



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

DIFERENCIACIÓN Y DESARROLLO DE LA GÓNADA  
EN EL LACERTILIO OVÍPARO *Sceloporus aeneus*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A :

MARTHA ISABEL LUNA GÓMEZ

TUTOR: Dra. MARICELA VILLAGRÁN SANTA CRUZ

2009



FACULTAD DE CIENCIAS  
UNAM



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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.

### Hoja de Datos del Jurado

<p>1. Datos del alumno          Apellido paterno          Apellido materno          Nombre(s)          Teléfono          Universidad Nacional Autónoma de México          Facultad de Ciencias          Carrera          Número de cuenta</p>	<p>1. Datos del alumno          Luna          Gómez          Martha Isabel          56 41 41 57          Universidad Nacional Autónoma de México          Facultad de Ciencias          Biología          300017269</p>
<p>2. Datos del tutor          Grado          Nombre(s)          Apellido paterno          Apellido materno</p>	<p>2. Datos del tutor          Dra.          Maricela          Villagrán          Santa Cruz</p>
<p>3. Datos del sinodal 1          Grado          Nombre(s)          Apellido paterno          Apellido materno</p>	<p>3. Datos del sinodal 1          Dra.          Marcela Esperanza          Aguilar          Morales</p>
<p>4. Datos del sinodal 2          Grado          Nombre(s)          Apellido paterno          Apellido materno</p>	<p>4. Datos del sinodal 2          M.en C.          Claudia Karina          Torres          Villaseñor</p>
<p>5. Datos del sinodal 3          Grado          Nombre(s)          Apellido paterno          Apellido materno</p>	<p>5. Datos del sinodal 3          Biol.          Mónica          Salmerón          Estrada</p>
<p>6. Datos del sinodal 4          Grado          Nombre(s)          Apellido paterno          Apellido materno</p>	<p>6. Datos del sinodal 4          Biol.          Roberto          Romero          Ramírez</p>
<p>7. Datos del trabajo escrito.          Título</p> <p>Subtítulo          Número de páginas          Año</p>	<p>7. Datos del trabajo escrito          Diferenciación y desarrollo de la gónada en el          lacertilio ovíparo <i>Sceloporus aeneus</i></p> <p>67 p.          2009</p>

## **Agradecimientos:**

A mis padres por darme la vida, el amor y las enseñanzas necesarias para enfrentar los retos de la vida, por su paciencia y apoyo durante toda mi carrera para poder cumplir esta meta.

A mis hermanas, hermanos y a mi sobrina por su tolerancia y por compartir conmigo experiencias inolvidables.

A Roberto por cambiarme la vida, por su apoyo durante todo este largo proceso y principalmente por hacerme feliz.

A mi cuñado Adrián Rivera por su colaboración y ayuda en las ilustraciones de este trabajo, además de muchas otras brindadas a lo largo del tiempo.

A mi asesora, la Dra. Maricela Villagrán por sus consejos y ayuda tan valiosa, por ser una excelente tutora y principalmente por ser una excelente persona.

A mis sinodales Mónica Salmerón, Roberto Romero, Karina Torres y Marcela Aguilar, por enriquecer este trabajo con sus comentarios.

A Evita, Pati, Adrianita, Juan Carlos, Gabino y a todos mis amigos, los que de una u otra forma contribuyeron a la culminación de este proyecto.

A CONACYT por el financiamiento económico otorgado para la realización de este proyecto.

**GRACIAS!!**

# ÍNDICE

<b>I. RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
<b>II. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>2</b>
<b>III. ANTECEDENTES.....</b>	<b>4</b>
3.1 Mecanismos de determinación sexual en vertebrados.....	4
3.1.a Determinación sexual cromosómica y genética (CSD y GSD).....	4
3.1.b Determinación sexual dependiente de temperatura (TSD).....	5
3.2 Embriología de las gónadas y los conductos en amniotas.....	5
3.3 Células germinales primordiales en reptiles.....	7
3.4 Diferenciación sexual de las gónadas en reptiles.....	8
3.4.a La gónada indiferenciada.....	11
3.4.b Desarrollo temprano del ovario.....	12
3.4.c Desarrollo temprano del testículo.....	12
3.5 Papel genético y hormonal en la diferenciación sexual en vertebrados.....	14
3.6 Biología de <i>Sceloporus aenus</i> .....	15
<b>IV. HIPÓTESIS.....</b>	<b>18</b>
<b>V. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>18</b>
<b>VI. OBJETIVOS.....</b>	<b>18</b>
6.1 Objetivo general.....	18
6.2 Objetivos particulares.....	18
<b>VII. MATERIAL Y MÉTODO.....</b>	<b>19</b>
7.1 Zona de colecta.....	19
7.2 Material biológico.....	19
7.3 Caracterización de los embriones.....	20
7.4 Histología.....	20
7.5 Análisis histológico de las gónadas.....	21
<b>VIII. RESULTADOS.....</b>	<b>22</b>
8.2 Descripción de la gónada indiferenciada.....	24
8.3 Diferenciación y desarrollo temprano del ovario.....	26
8.4 Diferenciación y desarrollo temprano del testículo.....	30
8.5 Conductos de Müller y de Wolff en embriones indiferenciados....	34
8.6 Conductos de Müller en hembras.....	34
8.7 Conductos de Wolff en hembras.....	35
8.8 Conductos de Müller en machos.....	35
8.9 Conductos de Wolff en machos.....	36

<b>IX. DISCUSIÓN.....</b>	<b>40</b>
9.1 Aspectos reproductores.....	40
9.2 Desarrollo de la gónada indiferenciada.....	41
9.3 Diferenciación sexual.....	43
9.4 Desarrollo de los conductos reproductores.....	45
<b>X. CONCLUSIONES.....</b>	<b>47</b>
<b>XI. RECOMENDACIONES Y PERSPECTIVAS.....</b>	<b>48</b>
<b>XII. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>50</b>
<b>XIII. APÉNDICES.....</b>	<b>57</b>
13.1 Método de colecta para lagartijas (vara con lazada).....	57
13.2 Resumen de la clasificación de desarrollo embrionario.....	58
13.3 Técnica histológica.....	60
13.4 Tinciones.....	61
<b>XIV. GLOSARIO.....</b>	<b>65</b>

## I. RESUMEN

En el presente trabajo se estudió la estructura histológica de la gónada en embriones del lacertilio ovíparo *Sceloporus aeneus* desde la oviposición hasta la eclosión con el objeto de describir la diferenciación y desarrollo gonadal. Los resultados revelan que al momento de la oviposición en el estadio de desarrollo embrionario 30 – 31, la gónada se ubica en la región ventromedial del mesonefros a cada lado del mesenterio dorsal, presenta forma ovalada y es indiferenciada. Está formada por células germinales y células somáticas que estructuran los cordones sexuales. Durante el estadio 33 se presenta una marcada regionalización de la gónada en dos zonas, la medular interna y la cortical externa. Los primeros signos de diferenciación gonadal para ambos sexos ocurren en el estadio 34. En el ovario temprano, aumenta el espesor de la zona cortical y son evidentes las ovogonias, los ovocitos tempranos y las células somáticas indiferenciadas. En el testículo temprano se desarrolla la región medular, los cordones sexuales dan lugar a los cordones testiculares estructurados por las células somáticas pre-Sertoli y por las espermatogonias. Al mismo tiempo se presenta la regresión de la zona cortical. Mesénquima indiferenciado ocupa el espacio intersticial de la gónada masculina o femenina en diferenciación. En el ovario durante en estadio 38, da inicio la foliculogénesis por el contacto de las células foliculares con los ovocitos; no obstante, aún no están completamente rodeados; es hasta 42 días posteclosión cuando se observan folículos primordiales constituidos por un ovocito completamente rodeado de una capa simple de células foliculares cúbicas. La médula ha adquirido una conformación de estroma con abundantes vasos sanguíneos. En el testículo durante el estadio 37, las células de Sertoli dentro de los cordones testiculares cambian su forma irregular a ovalada o esférica, marcando así su diferenciación. En el estadio 38, en el tejido intersticial las células de Leydig derivadas el tejido mesenquimatoso forman pequeños grupos y son reconocibles. Al momento de la eclosión en el estadio 40, la túnica albugínea del testículo se encuentra formada. Por otro lado, los conductos reproductores de Wolff y de Müller coexisten en los embriones de ambos sexos casi desde la oviposición y el comienzo de la regresión de uno u otro conducto se presenta en el estadio 37 tanto en hembras como en machos. El proceso de diferenciación y desarrollo a lo largo del desarrollo embrionario en *S. aeneus* sigue el patrón general descrito para otras especies de reptiles.

## II. INTRODUCCIÓN

La reproducción de las especies ocurre a través de varias estrategias y una de ellas es la reproducción sexual, que consiste básicamente en la producción de gametos en las gónadas (Salame- Méndez y Villalpando-Fierro, 1998). La recombinación genética a través de este tipo de reproducción requiere que algunos individuos en una población sean femeninos y otros masculinos, por lo que esta región anatómica llamada gónada debe diferenciarse en un ovario en el caso de las hembras o en un testículo cuando se trata de un macho. La diferenciación sexual gonadal es un proceso biológico secuencial a través del cual se adquieren características citológicas, histológicas y fisiológicas propias de un ovario o un testículo, éstos a su vez son responsables de las distintas secreciones hormonales (estrógenos y andrógenos) que actúan sobre diversas estructuras fetales indiferenciadas, produciendo la diferenciación de los genitales externos e internos y del cerebro, consolidando así el sexo fenotípico (Crews, 1994; Jiménez, 2001).

Se sabe en general que la diferenciación sexual gonadal de los vertebrados puede deberse a dos mecanismos; en algunas especies ésta depende de la interacción de proteínas producidas por diversos genes, mientras que en otras, la información genética parece jugar un papel menos relevante, ya que la tendencia de los individuos para adquirir determinado sexo gonadal es aparentemente inducida por factores epigenéticos (factores ambientales) como la temperatura (Bull, 1980; Crews, 2003; Torres-Maldonado y Merchant-Larios, 2006).

En los embriones de vertebrados, el desarrollo gonadal comienza subsecuentemente al establecimiento del plan corporal. Este acontecimiento relativamente temprano en el desarrollo del sexo, es determinante en los eventos que suceden luego y que se prolongan hasta etapas avanzadas de la vida. La información sobre el desarrollo de las gónadas es útil para entender su actividad, para comprender el sistema reproductor adulto, así como desde el punto de vista filogenético (Austin, 1988).

Los reptiles exhiben diferentes mecanismos de determinación sexual. En algunas especies (ovíparas y algunas vivíparas) la diferenciación de las gónadas es sensible a la temperatura de incubación de los huevos durante un período crítico en el desarrollo embrionario (determinación sexual dependiente de temperatura o TSD) (Mrosovsky y



Pieau, 1991; Lance, 1994). En otros reptiles, incluyendo las serpientes, muchas lagartijas y una minoría de tortugas, el sexo está determinado por un gen o genes llevados en los cromosomas sexuales (determinación sexual genética GSD o cromosómica o CSD) (Pieau *et al.*, 1999; Torres-Maldonado y Merchant-Larios, 2006). Por lo que un importante taxón para el estudio de la determinación y diferenciación sexual en vertebrados son los reptiles, debido a que este proceso muestra múltiples orígenes independientes, lo que los hace un grupo ideal para investigar los eventos que ocurren durante tal transición (Neaves *et al.*, 2006).

La mayoría de las investigaciones en la determinación sexual y diferenciación de las gónadas en reptiles se ha centrado en especies ovíparas. Esto es en gran parte porque: la mayoría de los reptiles son ovíparas; los huevos son más accesibles que los embriones en los oviductos; además, las condiciones de desarrollo embrionarias son más fáciles de manipular en el laboratorio (Neaves *et al.*, 2006). Sin embargo, a pesar de que existen amplias revisiones de la formación, diferenciación y desarrollo gonadal en reptiles, una descripción histológica detallada de este proceso en los diferentes grupos de lacertilios es limitada.

