una distribución normal, mientras que en el caso de machos la única distribución no normal fue la de testosterona de machos en general ($n=59$, $\chi^2=18.29$, 6 g.l., $P=0.006$). En el cuadro 1 se muestran los resultados del análisis estadístico de la normalidad para hembras.

Cuadro 1. PRUEBAS DE NORMALIDAD DE LA DISTRIBUCIÓN DE ESTEROIDES PARA HEMBRAS POR CONDICIÓN.

CONDICION	ESTEROIDE	n	χ^2	gl	P
Vida Libre	Testosterona	100	180.78	6	<0.01*
Vida Libre	Estradiol	101	45.36	10	1.87 ^{-6*}
Vida Libre	Progesterona	100	13.73	10	0.09
Vida Libre	Corticosterona	101	24.19	9	4.01 ^{-3*}
Semicautivas	Testosterona	50	166.94	4	<0.01*
Semicautivas	Estradiol	50	8.86	4	0.06
Semicautivas	Progesterona	50	19.12	4	7.46 ^{-4*}
Semicautivas	Corticosterona	50	9.30	4	0.54
Cautivas	Testosterona	41	30.71	2	2.14 ^{-7*}
Cautivas	Estradiol	41	4.57	3	0.21
Cautivas	Progesterona	41	21.25	3	9.36 ^{-5*}
Cautivas	Corticosterona	40	1.32	3	0.72

El * representa valores de P estadísticamente significativos.

Las pruebas de variabilidad por sexo para cada esteroide indicaron que mientras que para

Resultados

hembras se detectaron diferencias estadísticamente significativas en cada uno de los esteroides sexuales analizados, los machos no las presentaron en ninguno de los casos. Los resultados de los análisis se muestran en el cuadro 2.

Cuadro 2. PRUEBAS DE VARIABILIDAD DE ESTEROIDES PARA HEMBRAS Y MACHOS.

SEXO	ESTEROIDE	ESTADIGRAFO	g.l.	P
Machos	Testosterona	$H_1 = 0.77$	---	0.68
Machos	Corticosterona	$F_2 = 0.30$	2	0.74
Hembras	Testosterona	$H = 7.57$	---	0.02*
Hembras	Estradiol	$H = 8.46$	---	0.01*
Hembras	Progesterona	$H = 7.93$	---	0.02*
Hembras	Corticosterona	$H = 2.08$	---	0.35

$_1$ = Kruskal-Wallis de una vía, por rangos.

$_2$ = Análisis de varianza de una vía.

Dentro de las pruebas realizadas entre condiciones para cada esteroide se observó que

Cuadro 3. COMPARACIÓN DE NIVELES DE ESTEROIDES DE INDIVIDUOS SEMICAUTIVOS.

SEXO	ESTEROIDE	ESTADIGRAFO	g.l.	P
Machos	Testosterona	$t_1 = 0.83$	19	0.42
Machos	Corticosterona	$t = 1.03$	19	0.32
Hembras	Testosterona	$U_2 = 1.71$	---	0.09
Hembras	Estradiol	$t = 0.37$	48	0.71
Hembras	Progesterona	$U = 1.02$	---	0.31
Hembras	Corticosterona	$U = 0.06$	---	0.95

$_1$ = t de Student

$_2$ = U de Mann-Whitney

en la comparación entre los grupos semicauticos (es decir, de 1 a 5 días contra 6 días o más)

no hubo diferencias estadísticamente significativas, por lo que se consideraron como un solo grupo dentro de cada sexo (semicautivos). Los resultados de las comparaciones se presentan en el cuadro 3 (pág. 17).

Asimismo, la comparación entre los grupos de organismos de vida libre separados por tiempo de confinamiento (vida libre contra semicautivos), tampoco produjo diferencias en ninguno de los casos, de modo que en los dos sexos se integraron dentro de un solo grupo, denominado el de los **no cautivos**. Los resultados se presentan en el cuadro 4.

Cuadro 4. COMPARACIÓN DE NIVELES DE ESTEROIDES DE INDIVIDUOS NO CAUTIVOS.

SEXO	ESTEROIDE	ESTADIGRAFO	g.l.	P
Machos	Testosterona	$t = 0.80$	43	0.43
Machos	Corticosterona	$t = 0.24$	43	0.81
Hembras	Testosterona	$U = -1.87$	---	0.06
Hembras	Estradiol	$U = 0.68$	---	0.50
Hembras	Progesterona	$U = -1.73$	---	0.08
Hembras	Corticosterona	$U = 0.09$	---	0.92

La comparación entre organismos no cautivos y cautivos sólo se realizó en hembras, ya

Cuadro 5. COMPARACIÓN DE NIVELES DE ESTEROIDES PARA TODAS LAS HEMBRAS.

ESTEROIDE	ESTADIGRAFO	P
Testosterona	$U = 1.95$	0.05
Estradiol	$U = 2.81$	0.01*
Progesterona	$U = -2.23$	0.03*
Corticosterona	$U = -1.44$	0.15

que los machos se consideraron como un solo grupo, como se explicará más adelante. Como se

aprecia en el cuadro 5 (pág. 18), en hembras se encontraron diferencias estadísticamente significativas para el estradiol y la progesterona, mientras que para la testosterona apenas se alcanzó el nivel de significancia.

A partir de los resultados anteriores se describen las marchas de los esteroides para un período anual, comprendido entre la primavera de 1985 y la primavera de 1986, relacionándose en todos los casos con los diferentes períodos de actividad descritos para la especie. Los valores hormonales se dan en $\text{ng ml}^{-1} \pm$ error estándar. En el anexo 2 de la página 82 se presentan los datos promedio de cada uno de los esteroides analizados, de acuerdo al sexo y la condición, por fecha de muestreo.

3.1. HEMBRAS.

La descripción de las marchas anuales de los esteroides se presenta por separado para cada condición, en vista de las diferencias estadísticas encontradas entre ellas. Sin embargo, como se puede apreciar de las gráficas correspondientes, dichas hormonas presentan patrones de comportamiento muy similares, que se discutirán después.

3.1.1. Testosterona.

3.1.1.1. Hembras no cautivas. (fig. 3, pág. 20).

Desde principios de abril, al inicio del período de oviposición, la testosterona disminuye constante, gradual y significativamente a través de la primavera y parte del verano (abril/mayo vs. mayo/junio: $t=-2.33$, 16 g.l., $P=0.03$) observándose el promedio mínimo del ciclo ($2.54 \pm 1.05 \text{ ng/ml}$) al iniciar el mes de julio. A partir de este momento, que coincide con el término

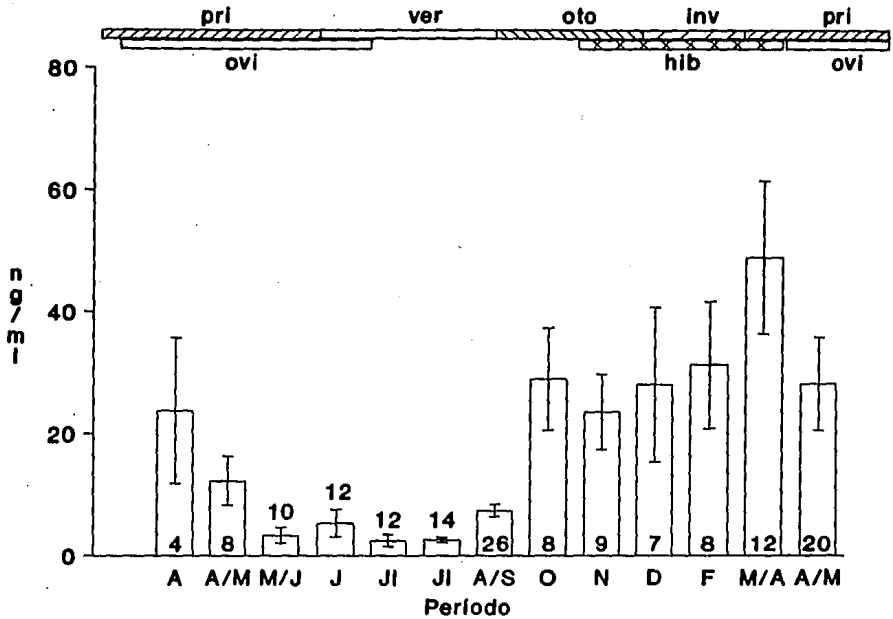


Fig. 3. MARCHA ANUAL DE TESTOSTERONA PARA HEMBRAS NO CAUTIVAS.

de la oviposición, los niveles se incrementan mostrando dos aumentos significativos, uno hacia el final del verano (agosto/septiembre: $t=-3.34$, 38 g.l., $P=0.002$) y el otro en la transición entre verano y otoño (agosto/septiembre vs. octubre: $t=-4.42$, 32 g.l., $P=0.0001$). Al iniciar el período de inactividad los niveles tienen una ligera caída, no significativa (octubre vs. noviembre: $t=0.53$, 15 g.l., $P=0.61$), para después aumentar gradualmente el resto del otoño e invierno hasta el máximo del ciclo observado a principios de la primavera del segundo año (marzo/abril: 48.95 ± 12.57 ng/ml). La diferencia entre el final del invierno y el comienzo de la primavera no fue significativa (febrero vs. marzo/abril: $t=-1.00$, 18 g.l., $P=0.33$). Al final

de abril hubo un descenso no significativo ($t=1.50$, 30 g.l., $P=0.14$) en las concentraciones circulantes, al igual que el observado en la primavera anterior.

3.1.1.2. Hembras cautivas. (fig. 4).

Al igual que con las hembras no cautivas, en este grupo la testosterona disminuye

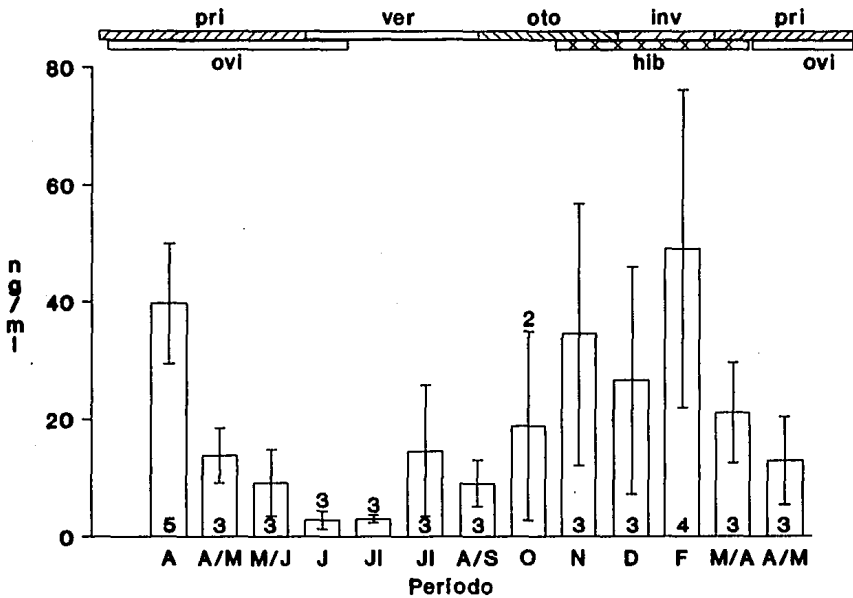


Fig. 4. MARCHA ANUAL DE TESTOSTERONA PARA HEMBRAS CAUTIVAS.

constantemente desde principios de abril hasta llegar al valor mínimo del ciclo en junio (2.86 ± 1.57 ng/ml), con diferencias significativas entre principios y finales de primavera (abril vs. junio: $t=2.68$, 6 g.l., $P=0.04$) y entre principios de primavera y principios de verano (abril vs. julio (1): $t=2.67$, 6 g.l., $P=0.04$). Después del mínimo de junio, los valores aumentaron,

primero ligeramente al finalizar la etapa de oviposición, al principio de julio, y luego abruptamente hacia finales de dicho mes, aunque las diferencias no fueron significativas entre estos períodos (junio vs. julio (1): $t=-0.09$, 4 g.l., $P=0.93$; julio (1) vs. julio (2): $t=-1.04$, 4 g.l., $P=0.36$). El resto del verano y el otoño ocurrieron fluctuaciones más o menos marcadas pero no significativas (p. ej., agosto/septiembre vs. octubre: $t=-0.75$, 3 g.l., $P=0.51$), hasta alcanzar a finales del invierno (febrero) el nivel promedio máximo registrado para este esteroide (49.09 ± 27.18 ng/ml). Aún cuando al iniciar la primavera hubo una disminución de la testosterona circulante a niveles comparables a los de la primavera anterior, las diferencias entre promedios no fueron estadísticamente significativas para la transición entre invierno y primavera (febrero vs. marzo/abril: $t=0.85$, 5 g.l., $P=0.43$).

3.1.2. Estradiol.

3.1.2.1. Hembras no cautivas. (fig. 5, pag. 23).

La marcha del estradiol para este grupo mostró que, después de un ligero incremento no significativo a finales de abril ($t=-0.54$, 10 g.l., $P=0.60$), hubo una disminución constante en los niveles circulantes hasta llegar al mínimo del ciclo en junio (2.50 ± 0.52 ng/ml) con diferencias significativas entre el inicio y el final de la primavera (abril vs. junio: $U=-2.12$, $P=0.03$). Al iniciar el verano, y terminar la etapa de oviposición los niveles se incrementaron significativamente el resto del verano (julio (1) vs. julio (2): $t=-3.34$, 25 g.l., $P=0.003$; julio (2) vs. agosto/septiembre: $t=-2.06$, 38 g.l., $P=0.04$). Esta tendencia al aumento de los valores continuó hasta que en el otoño, durante el período de inactividad (noviembre), se alcanzó el nivel promedio máximo para este esteroide (13.13 ± 2.65 ng/ml) e inmediatamente después, en

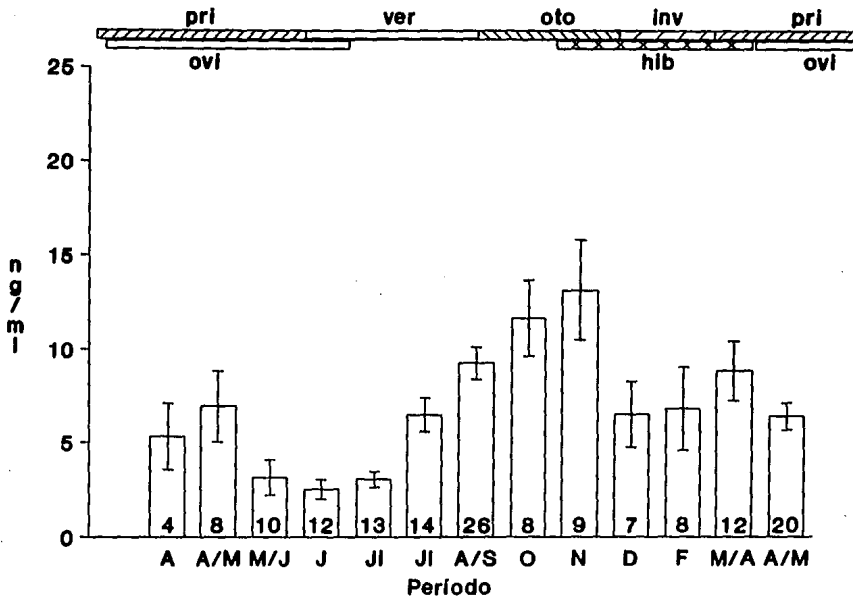


Fig. 5. MARCHA ANUAL DE ESTRADIOL PARA HEMBRAS NO CAUTIVAS.

la transición de otoño a invierno (diciembre), hubo una disminución a la mitad respecto al nivel promedio máximo anterior la cual fue estadísticamente significativa (noviembre vs. diciembre: $U=-2.12$, $P=0.03$). El resto del ciclo hormonal observado no mostró cambios significativos en las concentraciones, y sólo al iniciar la siguiente fase de oviposición se observó un pequeño incremento (febrero vs. marzo/abril: $t=-0.76$, 18 g.l., $P=0.46$) y luego una nueva caída a niveles comparables a los del mismo período en el año anterior.