Al plantearse la cuestión de cuándo y dónde se producen los eventos claves de la diferenciación sexual gonadal hay que tener en cuenta que las gónadas de los vertebrados están compuestas por las células germinales (que darán lugar a los gametos) y por varios tipos de células somáticas: las células de soporte (células de Sertoli en machos y células foliculares o granulosas en hembras), las células del estroma o intersticiales muchas de las cuales darán lugar a las células esteroidogénicas (células de Leydig en machos y células tecales en hembras), las células del tejido conectivo y las células endoteliales (formadoras de vasos sanguíneos). Una vez que ha terminado el período de bipotencialidad sexual y se ha dado comienzo al proceso de diferenciación, estas células que conforman las gónadas experimentan una serie de cambios seguidos por una fase de crecimiento, durante la cual el ovario y/o testículo embrionario completan su desarrollo (Lacadena, 2001).

En este contexto, el presente estudio tiene como objetivo describir la diferenciación y desarrollo de las gónadas en embriones de ambos sexos, desde la oviposición hasta la eclosión lagartija *Sceloporus aeneus*.

### III. ANTECEDENTES

#### 3.1 Mecanismos de determinación sexual en vertebrados

La morfología de las gónadas y su diferenciación es similar en todas las clases de vertebrados; sin embargo, aunque este proceso es común en el grupo, el mecanismo por el cual el sexo queda determinado puede ser diferente (Pieau *et al.*, 1982; Valleley, 2001; Shine *et al.*, 2007). Se conocen dos tipos de mecanismos generales a partir de los cuales se determina el sexo en los vertebrados: la determinación sexual genética o cromosómica (GSD o CSD) y la determinación sexual dependiente del ambiente (ESD), de ésta última, el factor más común es la temperatura (TSD) (Raman, 2002).

##### 3.1. a Determinación sexual cromosómica o genética (CSD o GSD)

Durante la fertilización, al momento en que se fusiona el pronúcleo masculino con el femenino (anfimixis), el sexo genético del cigoto se determina (Rey, 2001; Dagmar, 2007). De tal manera que tanto el embrión como el individuo en condiciones normales, adquiere uno de los dos tipos de sexo cromosómico: un sexo homogamético o un sexo heterogamético. El sexo homogamético está constituido por un par homólogo de cromosomas sexuales, **XX** en mamíferos o su homólogo **ZZ** en reptiles y otros vertebrados (Cooke y Buckley, 1987; Raff, 1996; Nájera, 2001); los portadores de esta carga genética son hembras o machos dependiendo de la especie de vertebrado. El sexo heterogamético está constituido por un par heterólogo de cromosomas sexuales, **XY** en los mamíferos o su homólogo **ZW** en reptiles y otros vertebrados, de manera que los individuos que poseen estos cromosomas son machos o hembras (Salame-Méndez y Villalpando-Fierro, 1998; Nájera, 2001). Entre los lacertilios, en los cuales los cromosomas sexuales heterogaméticos son conocidos, los machos son heteromórficos en la mitad de las especies y claramente homomórficos en la otra mitad (Jameson, 1988).

Diversos genes se han asociado con la diferenciación sexual de mamíferos, aves y reptiles (Olmo *et al.*, 1997) como SOX9, SF1 y DAX1, entre otros, que se relacionan con la producción de enzimas necesarias para la síntesis de estrógenos (Janzen y Paukstis, 1991). La caracterización y expresión de algunos genes como el SOX9, DAX1 y DMRT1 se ha estudiado en su mayoría en reptiles con DST como la tortuga de orejas rojas, *Trachemys scripta* (Spotila *et al.*, 1998); la tortuga marina,

*Lepidochelys olivacea* (Moreno-Mendoza *et al.*, 1999); el aligátor americano, *Alligator mississippiensis* (Western *et al.*, 1999); el gecko leopardo *Eublepharis macularius* (Valleley *et al.*, 2001) y recientemente en la lagartija con determinación sexual genética, *Calotes versicolor* (Coudhary, 2000). En estas especies con DST se ha estudiado el efecto de la temperatura feminizante y masculinizante sobre la expresión de estos genes en el tejido gonadal durante distintas etapas del desarrollo embrionario y se ha observado que se expresan a ambas temperaturas, pero a diferentes niveles (Torres-Maldonado y Merchant-Larios, 2006). Por otro lado, las lagartijas con determinación sexual genética presentan un patrón de expresión genética similar a mamíferos que se asocia con los cromosomas sexuales, aunque no se descarta el efecto de la temperatura sobre estas especies (Quinn *et al.*, 2007; Radder *et al.*, 2008).

### **3.1.b Determinación sexual dependiente de temperatura (TSD)**

En vertebrados existe un mecanismo a partir del cual se determina el sexo independientemente de los cromosomas y está representado en algunos reptiles, entre ellos los cocodrilos y algunas especies de tortugas y lagartijas (Pieau *et al.*, 1982; Merchant-Larios *et al.*, 1989). Este mecanismo se presenta por acción de la temperatura de incubación (Bull, 1980; Ewert y Nelson, 1991; Pieau *et al.*, 1999; Jiménez, 2001). Al parecer la temperatura actúa como un disparador genético en la diferenciación de las gónadas e influye en el sexo que tendrá el embrión al final del primer tercio y comienzo del segundo tercio del desarrollo embrionario (Mrosovsky y Pieau, 1991). Una vez determinado el sexo del individuo, en un tiempo específico de la vida embrionaria, se expresan los genes involucrados en la diferenciación sexual gonadal. Durante esta etapa ocurren una serie de eventos celulares y moleculares que confluyen en la morfogénesis y diferenciación del testículo y del ovario, así como de los genitales externos e internos. Postnatalmente se lleva a cabo la diferenciación del hipotálamo y durante la madurez sexual, el individuo adquiere características fisiológicas, endocrinológicas y etiológicas que le permitirán reproducirse (Salame-Méndez y Villalpando-Fierro, 1998).

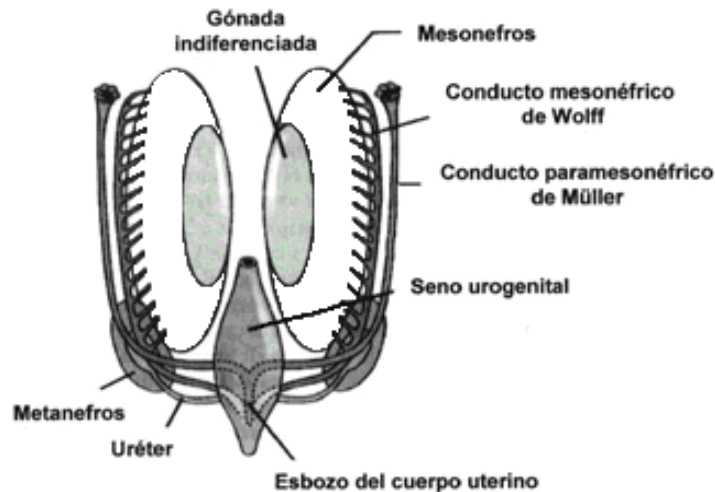
### **3.2 Embriología de las gónadas y los conductos en amniotas**

Los aparatos urinario y genital se desarrollan a partir de los gononefrotomos, éstos son estructuras pares que se forman del mesodermo intermedio a ambos lados de la línea media del cuerpo. Del gononefrotomo, sólo el mesonefros interviene en el

desarrollo de estructuras del sistema genital al hacer protrusión en la cavidad celómica del embrión formando las crestas urogenitales, que posteriormente se dividen medialmente en crestas gonadales y lateralmente en crestas urinarias (Rey, 2001).

En los reptiles como en otros vertebrados, la gónada indiferenciada, sin importar el sexo, está acompañada por dos pares de conductos: los conductos paramesonéfricos o de Müller y los conductos mesonéfricos o de Wolff (Nájera, 2001) (Fig. 1); estos últimos son los progenitores del sistema de conductos masculino; mientras que los conductos de Müller son el antecedente del sistema de conductos femenino. Solamente uno de los dos sistemas de conductos se desarrolla más adelante, dependiendo de la diferenciación hacia testículo o hacia ovario (Fox, 1985). Los conductos de Wolff surgen como cordones sólidos de células que circulan por el interior del mesonefros y que posteriormente abren hacia la cloaca donde sirven como el principal conducto excretor del embrión (Wilson *et al.*, 1981; Lawrence *et al.*, 1992; Nájera, 2001). Los conductos de Müller surgen por invaginación de la superficie del epitelio celómico lateral y siguen un camino paralelo al de los conductos de Wolff por fuera del mesonefros (Wilson *et al.*, 1981; Nájera, 2001; Rey, 2001).

Merchant-Larios *et al.* (1993) demostraron experimentalmente la participación activa de los mesonefros en la formación de los cordones seminíferos, de las células miodes y de las células endoteliales en embriones de ratón. Asimismo observaron que la diferenciación de las células de Sertoli y Leydig se lleva a cabo aún en ausencia de éste. Por otro lado, el trabajo experimental en pollos sugiere que la diferenciación del mesonefros y el desarrollo subsecuente de la gónada son dependientes de una interacción inductiva similar a la del conducto de Wolff y el mesodermo intermedio (Bishop-Calame, 1965; Fernández-Terán *et al.*, 1997; García-Peña, 2001; Dagmar *et al.*, 2007). Poco después de adoptar el aspecto de conductos de Wolff, los tubos mesonéfricos se extienden junto con el mesénquima de los mesonefros hacia la superficie celómica por un proceso de condensación. Los tubos mesonéfricos pueden desempeñar un papel en el desarrollo de la glándula adrenal y de la gónada con la señalización a las regiones circundantes o por la contribución directa de células a los órganos en formación (Dagmar *et al.*, 2007).



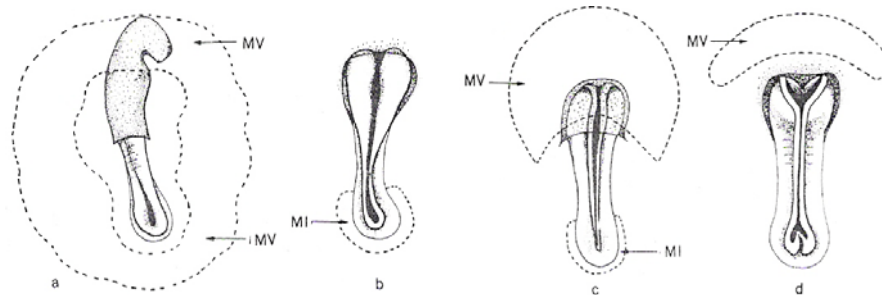
**Fig. 1.** Esbozos gonadales y de los genitales internos de un embrión amniota en el período indiferenciado del desarrollo sexual. Las gónadas no muestran particularidades de uno u otro sexo. En ambos sexos coexisten los conductos de Wolff y de Müller que desembocan en el seno urogenital (Modificado de Moore *et al.*, 1999).

### 3.3 Células germinales primordiales en reptiles

En los reptiles (como en casi todos los vertebrados), las células germinales primordiales (CGPs) se derivan del endodermo y se distribuyen en un área extraembrionaria del blastodermo conocida como creciete germinal antes de su ubicación final en las crestas gonadales. Los estudios sobre el origen de las CGPs muestran que su localización puede variar dependiendo del grupo: en serpientes y la mayoría de lacertilios se localizan anteriores a la creciete germinal; en tortugas y algunos lacertilios se encuentran posteriores a la creciete germinal; en los esfénodontes se pueden presentar ambas disposiciones (Fig. 2), mientras que en el grupo de los cocodrilos se desconoce (Hardisty, 1978; Diwan y Dhakad, 1995).

Los detalles de la migración de las CGPs son conocidos en pocas especies; sin embargo, se sabe que las rutas de migración en reptiles comparten características con el grupo de las aves y los mamíferos. En algunas especies de reptiles (tuátaras), las CGPs se incorporan al sistema circulatorio (migración pasiva) y son abundantes durante un tiempo, posteriormente las CGPs abandonan el torrente sanguíneo por medio de las paredes de los capilares y migran con movimientos ameboides por medio de la emisión de pseudópodos (migración activa) a través del mesodermo esplácnico y del mesenterio dorsal hasta las crestas gonadales (Clawson y Domm, 1963; Hubert, 1968). En otras especies como en la lagartija *Lacerta vivipara* (Dufaure, 1961) la migración de las CGPs

es exclusivamente activa, al contrario de la lagartija *Anguis fragilis* y la serpiente *Vipera aspis* (Hubert, 1968) en donde esta migración ocurre únicamente a través del torrente sanguíneo. Una vez que se ha completado la migración, el desarrollo gonadal comienza, pero cuando las CGPs entran en el tejido que dará lugar a las gónadas, aún no existe diferenciación en tejido ovárico o testicular (Jameson, 1988).



**Fig. 2.** Ubicación de las CGPs en reptiles antes de su migración. Se observa la distribución germinal en varias especies (en líneas punteadas): migración vascular (MV) y migración a través del tejido (MI).  
**a)** *Anguis fragilis*, **b)** *Lacerta vivipara*, **c)** *Sphenodon punctatus* y **d)** *Vipera aspis*. (De Hubert, 1976).

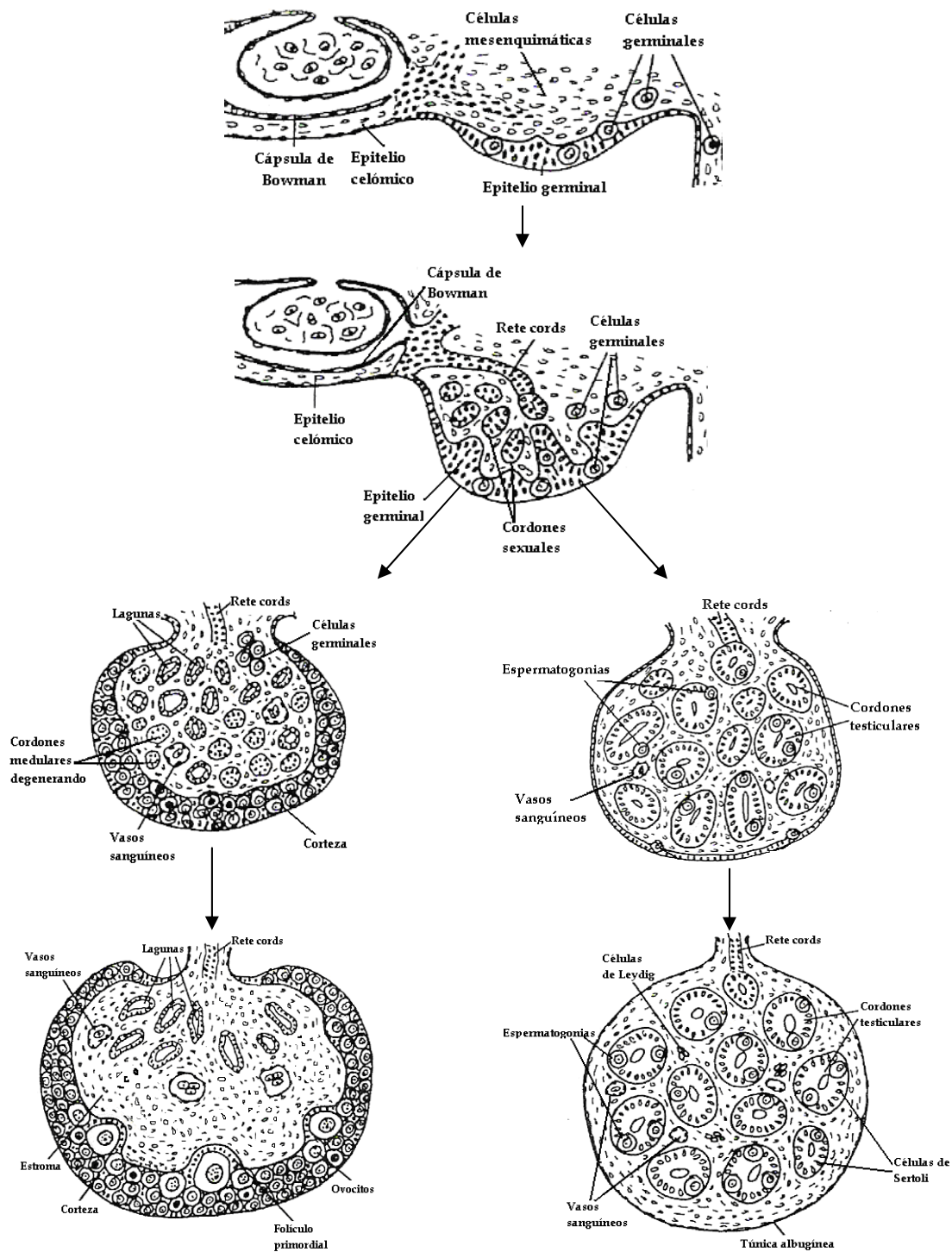
### 3.4 Diferenciación sexual de las gónadas en reptiles

Una vez que las CGPs han alcanzado las crestas gonadales, se envuelven e incorporan dentro del epitelio germinal de la gónada, el cual prolifera al interior formando los cordones sexuales. Al estar dentro de la cresta gonadal, las CGPs pierden su movilidad y continúan proliferando dentro de ésta. Durante este período es imposible distinguir una gónada de sexo masculino de uno de sexo femenino por sus características anatómicas o histológicas (Fox, 1985; Jameson, 1988) aún bajo el examen con un microscopio electrónico, por lo que se denomina período indiferenciado del desarrollo sexual. En esta etapa indiferenciada, las crestas gonadales de ambos sexos están constituidas por células germinales y somáticas de varios tipos (mesenquimáticas, epiteliales y mesonéfricas). Estos esbozos de las futuras gónadas son bipotenciales, es decir que la parte central (médula) puede desarrollarse en un testículo y la parte marginal (corteza) en un ovario (Forbes, 1956; Miller, 1963; Raynaud y Pieau, 1985; Jameson, 1988). En los machos el tejido medular invade la región cortical y en hembras la gónada puede permanecer más o menos indiferenciada o mostrar un desarrollo adicional en la región cortical (Mendietta, 1963; Joss, 1989; Doddamani, 1994, 2006) (Fig. 3) La corteza y la médula coexisten, aunque el tiempo es variable en el desarrollo de diversos individuos (Doddamani, 2006).

En especímenes de 11-14 mm de longitud de la tortuga *Sternotherus odoratus*, una gónada potencial de macho o hembra se distingue por las cantidades relativas de médula o de corteza presentes en la gónada. Durante este período las células germinales se desarrollan lentamente y se distribuyen de igual forma dentro de los cordones sexuales ubicados en la médula y en el epitelio germinal en la corteza (Risley, 1933).

La información y estudios sobre la diferenciación sexual en reptiles y en especial en lagartijas son aún escasos considerando la cantidad de especies que existen. No obstante, en este tópico pueden destacarse los trabajos de: Forbes (1956) en *Anolis carolinensis*; Miller (1963) en *Xantusia vigilis*; Marin y Sabbadin (1966) y Chieffi (1966) en *Lacerta sicula*; Mendieta (1963) en *Gongylus ocellatus*; Hubert (1968) en *Lacerta vivipara*; Leyton *et al.* (1982) en *Liolaemus gravenhorsti*; Rhen y Crews (1999) en *Eublepharis macularius*; Muthukkaruppan (1970), Gaitonde (1984) y Doddamanni (1994, 2006) en *Calotes versicolor*; Neaves *et al.* (2006) en *Niveoscincus ocellatus* y Austin (1988) en *Sceloporus undulatus*, único antecedente para el género *Sceloporus*. En general, en estos estudios se describe un patrón morfológico de formación y diferenciación gonadal similar al de otros vertebrados. Sin embargo, aunque el proceso de diferenciación está conservado evolutivamente en los distintos grupos de vertebrados, los tiempos en los cuales se presentan estos eventos varían entre las distintas especies y está relacionado principalmente con la duración del desarrollo embrionario.

En los trabajos de Doddamanni en *Calotes versicolor* (1994, 2000, 2006), se incluye información adicional a la provista anteriormente en trabajos morfológicos sobre gonadogénesis. De acuerdo a sus resultados, existe una correlación evidente entre la morfología y la fisiología de las células que conforman la gónada masculina y femenina y las estructuras relacionadas a ella como la glándula adrenal; es decir, la diferenciación de un tipo celular tiene efectos sobre la diferenciación o regresión de otras estructuras.



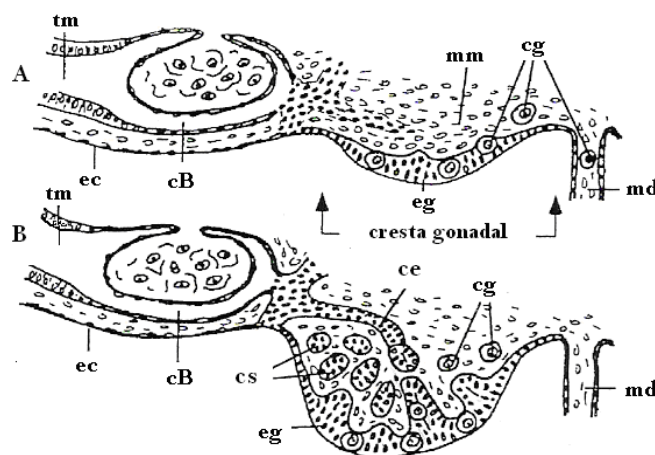
**Fig. 3.** Resumen esquemático de la diferenciación sexual gonadal en reptiles: el desarrollo temprano de las gónadas es igual en ambos sexos. El embrión pasa a través de una etapa sexual indiferenciada (gónada bipotencial), en la cual los primordios de las estructuras masculinas (testículo) y femeninas (ovario) están presentes. Potencialmente, el embrión puede desarrollarse en macho o en hembra. Si la subsecuente diferenciación es hacia un macho, las estructuras masculinas continúan diferenciándose, y las de la hembra entran en regresión. Lo contrario ocurre durante la diferenciación de una hembra, es decir, las estructuras femeninas se desarrollan y las masculinas degeneran (Modificado de Pieau *et al.*, 1999).



### 3.4. a La gónada indiferenciada

Durante el desarrollo de las gónadas, existe desde el inicio una interacción entre dos líneas celulares: las células sexuales (de origen extragonadal) precursoras de los ovocitos y los espermatozoides en hembras y machos respectivamente y las células somáticas. De esta manera, las gónadas presentan un modelo de morfogénesis con un componente celular externo que interacciona con el componente local de tipo somático. Así, los embriones machos y hembras inician su desarrollo de manera similar, ya que en ambos se establecen estructuras idénticas a partir de las cuales se formarán los órganos reproductores correspondientes a cada sexo (Jameson, 1988).

En todos los embriones, el desarrollo de las gónadas comienza con el engrosamiento del epitelio celómico y del mesénquima adyacente al borde medial del riñón mesonéfrico. Conforme el mesénquima se acumula, una cresta gonadal aparece a cada lado del mesenterio dorsal. El epitelio celómico que recubre la gónada se espesa y da lugar al epitelio germinal, el cual es invadido por las células germinales primordiales (Fig. 4A). Durante su desarrollo las crestas gonadales crecen en tamaño (debido a la gran proliferación de las células germinales y células somáticas) y adquieren una forma de saco con dos regiones distinguibles: una médula de origen mesenquimático y una corteza de origen epitelial. El epitelio germinal se agrega en forma de cordones que posteriormente crecen y penetran dentro la médula formando los cordones sexuales. (Dufaure, 1966; Fox, 1985; Jameson, 1988; Pieau *et al.*, 1999) (Fig. 4B).

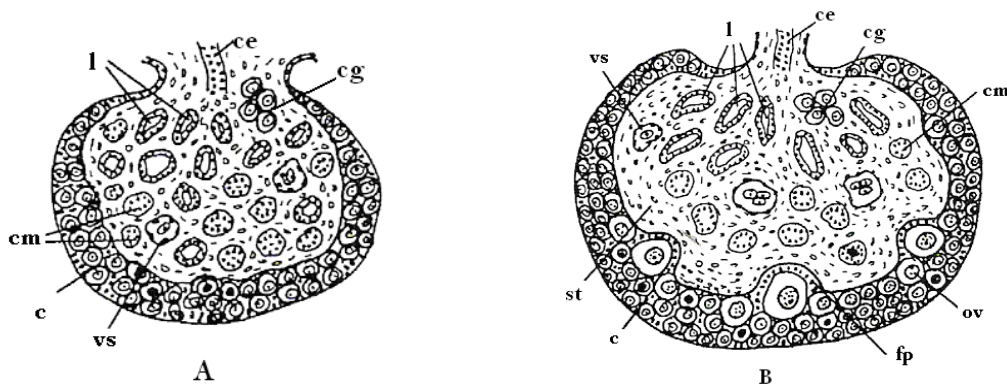


**Fig. 4.** Gonadogénesis en reptiles. Cresta gonadal (A) y gónada indiferenciada (B). Se observa la cápsula de Bowman (cB); células germinales (cg); cordones sexuales (cs), cordones celulares (ce); epitelio celómico (ec); epitelio germinal (eg); mesenterio dorsal (md), mesénquima mesonéfrico (mm) y tubo mesonéfrico (tm) (Modificado de Pieau *et al.*, 1999).