3.1.2.2. Hembras cautivas. (fig. 6, pág. 24).

La marcha anual del estradiol mostró dos máximos en estas hembras, uno al inicio de la

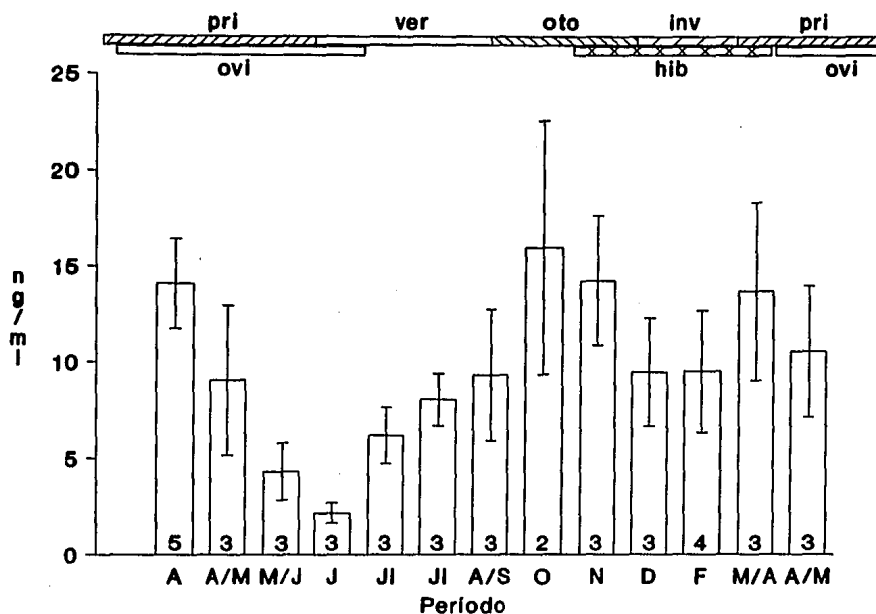


Fig. 6. MARCHA ANUAL DE ESTRADIOL PARA HEMBRAS CAUTIVAS.

primavera (abril: 14.09 ± 2.35 ng/ml) y el otro en el otoño (octubre: 15.95 ± 6.61 ng/ml). Del máximo de primavera hubo una marcada caída a través del resto de la estación hasta llegar al valor mínimo del ciclo, reportado en junio (2.18 ± 0.53 ng/ml). Estas variaciones se reflejaron en diferencias significativas (abril vs. mayo/junio: $t=2.95$, 6 g.l., $P=0.03$; abril vs. junio: $t=3.77$, 6 g.l., $P=0.009$). A partir del mínimo de junio se registró un aumento constante en los niveles del esteroide hasta alcanzar el máximo de la marcha, al principio del otoño (octubre: 15.95 ± 6.61 ng/ml). Aunque se detectaron diferencias significativas entre el valor mínimo y el valor de la segunda parte de julio, que es cuando las concentraciones comienzan a aumentar

Resultados

($t=-4.03$, 4 g.l., $P=0.01$), no hay diferencias estadísticas entre el mínimo y el máximo del ciclo, el cual ocurre al comienzo del otoño (junio vs. octubre: $t=-2.77$, 3 g.l., $P=0.07$) pero si las hay entre el mínimo de junio y el valor de noviembre, al iniciarse el período de inactividad (junio contra noviembre: $t=-3.52$, 4 g.l., $P=0.02$). Al iniciar la siguiente primavera hubo un incremento hasta niveles comparables a los observados al inicio de la primavera anterior aunque la diferencia no fue significativa respecto a los valores del período inmediato anterior (febrero vs. marzo/abril: $t=-0.77$, 5 g.l., $P=0.47$).

3.1.3. Progesterona.

3.1.3.1. Hembras no cautivas. (fig. 7, pág. 26).

Durante la primera parte del período de oviposición hubo un aumento de casi el doble de los niveles circulantes del esteroide, aunque éste no fue significativo (abril vs. abril/mayo: $t=-1.53$, 10 g.l., $P=0.16$), para luego decrecer durante el resto de la primavera y comienzos del verano, cuando se alcanzó el valor mínimo para este ciclo (comienzos de julio: 1.33 ± 0.23 ng/ml), mostrando diferencias significativas en la transición entre primavera y verano (junio vs. julio (1): $t=2.63$, 23 g.l., $P=0.02$). En el resto del verano, todo el otoño y parte del invierno se observaron fluctuaciones menores, no significativas, hasta que a finales de febrero las concentraciones aumentaron drásticamente para alcanzar el nivel promedio máximo del ciclo al principio de la siguiente primavera (marzo/abril: 3.53 ± 0.55 ng/ml), existiendo diferencias significativas en la transición entre estas estaciones (febrero vs. marzo/abril: $t=-2.77$, 18 g.l., $P=0.01$). Este máximo coincidió con el inicio de la etapa de oviposición correspondiente al segundo año del estudio.

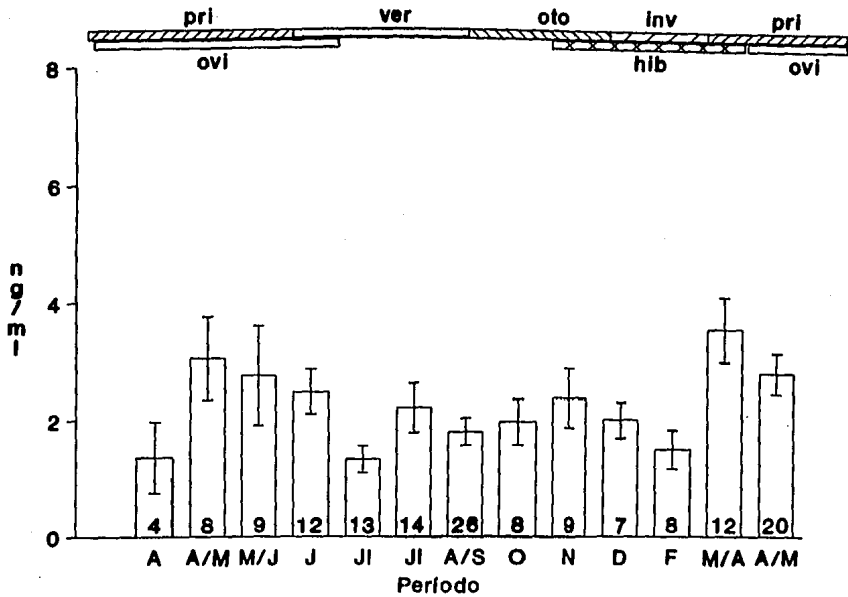


Fig. 7. MARCHA ANUAL DE PROGESTERONA PARA HEMBRAS NO CAUTIVAS.

3.1.3.2. Hembras cautivas. (fig. 8, pág. 27).

Durante la primavera la progesterona en este grupo mostró una disminución gradual de las concentraciones hasta llegar en junio al mínimo del ciclo (0.51 ± 0.16 ng/ml), aunque este valor no fue significativamente diferente de los valores del principio de dicha estación (abril vs. junio: $t=1.81$, 6 g.l., $P=0.12$). El resto del ciclo muestreado no revela variaciones importantes en los niveles circulantes de la progesterona, permaneciendo éstos relativamente constantes durante verano, otoño y la mayor parte del invierno, al final del cual se registró un notable aumento en las concentraciones circulantes, alcanzándose el máximo del ciclo en febrero (4.32

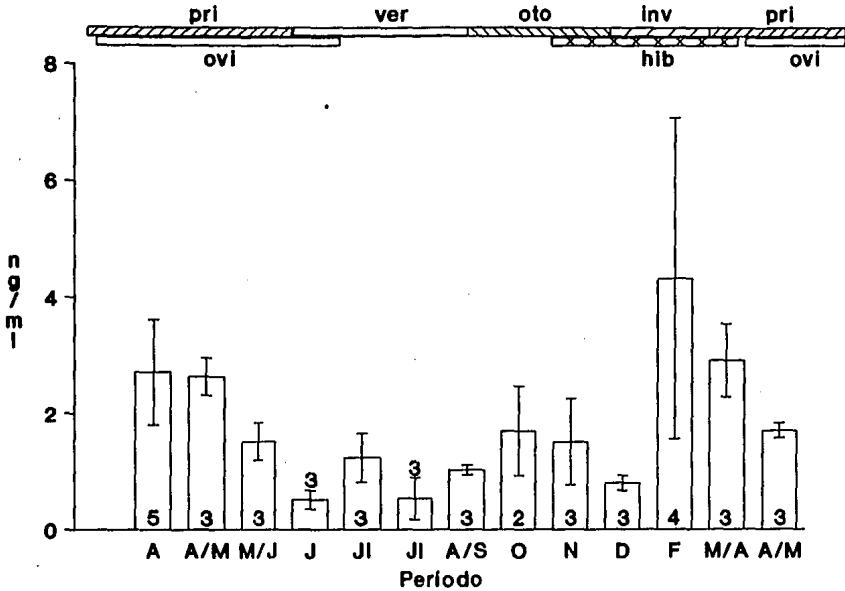


Fig. 8. MARCHA ANUAL DE PROGESTERONA PARA HEMBRAS CAUTIVAS.

± 2.76 ng/ml), aunque éste no es significativo respecto a la fecha anterior (diciembre vs. febrero: $t=-1.08$, 5 g.l., $P=0.33$). Al inicio de la primavera del segundo año (finales de marzo y principios de abril) los niveles vuelven a disminuir, siendo significativamente diferentes del valor mínimo del ciclo (junio vs. marzo/abril: $t=-3.71$, 4 g.l., $P=0.02$) observándose además la misma tendencia de la primavera anterior a la disminución de los niveles circulantes a través de la época de oviposición ya que los valores continuaron a la baja y son significativamente diferentes con respecto al valor de junio ($t=-5.71$, 4 g.l., $P=0.005$).

3.1.4. Corticosterona.

3.1.4.1. Hembras no cautivas. (fig. 9).

La marcha de corticosterona presenta una alternancia de valores en este grupo. Sólo en la transición de primavera a verano se observó una diferencia significativa en los niveles

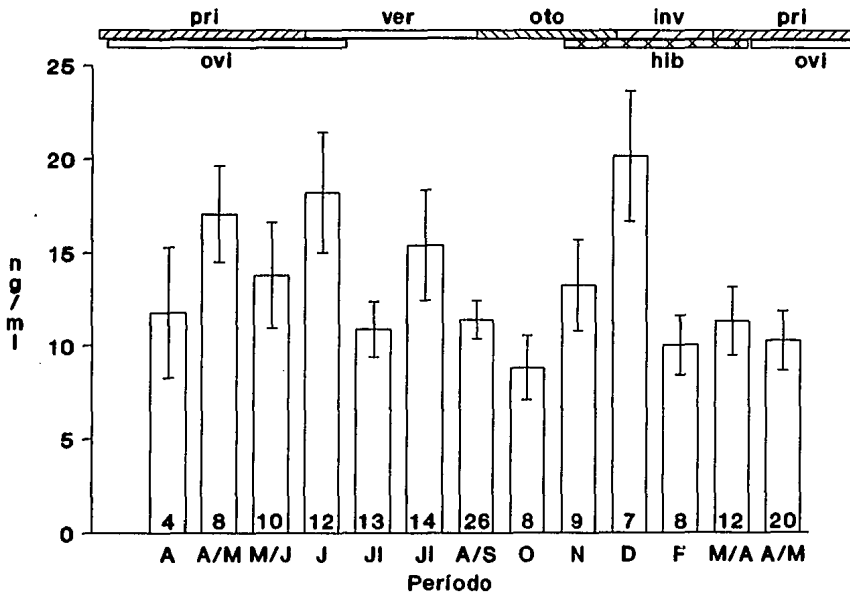


Fig. 9. MARCHA ANUAL DE CORTICOSTERONA PARA HEMBRAS NO CAUTIVAS.

medidos (junio vs. julio (1): $t=2.14$, 23 g.l., $P=0.04$). En la primera parte del verano hubo un nuevo incremento, no significativo (julio (1) vs. julio (2): $t=-1.33$, 25 g.l., $P=0.19$), después del cual se observó una disminución constante hasta el mínimo del ciclo, al iniciar el otoño (octubre: 8.81 ± 1.73 ng/ml), que fue estadísticamente diferente respecto al nivel del final de

primavera (junio vs. octubre: $t=2.25$, 18 g.l., $P=0.04$). Durante otoño e invierno hay una tendencia al aumento de las concentraciones, hasta alcanzar el promedio máximo del ciclo en diciembre, durante la transición entre otoño e invierno (20.15 ± 3.47 ng/ml). La diferencia entre el mínimo y el máximo del ciclo es significativa (octubre vs. diciembre: $t=-3.04$, 13 g.l., $P=0.009$). Entre comienzos y finales del invierno se observaron también diferencias significativas en las concentraciones (diciembre vs. febrero $t=2.77$, 13 g.l., $P=0.02$) permaneciendo casi sin cambios durante el resto del ciclo los niveles alcanzados en febrero.

3.1.4.2. Hembras cautivas. (fig. 10, pág. 30).

La marcha de la corticosterona en hembras cautivas mostró una condición parecida a la de hembras no cautivas, alternándose valores altos y bajos de manera más o menos regular. Así tenemos que durante el primer mes de la etapa de oviposición (abril) hubo un aumento no significativo de las concentraciones, alcanzándose el máximo del ciclo a finales de abril y principios de mayo (15.68 ± 2.06 ng/ml), después del cual los valores disminuyeron hacia el final de la primavera, en junio, siendo significativas las diferencias entre estas fechas ($t=2.84$, 4 g.l., $P=0.04$). Al iniciar el verano (julio), los niveles casi duplicaron a los del mes anterior, aunque sin tener diferencias representativas (junio vs. julio (1): $t=-1.54$, 4 g.l., $P=0.2$), para luego reducirse durante el transcurso de la estación, llegando al mínimo del ciclo, a finales de agosto y principios de septiembre (6.31 ± 1.95 ng/ml), cuando se presentan diferencias significativas con respecto al máximo de la marcha (abril/mayo vs. agosto/septiembre: $t=3.30$, 4 g.l., $P=0.03$), pero no con respecto al período inmediato anterior (julio (2) vs. agosto/septiembre: $t=0.79$, 4 g.l., $P=0.47$). En octubre los valores aumentaron y se

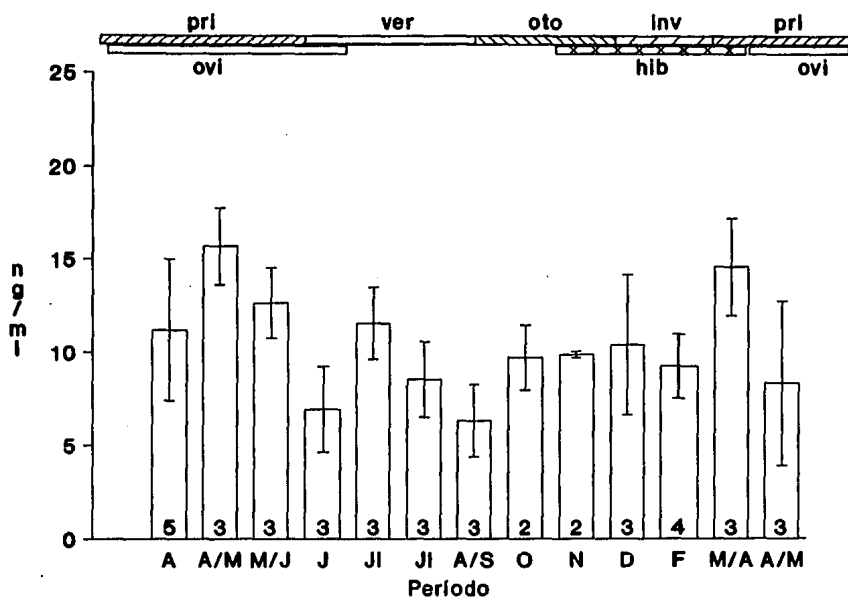


Fig. 10. MARCHA ANUAL DE CORTICOSTERONA PARA HEMBRAS CAUTIVAS.

mantuvieron prácticamente constantes hasta el final del invierno, cuando después de una caída no significativa de la concentración (diciembre vs. febrero: $t=0.31$, 5 g.l., $P=0.77$), aumentaron nuevamente de manera considerable a principios de abril, con un valor semejante al máximo del ciclo detectado la primavera anterior. Sin embargo, la diferencia no fue significativa para la transición de invierno a primavera (febrero vs. marzo/abril: $t=-1.79$, 5 g.l., $P=0.13$). Aunque a finales de abril y principios de mayo el nivel de este esteroide volvió a disminuir, ésto tampoco fue diferente respecto al período inmediato anterior (marzo/abril vs. abril/mayo: $t=1.22$, 4 g.l., $P=0.29$).

3.2. MACHOS.

En vista de que para los machos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los esteroides analizados tanto a nivel general (cuadro 2, pág. 17), como por tiempo de confinamiento (cuadro 3, pág. 17 y cuadro 4, pág. 18), y como en algunos casos los números de muestra eran muy pequeños, se optó por incluir todos los valores de los esteroides circulantes dentro de un solo grupo. En el análisis solo se incluyó para machos la testosterona y la corticosterona, ya que para el estradiol y la progesterona los datos no abarcaban el período anual considerado.