### 3.4. b Desarrollo temprano del ovario

La diferenciación del ovario se inicia con la proliferación del epitelio cortical, el cual aumenta en grosor. En este epitelio se alojan ovogonias, pero también ovocitos tempranos que pueden aparecer antes o después en los distintos grupos de reptiles. La médula detiene su desarrollo y progresivamente adquiere la conformación de estroma con abundantes vasos sanguíneos (Merchant-Larios, 1978; Jameson, 1988) (Fig. 5A).

Al iniciarse la meiosis principia a su vez el proceso de foliculogénesis, que se define como la formación de folículos primordiales en el ovario. Los ovocitos progresivamente se individualizan al ser rodeados por células granulosa o foliculares y una lámina basal. Conforme crecen los folículos primordiales se diferencian varios tipos celulares. Aparece la teca interna integrada por fibroblastos, tejido conjuntivo abundante en vasos sanguíneos y posteriormente células esteroidogénicas; por fuera de ésta, la teca externa se forma de tejido conjuntivo fibroso. Una vez que el folículo ha adquirido estas dos capas, se vuelve funcional (Fig. 5B). La mayoría de los folículos sufren el proceso de atresia folicular (que puede presentarse en cualquier momento de la vida del organismo), el cual parece jugar un papel importante en el proceso de diferenciación del tejido intersticial esteroidogénico del ovario. Por otro lado, el conducto de Müller da origen al útero y los oviductos (Tokarz, 1978; Hubert, 1985; Jameson, 1988)



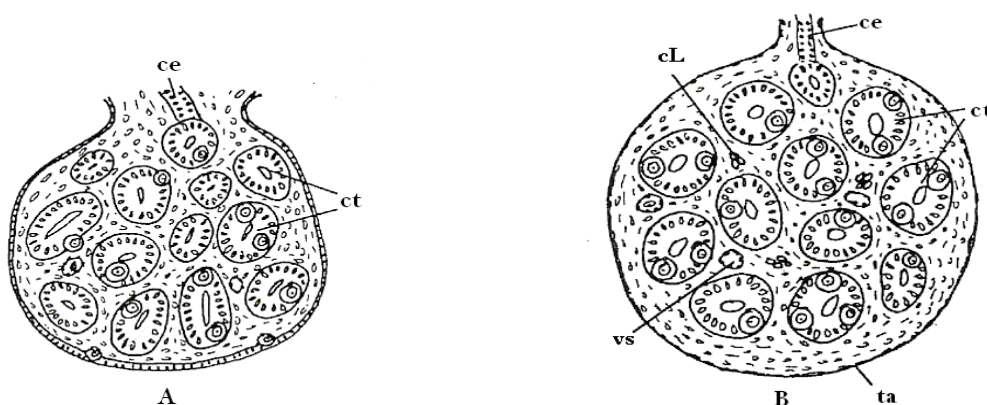
**Fig. 5.** Ovario de reptil en diferenciación. Desarrollo temprano (A) y más avanzado (B). Se observa la corteza en desarrollo (c); cordones medulares remanentes (cm); células germinales (cg); cordones celulares (ce); folículos primordiales (fp); lagunas (l); estroma (st); ovocitos (ov) y vasos sanguíneos (vs) (Modificado de Pieau *et al.*, 1999).

### 3.4. c Desarrollo temprano del testículo

La diferenciación del testículo se inicia cuando los cordones sexuales estructurados por células germinales y células somáticas se separan del epitelio celómico como

consecuencia de los arreglos producidos por una invasión de mesénquima y vasos sanguíneos. Esto provoca la compactación de los cordones sexuales, ahora denominados “cordones testiculares” (Fig. 6A). El traslado de los cordones testiculares a la región medular de la gónada es un movimiento morfogenético que implica cambios en la adhesividad de las células epiteliales y un activo depósito de las moléculas que forman la lámina basal (Fox, 1985; Jameson, 1988). Progresivamente en el desarrollo, las células que rodean a los cordones testiculares se aplanan en forma paralela a la lámina basal. Estas células al diferenciarse se les denomina células miodes peritubulares y son las encargadas de la formación de las membranas basales de cada cordón. A la par de estos eventos, la corteza degenera y posteriormente se forma la túnica albugínea que recubre al testículo (Miller, 1963; Austin, 1988; Doddamani, 2006).

Las células esteroideogénicas (células de Leydig) se diferencian a partir de las células mesenquimáticas (Fig. 6B) y son las que realizan la síntesis de andrógenos en el testículo. Su diferenciación varía en los distintos grupos de reptiles, no obstante, ésta se produce poco tiempo después de la formación de los cordones testiculares. La diferenciación de las células del epitelio interno, es decir, las células de Sertoli al parecer es inducida por diversos factores. Se piensa que estas últimas pueden actuar como centro de organización de la gónada masculina y orquestar la diferenciación del resto de los tipos celulares presentes en la gónada (Dagmar, 2007). El conducto de Wolff, por otro lado, se convierte normalmente en el epidídimo, los conductos deferentes y las vesículas seminales (Jameson, 1988).



**Fig. 6.** Testículo de reptil en diferenciación. Desarrollo temprano (A) y más avanzado (B). Se observa la túnica albugínea (ta); células de Leydig (cL); cordones celulares (ce); cordones testiculares (ct) y vasos sanguíneos (vs) (Modificado de Pieau *et al.*, 1999).

### 3.5 Papel genético y hormonal en la diferenciación sexual en vertebrados

En los vertebrados, la diferenciación de los esbozos de los órganos genitales internos y externos en sentido masculino o femenino depende de la expresión de diversos genes y por tanto, la presencia o ausencia de distintas hormonas (Wilson *et al.*, 1981; Huhtaniemi, 1994). La producción y secreción de estas hormonas juega un papel importante, ya que algunas sustancias regulan la inhibición o inducción de los distintos elementos que constituyen un ovario o un testículo (Fig. 7). Experimentalmente, las hormonas exógenas pueden modificar la dirección de la diferenciación gonadal, pero no determinan completamente el destino de la gónada embrionaria (McCarrey y Abbott, 1979; Jameson, 1988).

La conversión de la cresta gonadal en una gónada bipotencial requiere de los genes LHX9, SF1 y WT1, puesto que se ha observado que los ratones que carecen de cualquiera de estos genes no poseen gónadas. La gónada indiferenciada (bipotencial) parece diferenciarse hacia el camino femenino (desarrollo del ovario) por los genes WNT4 y DAX1 y al camino masculino (desarrollo del testículo) por el gen de SRY (en mamíferos) conjuntamente con genes autosómicos tales como SOX9 (Gilbert, 2006).

Inmediatamente después de la formación de los cordones seminíferos, las células de Sertoli secretan hormona anti-Mülleriana (AMH), también conocida como sustancia inhibidora mülleriana (MIS) (Huhtaniemi, 1994). La AMH es una glicoproteína que se une a un receptor de membrana presente en las células mesenquimáticas que rodean al epitelio de los conductos de Müller (Josso *et al.*, 1977) induciendo apoptosis y transformación epitelio-mesenquimatoso con la consiguiente regresión de estos conductos (Allard *et al.*, 2000). Bajo la acción de los andrógenos testiculares, el conducto mesonéfrico o conducto de Wolff da origen en el feto masculino al epidídimo, conductos deferentes y vesículas seminales. En el sexo femenino, ante la ausencia de hormona anti-Mülleriana, el conducto paramesonéfrico o conducto de Müller forma las tubas uterinas, el útero y el tercio superior de la vagina. Los conductos de Wolff degeneran en gran medida en el feto femenino por falta de andrógenos, en tanto que los conductos de Müller degeneran en el feto masculino por acción de éstos. En el ovario los estrógenos inhiben el desarrollo de la médula y en el

testículo, la testosterona secretada por las células de Leydig promueve la diferenciación de los genitales internos (Salame-Méndez y Villalpando-Fierro, 1998).

En reptiles, el desarrollo y diferenciación de las gónadas presenta un proceso de regulación hormonal y genética similar al resto de los vertebrados; sin embargo, el gen SRY no se ha podido aislar en vertebrados no mamíferos, por lo que se piensa que otro gen o genes desempeñan una función semejante a SRY en este grupo (Western y Sinclair, 2001).

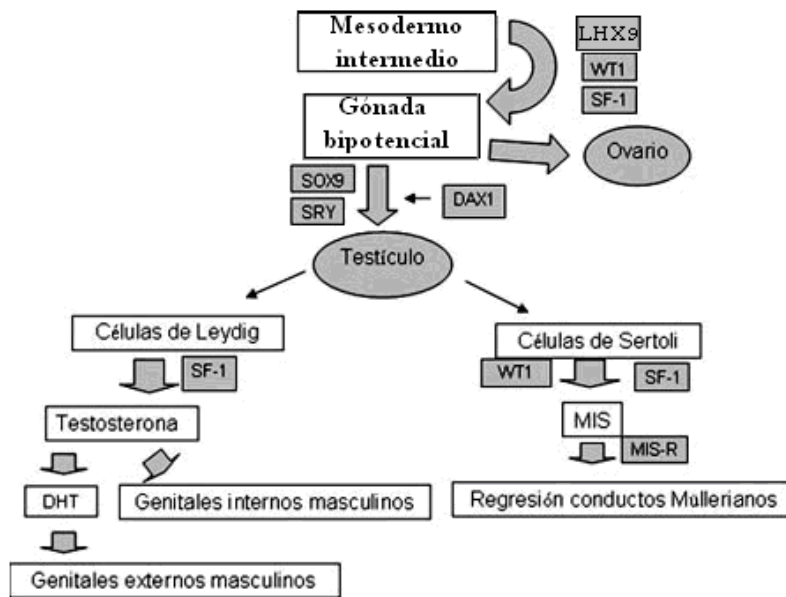


Fig. 7. Regulación genética y hormonal en la diferenciación sexual (Modificado de MacLaughlin, 2004).

### 3.6 Biología de *Sceloporus aeneus*

La especie *Sceloporus aeneus* fue descrita por Wiegmann en 1928 y su posición taxonómica actual es la siguiente:

**Filo:** Chordata

**Subfilo:** Vertebrata

**Clase:** Sauropsida

**Orden:** Squamata

**Suborden:** Lacertilia

**Infraorden:** Iguania

**Familia:** Phrynosomatidae

**Género:** *Sceloporus*

**Especie:** *Sceloporus aeneus*

Físicamente son pequeñas y robustas de aproximadamente 10 cm de longitud total. En la parte dorsal pueden presentar una coloración de verde oliva a café, con dos pares de franjas de color más claro (beige): un par dorso-lateralmente y otro par en la región lateral (Fig. 8). Una pequeña mancha negra está presente en la región del hombro. Las escamas de la cabeza son rugosas y presentan una escama cantal y dos parietales a cada lado (Castro-Franco, 2003).



**Fig. 8.** Lagartija hembra de la especie *Sceloporus aeneus* (Foto: Fausto Méndez de la Cruz).

*Sceloporus aeneus* es nativa de México, se distribuye en áreas templadas de la Sierra Madre Occidental, en zonas boscosas de pino-encino (Castro-Franco, 2003) y en áreas perturbadas de bosque de pino en las montañas del centro de México y parte oeste del Eje Neo-Volcánico Transversal a alturas que van de los 2400 a los 3000 metros sobre el nivel del mar (Guillette, 1981; Andrews *et al.*, 1999; Gómez-Espejo, 2005). Se pueden encontrar sobre el suelo, bajo rocas, troncos y frecuentemente entre los zacatones, también en sembradíos de maíz y alrededor de las casas de pequeños poblados (Guillette, 1981; Castro-Franco, 2003). Esta especie es de hábitos diurnos y alimentación principalmente insectívora (Coleoptera, Hemiptera, Himenoptera, etc.) (Urban, 2007). Generalmente viven en lugares con abundante vegetación, sobre todo en áreas con pasto (Castro-Franco, 2003).

En cuanto a la reproducción, se sabe que son lagartijas ovíparas que presentan retención de huevos. La actividad reproductora de las hembras (vitelogenénesis) tiene lugar en primavera (marzo y junio); entre abril y mayo tiene lugar la ovulación y fecundación, mientras que la gestación se da de mayo a julio. La oviposición coincide con la época de mayor precipitación entre los meses de junio y julio (Hernández, 1995; Manríquez, 1995) y puede llegar a producir dos puestas por año (Guillette, 1981). Las hembras de *Sceloporus aeneus* anidan en montículos de tierra fresca hechos por tuzas o en suelo volcánico oscuro entre hierba (Sánchez-Herrera, 1980; Guillette, 1986; Manríquez, 1995). Se ha reportado que el tamaño de la camada va de de 5 a 10 huevos (Manríquez, 1995), los cuales son relativamente pequeños al ovular, miden aproximadamente 4.2 x 3.4 mm al momento de ser puestos y al final del período de incubación casi 10.3 x 6.75 mm (Sánchez-Herrera, 1980, Guillette, 1981; Manríquez, 1995; Gómez-Espejo, 2005).

## IV. HIPÓTESIS

La diferenciación y desarrollo morfológico de las gónadas en la lagartija *Sceloporus aeneus* presenta el mismo patrón descrito para otras especies de vertebrados; sin embargo, el proceso de diferenciación sexual se presenta en una etapa determinada de acuerdo a la duración del desarrollo embrionario.

## V. JUSTIFICACIÓN

El género *Sceloporus* se encuentra ampliamente distribuido y exhibe una gran diversidad biológica en las especies que lo componen, esto se debe en gran medida a la variedad de hábitats que ocupa. Debido a que el conocimiento sobre la diferenciación sexual en reptiles es escasa en comparación con la cantidad de especies que existen, el presente trabajo pretende contribuir al entendimiento de los mecanismos involucrados en los distintos aspectos de la diferenciación y desarrollo sexual en los vertebrados, tomando como modelo a la especie *Sceloporus aeneus* y sentando así una base morfológica que permita diseñar futuras investigaciones donde sean tomados en cuenta los efectos de la temperatura, las hormonas sexuales y la conducta, entre otros.

## VI. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo general

Describir la diferenciación y desarrollo de la gónada en la lagartija ovípara *Sceloporus aeneus*.

### 5.2 Objetivos particulares

- Describir la estructura histológica de la gónada al momento de la oviposición.
- Determinar la duración del período de bipotencialidad sexual de la gónada a partir de la oviposición.
- Precisar el momento de diferenciación de la gónada hacia ovario y testículo respectivamente en el desarrollo embrionario.
- Describir los cambios morfológicos en el ovario y testículo embrionario desde el comienzo de su diferenciación hasta la eclosión.
- Determinar el momento del inicio de la foliculogénesis para el caso del ovario.



## VII. MATERIAL Y MÉTODOS

### 7.1 Zona de colecta

El trabajo de campo se realizó en la localidad de Tres Marías, perteneciente al municipio de Huitzilac, en el estado de Morelos. El municipio de Huitzilac ( $19^{\circ} 00'00''$  y  $19^{\circ}07'20''$  N y  $99^{\circ}10'20''$  y  $99^{\circ}20'00''$  W) se localiza en la parte noroccidental del estado de Morelos, dentro del Eje Neovolcánico. Esta región se caracteriza por lo abrupto de su geofoma, que da origen a una gran concentración montañosa de alturas que fluctúan entre los 2,250 y los 3000 msnm. El clima es templado frío, con lluvias en verano (de julio a octubre). La temperatura media anual es de  $11.3^{\circ}$  C y la precipitación promedio anual es de 1500 mm. Según la clasificación de Miranda y Hernández (1963), la vegetación está compuesta por bosques de diferentes especies como el oyamel, el pino, el encino, el haile, el cedro y el roble.

### 7.2 Material biológico

Los embriones utilizados en este estudio fueron obtenidos previamente de la siguiente manera: entre los meses de mayo y junio del 2006, 2007 y 2008, se colectaron manualmente y con una vara con lazada (ver apéndice 13.1), lagartijas grávidas (reconocibles por tener un abdomen abultado y con pequeños “chipotes”) de la especie *Sceloporus aeneus* (n=14). En cada uno de los años, las hembras colectadas fueron colocadas en terrarios con tierra y pastos de su lugar de origen con condiciones de temperatura (aproximadamente  $28^{\circ}$  C durante el día) y humedad similares a las de su hábitat natural. Se alimentaron con grillos y gusanos de seda y se esperó a que ovipositaran. Cuatro de las hembras murieron sin haber ovipositado, por lo que estos huevos no fueron tomados en cuenta para el estudio; sin embargo, se les retiraron para su posterior análisis, mientras que las hembras adultas restantes fueron liberadas en el sitio de colecta.

De cada una de las puestas (una de cada hembra) se tomó al azar un huevo al momento de la oviposición; éstos se colocaron en un frasco con cloroformo durante 10 minutos y se fijaron con Bouin o formol al 10% neutro. Los huevos restantes fueron incubados en condiciones semi-naturales a temperatura ambiente (aproximadamente de  $28-30^{\circ}$  C durante el día y  $23^{\circ}$  C durante la noche) y cada semana se sacrificó uno (de cada puesta) de la forma antes descrita. Al momento del nacimiento se sacrificaron 6 crías y el resto se mantuvieron en cautiverio (n=15). Debido a que los neonatos eran muy delicados,

fueron muriendo en diferentes días, por lo que se fijaron de inmediato y se registro la edad aproximada de cada cría (en días posteclosión).

### **7.3 Caracterización de los embriones**

El cascarón fue retirado de modo que los embriones fijados quedaran expuestos. Todos los embriones fueron examinados con un microscopio estereoscópico y se clasificaron en estadios (incluso los de las hembras muertas) principalmente con base en caracteres morfológicos externos de acuerdo a la tabla de desarrollo embrionario de *Lacerta vivipara* (Dufaure y Hubert, 1961), que es la más utilizada para estudios de desarrollo embrionario en lagartijas. Las características tomadas en cuenta fueron: el desarrollo de las extremidades, los ojos, la presencia o ausencia de escamas, las vesículas cerebrales, el oído, etc. (ver apéndice 13.2). Los embriones que presentaban características de dos estadios distintos, fueron clasificados por separado con ambos números (por ejemplo: 30-31, 35-36, etc.).

### **7.4 Histología**

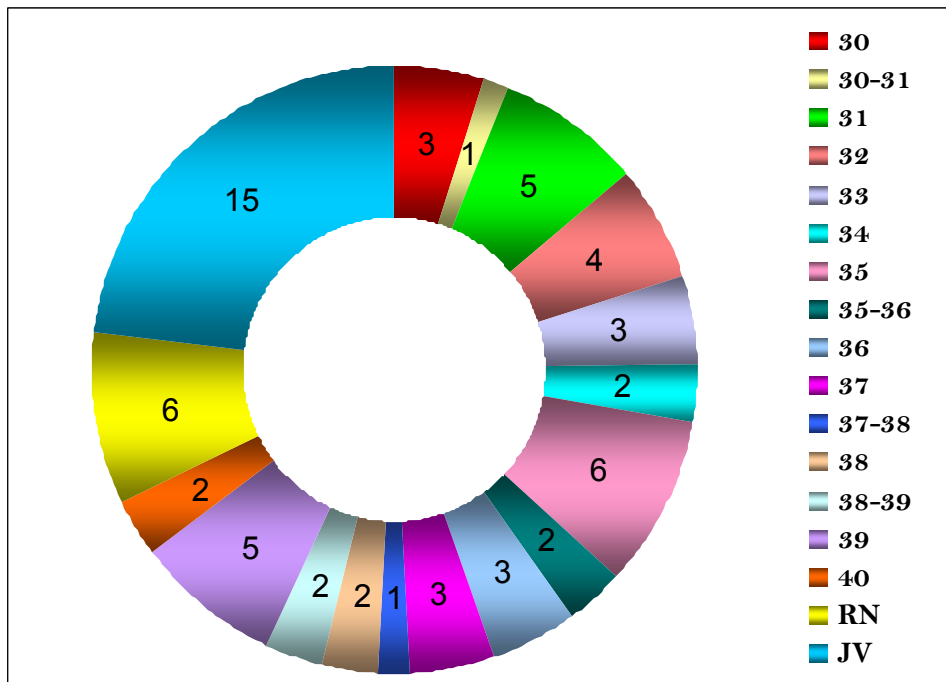
Los embriones ya clasificados se decapitaron por debajo de las extremidades anteriores y la parte de la cabeza se guardó. En el caso de los embriones de estadios avanzados (39, 40 y recién nacidos) que ya poseían escamas, se les retiró la piel con unas pinzas de punta fina. A los ejemplares de días posteclosión se les practicó una disección, de tal manera que se extrajeron los restos del riñón mesonéfrico y las gónadas, las cuales fueron colocadas en fijador (bouin). Las muestras se lavaron con agua corriente durante un día y posteriormente se utilizó la técnica histológica para microscopía óptica convencional (ver apéndice 13.3 para mayor detalle): la muestra se deshidrató durante 20 a 50 minutos (dependiendo del tamaño del tejido) en alcoholes de gradación creciente (de 30° hasta absoluto), se aclararon en xilol y después en una mezcla de parafina-xilol durante un tiempo similar, finalmente se incluyó en parafina. Se obtuvieron cortes transversales de 5 µm que fueron extendidos en portaobjetos y montados con gelatina. Los cortes se tiñeron con técnicas alternadas: hematoxilina de Gill-eosina, azul alciano-rojo núcleo resistente (azul-rojo), Wood, tricrómica de Masson y tricrómica de Mallory (ver apéndice 13.4).

## **7.5 Análisis histológico de las gónadas**

Los cortes teñidos se observaron en microscopio óptico y se seleccionaron las muestras con cortes de gónada. Se realizó un análisis cualitativo de la gónada con base en su arreglo histológico y se describieron sus características al momento de la oviposición, así como los cambios ocurridos durante su diferenciación y desarrollo en los distintos estadios embrionarios en el ovario y testículo respectivamente, al eclosionar y días después del nacimiento (posteclosión). Finalmente, se seleccionaron las imágenes más representativas de la diferenciación y desarrollo gonadal.

## VIII. RESULTADOS

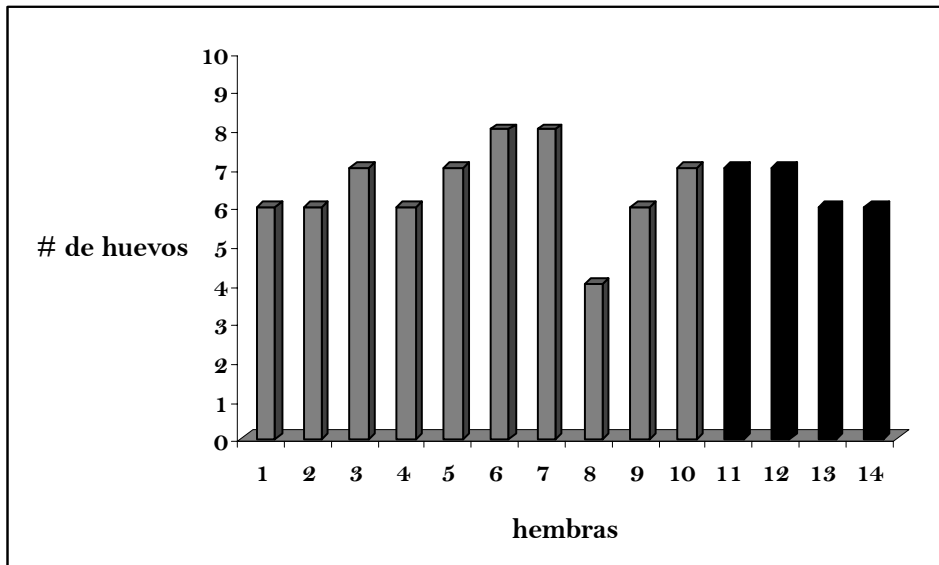
Se obtuvo un total de 91 huevos de 14 hembras, de los cuales sólo 65 fueron tomados en cuenta para este estudio: 15 corresponden a crías de distintos días de nacidos (posteclosión) y 50 a embriones y recién nacidos (Fig. 9). De los 26 huevos restantes pertenecientes a las hembras muertas (n=4) que se analizaron, se determinó que se encontraban en estadios embrionarios previos o muy cercanos a la oviposición: estadio 27(n=1), 30 (n=14) y 31(n=11). Se observó que dentro de una misma hembra se pueden encontrar huevos con embriones en diferentes estadios, lo que indica que no todos los huevos son puestos en las mismas condiciones de desarrollo. La puesta de los huevos ocurrió en el mes de junio y la eclosión de las crías en el mes de agosto para todas las hembras en los distintos años de captura.