3.2.1. Testosterona. (fig. 11, pág. 32).

Hubo una reducción en las concentraciones circulantes de testosterona durante el mes de abril, hasta 133.15 ng/ml, que es el valor mínimo registrado en todo el ciclo. A partir de este momento, las concentraciones se incrementaron constantemente el resto de la primavera y parte del verano, alcanzando a finales de julio el promedio máximo de la marcha (1028 ± 108.66 ng/ml). Aunque la concentración hormonal previa (principios de julio) es de casi la mitad de este valor la diferencia no es significativa (julio (1) vs. julio (2): $t=-1.99$, 10 g.l., $P=0.07$). Sin embargo, este máximo sí fue diferente respecto al nivel registrado a finales de mayo y principios de junio, que es el momento en que inicia el incremento de los niveles hormonales siendo casi cinco veces mayor (mayo/junio vs. julio (2): $t=-4.53$, 5 g.l., $P=0.006$). Después del cenit de verano, los niveles circulantes disminuyeron al final de la estación, aumentando otra vez al principio del otoño. Durante la etapa de hibernación (noviembre) la testosterona disminuyó casi a la mitad del nivel previo, siendo significativa la diferencia (octubre vs. noviembre: $t=2.81$,

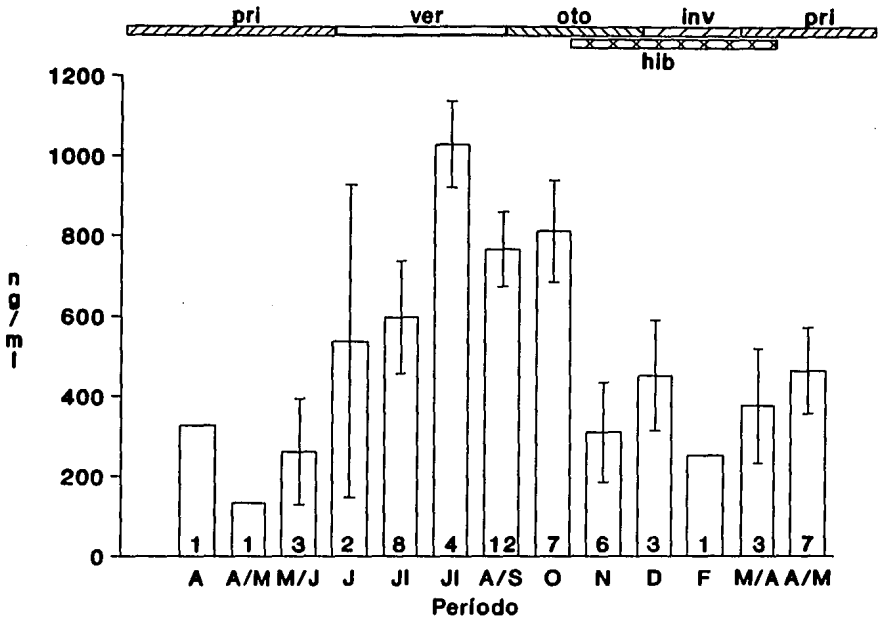


Fig. 11. MARCHA ANUAL DE TESTOSTERONA PARA MACHOS.

11 g.l., $P=0.02$). El resto del otoño e invierno no hubo cambios apreciables en las concentraciones, y aunque no fue posible analizar las diferencias en la transición entre el invierno y la primavera, la tendencia de la marcha es al incremento de las concentraciones circulantes al reiniciar la actividad.

3.2.2. Corticosterona. (fig. 12, pág. 33).

Al inicio de abril la corticosterona tuvo el nivel basal del ciclo (5.14 ng/ml), incrementándose posteriormente hasta alcanzar a finales de mayo y principios de junio el valor promedio máximo de toda la marcha (31.67 ± 9.72 ng/ml), después del cual hubo una reducción

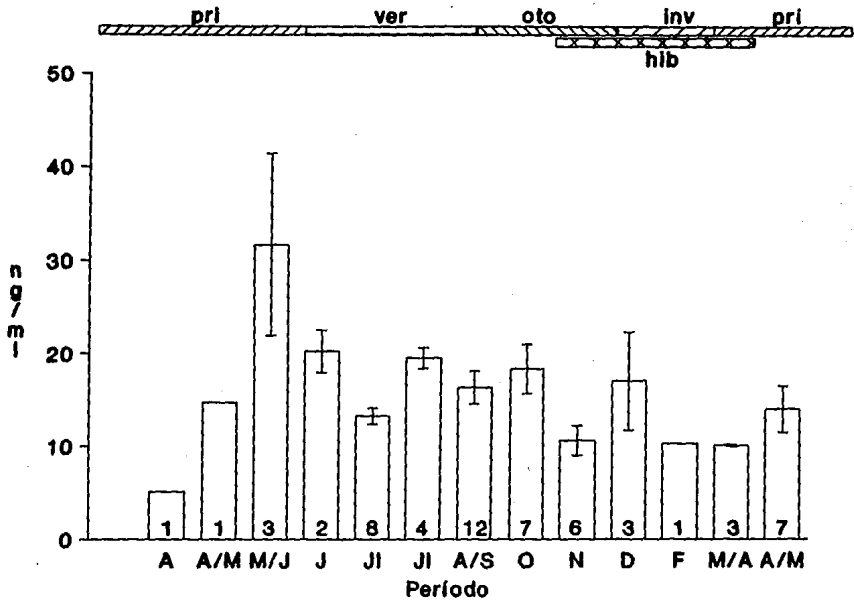


Fig. 12. MARCHA ANUAL DE CORTICOSTERONA PARA MACHOS.

no significativa de las concentraciones al terminar la primavera (mayo/junio vs. junio: $t=0.90$, 3 g.l., $P=0.43$). En la transición de primavera a verano ocurrió otra disminución casi a la mitad del nivel circulante previo, la que fue estadísticamente significativa (junio vs. julio (1): $t=3.49$, 8 g.l., $P=0.008$), y hacia el final del mes de julio hubo un pequeño aumento, también significativo (julio (1) vs. julio (2): $t=-4.32$, 10 g.l., $P=0.002$). Otro cambio significativo en la marcha de este esteroide se detectó durante el otoño, al caer los valores entre octubre y noviembre a casi la mitad, coincidiendo este descenso con el inicio del período de inactividad (octubre vs. noviembre: $t=2.39$, 11 g.l., $P=0.04$). En la transición del otoño al invierno hubo

Resultados

otro incremento no significativo en los valores circulantes (noviembre vs. diciembre: $t=-1.54$, 7 g.l., $P=0.17$). Posteriormente en febrero se detectó una disminución de niveles a valores comparables a los del inicio de la hibernación, y éstos permanecieron relativamente constantes durante el resto del estudio.

4. DISCUSION

4.1. OBTENCION Y PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS.

De las técnicas utilizadas para la obtención de sangre la de cardiocentesis era la más recomendable, pero como se obtuvieron pocas muestras con dicho procedimiento ($n=4$), y en vista de que los valores logrados con el sistema de venipunción yugular no fueron cualitativamente diferentes de aquellos, se combinaron los resultados de los dos métodos.

4.2. SEPARACION DE LOS GRUPOS DE MUESTRAS.

4.2.1. Organismos no cautivos.

Una de las dificultades del estudio fue la obtención de organismos de vida libre para la toma de muestras sanguíneas, en vista de las características biológicas de la especie y el protocolo de muestreo seguido. En consecuencia, no fue posible utilizar exclusivamente suero de animales con menos de 24 horas de cautiverio por lo que también se emplearon los valores de aquellos organismos retenidos por más tiempo. Como ya se mencionó, la combinación de los dos grupos de suero se debió a que no se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de organismos de vida libre (cuadro 4, página 18). Esta situación no concuerda con otros reportes que documentan la influencia del cautiverio sobre los procesos fisiológicos de los reptiles (Lance 1984, 1987, 1990, Licht *et al.* 1985, Lance y Elsey 1986, Wibbels *et al.* 1987a, b, Mahmoud *et al.* 1989, Cree *et al.* 1990a, b, Elsey *et al.* 1990a, b, Cree *et al.* 1991b, Elsey *et al.* 1991). Para explicar tales diferencias se pueden proponer los siguientes argumentos:

1) A pesar de que el lapso transcurrido entre la captura del organismo y la obtención de la muestra fue muy variable (el tiempo máximo de retención de los individuos fue de 43 días para hembras y 25 días para machos), los organismos no se sometieron a condiciones agudas de tensión, ya que hasta su procesamiento se mantuvieron en un área con vegetación natural y acceso a refugio subterráneo junto con los individuos cautivos. En consecuencia, es posible que no hayan experimentado condiciones extremas de hacinamiento, las que en otras especies de reptiles (p. ej., *Alligator mississippiensis*) influyen sobre los procesos de crecimiento de juveniles (Eelsey et al. 1990a, b) y en el desempeño reproductivo de adultos (Eelsey et al. 1991).

2) En las situaciones en que los organismos permanecieron cautivos por un lapso superior a los 3 días pudieron ocurrir cambios importantes en las tasas de producción y desalojo de esteroides, mismos que no fueron detectados por la rutina de muestreo seguida. Se sabe en otras especies de reptiles tales cambios son transitorios y ocurren en lapsos cortos. Por ejemplo, en *Chelonia mydas* se ha observado un incremento en la secreción de hormona luteinizante (LH) y progesterona entre las 6 y las 12 horas posteriores a la anidación, para luego descender rápidamente hasta niveles basales en las siguientes 24 horas (Licht et al. 1979).

3) Con excepción de algunos trabajos sobre termorregulación (Adest et al. 1981) y datos preliminares sobre la química sanguínea (Morafka et al. 1986), la fisiología de *G. flavomarginatus* es prácticamente desconocida, de modo que no fue posible determinar los efectos del cautiverio en los procesos metabólicos naturales, como parece ser el caso de *Chelydra serpentina*, en donde hay una influencia diferencial del tiempo de cautiverio sobre la producción de esteroides, de acuerdo al sexo y al estado reproductivo (Mahmoud et al. 1989).

En los machos de esta especie la testosterona muestra un incremento inicial al momento de la captura, seguido por un declive significativo de los niveles circulantes dentro de las 12-48 horas siguientes. Las hembras también responden al estrés de cautiverio aumentando los niveles circulantes de estradiol y progesterona, aunque el estado reproductivo de los animales influye en el tipo de respuesta. Así, mientras que en hembras no grávidas el incremento de estradiol es moderado, en hembras grávidas es dramático. Por el contrario, en los dos grupos el incremento de progesterona es significativo, alcanzando sus niveles máximos a las 24 horas, aunque en individuos no grávidos (vitelogénicos) el incremento comienza desde las 6 horas, mientras que en los grávidos es apreciable hasta las 24 horas (Mahmoud *et al.* 1989). Dicho incremento se atribuye a que los tejidos adrenales (que contribuyen a la producción de progesterona) y foliculares (que secretan estradiol) responden a estímulos inducidos por el cautiverio. Aún después de siete días, los niveles hormonales en hembras de *C. serpentina* se mantienen muy semejantes a los niveles iniciales (Mahmoud *et al.* 1989).

4) El número de individuos de campo retenidos en el laboratorio por más de 24 hrs. pudo no haber sido lo bastante grande, en especial cuando el tiempo de permanencia era mayor a una semana (n machos=4, n hembras=11), lo que a su vez se reflejó en los resultados de las pruebas estadísticas.

A pesar de las consideraciones anteriores, no debe descartarse la posibilidad de que en *G. flavomarginatus* el cautiverio realmente no tenga ningún efecto en la síntesis y metabolismo de esteroides sexuales (principalmente testosterona, estradiol y progesterona), tal como ocurre en algunas otras especies de reptiles, por ejemplo, *Tiliqua (Trachydosaurus) rugosa* (Bourne *et*

al. 1986, citado en Whittier *et al.* 1987) y *Thamnophis sirtalis parietalis* (Whittier *et al.* 1987).

4.2.2. Organismos cautivos.

La eliminación de los datos de individuos cautivos procedentes de zonas urbanas, de quienes desconocíamos aspectos tales como historia previa, condiciones del confinamiento y tipo de alimentación, se debió a que en la literatura encontramos ejemplos en los que distintos autores, al tratar de caracterizar la marcha de los ciclos hormonales de una misma especie, han obtenido resultados diferentes. Por ejemplo, Callard *et al.* (1976a), al trabajar con machos de *Chrysemys picta* obtenidos a través de comerciantes, encontraron que el nivel de andrógenos era máximo al inicio de primavera y coincidía con una actividad mínima de los túbulos seminíferos, detectando además un incremento en los niveles de andrógenos circulantes durante la hibernación. Por otro lado, Licht *et al.* (1985), trabajando con poblaciones naturales de la misma especie, describieron un ciclo bimodal de andrógenos, con máximos en primavera y otoño, siendo los valores superiores a los reportados en el estudio de Callard *et al.* (1976a) hasta en un orden de magnitud y con niveles mínimos de esteroides durante la hibernación. Según Lance (1984) y Licht *et al.* (1985), las diferencias entre ambos trabajos pudieron deberse a que el equipo de Callard: i) mantuvo a los organismos en condiciones artificiales durante el invierno, ii) conservó a los organismos cautivos durante un tiempo prolongado, y iii) siguió un patrón de muestreo mensual, que no reflejó la magnitud real del pico transitorio de andrógenos en primavera.

4.3. TAMAÑO DE LAS MUESTRAS.

El protocolo de muestreo inicial pretendía utilizar un número constante de organismos de los dos sexos por cada fecha. Las dificultades inherentes para coleccionar machos de vida libre y la decisión de eliminar de los análisis estadísticos a los individuos procedentes de zonas urbanas, hicieron necesarias modificaciones al plan original. Aunque en consecuencia el tamaño de muestra para cada período fue variable en todos los casos, sólo con las hembras cautivas la comparación estadística entre fechas consecutivas no produjo diferencias significativas para ninguno de los esteroides analizados, a pesar que en algunas de las gráficas es evidente que el comportamiento de los niveles circulantes muestra alteraciones considerables entre fechas (p. ej. gráfica 4, testosterona, pág. 21). Esto podría deberse al gran error estándar de los valores promediados, originado por los pequeños números de muestra, ya que para este grupo hubo un número constante de 3 individuos para cada período de muestreo, y como se sabe, la representatividad de una muestra es inversamente proporcional a su tamaño (Brower y Zar 1977). En el caso de los machos fue imposible realizar la comparación entre algunas de las fechas secuenciales de muestreo, ya que solo había un dato disponible (ver anexo 2, pág. 82).

4.4. CICLOS ANUALES DE HORMONAS.

A continuación se analizan las características del ciclo anual de cada una de las hormonas estudiadas, relacionándose, por un lado, con las distintas fases de actividad de la especie, y por el otro, con los ciclos hormonales descritos para otras especies de reptiles, tortugas en particular. Primero se consideran los esteroides sexuales, separados por sexo. Debido a que la

corticosterona tiene características semejantes en machos y hembras, ésta se considera en un inciso aparte.

4.4.1. HEMBRAS.

4.4.1.1. Testosterona.

En hembras de reptiles la testosterona parece jugar un papel primordial como precursor en el proceso de síntesis del estradiol (Chieffi y Pierantoni 1987). En *Chrysemys picta* hay dos máximos de testosterona coincidentes con los niveles de estrógenos, uno en primavera, durante el período de crecimiento ovárico, y el segundo en otoño, asociado a la recrudescencia ovárica (Callard et al. 1978). En *Sternotherus odoratus* (McPherson et al. 1982) la testosterona es máxima antes de la ovulación de la primera nidada, pero permanece sin cambiar en nidadas sucesivas; los niveles altos sugieren su posible papel como precursor de estrógenos. Al final de la estación de anidación de esta especie (julio), los niveles decrecen para volver a aumentar en el otoño, coincidiendo con la vitelogénesis. Los niveles bajos sugieren que en animales con puestas múltiples hay una rápida aromatización del andrógeno, contrarrestando su posible efecto antivitelogénico (McPherson et al. 1982). En *G. agassizzi* se observan dos máximos de testosterona. El primero ocurre en primavera (abril), poco después de la emergencia y antes de la ovulación (abril y mayo), que puede relacionarse con un incremento en la ovulación, y el segundo ocurre entre julio y octubre, antes de la hibernación, el cual coincide con la vitelogénesis y el apareamiento de otoño (Rostal et al. 1994, Lance et al. 1994). En esta especie el rango de testosterona es de 6.22 ± 0.62 ng/ml para la reproducción de primavera (abril) y 0.37 ± 0.05 ng/ml al final de la anidación (julio) (Rostal et al. 1994). En *G. flavomarginatus*

se observan diferencias en las fluctuaciones de la testosterona para los dos grupos de hembras (fig. 3, pág. 20, fig. 4, pág. 21) respecto al tiempo en que se alcanzan los niveles máximos, ya que en los animales no cautivos (fig. 3, pág. 20), ocurre a fines de marzo y comienzos de abril, aproximadamente un mes después que en los cautivos (fig. 4, pág. 21), y aunque tales diferencias no son significativas (cuadro 5, pág. 18), podrían reflejar algún tipo de influencia del cautiverio (hembras no cautivas, $\bar{x}=17.27 \pm 2.08$ ng/ml, hembras cautivas, $\bar{x}=21.36 \pm 4.09$ ng/ml), o bien ser consecuencia de los números de muestra del grupo cautivo. Sin embargo, ambos ciclos presentan características en común con otros estudios de tortugas en que se han medido los niveles de andrógenos: dos niveles máximos, uno al inicio de la primavera, que podría estar relacionado con el crecimiento ovárico para la anidación, y el segundo, de menor intensidad, en el otoño, que podría estar relacionado con la vitelogénesis. En ambos casos los niveles basales ocurren hacia el final de la etapa de oviposición (julio).