**Fig. 9.** Distribución del número de individuos obtenidos por cada estadio de desarrollo embrionario, recién nacidos (RN) y crías posteclosión (JV).

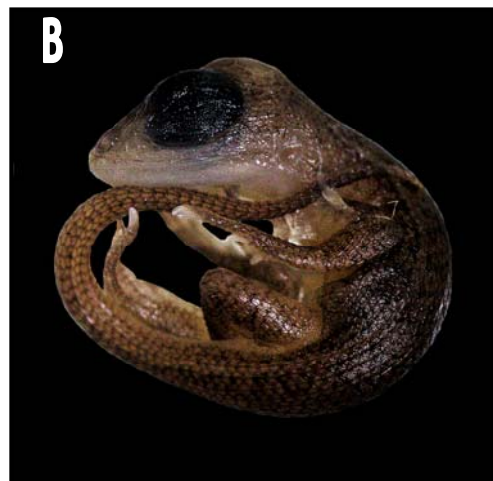
### 8.1 Tamaño de la nidada y período de incubación

La puesta por hembra fue de 4 a 8 huevos, con un tamaño promedio de la nidada de 6.5 huevos. A continuación se presenta una gráfica con el número de huevos por hembra (Fig. 10)



**Fig. 10.** Número de huevos puestos por cada una de las hembras: en negro las hembras muertas y en gris las hembras tomadas en cuenta para el estudio con sus respectivos huevos.

Los embriones de *Sceloporus aeneus* se desarrollan dentro del oviducto hasta el estadio 29 o 30 justo antes de la oviposición, la cual ocurre entre los estadios embrionarios 30 y 31 (Fig. 11A); el intervalo de incubación en este estudio fue de 51-60 días a una temperatura de 25-30° C en el día y 23° C durante la noche. La duración de cada estadio embrionario fue variable y está muy influenciado por las condiciones ambientales, siendo más rápido el desarrollo de los embriones a temperaturas y humedad constantes. La eclosión de las crías se presentó en el estadio 40 (Fig. 11B).



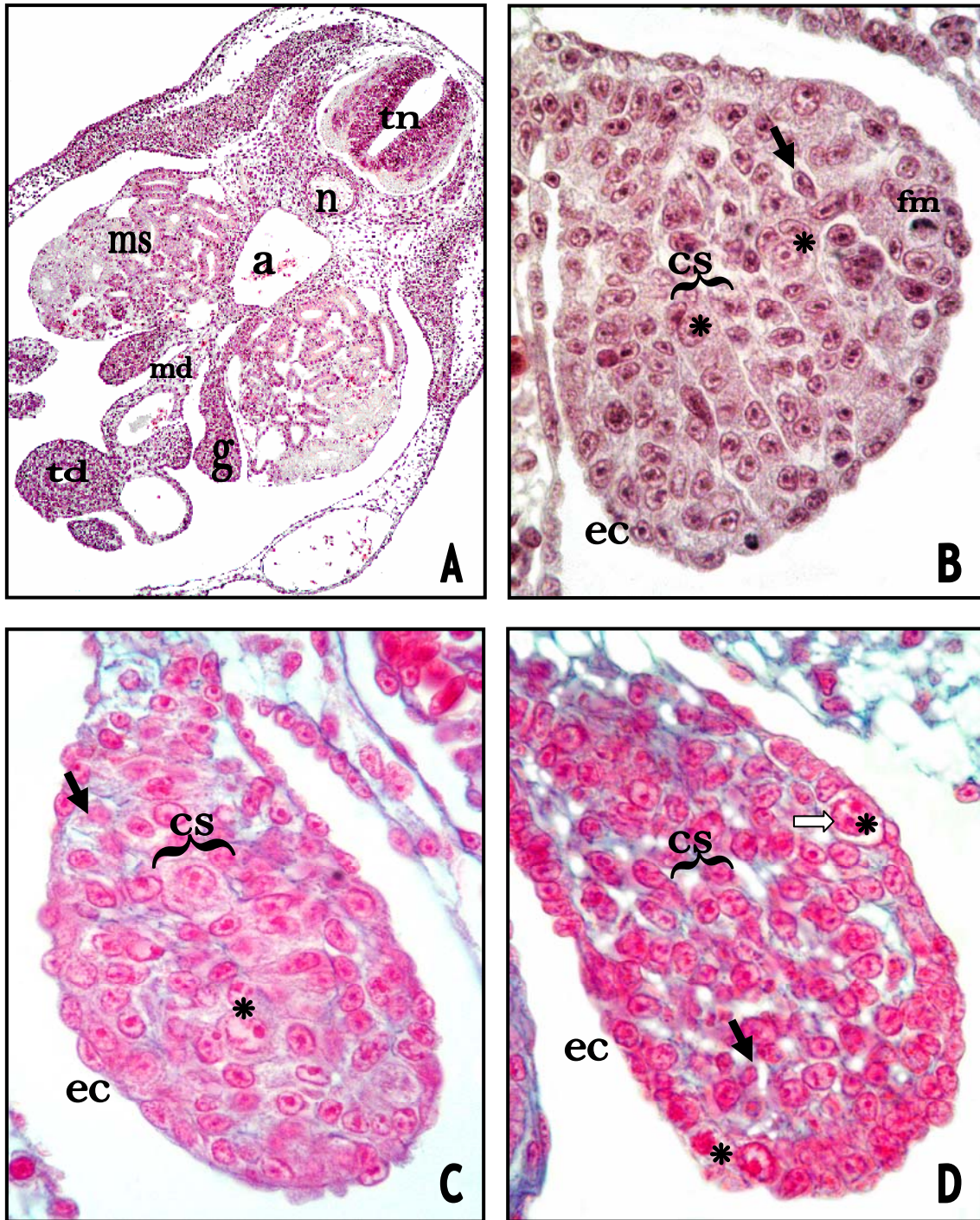
**Fig. 11.** Embriones de *Sceloporus aeneus*. **A)** estadio 31 al momento de la oviposición y **B)** estadio 40 antes de la eclosión.

## 8.2 Descripción de la gónada indiferenciada

Al momento de la oviposición (estadio 30-31) las gónadas se presentan como estructuras pares situadas a ambos lados del mesenterio dorsal, en la cavidad celómica del embrión. Las gónadas emergen en la superficie ventromedial de los mesonefros, están bien desarrolladas y tienen una apariencia ovalada (Fig. 12A). En su superficie se encuentran revestidas por un epitelio simple de células cúbicas (epitelio celómico) que proporciona una fuente de células para la gónada en crecimiento. En su interior se observan células germinales y células epiteliales rodeadas de una fina membrana basal estructurando los cordones sexuales (Fig. 12B). El espacio intersticial consta principalmente de células mesenquimáticas. Durante los estadios subsecuentes (32-33) la gónada conserva una estructura similar sin presentar grandes cambios (Fig. 12C), pero muestra un aumento en el número de células germinales, las cuales presentan un núcleo con uno o dos nucléolos (Fig. 12D). A partir del estadio 33 se observa una clara regionalización de la gónada embrionaria en dos zonas: corteza y médula. Se incrementa el grosor de la zona cortical; sin embargo, existe una persistencia de los cordones medulares que ahora se encuentran separados de los cordones presentes en la corteza. (Fig. 13A). Durante toda esta etapa es común la proliferación celular, en especial en las células germinales (Fig. 12B).

En el período indiferenciado de la gónada se observan frecuentemente células germinales aisladas o en pequeños grupos en el mesenterio dorsal cerca de su unión con la gónada, las cuales probablemente indican la ruta seguida por las CGPs durante su migración hacia las crestas gonadales (Fig. 13A). También se puede observar una relación estrecha entre la gónada y los mesonefros adyacentes (en especial con los corpúsculos renales), por la existencia de cordones celulares que están en contacto con estos últimos y que penetran al interior de la gónada en crecimiento (Fig. 13A).

La duración del período indiferenciado es breve a partir de la oviposición (estadio 30 al 33), y presenta un claro momento de “bipotencialidad sexual” en el estadio 33, durante el cual existen dos regiones histológicas en la gónada: una corteza externa y una médula interna. Después de este período es posible distinguir al presunto ovario o testículo con base en el arreglo y desarrollo relativo de la corteza o de la médula respectivamente.



**Fig. 12.** Gónadas de *S. aeneus* en etapa indiferenciada. (A). Corte transversal de un embrión estadio 30. Se observan las gónadas embrionarias (g) en relación a las estructuras internas: tubo neural (tn), notocorda (n), aorta (a), mesonefros (ms), mesenterio dorsal (md) y tubo digestivo (td). (B). Gónada indiferenciada estadio 30; (C) gónada indiferenciada estadio 31 y (D) gónada indiferenciada estadio 32. Se observa el epitelio de revestimiento (ec) y la estructura interna de la gónada: células germinales (\*), algunas con dos nucléolos (⇒), células somáticas (➤), cordones sexuales (cs) y figuras mitóticas (fm). Hematoxilina-Eosina 100x (A) y 1000x (B) y Azul-Rojo 400x (C y D).

### 8.3 Diferenciación y desarrollo temprano del ovario

La diferenciación sexual de la gónada hacia ovario ocurre en el estadio 34 con la proliferación y engrosamiento de la zona cortical y el desarrollo de una fina capa de tejido conjuntivo que separa la médula indiferenciada de la corteza en desarrollo. En esta etapa no hay un cambio considerable en el tamaño de la gónada con respecto al estadio anterior; sin embargo, la corteza ahora tiene un espesor de 3 capas de células en su porción más gruesa. Entre estas numerosas células somáticas se ubican algunas ovogonias (que generalmente aparecen en pequeños grupos) en mitosis, caracterizadas por su gran tamaño, forma oval, un citoplasma que se tiñe claro y un núcleo con un solo nucléolo (Fig. 13B). En la corteza es posible observar también ovocitos tempranos, los cuales son de mayor tamaño que las ovogonias, de forma oval a redonda, un núcleo de gran tamaño y con citoplasma claro. Estos ovocitos tempranos no se encuentran rodeados aún por células foliculares (células granulosa) (Fig. 13B). En la región central (médula) se observan fibras de tejido conjuntivo, células somáticas (Fig. 13B) y la persistencia de escasas células germinales.

En el estadio 35, el ovario en diferenciación continúa con la proliferación del epitelio cortical y aumenta su grosor de 3 a 4 capas de células, aunque en algunas regiones (principalmente donde se presenta la mayor cantidad de ovogonias y ovocitos) el espesor suele ser menor. El tejido conjuntivo que separa la corteza de la médula se vuelve más evidente y son más frecuentes los ovocitos desnudos. Desde el estadio anterior, pero haciéndose más evidente en este estadio, se observan pequeños grupos de ovogonias y ovocitos distribuidos en la zona dorsal (cerca de su unión con los mesonefros) además de los presentes en la corteza (Fig. 13C y D). La médula ha detenido su desarrollo y comienza a degenerar dando paso a un tejido más laxo en el que se observan gran cantidad de fibras de tejido conjuntivo y células somáticas como fibroblastos (Fig. 13D).

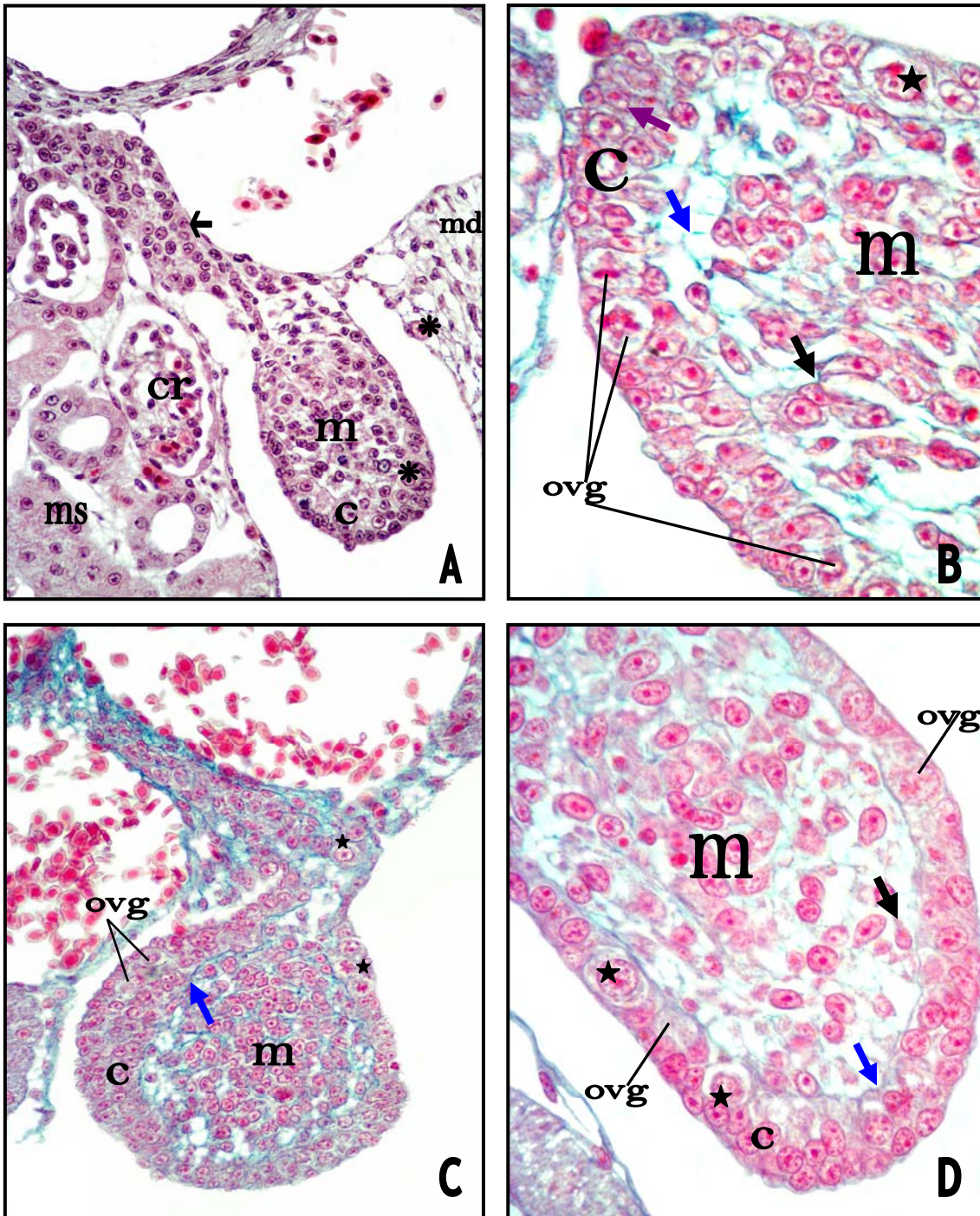
En los embriones en estadios 36 y 37 el ovario incrementa un poco en tamaño y la zona cortical aumenta su espesor a 5 o 6 capas de células en su porción más gruesa. Es posible distinguir dentro de la corteza dos áreas principales de ubicación de las ovogonias y ovocitos: una en la parte dorsal (cerca de la unión del ovario embrionario con el mesonefros) y en la parte ventral del ovario. Se observan aún las redes de cordones celulares que están en contacto con los corpúsculos renales del mesonefros y penetran en la parte más posterior del ovario embrionario (Fig. 14A).



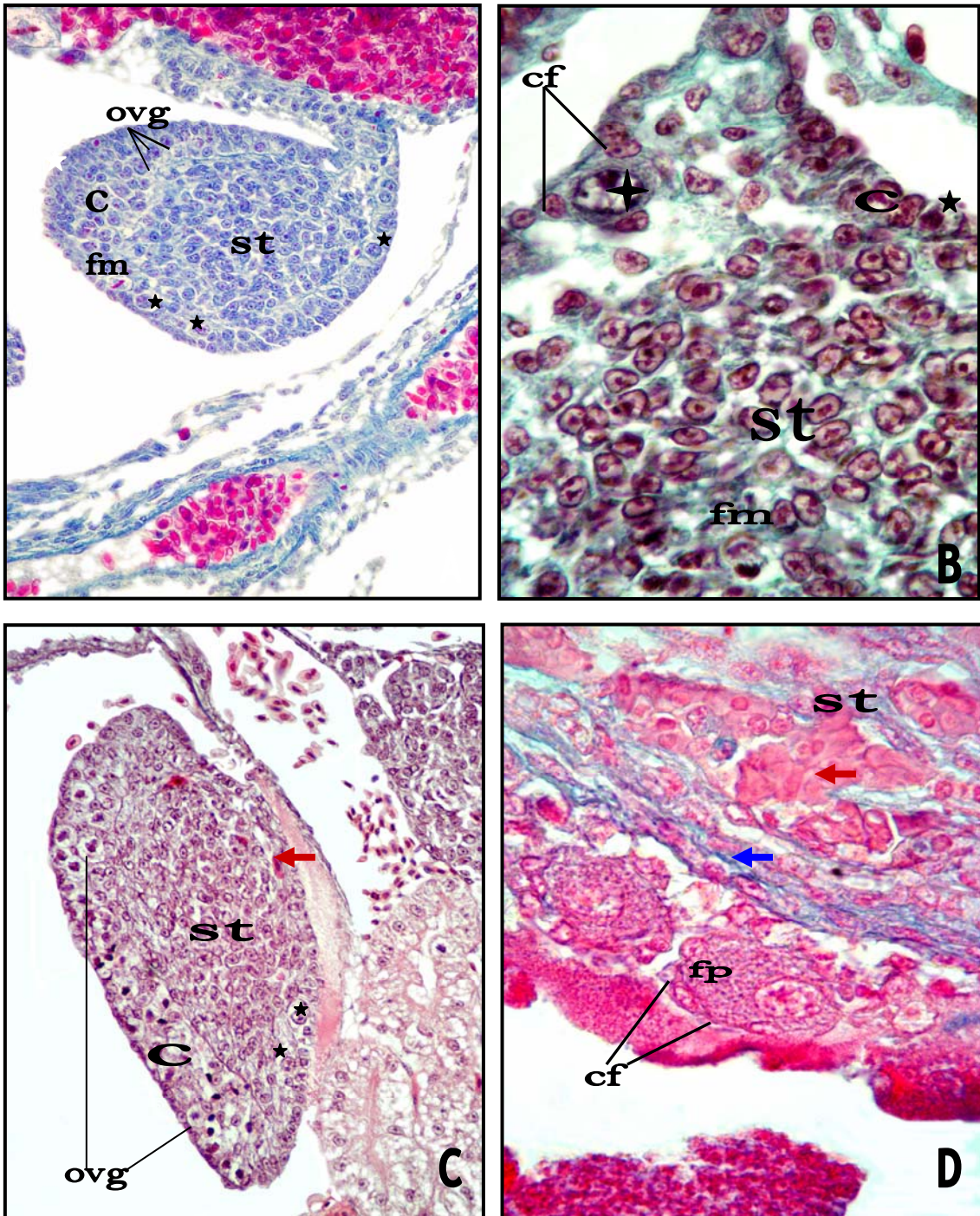
En embriones del estadio 38 el grosor de la corteza del ovario prácticamente no ha cambiado en comparación con el estadio anterior. Es posible observar en la zona dorsal y ventral del ovario, ovogonias (aunque en menor cantidad) y ovocitos en diferentes subfases de la profase I de la meiosis, algunos han comenzado a entrar en contacto con células foliculares (Fig. 14B). En este punto del desarrollo, el compartimiento de la corteza es claramente distinguible del de la médula, por la presencia de fibras de tejido conjuntivo y debido a que esta última ha adquirido casi por completo la conformación de estroma. En el interior de la médula pueden observarse células somáticas en proliferación (Fig. 14B) y vasos sanguíneos.

Durante los estadios embrionarios 39- 40 y en los recién nacidos, se observa un ligero incremento en el tamaño del ovario acompañado por la regresión y por tanto la pérdida de talla de los mesonefros adyacentes. A la par de estos eventos, una nueva estructura anatómica observada en estados anteriores no bien definida, ahora se hace evidente: la glándula adrenal. La vascularización del ovario se ha incrementado gradualmente a partir de estadios más tempranos, siendo en esta etapa muy abundante. La médula ha adquirido la conformación de estroma y se encuentra bien delimitada por fibras de tejido conjuntivo. Se observan varias ovogonias y ovocitos en la corteza ovárica (Fig. 14C). A partir de este momento el ovario ya posee su configuración cortical y medular definitiva, ya que los nidos de ovogonias y ovocitos observados probablemente darán lugar a los dos lechos germinales propios de esta especie. Por otro lado, los cordones celulares que conectaban a los mesonefros con las gónadas han desaparecido (Fig. 14C).

En el día 42 posteclosión, se observan folículos primordiales en la corteza del ovario: los ovocitos se presentan con un drástico incremento de sus componentes celulares, el ovoplasma tiene una apariencia granular, mientras que el núcleo es grande y se encuentra generalmente excéntrico. Cada uno de los folículos primordiales se encuentra rodeado una capa simple de células foliculares que van de cúbicas a escamosas. Por otro lado, se observa el epitelio de revestimiento del ovario y una túnica albugínea compuesta por fibras de tejido conjuntivo que separa el estroma (con numerosos vasos sanguíneos) de la corteza ovárica (Fig. 14D). Hasta este punto no se observa la presencia de la teca interna ni externa.



**Fig. 13.** Gónada embrionaria de *S. aeneus*. (A). Gónada indiferenciada (bipotencial) estadio 33. Se observa la regionalización de la gónada en: corteza (c) y médula (m), células germinales (\*), algunas en el mesenterio dorsal (md), cordones celulares (←) en relación con la gónada y el mesonefros (ms) y corpúsculos renales (cr). (B). Ovario en diferenciación estadio 34; (C) ovario en diferenciación estadio 35 y (D) detalle de un ovario en diferenciación estadio 35. Se observa el engrosamiento de la zona cortical, pequeños grupos de ovogonias (ovg), ovocitos tempranos (★) en la corteza ovárica, células epiteliales (▶) presentes en la corteza y fibroblastos en la médula (▶), la cual está adquiriendo la conformación de estroma ovárico y fibras de tejido conjuntivo (▶). Hematoxilina-eosina 400x (A), Azul-Rojo 1000x (B) y 400x (C) y Wood 400x (D).



**Fig. 14.** Ovario de *S. aeneus*. (A). Ovario embrionario estadio 38; (B) detalle de un ovario embrionario estadio 38; (C) ovario embrionario estadio 39 y (D) detalle de un ovario de 42 días posteclosión. Se observan ovogonias (**ovg**) en la corteza ovárica, ovocitos desnudos (★), ovocitos tempranos (◆) en contacto con algunas células foliculares (**cf**) y folículos primordiales (**fp**) rodeados por una capa simple de células foliculares. En la médula es posible observar una apariencia de estroma (**st**), células somáticas en mitosis (**fm**), algunos vasos sanguíneos (▶) y fibras de tejido conjuntivo (▶). Tricrómica de Masson 400x (A) 1000X (B), Hematoxilina-Eosina 400x (C) y Azul-Rojo 1000x (D).

## 8.4 Diferenciación y desarrollo temprano del testículo

La diferenciación de la gónada hacia testículo comienza en el estadio 34 y se caracteriza por el inicio de la formación de los cordones testiculares en la médula y la rápida regresión de la zona cortical, la cual degenera hasta ser una capa simple de células cúbicas, aunque en algunas porciones se observan pequeños remanentes (Fig. 15A). Durante este estadio de desarrollo es posible observar células germinales en la parte medular, no obstante algunas de estas células se encuentran aún presentes en la parte marginal de la gónada (Fig. 15A). Es posible distinguir una red de cordones celulares en donde se mezclan células somáticas con células germinales (similar al del ovario embrionario) saliendo de los mesonefros (cerca de los corpúsculos renales) y penetrando al testículo embrionario en su porción más dorsal (Fig. 15A). Estos cordones celulares muestran actividad mitótica. Al interior del testículo en desarrollo se observan pocos cordones testiculares ya formados y una gran cantidad de células somáticas en la médula, las cuales tienen una apariencia muy similar, por lo que no es posible distinguir aún los diferentes tipos celulares (Fig. 15A).