En hembras anidantes de *Chelonia mydas* se ha reportado que el aumento en los niveles circulantes de testosterona durante el período de apareamiento ocurre aproximadamente un mes antes de la primera anidación, lo que sugiere su papel como estimulador de la receptividad sexual, observándose además que en el transcurso de la temporada de anidación tales valores disminuyen (Licht et al. 1979). En *Caretta caretta* se insinúa que las concentraciones de testosterona aumentan conforme los individuos se aproximan a los sitios de anidación; este esteroide juega entonces un papel importante en la conducta migratoria de esta especie y facilita la conducta reproductiva, además de funcionar como precursor en la síntesis de estrógenos (Wibbels et al. 1987a). En *G. agassizzi* el máximo de testosterona que ocurre en primavera

puede relacionarse con un incremento en la receptividad sexual (Rostal *et al.* 1994). Una situación semejante podría ocurrir en *G. flavomarginatus*, donde el incremento de los niveles de testosterona observado al final del invierno y comienzos de la primavera, además de funcionar como precursor en la síntesis del estradiol, podría preparar a las hembras para ser receptivas sexualmente al comenzar la época reproductiva.

4.4.1.2. Estradiol.

Las mayores concentraciones del estradiol para ambos grupos de hembras de *G. flavomarginatus* ocurren en la primavera (marzo y abril) y en el otoño (octubre y noviembre), (fig. 5, pág. 23, fig. 6, pág. 24), coincidiendo con las marchas reportadas en otras especies de tortugas, por ejemplo, *Chrysemys picta* (Callard *et al.* 1978), *Gopherus polyphemus* (Taylor 1982) y *Sternotherus odoratus* (McPherson *et al.* 1982), donde se ha sugerido que las funciones que cumple esta hormona son estimular la acumulación de vitelo, ayudando a la maduración de los folículos antes de su liberación en primavera y permitir la recrudescencia ovárica en otoño. En *G. agassizii* la vitelogénesis y el crecimiento folicular ocurren al final del verano y otoño, y se reflejan con incrementos del estradiol (Lance *et al.* 1994). A pesar de tales similitudes respecto a otras especies, en *G. flavomarginatus* se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (cuadro 5, pág. 18) que podrían explicarse si tomamos en cuenta los siguientes aspectos: el promedio general para el estradiol de hembras no cautivas es menor al de hembras cautivas ($\bar{x}=6.97 \pm 5.17$ ng/ml y $\bar{x}=9.79 \pm 5.96$ ng/ml, respectivamente), y lo mismo ocurre con los valores promedio por fecha de muestreo (anexo 2, pág. 82). En los animales no cautivos (fig. 5, pág. 23), el valor máximo de otoño (13.13 ± 2.65

ng/ml) fue casi el doble del máximo de primavera (abril de 1986: 8.83 ± 1.59 ng/ml), mientras que en los cautivos (fig. 6, pág. 24), el valor máximo de otoño (15.95 ± 6.61 ng/ml) fue casi idéntico al máximo de primavera (abril de 1985: 14.09 ± 2.35 ng/ml). El máximo de otoño ocurrió en noviembre en hembras no cautivas mientras que para las cautivas sucedió a principios de octubre.

Los niveles de estrógenos en reptiles generalmente se correlacionan bien con la vitelogenénesis (Chieffi y Pierantoni 1987), siendo el principal estímulo para la síntesis de vitelogenina en el hígado (Ho 1987). En *Chrysemys picta* se ha demostrado que las variaciones estacionales de vitelogenina circulante se correlacionan con los cambios en los niveles circulantes de estradiol (Gapp et al. 1979, citado en Ho 1987). A pesar de que está bien establecido que en la mayoría de los Sauria insectívoros el fotoperíodo y la temperatura son los factores ambientales determinantes del inicio de la actividad reproductiva (Licht 1967, Marion 1982), en algunas especies de lagartijas vivíparas (p. ej., *Sceloporus formosus*, Guillette y Sullivan 1985, *Barisia imbricata*, Guillette y Casas-Andreu 1987) y ovíparas (*Anolis limifrons*, Sexton et al. 1971) se ha demostrado la correlación entre el ciclo reproductivo y la precipitación, la cual actúa no directamente sobre las estructuras reproductivas, sino a través de una mayor disponibilidad del alimento, e incrementando en consecuencia la energía disponible para los eventos de esta índole. En *Sauromalus obesus*, una lagartija ovípara y herbívora que habita en los desiertos del sur de los Estados Unidos, la disponibilidad de energía obtenida a través del alimento es más variable que en especies insectívoras, al depender más de factores ambientales, particularmente de la precipitación. Por lo tanto, la reproducción es más tardía y menos frecuente, aunque la

expectativa de vida es mayor, ya que la energía adquirida a través del alimento se destina básicamente al mantenimiento individual durante los años secos (Abts 1988). En especies residentes de aves granívoras y roedores heterómidos del Desierto Chihuahuense se ha demostrado que la humedad insuficiente durante la temporada reproductiva resulta en una falla reproductiva de las poblaciones, aunque los adultos muestran una supervivencia normal (Ludwig y Whitford 1981). Posiblemente una situación similar ocurra en *G. flavomarginatus*, cuya historia evolutiva reciente parece indicar que alguna vez habitó áreas con mayor humedad (Morafka 1988). Sin embargo, Turner et al. (1984, 1986) reportan que *G. agassizii* puede emplear para eventos reproductivos fuentes alternas de agua y energía (p. ej., cactus) durante el verano, si la precipitación de invierno no es suficiente. Además, Rostal et al. (1994) encontraron para *G. agassizii* que la temperatura del aire parece ser una señal ambiental relativamente constante que coincide con cambios fisiológicos en la reproducción.

4.4.1.3. Progesterona.

En reptiles ovíparos la progesterona es producida por los cuerpos lúteos transitorios y tiene un efecto antigonal, al retardar o detener la acumulación de vitelo en el folículo antes de la ovulación, facilitar la ovulación después de la maduración folicular reduciendo el nivel de gonadotropinas, reducir la movilidad y secreción de las glándulas exócrinas del oviducto después de la ovulación hasta que se complete el proceso normal de formación del cascarón y los huevos estén listos para ser depositados (Callard et al. 1978, Chieffi y Pierantoni 1987, Guillette 1987, Xavier 1987, Cree et al. 1991a). En *Gopherus polyphemus* (Taylor 1982), la progesterona muestra dos niveles máximos, uno en abril, al momento de la ovulación o cuando los folículos

Discusión

están a punto de ser liberados, y otro en octubre. Después del máximo de abril, las concentraciones circulantes de progesterona experimentan un declive suave y constante a través del verano hasta el nivel mínimo de septiembre. Por el contrario, después del máximo de octubre los valores declinan más rápidamente hasta llegar a niveles muy bajos en noviembre, los que permanecen casi sin cambios hasta febrero. En *Sternotherus odoratus*, los niveles de progesterona son máximos antes y después de cada ovulación, y mínimos en las últimas etapas de formación del cascarón, antes de la oviposición. También en octubre y diciembre se observaron valores mínimos (McPherson *et al.*, 1982). En *G. agassizii* la progesterona es baja en todo el año excepto alrededor de la ovulación (abril-mayo). En animales recién ovulados o a punto de ovular la concentración es de 30 ng/ml (Lance *et al.*, 1994). En *G. flavomarginatus* (fig. 7, pág. 26, fig. 8, pág. 27) los niveles máximos de progesterona se alcanzan entre febrero y abril, al iniciar el período de oviposición, y los mínimos ocurren a su término, en el verano, presumiblemente cuando los cuerpos lúteos degeneran. El resto del año los valores permanecen basales, al igual que lo reportado para otras especies estudiadas de reptiles. En hembras cautivas de *Chelonia mydas*, Licht *et al.* (1979) detectaron cambios drásticos en los niveles circulantes de progesterona alrededor de la anidación, los que se incrementaron a las 6 horas, para comenzar a disminuir hasta las 36 horas. Aunque nuestro estudio no fue diseñado específicamente para detectar tales cambios, en algunos de los casos en que se hizo necesario resangrar individuos se observaron incrementos en los niveles circulantes de progesterona aún después de 3 días de cautiverio, mientras que en otros casos hubo una disminución de las concentraciones dentro de las 24 horas posteriores a la toma de la primera muestra. Por ejemplo,

mientras que en la hembra # 179 el incremento de la progesterona entre el 6 y el 9 de abril de 1985 fue de 0.5 a 1.5 ng/ml, en la hembra # 95 el nivel descendió de 4.01 a 0.90 ng/ml del 6 al 7 de octubre de 1985.

Las diferencias estadísticas encontradas para la progesterona entre los dos grupos de hembras ($U=-2.23$, $P=0.03$) se debe a las diferentes concentraciones circulantes encontradas entre los tratamientos, siendo mayor el promedio general de las no cautivas que el de las cautivas ($\bar{x}=2.27 \pm 0.13$ ng/ml vs. $\bar{x}=1.88 \pm 0.32$ ng/ml, respectivamente), además que el rango de variación por fechas para las primeras fue menor respecto a las segundas (hembras no cautivas, de 1.33 ± 0.23 ng/ml a 3.53 ± 0.55 ng/ml, hembras cautivas, de 0.51 ± 0.33 ng/ml a 4.32 ± 2.76 ng/ml). Por otro lado, en el grupo no cautivo el valor máximo ocurrió a finales de marzo y comienzos de abril (fig. 7, pág. 26) y en el cautivo fue a finales de febrero (fig. 8, pág. 27). Si como ocurre en *Chelydra serpentina* (Mahmoud *et al.* 1989), en *G. flavomarginatus* las glándulas interrenales son en parte responsables de la producción de progesterona, entonces los valores más altos de este esteroide observados en hembras no cautivas podrían explicarse suponiendo que dichas estructuras, estimuladas de algún modo por la manipulación, transporte y obtención de sangre, produjeron más esteroides que las de los organismos cautivos, más acostumbrados a la presencia humana.

Para la progesterona se registraron dos valores que sobresalían al promedio general de los grupos. El primero (30.17 ng/ml) correspondió a una hembra cautiva del grupo de decomisos, que, como se recordará, fue excluido de los análisis estadísticos por desconocerse las condiciones de confinamiento y el tiempo de cautiverio; el segundo (82.88 ng/ml)

correspondió a una hembra no cautiva (# 83) muestreada el 30 de mayo de 1985, y remuestreada dos días después, cuando el nivel fue de 1.00 ng/ml. Como el mismo organismo fue muestreado en otras fechas y su rango de valores fluctuó entre 0.64 ng/ml (30 de abril de 1986) y 2.95 ng/ml (28 de julio de 1985), y dado que el promedio para hembras no cautivas fue menor hasta en un orden de magnitud ($\bar{x} \approx 2.27 \pm 0.13$ ng/ml, rango: 0.00-8.84 ng/ml), dicho valor no se incluyó en los análisis estadísticos ya que no se pudo discernir si correspondía a un valor aberrante o a un valor erróneo generado durante los análisis de laboratorio. En la literatura se halló información sobre la gran variabilidad individual de la progesterona en diferentes especies de reptiles, semejante a la observada en *G. flavomarginatus*. Así, mientras que una hembra de *C. mydas* mostró un incremento de 10 veces (de 5.6 a 50 ng/ml) 6.5 horas después de la oviposición (Licht et al. 1980), el nivel de progesterona en hembras grávidas cautivas de *Cnemidophorus uniparens* tuvo una variación individual de entre 1.24 y 70 ng/ml (Moore et al. 1985). En hembras de *Lacerta vivipara* las concentraciones fluctuaron desde 146.8 ng/ml a principios de la gestación (Dauphin-Villemant et al. 1990) hasta 400 ng/ml al final de la misma en individuos con cuerpos lúteos. La elevada concentración de progesterona en esta especie se correlaciona con la gran cantidad de transcortina presente, que es una proteína con mucha afinidad por este esteroide y por la testosterona (Xavier 1982). Algunos otros ejemplos de valores máximos de progesterona para hembras se presentan en el cuadro 6 (pág. 48).

Por otro lado, la progesterona actúa en conjunto con los estrógenos de origen ovárico, influyendo en la receptividad sexual de hembras mediante el desarrollo de señales visuales y olfativas hacia los machos (Crews 1983, Crews y Silver 1985, Moore 1987). Esta situación se

Cuadro 6. EJEMPLOS DE VALORES MÁXIMOS DE PROGESTERONA EN HEMBRAS DE ALGUNAS ESPECIES DE REPTILES.

ESPECIE	NG/ML	OBSERVACIONES	CITA
<i>Chrysemys picta</i>	2.5	-----	Callard <i>et al.</i> 1978
<i>Uromastix hardwicki</i>	13.41	hembras grávidas	Arslan <i>et al.</i> 1978
<i>Chelonia mydas</i>	1.37	hembras cavando el nido	Licht <i>et al.</i> 1980
<i>Naja naja</i>	25	hembras ovígeras	Bona-Gallo <i>et al.</i> 1980
<i>Gopherus polyphemus</i>	4	-----	Taylor 1982
<i>Sternotherus odoratus</i>	4	-----	McPherson <i>et al.</i> 1982
<i>Holbrookia propinqua</i>	34.70	hembras no receptoras sexualmente	Cooper y Crews 1988
<i>Alligator mississippiensis</i>	16	antes de la ovulación	Lance 1989
<i>Sphenodon punctatus</i>	2	-----	Guillette <i>et al.</i> 1990

ha estudiado experimentalmente en los iguánidos *Anolis carolinensis* (Crews 1975, McNicol y Crews 1979) y *Crotaphytus collaris* (Cooper y Ferguson 1973), y en ambos casos se ha demostrado una mejora en la receptividad sexual de las hembras hacia los machos si éstas son previamente inyectadas con algún compuesto a base de progesterona. Aunque se desconoce si esta situación ocurre en hembras de otras especies de reptiles, podemos observar que en *G. flavomarginatus* las marchas en primavera del estradiol y la progesterona son similares, incrementándose casi al parejo al inicio de la etapa reproductiva, cuando sería necesaria la receptividad sexual de las hembras (fig. 14, pág. 58), pero también actuando sinérgicamente al preparar a los tejidos oviducuales para las transformaciones fisiológicas propias del ciclo reproductivo (Palmer y Guillette 1990).

4.4.2. MACHOS.

4.4.2.1. Testosterona.

Las funciones de la testosterona en reptiles machos son iniciar y mantener conductas reproductivas (establecimiento del territorio, cortejo, monta y cópula), estimular el desarrollo de los gonoductos, glándulas anexas y otras estructuras sexualmente dimórficas (p. ej., segmento sexual del riñón en Squamata, glándulas de barbilla en *Gopherus*) y producir y mantener los gametos para la reproducción (Licht 1982, Lance 1984, Crews y Silver 1985, Bradshaw 1986, Moore 1987, Norris 1987). En machos de *G. agassizii* la testosterona aumenta significativamente de mayo a agosto, y continúa hasta el período de apareamiento en otoño. Estos máximos de testosterona se correlacionan con los picos de actividad de apareamiento y agresión intrasexual (Rostal et al. 1994, Lance et al. 1994). Antes de hibernación la testosterona declina (Rostal et al. 1994). En *G. flavomarginatus* (fig. 11, pág. 32), la marcha de los niveles circulantes de testosterona (máximos en verano y mínimos en invierno y primavera, con un aumento gradual de los niveles a través de la estación reproductiva), coincide con la reportada para *Testudo hermanni* (Kuchling et al. 1981), donde el máximo de verano se relaciona con la maduración de espermatozoides en el epidídimo, pero es diferente a la de *G. polyphemus*, donde se reporta un máximo en primavera, que coincide con el inicio de la actividad, después una disminución a través de la estación reproductiva (febrero a mayo), un segundo máximo en otoño, que coincide con la espermatogénesis, y una nueva reducción de las concentraciones circulantes durante el invierno (Taylor 1982). Aunque en abril de 1985 los números de muestra fueron mínimos, la tendencia al incremento de los niveles circulantes durante la primavera hasta llegar al máximo

de verano parece ser una característica de la testosterona para los machos de *G. flavomarginatus*, ya que se observó el mismo comportamiento en abril de 1986 (fig. 11., pág. 32), al haber un aumento en las concentraciones circulantes hacia un máximo en el verano (agosto de 1986, datos no incluidos, $\bar{x} = 1010.12 \pm 105.15$ ng/ml).

Uno de los aspectos más notables de la endocrinología de la reproducción en *G. flavomarginatus*, particularmente en machos, son los altos niveles de testosterona circulante. La concentración máxima encontrada (1329.5 ng/ml, en 8 julio de 1985) correspondió a un macho cautivo (#64), y es más de tres veces el máximo de los niveles circulantes reportados para cualquier otro vertebrado. Para reptiles hay pocos reportes donde los niveles máximos de andrógenos (en particular testosterona) sean comparables a los del presente estudio. En la lagartija *Lacerta vivipara* (Courty y Dufaure 1979) el nivel máximo fue de 445 ng/ml y ocurrió durante el período de apareamiento. En este caso se propusieron 3 posibles explicaciones: i) la modificación de la permeabilidad de los vasos sanguíneos del testículo, con una mayor descarga de testosterona a la circulación, ii) la presencia de una proteína tipo transcortina de gran afinidad por la progesterona y la testosterona, la cual disminuye la tasa de desalojo de estos esteroides (Xavier 1982), y iii) una síntesis intratubular de andrógenos por las células de Sertoli (Courty y Dufaure 1979, 1980). Para *G. agassizii*, Lance *et al.* (1994) reportan concentraciones individuales de hasta 550 ng/ml en individuos semicautivos con un rango de variación de entre 243.60 ± 24.61 ng/ml en otoño a 18.37 ± 3.14 ng/ml en mayo (Rostal *et al.* 1994), pero no se plantean posibles explicaciones a estos niveles. Por otra parte, el nivel mínimo detectado para *G. flavomarginatus* (37.21 ng/ml) correspondió a un macho de vida libre (# 216), con 1 día de

cautiverio muestreado el 9 de noviembre de 1985, y aún dicho valor bien podría corresponder al valor máximo para otras especies de reptiles, como se aprecia en el cuadro 7.

Cuadro 7. NIVELES MÁXIMOS REPORTADOS PARA TESTOSTERONA EN LOS MACHOS DE OTRAS ESPECIES DE REPTILES.

ESPECIE	CONCENTRACION	CITA
<i>Uromastix hardwickii</i>	20 ng/ml	Arslan <i>et al.</i> 1978
<i>Chelonia mydas</i> (cautivos)	33 ng/ml	Licht <i>et al.</i> 1979
<i>Nerodia fasciata</i>	15 ng/ml	Weil y Aldridge 1981
<i>Testudo hermanni</i>	25 ng/ml	Kuchling <i>et al.</i> 1981
<i>Gopherus polyphemus</i>	89.9 ng/ml	Taylor 1982
<i>Sternotherus odoratus</i>	100 ng/ml	McPherson <i>et al.</i> 1982
<i>Chrysemys picta</i>	15 ng/ml	Licht <i>et al.</i> 1985

Durante los muestreos se obtuvieron tres lecturas que están muy por debajo del promedio general del grupo ($\bar{x}=585.14 \pm 48.09$ ng/ml, rango: de 37.21 a 1329.50 ng/ml). El hecho que dos de éstas pertenecieran a un organismo no cautivo (# 185) que sólo se muestreó en dos ocasiones (0.95 ng/ml el 17 de junio de 1985 y 1.12 ng/ml el 10 de julio de 1985) y no en otras fechas sugiere que el individuo en cuestión podría ser un animal sexualmente inmaduro, a pesar de tener una LC de 316 mm, que morfométricamente lo ubicaría como un adulto (Adest *et al.* 1989a). Esta idea es fortalecida por el hecho que el animal presentaba formación de nuevos anillos de crecimiento en las placas abdominales y de que evidenciaba un crecimiento reciente apreciable entre las suturas de las placas plastrales, características de individuos jóvenes (Aguirre, com. pers). El tercer valor fue de 4.0 ng/ml para el 4 de abril de 1985 y corresponde

a otro individuo no cautivo (# 94), muestreado en diferentes ocasiones y quien tuvo una variación de lecturas de 56.32 ng/ml a 865 ng/ml. Como tales valores difieren sustancialmente de los demás no se incluyeron en las pruebas estadísticas ya que como en el caso de la progesterona en hembras no cautivas, no fue posible determinar si correspondían a valores aberrantes o bien a errores en los análisis de laboratorio.

En varios grupos de vertebrados, incluyendo reptiles de zonas templadas, hay un desfase temporal en los eventos del ciclo reproductivo, que se conoce como tática reproductiva disociada o gametogénesis postnupcial (Crews 1984). Implica la producción de gametos sólo después que ha terminado la temporada reproductiva, y su almacenamiento consecutivo hasta la siguiente temporada reproductiva. El apareamiento en estas especies ocurre cuando las gónadas no están produciendo gametos y los niveles de hormonas esteroides sexuales son basales (Crews 1984). Algunos ejemplos de tortugas que muestran dicho patrón son: *Terrapene ornata ornata* (Legler 1960), *Chrysemys picta* (Gibbons 1968), *Kinosternon subrubrum* (Mahmoud y Klicka 1972), *K. flavescens* (Mahmoud y Klicka 1972), *K. f. flavescens* (Christiansen y Dunham 1972), *Sternotherus odoratus* (Mahmoud y Klicka 1972, McPherson y Marion 1981), *S. carinatus* (Mahmoud y Klicka 1972), *Chelydra serpentina serpentina* (White y Murphy 1973), *Trionyx spiniferus spiniferus* (Robinson y Murphy 1978), *G. polyphemus* (Taylor 1982), *Pseudemys nelsoni* (Jackson 1988), *P. floridana* (Jackson 1988), *Trachemys scripta* (Jackson 1988), *Deirochelys reticularia* (Jackson 1988). Por su parte Lofts (1987) dice que la mayoría de las especies de reptiles de zonas templadas tienen ciclos espermatogénicos discontinuos, y aún en bajas latitudes muchas especies muestran una marcada estacionalidad. Las

formas norteañas generalmente se reproducen en primavera, poco después de la emergencia de la hibernación, y aquí se encuentran tanto el patrón pre- como el postnupcial. Aunque el patrón postnupcial ocurre en muchas especies de tortugas (Lofts 1987), los machos de *G. flavomarginatus* emprenden conductas reproductivas desde el inicio de la primavera (Aguirre, com. pers.), cuando los niveles de testosterona son mínimos, pero la mayor actividad sexual ocurre en verano, y coincide con los valores máximos del andrógeno, que se presentaron al final de julio.

4.4.3. CORTICOSTERONA.

Es el principal corticosteroide de reptiles (Lance 1990), es de origen interrenal y se ha detectado como uno de los indicadores de situaciones de estrés en vertebrados (Greenberg y Wingfield 1987), aunque algunos autores declaran que es muy cuestionable que la simple medida de los niveles de corticosterona sea un reflejo adecuado del estrés (Lance 1990).

En las marchas de corticosterona tanto para hembras como para machos de *Gopherus flavomarginatus* (fig. 9, pág. 28, 56, fig. 10, pág. 30; fig. 12, pág. 33) se presentan cambios leves a través de todo el ciclo estudiado. Al igual que en *G. agassizii* (Lance *et al.* 1994), en *G. flavomarginatus* los niveles de corticosterona de machos son significativamente mayores que los de hembras, (machos vs. hembras no cautivas: $U=-2.89$, $P=0.004$; machos vs. hembras cautivas: $U=-3.69$, $P=2.21^{-4}$). En aves, Wingfield *et al.* (1982) determinaron que las cápsulas suprarrenales incrementaban la producción de corticosteroides como un mecanismo de defensa hacia las variaciones ambientales, al suspender bajo condiciones desfavorables actividades energéticamente costosas tales como la reproducción (Greenberg y Wingfield 1987). El aumento

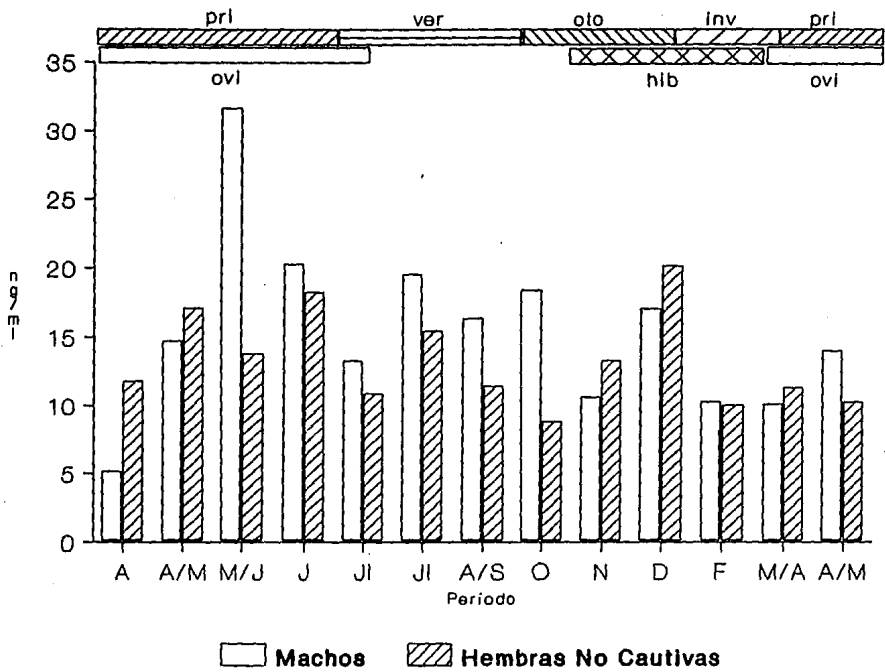


Fig. 13. COMPARACIÓN DE CORTICOSTERONA ENTRE MACHOS Y HEMBRAS NO CAUTIVAS.

en la producción de corticosteroides inhibe asimismo la producción de esteroides sexuales al desensibilizar la respuesta de las gónadas a las gonadotropinas de la pituitaria (Licht *et al.* 1983). En *G. flavomarginatus* esta relación inversa entre la producción de corticosteroides y la supresión de los esteroides sexuales no es evidente, tal vez porque como ya se mencionó el cautiverio en realidad no tiene ningún efecto en la síntesis de dichas hormonas, como ocurre en otras especies de reptiles (ver pág. 37).

4.4.3.1. Hembras.

Existen diferencias entre los valores promedio de los dos grupos, siendo mayor el de las hembras no cautivas que el de las cautivas (hembras no cautivas, $\bar{x}=12.89 \pm 0.64$ ng/ml; hembras cautivas, $\bar{x}=10.42 \pm 0.80$ ng/ml). Aunque estas diferencias no son estadísticamente significativas (cuadro 5, pág. 18), también hay diferencias en cuanto a su rango de variación (1.61 a 40.46 ng/ml en no cautivas contra 1.83 a 19.54 ng/ml en cautivas). Los pequeños tamaños de muestra del grupo cautivo posiblemente influyeron en las características de su marcha hormonal, lo que a su vez se reflejó en las diferencias cuantitativas ya mencionadas. Sin embargo, no debe descartarse la posibilidad de que factores externos influyan en la síntesis y liberación de corticosterona. Por ejemplo, la manipulación y transporte de los individuos del campo hacia el laboratorio puede haber resultado en una mayor estimulación de las glándulas interrenales, y en consecuencia, en la mayor producción de corticosteroides, dado que estos organismos no están acostumbrados a la presencia humana como ocurre con los cautivos. En hembras de *L. vivipara* Dauphin-Villemant y Xavier (1985) detectaron una gran producción de corticosterona durante la hibernación, la que se explicó por ser éste un período de alto costo energético. De igual forma, en hembras no cautivas de *G. flavomarginatus* el máximo se alcanza durante la etapa de hibernación (fig. 9, pág. 28, 56). En las hembras de *Uta stansburiana* (Wilson y Wingfield 1992) se ha demostrado que el incremento de los niveles de corticosterona está correlacionado positivamente con la condición reproductiva de las hembras, lo cual probablemente no sea sólo consecuencia de una condición corporal empobrecida como resultado del estrés reproductivo, sino que podría estar relacionado con los cambiantes requerimientos

metabólicos derivados de la producción de huevos (Wilson y Wingfield 1992). En *G. agassizii* las concentraciones de corticosterona son elevadas en mayo y bajas en julio (Lance et al. 1994). En hembras no cautivas de *G. flavomarginatus* hallamos concentraciones consistentemente altas entre los meses de abril y julio, (fig. 9, pág. 28, 56), mientras que en hembras cautivas los niveles máximos ocurrieron en la primavera (fig. 10, pág. 30), coincidiendo en los dos casos con la fase de oviposición. Asimismo, los niveles registrados en esta estación también pueden estar relacionados con condiciones ambientales desfavorables tales como la temporada seca del año.

4.4.3.2. Machos.

En animales sociales las concentraciones de corticosterona muestran incrementos significativos en individuos subordinados, y dicho incremento influye en el desempeño reproductivo al inhibir la producción de esperma. Este tipo de relación entre nivel social y estatus se ha estudiado con más detalle en *Anolis carolinensis* (Greenberg, N. et al. 1984), aunque también en *Alligator mississippiensis* se ha reportado (Elsey et al. 1990 a, b). En otras especies de reptiles este tipo de observaciones es prácticamente inexistente, y básicamente se ha relacionado con los efectos negativos del cautiverio y de los diferentes métodos de obtención de sangre. En *G. flavomarginatus* (fig. 12, pág. 33) es difícil hablar de una influencia de tipo social sobre la conducta reproductiva de machos, ya que no existe una estructura social bien definida (Aguirre et al. 1984), aunque debe mencionarse que en una de las colonias de nuestra área de estudio la mayoría de las cópulas observadas durante 1980 la realizaron sólo 3 de los 7 machos residentes (Adest et al. 1989a). A causa de los reducidos números de muestra, los análisis del

presente estudio no indican diferencias estadísticas aparentes entre los grupos no cautivo y cautivo ($t=-0.28$, 56 g.l., $P=0.78$) aunque sí existen diferencias cuantitativas entre los dos grupos respecto al promedio general (machos no cautivos: $\bar{x}=15.39 \pm 0.90$ ng/ml, machos cautivos: $\bar{x}=17.12 \pm 3.02$ ng/ml) y a su variación (machos no cautivos: de 4.59 a 33.52 ng/ml, machos cautivos: de 5.14 a 47.50 ng/ml). La marcha de la corticosterona para todos los machos (fig. 12, pág. 33) nos señala un pico casi al final de la primavera (fines de mayo-inicios de junio), que podría estar relacionado con el momento en que la actividad reproductiva comienza a aumentar, y por consiguiente las interacciones sociales, pero también con situaciones ambientales desfavorables tales como la época seca.

4.5. EL CICLO REPRODUCTIVO DE *GOPHERUS FLAVOMARGINATUS*.

A continuación se hace la descripción del ciclo reproductivo de *G. flavomarginatus*, relacionando los eventos del ciclo con la marcha de las hormonas. Para las hembras sólo se considera a las no cautivas.

4.5.1. HEMBRAS.

4.5.1.1. Niveles hormonales. (fig. 14, pág. 58)

En *G. agassizii* la vitelogénesis y el crecimiento folicular ovárico se observan al final del verano y el otoño (julio-octubre), después del término de la anidación (mayo-julio). Antes de la hibernación los folículos ováricos han madurado hasta un tamaño ovulatorio. (Rostal et al. 1994). En *G. polyphemus* hay regresión ovárica en el verano, después de la anidación (Iverson 1980). La vitelogénesis se reinicia en septiembre y está casi completa en noviembre (Iverson

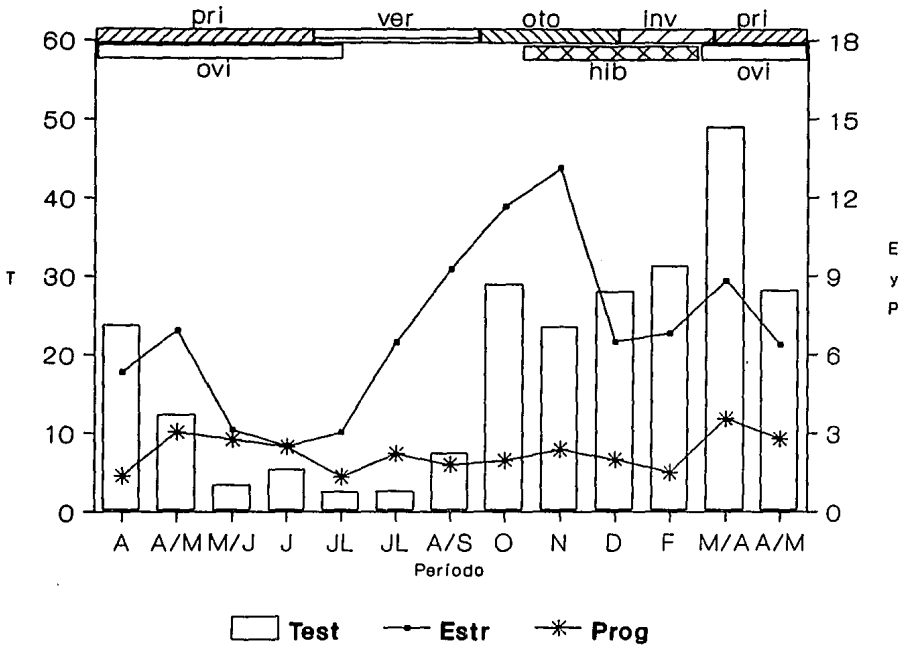


Fig. 14. ESTEROIDES SEXUALES DE HEMBRAS NO CAUTIVAS.

1980, Landers et al. 1980, Taylor 1982). Los folículos continúan creciendo hasta la ovulación, la mayor parte de la cual ocurre entre inicios de abril y principios de mayo (Iverson 1980, Landers et al. 1980, Taylor 1982). La recrudescencia ovárica comienza al inicio del otoño. Los niveles de estrógenos y progesterona en el plasma de hembras muestran picos asociados con la ovulación y la vitelogénesis (Taylor 1982). La hipertrofia oviducal en *G. polyphemus* está indicada por el incremento en la masa del oviducto y se correlaciona con el aumento de estrógenos que ocurre en la vitelogénesis. El estradiol y la progesterona actúan como agentes estimulantes que promueven el crecimiento del tejido oviducal (Palmer y Guillette 1990). En *G.*

flavomarginatus (fig. 14), el máximo de testosterona en primavera antecede al del estradiol, sugiriendo su función como sustrato para éste y al mismo tiempo su papel como promotor de la receptividad sexual, mientras que el que presenta al final del verano y principios del otoño también podría interpretarse como precursor del estradiol en la época en que la actividad vitelogénica comienza a incrementar. Por su parte, la marcha del estradiol está bien definida dentro de los procesos de desarrollo ovárico. En primavera incrementa como resultado de la maduración folicular final que antecede a la anidación, reduce sus niveles en el verano, cuando la actividad reproductiva va en aumento, y los vuelve a incrementar en el otoño, antes de la hibernación, permitiendo suponer el inicio de la actividad vitelogénica. Aunque en otras especies se desconoce a ciencia cierta si la maduración folicular continúa a través del invierno (Taylor 1982, Lance *et al.* 1994) y en nuestro caso no se realizaron observaciones al respecto, es cierto que al emerger de la hibernación el crecimiento ovárico se recrudece hasta el momento de la oviposición. Las marchas del estradiol y la progesterona están correlacionadas, ya que ambas se incrementan paralelamente entre abril y mayo. Esto nos sugiere que ambos esteroides sexuales actúan conjuntamente al inicio de la etapa reproductiva, preparando al oviducto para los cambios que experimentará en el transcurso de la misma e influyendo en la receptividad sexual de las hembras. Posteriormente, cada hormona sigue su marcha, y así tenemos que mientras la progesterona continúa aumentando como respuesta al funcionamiento de los cuerpos lúteos formados después de la ovulación, el estradiol disminuye sus niveles por la misma causa. Al perder funcionalidad tales cuerpos lúteos, que como en todas las especies ovíparas de reptiles son transitorios, los niveles de progesterona disminuyen y al mismo tiempo aumentan los de

estradiol para iniciar una nueva fase vitelogénica en el otoño.

4.5.1.2. Puestas por año.

Hasta un 56% de las hembras adultas en las poblaciones naturales de *G. flavomarginatus* no oviposita en un año determinado (Adest et al. 1989a), aunque la mayoría de las hembras que lo hacen producen más de una puesta por año (Aguirre et al. 1987). El lapso máximo observado entre puestas durante el presente estudio fue de 61 días para hembras de vida libre, lo que sugiere la ocurrencia de al menos dos puestas por temporada reproductiva para algunos individuos. En *G. polyphemus* los huevos pueden permanecer en los oviductos durante un mes o más (Iverson 1980). En *G. berlandieri*, una especie cercana a la tortuga de Mapimí, hay una retención de huevos con cascarón en oviducto de hasta 39 días y en consecuencia sólo se produce una nidada por temporada reproductiva de acuerdo con Judd y Rose (1989), mientras que en *G. agassizii* se han reportado hasta 3 puestas por temporada, con un lapso entre puestas de 19 días (Turner et al. 1986). En la parte norte de California, Rostal et al. (1994) detectaron dos nidadas en individuos semicautivos de *G. agassizii*, la primera de la cuales fue mayor que la segunda. El tiempo entre ovulación y anidación entre nidadas fue de aproximadamente 30 días (Rostal et al. 1994). En algunas especies de tortugas en cautiverio de la familia Emydidae hay una retención de huevos con cascarón en el oviducto de entre 30 y 60 días, mientras que en condiciones naturales se ha observado un período máximo de retención de 2 semanas (Jackson 1988). De igual manera, las diferencias entre número y frecuencia de puestas por temporada reproductiva encontradas en hembras de *G. flavomarginatus* pueden deberse al hecho de que en condiciones de cautiverio hay alimento disponible todo el año, mientras que las condiciones

naturales pueden no ser todo lo favorables para que los individuos destinen energía de manera constante hacia eventos reproductivos. Otro argumento a favor de esta idea es que en los períodos de muestreo se observaron varios organismos no cautivos con dos puestas, particularmente durante 1986, siendo el año previo abundante en lluvias, y teniendo en consecuencia mayor productividad primaria. En *G. agassizii* de California la frecuencia de anidación fue mayor en un año con precipitación abundante que en uno con sequía (Turner et al. 1984).

4.5.1.3. Almacenamiento de esperma.

Al igual que en otros grupos de reptiles, en tortugas (particularmente en especies de zonas templadas), existe un desfase temporal en los ciclos reproductivos de los dos sexos. Por ejemplo, en *G. flavomarginatus* el período de oviposición ocurre entre marzo y julio, coincidiendo con el período de apareamiento (Aguirre et al. 1987), y antes que dé inicio la temporada de lluvias y se haya almacenado energía suficiente para destinarla a la reproducción, por lo que es de suponer que la fertilización de los óvulos para las nidadas del año en curso se hace utilizando el esperma producido en la estación reproductiva previa. Aunque la opinión más generalizada es que el almacenamiento de esperma ocurre en el epidídimo de los machos para luego transferirlo al tracto femenino con los apareamientos de la siguiente estación (Moll 1979, Licht 1982), la presencia de evidencias tales como conductas de cortejo y apareamiento en otoño (Gibbons 1968, McPherson et al. 1982), esperma recuperado de oviductos en el otoño (Mahmoud y Klicka 1972) y estructuras especializadas del tracto femenino conteniendo esperma viable (Hattan y Gist 1975), dan la pauta para asegurar que también en hembras el

almacenamiento temporal del esperma es una adaptación reproductiva importante (Porter 1972, Bellairs y Attridge 1975, Carr 1978, Goin et al. 1978, Moll 1979, Devine 1984, Gist y Jones 1989). Reportes previos de este fenómeno existían sólo para *Terrapene ornata ornata* (Legler 1960), *Malaclemys terrapin* (Barney 1922, citado en Moll 1979), *Terrapene carolina* (Hattan y Gist 1975), *Sternotherus odoratus* (Mahmoud y Klicka 1972, McPherson y Marion 1981), *Chelydra serpentina* (Smith 1956, citado en Moll 1979), *Testudo graeca* (Clark 1963, citado en Devine 1984), pero Gist y Jones (1989) describen estructuras para el almacenamiento de esperma en el tracto de las hembras de 11 especies pertenecientes a 6 de las 7 familias de tortugas que habitan Norteamérica. Entre éstas se menciona a *Gopherus berlandieri* y *G. polyphemus*. En *G. agassizii* se reporta almacenamiento de esperma en hembras (Rostal et al. 1994) y es probable que también las hembras *G. flavomarginatus* las posean.

4.5.2. MACHOS.

4.5.2.1. Ciclos de testosterona.

En *G. polyphemus* los niveles de testosterona son máximos antes de la época de apareamiento, declinando mientras transcurre ésta, en la primavera. El pico observado en otoño coincide con el período en que la espermatogénesis es más activa (Taylor 1982). El ciclo espermatogénico de *G. agassizii* inicia al final de primavera, conforme aumenta la temperatura ambiente, continúa durante el verano, cuando la actividad de apareamiento está en su apogeo y culmina con la espermiación al final del otoño, cuando hay movimiento de esperma al epidídimo antes de hibernación (Rostal et al. 1994). A la emergencia de primavera cuando hay intensa actividad reproductiva, el epidídimo de los machos de *G. agassizii* está rebosando de esperma

mientras que los túbulos seminíferos están totalmente regresados (Lance *et al.* 1994). En *G. flavomarginatus* la marcada estacionalidad en los niveles de testosterona es coincidente con la de *G. polyphemus* y *G. agassizii*, así que se puede suponer que el ciclo espermatogénico tiene una marcha similar, ocurriendo el máximo en el verano, cuando las concentraciones de andrógenos son elevadas y cuando la intensidad de las cópulas es mayor.

4.5.2.2. Conductas reproductivas.

En *T. hermanni* no hay apareamiento en el verano, aunque la concentración de testosterona sea máxima (Kuchling *et al.* 1981), y en *G. polyphemus* sólo ocurre cortejo durante la primavera pudiendo los niveles de testosterona en el otoño no ser lo suficientemente elevados para la producción de conductas reproductivas (Taylor 1982), aunque las repetidas observaciones de cortejo en animales cautivos aún en noviembre (Douglass 1976) permite suponer una correlación positiva entre la conducta reproductiva y los elevados niveles circulantes de testosterona tanto en primavera como en otoño (Taylor 1982). Bajo condiciones constantes de alimento y presencia de hembras, los machos de *G. flavomarginatus* muestran conductas reproductivas (cortejo, monta y cópula) prácticamente durante todo el año, incluyendo los meses de otoño, (Morafka *et al.* 1981), las cuales probablemente están influenciadas por los altos niveles circulantes de testosterona, especialmente durante el verano y parte del otoño. En vista de que no se detectaron diferencias significativas entre las concentraciones de testosterona para machos no cautivos y cautivos ($r=-0.59$, 59 g.l., $P=0.56$), es posible que la estacionalidad reproductiva que se observa en las poblaciones de vida libre no se deba a una disminución de la actividad sexual, sino que sea consecuencia de los períodos de mayor actividad superficial,

específicamente durante la época de lluvias (verano), cuando las probabilidades de encuentros intersexuales aumentan, dada la mayor cantidad de hembras observada en el área de estudio. Según Adest *et al.* (1989a), la proporción de machos a hembras fue de 0.47 en 1980 y de 0.45 en 1985. Otras observaciones sobre apareamiento en otoño para poblaciones naturales de tortugas se han realizado en *T. o. ornata* (Legler 1960), *C. picta* (Gibbons 1968, Gist *et al.* 1990), *K. subrubrum* (Mahmoud y Klicka 1972), *K. flavescens* (Mahmoud y Klicka 1972), *S. odoratus* (Mahmoud y Klicka 1972, McPherson y Marion 1981), *S. carinatus* (Mahmoud y Klicka 1972), *G. agassizi* (Tomko 1972). La observación de que hembras de *G. agassizii* poseían huevos oviduciales con cascarón en abril apoya la conclusión que en esta especie el apareamiento de otoño puede funcionar como alternativa al de primavera en la parte norte de su rango (Rostal *et al.* 1994). Sin embargo, aunque en *G. agassizii* Lance *et al.* (1994) presenciaron apareamiento en otoño, no encontraron evidencia que ocurra inseminación. Aunque en *G. flavomarginatus* también se han hecho observaciones de cópula en los meses de otoño, tampoco hay datos sobre inseminación (Adest y Aguirre, com. pers.).

5. CONCLUSIONES

- 1.- Las marchas hormonales de *G. flavomarginatus* coinciden con las de otras especies de tortugas de zonas templadas.
- 2.- En los machos la mayor producción de testosterona (y presumiblemente de esperma) ocurre en julio, aproximadamente 5 meses después que ha iniciado la actividad sexual, pero antes que la reproducción adquiera su mayor intensidad, en agosto y septiembre.
- 3.- Una característica de la especie son los altos niveles de esteroides sexuales, especialmente testosterona, tanto en machos como en hembras. Las causas y consecuencias de los mismos no pueden ser evaluados al momento, aunque podrían explicar la casi constante actividad sexual observada bajo condiciones de cautiverio.
- 4.- Los ciclos hormonales de las hembras coinciden con las actividades superficiales de éstas: los niveles de testosterona y estradiol son altos durante la primavera, cuando la maduración folicular está en proceso, y en el otoño cuando la recrudescencia ovárica se inicia preparando la(s) nidada(s) de la siguiente etapa reproductiva, mientras que la progesterona sólo alcanza valores máximos antes que inicie la etapa de oviposición.
- 5.- Debido a que la oviposición ocurre desde el inicio de la primavera, y dado que la cúspide de la actividad reproductiva observada en machos es en agosto y septiembre, es de suponer que la transferencia del esperma utilizado en la fecundación de las nidadas del año en curso ocurra en la estación reproductiva del año previo y que éste sea almacenado en el tracto reproductivo femenino durante el invierno. En otras especies de *Gopherus*

se han descrito modificaciones en la parte inferior del oviducto que cumplen con esta función, por lo que es probable que también existan en *G. flavomarginatus*.

- 6.- Las concentraciones circulantes máximas de corticosterona tanto para hembras como para machos se observan tanto cuando las condiciones ambientales son desfavorables, particularmente en la época seca ó bien durante períodos de alto costo energético, por ejemplo en la etapa reproductiva (cortejo y territorios para machos y ovulación y oviposición para hembras) y en la hibernación.
- 7.- No hay una influencia aparente del cautiverio sobre la actividad reproductiva, a diferencia de lo que se reporta para la mayoría de las especies de vertebrados estudiadas hasta la fecha.

6. LITERATURA CITADA

- ABTS, M. L. 1988. Reproduction in the saxicolous Desert lizard, *Sauromalus obesus*: The male reproductive cycle. *Herpetologica* 44:404-415.
- ADEST, G., G. AGUIRRE, M. RECHT y D. MORAFKA. 1981. Thermal ecology of the Bolson tortoise. *Procs. 61 Annual Meeting of A.S.I.H.* Oregon:33.
- ADEST, G. A., G. AGUIRRE L., D. J. MORAFKA y J. V. JARCHOW. 1989a. Bolson tortoise (*Gopherus flavomarginatus*) conservation: I. Life history. *Vida Silv. Neotrop.* 2:7-13.
- ADEST, G. A., G. AGUIRRE L., D. J. MORAFKA y J. V. JARCHOW. 1989b. Bolson tortoise (*Gopherus flavomarginatus*) conservation: II. Husbandry and reintroduction. *Vida Silv. Neotrop.* 2:14-20.
- ADEST, G. A., J. JARCHOW y B. BRYDOLF. 1988. A method for manual ventilation of tranquilized tortoises. *Herp. Review* 19:80.
- AGUIRRE, G., G. A. ADEST y D. J. MORAFKA. 1984. Home range and movement patterns of the Bolson tortoise, *Gopherus flavomarginatus*. *Acta Zool. Mex., n.s.* 1:1-28.
- AGUIRRE, G., G. ADEST, D. MORAFKA y R. GONZALEZ. 1987. Características reproductivas de la tortuga de Mapimí. *1987 Joint Annual Meeting of S.S.A.R., H.L. y C.H.N.* Veracruz:47.
- ARSLAN, M., J. LOBO, A. A. ZAIDI, S. JALALI y M. H. QAZI. 1978. Annual androgen rhythm in the Spiny-tailed lizard, *Uromastix hardwicki*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 36:16-22.
- BELLAIRS, A. d'A. y J. ATTRIDGE. 1975. **Reptiles.** (4a. ed.) Hutchinson University Library, Londres.
- BONA-GALLO, A. y P. LICHT. 1983. Effects of temperature on sexual receptivity and ovarian recrudescence in the Garter snake, *Thamnophis sirtalis parietalis*. *Herpetologica* 39:173-182.
- BONA-GALLO, A., P. LICHT, D. S. MacKENZIE y B. LOFTS. 1980. Annual cycles in

- levels of pituitary and plasma gonadotropin, gonadal steroids, and thyroid activity in the Chinese Cobra (*Naja naja*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 42:477-493.
- BRADSHAW, S. D. 1986. *Ecophysiology of desert reptiles*. Academic Press, Australia:45, 153-191.
- BRAMBLE, D. M. 1982. *Scaptochelys*: Generic revision and evolution of gopher tortoises. *Copeia* 1982:852-867.
- BROWER, J. E. y J. H. ZAR. 1977. *Field and laboratory methods for general ecology*. Wm. C. Brown Co. Publ., Dubuque, Iowa:1-19.
- CALLARD, I. P., G. V. CALLARD, V. LANCE y S. ECCLES. 1976a. Seasonal changes in testicular structure and function and the effects of gonadotropins in the freshwater turtle, *Chrysemys picta*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 30:347-356.
- CALLARD, I. P., V. LANCE, A. R. SALHANICK y D. BARAD. 1978. The annual ovarian cycle of *Chrysemys picta*: Correlated changes in plasma steroids and parameters of vitellogenesis. *Gen. Comp. Endocrinol.* 35:245-257.
- CALLARD, I. P., I. MCCHESENEY, C. SCANES y G. V. CALLARD. 1976b. The influence of mammalian and avian gonadotropins on *in vitro* ovarian steroid synthesis in the turtle (*Chrysemys picta*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 28:2-9.
- CAMAZINE, B., W. GARSTKA, R. TOKARZ y D. CREWS. 1980. Effects of castration and androgen replacement on male courtship behavior in the Red-sided garter snake (*Thamnophis sirtalis parietalis*). *Horm. Behav.* 14:358-372.
- CARR, A. 1978. *Handbook of Turtles*. (8va. impr.) Cornell University Press, Itaca.
- COOPER, W. E., JR. y D. CREWS. 1988. Sexual coloration, plasma concentrations of sex steroid hormones, and responses to courtship in the female Keeled earless lizard (*Holbrookia propinqua*). *Horm. Behav.* 22:12-25.
- COOPER, W. E., JR. y G. W. FERGUSON. 1973. Estrogenic priming of color change induced by progesterone in the Collared lizard, *Crotaphytus collaris*. *Herpetologica* 29:107-110.
- COURTY, Y. y J. P. DUFAURE. 1979. Levels of testosterone in the plasma and testis of the viviparous lizard (*Lacerta vivipara* Jacquin) during the annual cycle. *Gen. Comp.*

- Endocrinol.* 39:336-342.
- COURTY, Y. y J. P. DUFAURE. 1980. Levels of testosterone, dihydrotestosterone and androstenedione in the plasma and testis of a lizard (*Lacerta vivipara* Jacquin) during the annual cycle. *Gen. Comp. Endocrinol.* 42:325-333.
- CREE, A., J. F. COCKREM, M. A. BROWN, P. R. WATSON, L. J. GUILLETTE, JR., D. G. NEWMAN y G. K. CHAMBERS. 1991a. Laparoscopy, radiography, and blood analyses as techniques for identifying the reproductive condition of female Tuatara. *Herpetologica* 47:238-249.
- CREE, A., L. J. GUILLETTE, JR., J. F. COCKREM, M. A. BROWN y G. K. CHAMBERS. 1990a. Absence of daily cycles in plasma sex steroids in male and female Tuatara (*Sphenodon punctatus*), and the effects of acute capture stress on females. *Gen. Comp. Endocrinol.* 79:103-113.
- CREE, A., L. J. GUILLETTE, JR. y J. F. COCKREM. 1991b. Identification of female Tuatara in ovulatory condition using plasma sex steroid concentrations. *New Zealand J. Zool.* 18:421-426.
- CREE, A., L. J. GUILLETTE, JR., J. F. COCKREM y J. M. JOSS. 1990b. Effects of capture and temperature stresses on plasma steroids concentrations in male Tuatara (*Sphenodon punctatus*). *J. Exp. Zool.* 253:38-46.
- CREWS, D. 1975. Psychobiology of reptilian reproduction. *Science* 189:1059-1065.
- CREWS, D. 1977. The annotated Anole: Studies on the control of lizard reproduction. *Amer. Scient.* 65:428-434.
- CREWS, D. 1983. Alternative reproductive tactics in reptiles. *Bioscience* 33:562-566.
- CREWS, D. 1984. Gamete production, sex hormone secretion, and mating behavior uncoupled. *Horm. Behav.* 18:22-28.
- CREWS, D. y R. SILVER. 1985. Reproductive physiology and behavior interactions in nonmammalian vertebrates. In: ADLER, N., D. PFAFF y R. W. GOY (Eds.), **Handbook of behavioral neurobiology**. Plenum Publish. Corp., Nueva York, Vol. 7:101-182.

- CUELLAR, H. S., J. J. ROTH, J. D. FAWCETT y R. E. JONES. 1972. Evidence for sperm sustenance by secretions of the renal sexual segment of male lizards, *Anolis carolinensis*. *Herpetologica* 28:53-57.
- CHIEFFI, G. y R. PIERANTONI. 1987. Regulation of ovarian steroidogenesis. In: NORRIS, D. O. y R. E. JONES (Eds.), **Hormones and reproduction in fishes, amphibians, and reptiles**. Plenum Press, Nueva York:117-144.
- CHRISTIANSEN, J. L. y A. E. DUNHAM. 1972. Reproduction of the Yellow mud turtle (*Kinosternon flavescens flavescens*) in New Mexico. *Herpetologica* 28:130-137.
- DAUPHIN-VILLEMANT, C., F. LEBOULENGER, F. XAVIER y H. VAUDRY. 1990. Adrenal activity in the female lizard *Lacerta vivipara* Jacquin associated with breeding activities. *Gen. Comp. Endocrinol.* 78:399-413.
- DAUPHIN-VILLEMANT, C. y F. XAVIER. 1985. In vitro steroid biosynthesis by the adrenal gland of the female *Lacerta vivipara* Jacquin: The metabolism of exogenous precursors. *Gen. Comp. Endocrinol.* 58:1-9.
- DEVINE, M. C. 1984. Potential for sperm competition in reptiles: Behavioral and physiological consequences. In: SMITH, R. L. (Ed.), **Sperm competition and the evolution of animal mating systems**. Academic Press, Orlando:509-521.
- DOUGLASS, J. F. 1976. **The mating system of the Gopher tortoise, *Gopherus polyphemus*, in southern Florida**. Thesis M. A., Department of Biology, University of South Florida.
- ELSEY, R. M., T. JOANEN, L. McNEASE y V. LANCE. 1990a. Growth rate and plasma corticosterone levels in juvenile Alligators maintained at different stocking densities. *J. Exp. Zool.* 255:30-36.
- ELSEY, R. M., T. JOANEN, L. McNEASE y V. LANCE. 1990b. Stress and plasma corticosterone levels in the American Alligator: Relationships with stocking density and nesting success. *Comp. Biochem. Physiol.* 95A:55-63.
- ELSEY, R. M., V. LANCE, T. JOANEN y L. McNEASE. 1991. Acute stress suppresses plasma estradiol levels in female Alligators (*Alligator mississippiensis*). *Comp. Biochem.*

- Physiol.* 100A:649-651.
- FONTAINE, Y.-A. 1984. Las hormonas y la evolución. *Mundo Científico* 36:540-552.
- FRYE, F. L. 1981. **Biomedical and surgical aspects of captive reptile husbandry.** Veterinary Medicine Publ. Co., Kansas:61-111.
- GANZHORN, D. y P. LICHT. 1983. Regulation of seasonal gonadal cycles by temperature in the Painted turtle, *Chrysemys picta*. *Copeia* 1983:347-358.
- GARSTKA, W. R. y D. CREWS. 1981. Female sex pheromones in the skin and circulation of a Garter snake. *Science* 214:681-683.
- GARSTKA, W. R., B. CAMAZINE y D. CREWS. 1982. Interactions of behavior and physiology during the annual reproductive cycle of the Red-sided garter snake (*Thamnophis sirtalis parietalis*). *Herpetologica* 38:104-123.
- GIBBONS, J. W. 1968. Reproductive potential, activity and cycles in the Painted turtle, *Chrysemys picta*. *Ecology* 49:399-409.
- GIST, D. H. y J. M. JONES. 1989. Sperm storage within the oviduct of turtles. *J. Morphol.* 199:379-384.
- GIST, D. H., J. A. MICHALESON y J. M. JONES. 1990. Autumn mating in the Painted turtle, *Chrysemys picta*. *Herpetologica* 46:331-336.
- GOIN, C. J., O. B. GOIN y G. R. ZUG. 1978. **Introduction to herpetology.** (3a. ed.) W. H. Freeman & Co., San Francisco.
- GREENBERG, D. S., J. RAINEY y D. H. GIST. 1984. Fatty acid composition of lizard tissue lipids and the effects of estradiol on serum free fatty acids. *Comp. Biochem. Physiol.* 78B:151-155.
- GREENBERG, N., T. CHEN y D. CREWS. 1984. Social status, gonadal state, and the adrenal stress response in the lizard, *Anolis carolinensis*. *Horm. Behav.* 18:1-11.
- GREENBERG, N. y J. C. WINGFIELD. 1987. Stress and reproduction: Reciprocal relationships. In: NORRIS, D. O. y R. E. JONES (Eds.), **Hormones and reproduction in fishes, amphibians, and reptiles.** Plenum Press, Nueva York:461-503.
- GUILLETTE, L. J., JR. 1987. The evolution of viviparity in fishes, amphibians, and reptiles:

- An endocrine approach. In: NORRIS, D. O. y R. E. JONES (Eds.), **Hormones and reproduction in fishes, amphibians, and reptiles**. Plenum Press, Nueva York:523-562.
- GUILLETTE, L. J., JR. y G. CASAS-ANDREU. 1987. The reproductive biology of the high elevation Mexican lizard *Barisia imbricata*. *Herpetologica* 43:29-38.
- GUILLETTE, L. J., JR., A. CREE y T. S. GROSS. 1990. Endocrinology of oviposition in the Tuatara (*Sphenodon punctatus*): I. Plasma steroids and prostaglandins during natural nesting. *Biol. Reprod.* 43:285-289.
- GUILLETTE, L. J., JR. y R. E. JONES. 1980. Arginine vasotocin-induced in vitro oviductal contractions in *Anolis carolinensis*: Effect of steroid hormone pretreatment in vivo. *J. Exp. Zool.* 212:147-152.
- GUILLETTE, L. J., JR. y R. E. JONES. 1982. Further observations on arginine vasotocin-induced oviposition and parturition in lizards. *J. Herpetol.* 16:140-144.
- GUILLETTE, L. J., JR. y W. P. SULLIVAN. 1985. The reproductive and fat body cycles of the lizard, *Sceloporus formosus*. *J. Herpetol.* 19:474-480.
- HALFFTER, G., P. REYES-CASTILLO, M. E. MAURY, S. GALLINA y E. EZCURRA. 1980. La conservación del germoplasma: Soluciones en México. *Folia Entom. Mex.* 46:29-64.
- HATTAN, R. L. y D. H. GIST. 1975. Seasonal receptacles in the eastern Box turtle, *Terrapene carolina*. *Copeia* 1975:505-510.
- HO, S.-M. 1987. Endocrinology of vitellogenesis. In: NORRIS, D. O. y R. E. JONES (Eds.), **Hormones and reproduction in fishes, amphibians, and reptiles**. Plenum Press, Nueva York:145-169.
- IVERSON, J. B. 1980. The reproductive biology of *Gopherus polyphemus* (Chelonia: Testudinidae). *Amer. Midl. Nat.* 103:353-359.
- JACKSON, D. R. 1988. Reproductive strategies of sympatric freshwater emydid turtles in northern peninsular Florida. *Bull. Florida State Mus., Biol. Sci.* 33:113-158.
- JONES, R. E., L. J. GUILLETTE, JR., C. H. SUMMERS, R. R. TOKARZ y D. CREWS. 1983. The relationship among ovarian condition, steroid hormones, and estrous behavior

- in *Anolis carolinensis*. *J. Exp. Zool.* 227:145-154.
- JUDD, F. W. y F. L. ROSE. 1989. Egg pproduction by the Texas tortoise, *Gopherus berlandieri*, in southern Texas. *Copeia* 1989:588-596.
- KLICKA, J. e I. Y. MAHMOUD. 1972. Conversion of pregnenolone-4¹⁴C to progesterone-4¹⁴C by turtle corpus luteum. *Gen. Comp. Endocrinol.* 19:367-369.
- KLICKA, J. e I. Y. MAHMOUD. 1977. The effects of hormones on reproductive physiology of the Painted turtle, *Chrysemys picta*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 31:407-413.
- KROHMER, R. W. y D. CREWS. 1989. Control of length of the courtship in the Red-sided garter snake, *Thamnophis sirtalis parietalis*: The role of temperature. *Can. J. Zool.* 67:987-993.
- KUCHLING, G., R. SKOLEK-WINNISCK y E. BAMBERG. 1981. Histochemical and biochemical investigation on the annual cycle of testis, epidididymis, and plasma testosterone of the tortoise, *Testudo hermanni* Gmelin. *Gen. Comp. Endocrinol.* 44:194-201.
- LANCE, V. A. 1984. Endocrinology of reproduction in male reptiles. *Symp. Zool. Soc. Lond.* 52:357-383.
- LANCE, V. A. 1987. Hormonal control of reproduction in crocodilians. In: WEBB, G. J., S. C. MANOLIS y P. J. WHITEHEAD (Eds.), **Wildlife management: Crocodiles and Alligators**. Surrey Beatty & Sons, Chipping Norton, NSW, Australia:409-415.
- LANCE, V. A. 1989. Reproductive cycle of the American Alligator. *Amer. Zool.* 29:999-1018.
- LANCE, V. A. 1990. Stress in reptiles. In: EPPLE, A., C. G. SCANES y M. H. STETSON (Eds.), **Progress in comparative endocrinology**. Wiley-Liss, Inc., Nueva York:461-466.
- LANCE, V. A. y R. M. ELSEY. 1986. Stress-induced suppression of testosterone secretion in male Alligators. *J. Exp. Zool.* 239:241-246.
- LANCE, V. A., D. C. ROSTAL, J. S. GRUMBLES y L. MORICI. 1994. Endocrine profiles of the reproductive cycle of male and female Desert tortoises. Resúmenes de la **North American Tortoise Conference**, organizada por G. Aguirre, E. D. McCoy y H. R. Mushinsky, Laboratorio del Desierto, Reserva de la Biosfera de Mapimí, Dgo.:54-59.

- LANDERS, J. L., J. A. GARNER y W. A. McRAE. 1980. Reproduction of Gopher tortoises (*Gopherus polyphemus*) in southwestern Georgia. *Herpetologica* 36:353-361.
- LEGLER, J. M. 1959. A new tortoise, genus *Gopherus*, from north-central Mexico. *Univ. Kansas Publ. Mus. Nat. Hist.* 11:335-343.
- LEGLER, J. M. 1960. Natural history of the Ornate box turtle, *Terrapene ornata ornata* Agassiz. *Univ. Kansas Publ. Mus. Nat. Hist.* 11:527-669.
- LEGLER, J. M. y R. G. WEBB. 1961. Remarks on a collection of Bolson tortoises, *Gopherus flavomarginatus*. *Herpetologica* 17:26-37.
- LEWIS, J., I. Y. MAHMOUD y J. KLICKA. 1979. Seasonal fluctuations in the plasma concentrations of progesterone and oestradiol-17 β in the female Snapping turtle (*Chelydra serpentina*). *J. Endocr.* 80:127-131.
- LICHT, P. 1967. Environmental control of annual testicular cycles in the lizard *Anolis carolinensis*. I. Interaction of light and temperature in the initiation of testicular recrudescence. *J. Exp. Zool.* 165:505-516.
- LICHT, P. 1979. Reproductive endocrinology of reptiles and amphibians: Gonadotropins. *Ann. Rev. Physiol.* 41:337-351.
- LICHT, P. 1982. Endocrine patterns in the reproductive cycle of turtles. *Herpetologica* 38:51-61.
- LICHT, P., G. L. BREITENBACH y J. D. CONGDON. 1985. Seasonal cycles in testicular activity, gonadotropin, and thyroxine in the Painted turtle, *Chrysemys picta*, under natural conditions. *Gen. Comp. Endocrinol.* 59:130-139.
- LICHT, P., B. R. McCREERY, R. BARNES y R. PANG. 1983. Seasonal and stress related changes in plasma gonadotropins, sex steroids, and corticosterone in the Bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 50:124-145.
- LICHT, P., W. RAINEY y K. CLIFFTON. 1980. Serum gonadotropin and steroids associated with breeding activities in the Green sea turtle, *Chelonia mydas*. II. Mating and nesting in natural populations. *Gen. Comp. Endocrinol.* 40:116-122.
- LICHT, P., J. WOOD, D. W. OWENS y F. WOOD. 1979. Serum gonadotropins and steroids

- associated with breeding activities in the Green sea turtle *Chelonia mydas*. I. Captive animals. *Gen. Comp. Endocrinol.* 39:274-289.
- LOFTS, B. 1987. Testicular function. In: NORRIS, D. O. y R. E. JONES (Eds.), **Hormones and reproduction in fishes, amphibians, and reptiles**. Plenum Press, Nueva York:283-325.
- LUDWIG, J. A. y W. G. WHITFORD. 1981. Short-term water and energy flow in arid ecosystems. In: GOODALL y PERRY (Eds.), **Arid land ecosystems: Structure, functioning, and management**. Vol. 2. International Biological Programme 17. Cambridge University Press, Gran Bretaña:271-299.
- MAHMOUD, I. Y., R. V. CYRUS y D. L. WRIGHT. 1987. The effect of arginine vasotocin and ovarian steroids on uterine contractility in the Snapping turtle, *Chelydra serpentina*. *Comp. Biochem. Physiol.* 86A:559-564.
- MAHMOUD, I. Y., L. J. GUILLETTE, JR., M. E. McASEY y C. CADY. 1989. Stress-induced changes in serum testosterone, estradiol-17 β and progesterone in the turtle, *Chelydra serpentina*. *Comp. Biochem. Physiol.* 93A:423-427.
- MAHMOUD, I. Y. y J. KLICKA. 1972. Seasonal gonadal changes in kinosternid turtles. *J. Herpetol.* 6:183-189.
- MARION, K. R. 1982. Reproductive cues for gonadal development in temperate reptiles: Temperature and photoperiod effects on the testicular cycle of the lizard *Sceloporus undulatus*. *Herpetologica* 38:26-39.
- MASON, P. y E. K. ADKINS. 1976. Hormones and social behavior in the lizard, *Anolis carolinensis*. *Horm. Behav.* 7:75-86.
- McNICOL, D., JR. y D. CREWS. 1979. Estrogen/progesterone synergy in the control of female sexual receptivity in the lizard, *Anolis carolinensis*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 38:68-74.
- McPHERSON, R. J., L. R. BOOTS, R. MacGREGOR III y K. R. MARION. 1982. Plasma steroids associated with seasonal reproductive changes in a multiclutched freshwater turtle, *Sternotherus odoratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 48:440-451.

- McPHERSON, R. J. y K. R. MARION. 1981. Seasonal testicular cycle of the Stinkpot turtle (*Sternotherus odoratus*) in central Alabama. *Herpetologica* 37:33-40.
- MENDONÇA, M. T. 1987a. Photothermal effects on the ovarian cycle of the Musk turtle, *Sternotherus odoratus*. *Herpetologica* 43:82-90.
- MENDONÇA, M. T. 1987b. Timing of reproductive behavior in male Musk turtles, *Sternotherus odoratus*: Effects of photoperiod, temperature and testosterone. *Anim. Behav.* 35:1002-1014.
- MOLL, E. O. 1979. Reproductive cycles and adaptations. In: HARLESS, M. y H. MORLOCK (Eds.), **Turtles: Perspectives and research**. John Wiley & Sons, Nueva York:305-331.
- MOORE, F. L. 1987. Regulation of reproductive behaviors. In: NORRIS, D. O. y R. E. JONES (Eds.), **Hormones and reproduction in fishes, amphibians, and reptiles**. Plenum Press, Nueva York:505-522.
- MOORE, M. C., J. M. WHITTIER y D. CREWS. 1985. Sex steroid hormones during the ovarian cycle of an all-female, parthenogenetic lizard and their correlation with pseudosexual behavior. *Gen. Comp. Endocrinol.* 60:144-153.
- MORAFKA, D. 1982. The status and distribution of the Bolson tortoise (*Gopherus flavomarginatus*). In: BURY, R. B. (Ed.), **North American tortoises: Conservation and ecology**. U.S. Fish and Wildlife Service, *Wildl. Res. Rep.* 12:71-94.
- MORAFKA, D. J. 1988. Part III. Historical biogeography of the Bolson tortoise. In: MORAFKA, D. J. y C. J. McCOY (Eds.), **The ecogeography of the Mexican Bolson Tortoise (*Gopherus flavomarginatus*): Derivation of its endangered status and recommendations for its conservation**. *Ann. Carnegie Mus.* 57:47-72.
- MORAFKA, D. J., G. A. ADEST, G. AGUIRRE y M. RECHT. 1981. The ecology of the Bolson tortoise, *Gopherus flavomarginatus*. In: BARBAULT, R. y G. HALFFTER (Eds.), **Ecology of the Chihuahuan desert**. *Publ. Inst. Ecol.* 8:35-78.
- MORAFKA, D. J., G. AGUIRRE y G. A. ADEST. 1989. *Gopherus flavomarginatus*. BOLSON TORTOISE. In: SWINGLAND, I. R., M. W. KLEMENS y THE DURRELL INSTITUTE OF CONSERVATION AND ECOLOGY (Eds.), **The Conservation**

- Biology of Tortoises.** *Occ. Papers IUCN Species Survival Commission (SSC)*, 5:10-13.
- MORAFKA, D., R. A. YATES, J. JARCHOW, W. J. ROSSKOPF, JR., G. A. ADEST y G. AGUIRRE. 1986. Preliminary results of microbial and physiological monitoring of the Bolson tortoise, *Gopherus flavomarginatus*. In: ROČEK, Z. (Ed.), **Studies in herpetology**. Charles University, Praga:657-662.
- NORRIS, D. O. 1987. Regulation of male gonaducts and sex accessory structures. In: NORRIS, D. O. y R. E. JONES (Eds.), **Hormones and reproduction in fishes, amphibians, and reptiles**. Plenum Press, Nueva York:327-354.
- OWENS, D. WM. y Y. A. MORRIS. 1985. The comparative endocrinology of sea turtles. *Copeia* 1985:723-735.
- PALMER, B. D. y L. J. GUILLETTE, JR. 1990. Morphological changes in the oviductal endometrium during the reproductive cycle of the tortoise, *Gopherus polyphemus*. *J. Morphol.* 204:323-333.
- PORTER, K. R. 1972. **Herpetology**. W. B. Saunders Co., Filadelfia.
- ROBINSON, K. M. y G. G. MURPHY. 1978. The reproductive cycle of the Eastern spiny softshell turtle (*Trionyx spiniferus spiniferus*). *Herpetologica* 34:137-140.
- ROSSKOPF, W. J., JR., R. W. WOERPEL y L. SAMEC. 1982. Blood sex hormone determinations in two California Desert tortoises (*Gopherus agassizii*). *Chelonian Documentation Ctr. Newsl.* 1:56.
- ROSTAL, D. C., V. A. LANCE, J. S. GRUMBLES y A. C. ALBERTS. 1994. Seasonal reproductive cycle of the Desert Tortoise (*Gopherus agassizii*) in the eastern Mojave desert. *Herp. Monogr.* 8:72-82.
- SAMOUR, H. J., D. RISLEY, T. MARCH, B. SAVAGE, O. NIEVA y D. M. JONES. 1984. Blood sampling techniques in reptiles. *Vet. Rec.* 114:472-476.
- SEXTON, O. J., E. P. ORTLEB, L. M. HATHAWAY, R. E. BALLINGER y P. LICHT. 1971. Reproductive cycles of three species of anoline lizards from the Isthmus of Panama. *Ecology* 52:201-215.
- STATISTICAL GRAPHICS CORPORATION, INC. 1986. **Statgraphics. Statistical Graphics**

Systems. STSC, Inc. E.U.A.

- TAYLOR, R. W., JR. 1982. Seasonal aspects of the reproductive biology of the Gopher tortoise, *Gopherus polyphemus*. Ph.D. Dissertation. The University of Florida.
- TOMKO, D. S. 1972. Autumn breeding of the Desert tortoise. *Copeia* 1972:895.
- TURNER, F. B., P. HAYDEN, B. L. BURGE y J. B. ROBERSON. 1986. Egg production by the Desert tortoise (*Gopherus agassizii*) in California. *Herpetologica* 42:93-104.
- TURNER, F. B., P. A. MEDICA y C. L. LYONS. 1984. Reproduction and survival of the Desert tortoise (*Scaptochelys agassizii*) in Ivanpah Valley, California. *Copeia* 1984:811-820.
- WEIL, M. R. y R. D. ALDRIDGE. 1981. Seasonal androgenesis in the male Water snake, *Nerodia sipedon*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 44:44-53.
- WHITE, J. B. y G. G. MURPHY. 1973. The reproductive cycle and sexual dimorphism of the common Snapping turtle, *Chelydra serpentina serpentina*. *Herpetologica* 29:240-246.
- WHITTIER, J. M. y D. CREWS. 1987. Seasonal reproduction: Patterns and control. In: NORRIS, D. O. y R. E. JONES (Eds.), **Hormones and reproduction in fishes, amphibians, and reptiles**. Plenum Press, Nueva York:385-409.
- WHITTIER, J. M., R. T. MASON y D. CREWS. 1987. Plasma steroid hormone levels of female Red-sided garter snakes, *Thamnophis sirtalis parietalis*: Relationship to mating and gestation. *Gen. Comp. Endocrinol.* 67:33-43.
- WIBBELS, T., D. W. OWENS y M. S. AMOSS. 1987a. Seasonal changes in the serum testosterone titers of Loggerhead sea turtles captured along the Atlantic coast of the United States. In: WITZELL, W. N. (Ed.), **Ecology of east Florida sea turtles**. U.S. Dep. Commer., N.O.A.A. Tech. Rep. NMFS53:59-64.
- WIBBELS, T., D. W. OWENS, C. J. LIMPUS, P. C. REED y M. S. AMOSS, JR. 1990. Seasonal changes in serum gonadal steroids associated with migration, mating, and nesting in the Loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 79:154-164.
- WIBBELS, T., D. W. OWENS, Y. A. MORRIS y M. S. AMOSS. 1987b. Sexing techniques

- and sex ratios for immature Loggerhead sea turtles captured along the Atlantic coast of the United States. In: WITZELL, W. N. (Ed.), *Ecology of east Florida sea turtles. U.S. Dep. Commer., N.O.A.A. Tech. Rep. NMFSS3:65-74.*
- WILDT, D. E. 1989. Reproductive research in conservation biology: Priorities and avenues for support. *J. Zoo. Wildl. Med.* 20:391-395.
- WILSON, B. S. y J. C. WINGFIELD. 1992. Correlation between female reproductive condition and plasma corticosterone in the lizard *Uta stansburiana*. *Copeia* 1992:691-697.
- WINGFIELD, J. C., J. P. SMITH y D. S. FARNER. 1982. Endocrine responses of White-crowned sparrows to environmental stress. *Condor* 84:399-409.
- XAVIER, F. 1982. Progesterone in the viviparous lizard *Lacerta vivipara*: Ovarian biosynthesis, plasma levels, and binding to transcortin-type protein during the sexual cycle. *Herpetologica* 38:62-70.
- XAVIER, F. 1987. Functional morphology and regulation of the corpus luteum. In: NORRIS, D. O. y R. E. JONES (Eds.), *Hormones and reproduction in fishes, amphibians, and reptiles*. Plenum Press, Nueva York:241-282.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

7. ANEXOS

Anexo 2. VALORES PROMEDIO DE LOS ESTEROIDES ANALIZADOS.

Fecha	Testosterona	Estradiol	Progesterona	Corticosterona
HEMBRAS				
NO CAUTIVAS				
abr	23.76 ± 11.89	5.32 ± 1.77	1.36 ± 0.60	11.78 ± 3.52
ab/my	12.30 ± 3.99	6.93 ± 1.90	3.04 ± 0.71	17.06 ± 2.57
my/jn	3.39 ± 1.29	3.13 ± 0.94	2.75 ± 0.84	13.79 ± 2.85
jun	5.36 ± 2.25	2.50 ± 0.52	2.48 ± 0.38	18.22 ± 3.19
jl(1)	2.54 ± 1.05	3.03 ± 0.42	1.33 ± 0.23	10.88 ± 1.49
jl(2)	2.62 ± 0.46	6.46 ± 0.91	2.20 ± 0.42	15.41 ± 2.97
ag/sp	7.43 ± 1.02	9.25 ± 0.87	1.79 ± 0.23	11.40 ± 1.03
oct	28.90 ± 8.39	11.65 ± 2.02	1.96 ± 0.39	8.81 ± 1.73
nov	23.53 ± 6.13	13.13 ± 2.65	2.37 ± 0.50	13.26 ± 2.46
dic	28.02 ± 12.66	6.50 ± 1.76	2.00 ± 0.30	20.15 ± 3.47
feb	31.22 ± 10.43	6.81 ± 2.22	1.50 ± 0.34	10.03 ± 1.60
mz/ab	48.95 ± 12.57	8.83 ± 1.59	3.53 ± 0.55	11.32 ± 1.85
ab/my	28.15 ± 7.63	6.38 ± 0.73	2.79 ± 0.35	10.26 ± 1.60
CAUTIVAS				
abr	39.73 ± 10.29	14.09 ± 2.35	2.71 ± 0.91	11.19 ± 3.79
ab/my	13.88 ± 4.63	9.06 ± 3.88	2.63 ± 0.32	15.68 ± 2.06
my/jn	9.23 ± 5.67	4.32 ± 1.47	1.51 ± 0.33	12.64 ± 1.89
jun	2.86 ± 1.57	2.18 ± 0.53	0.51 ± 0.16	6.91 ± 2.29
jl(1)	3.02 ± 0.66	6.20 ± 1.45	1.23 ± 0.43	11.53 ± 1.94
jl(2)	14.61 ± 11.16	8.04 ± 1.35	0.53 ± 0.36	8.53 ± 2.03
ag/sp	9.12 ± 3.93	9.32 ± 3.41	1.02 ± 0.09	6.31 ± 1.95
oct	18.83 ± 16.08	15.95 ± 6.61	1.70 ± 0.78	9.70 ± 1.75
nov	34.48 ± 22.29	14.22 ± 3.38	1.50 ± 0.75	9.86 ± 0.16
dic	26.60 ± 19.31	9.46 ± 2.80	0.79 ± 0.13	10.38 ± 3.76
feb	49.09 ± 27.18	9.51 ± 3.16	4.32 ± 2.76	9.24 ± 1.73
mz/ab	21.05 ± 8.50	13.67 ± 4.64	2.91 ± 0.63	14.59 ± 2.61
ab/my	12.91 ± 7.44	10.55 ± 3.41	1.70 ± 0.13	8.32 ± 4.42
MACHOS				
abr	327.00 *	0.00 *	0.57 *	5.14 *
ab/my	133.15 *	0.06 *	0.89 *	14.71 *
my/jn	260.92 ± 132.42	0.05 ± 0.04	4.83 ± 2.26	31.67 ± 9.72
jun	536.70 ± 391.05	0.15 ± 0.15	2.52 ± 0.85	20.26 ± 2.31
jl(1)	597.34 ± 140.20	0.28 ± 0.10	1.65 ± 0.42	13.25 ± 0.86
jl(2)	1028.84 ± 108.66	0.26 ± 0.12	3.97 ± 0.85	19.53 ± 1.13
ag/sp	766.55 ± 93.24	0.25 ± 0.05	2.38 ± 0.43	16.34 ± 1.77
oct	812.18 ± 126.22	0.33 ± 0.04	2.84 ± 1.08	18.33 ± 2.65
nov	310.31 ± 124.41	0.18 ± 0.04	1.29 ± 0.35	10.61 ± 1.61
dic	451.29 ± 137.98	0.26 ± 0.06	2.26 ± 0.61	17.03 ± 5.29
feb	252.38 *	sin datos	sin datos	10.29 *
mz/ab	375.70 ± 142.79	0.00 *	1.51 *	10.10 ± 0.10
ab/my	464.05 ± 107.82	0.18 ± 0.18	2.76 ± 0.17	14.00 ± 2.50

Los valores marcados con * representan valores individuales.