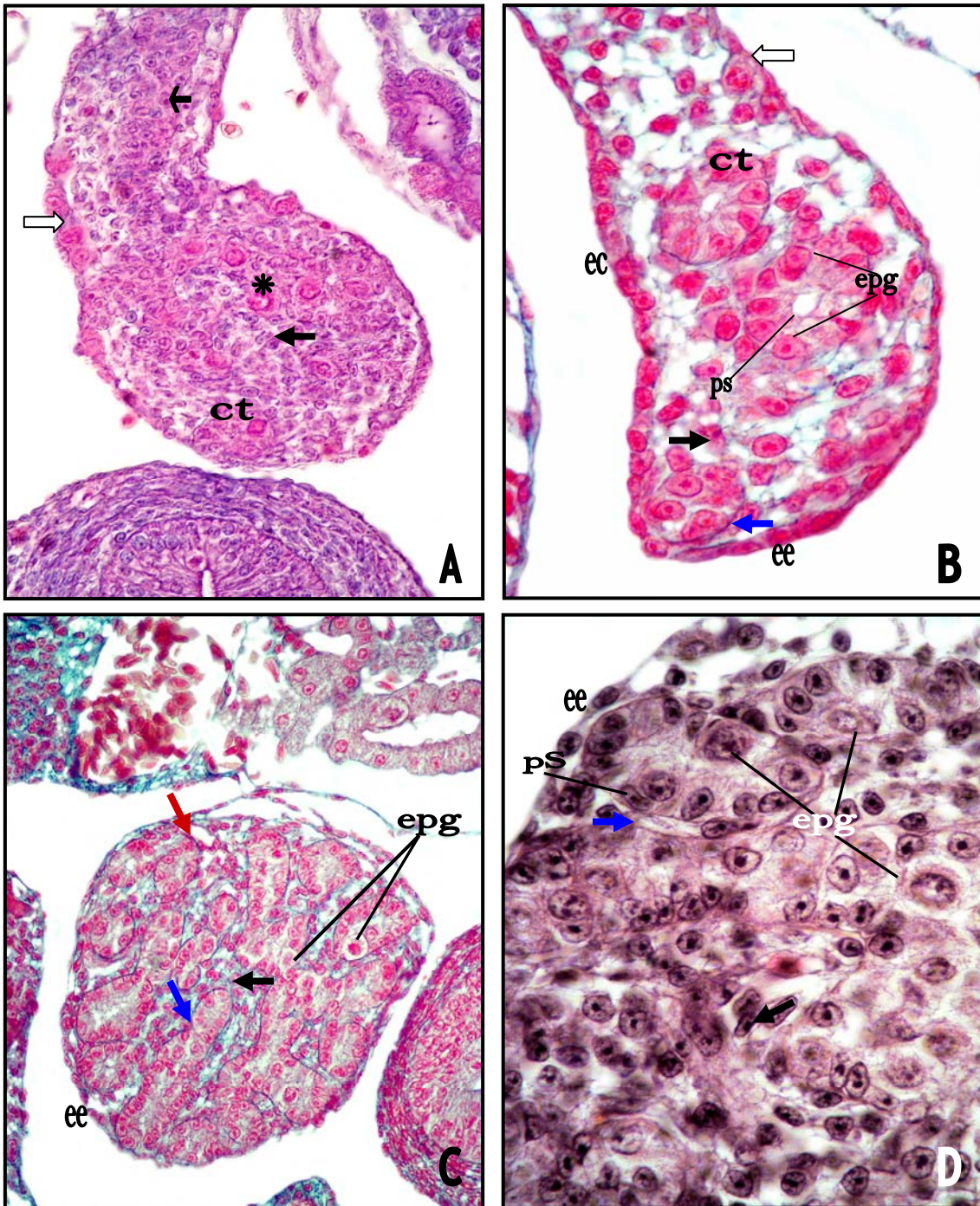
En el estadio 35 se observa un mayor número cordones testiculares completamente formados dentro de la médula y en los cortes más periféricos del testículo embrionario es posible observar cordones testiculares con una pequeña luz (Fig. 15B), no obstante, en la parte central del testículo en formación, estos cordones no presentan luz. El epitelio de cada cordón o tubo testicular está integrado por espermatogonias y células somáticas del tipo pre-Sertoli con una evidente lámina basal delimitándolos (Fig. 15B). El espacio intersticial consta de células mesenquimáticas. Por otro lado, en la periferia se observan células germinales escasas o nulas. El epitelio que delimita el testículo en diferenciación consta de una capa simple de células que en algunas porciones se observan cúbicas y en otras escamosas (Fig. 15B). Al igual que en el ovario temprano, la actividad mitótica es muy frecuente en los distintos tipos celulares y en especial en las espermatogonias.

A partir del estadio 36 puede observarse un mayor número de cordones testiculares completamente formados, delimitados por una lámina basal que separa claramente el espacio intersticial del cordón (Fig. 15C y D). Al interior de cada cordón o tubo se distinguen las espermatogonias y entre ellas las células de pre-Sertoli, las cuales son de forma irregular con núcleo central y se encuentran en contacto con la lámina basal

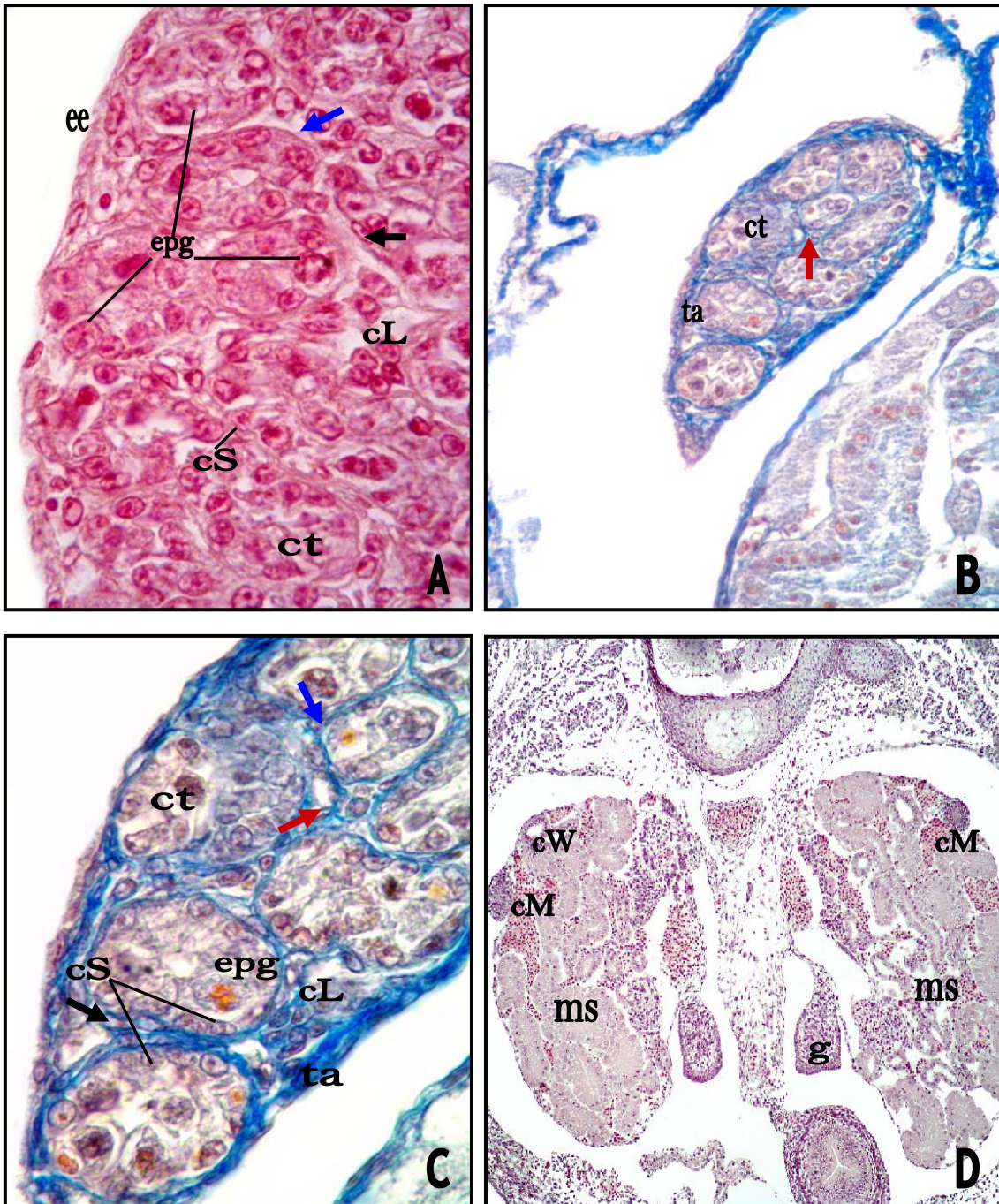
(Fig. 15D). En el espacio intersticial aparecen vasos sanguíneos, que generalmente son más abundantes en la parte periférica, entre el epitelio de revestimiento y el resto del testículo embrionario (Fig. 15C). Este epitelio consta de una capa de células planas de tipo escamoso que envuelven al testículo en su totalidad. (Fig. 15C y D). A partir de este estadio, los cordones celulares que estaban en contacto con los corpúsculos renales han desaparecido (Fig.15C)

Durante los estadios 37 y 38 el testículo presenta una apariencia similar a la observada en estadios anteriores. Los cordones testiculares son abundantes y se encuentran más compactos en la porción central del testículo en relación con la periferia, en donde se observan más separados entre sí. Dentro de los cordones las espermatogonias son frecuentes y las células de Sertoli (en contacto con la lámina basal del cordón testicular) son reconocibles a partir del estadio 37. Poseen una morfología oval o redonda y presentan un núcleo de forma irregular (Fig. 16A). A partir del estadio 38, en el intersticio se observan pequeños grupos de células somáticas poliédricas cercanas a vasos sanguíneos (células de Leydig), otras de tipo somático de forma plana adyacentes a la lámina basal (futuras células miodes) y las células de tejido conjuntivo (Fig. 16A). La vasculatura es abundante en todo el testículo.

En los estadios 39 y 40 y en las crías recién nacidas, los cordones testiculares se encuentran como densos paquetes en la parte central del testículo y en la periferia algunos cordones siguen presentando una pequeña luz central (Fig. 16B y C). Cada cordón está formado por espermatogonias (que hasta este punto no han entrado a la meiosis) y numerosas células de Sertoli en contacto con la lámina basal (Fig. 16C). En el intersticio testicular de las crías recién nacidas pueden observarse más claramente pequeños grupos de células de Leydig ubicados cerca de vasos sanguíneos, células somáticas de forma alargada alrededor de cada cordón testicular (células miodes aún no bien diferenciadas) y abundantes vasos sanguíneos (Fig. 16C). La túnica albugínea se observa completamente formada al momento de la eclosión y se presenta como una capa gruesa de fibras de tejido conjuntivo (Fig. 16B y C). Por otro lado, los mesonefros adyacentes se observan en regresión y han disminuido drásticamente en tamaño, no obstante, días después de la eclosión aún se encuentran presentes.



**Fig. 15.** Diferenciación temprana del testículo en *S. aeneus*. (A). Testículo embrionario estadio 34; (B) testículo embrionario estadio 35; (C) testículo embrionario estadio 36 y (D) detalle de un testículo embrionario estadio 36. Se observan células germinales (\*); cordones testiculares (ct), algunos con una pequeña luz central, en su interior espermatogonias (epg) y células somáticas de tipo pre-Sertoli (ps). Entre cada cordón se observan células mesenquimáticas (→) y vasos sanguíneos (→). Nótese la lámina basal (→), remanentes de corteza con células germinales en los estadios más tempranos (⇨) y la transformación del epitelio de revestimiento de cúbico (ec) a escamoso (ee). Wood 400x (A), Azul-Rojo 400x (B y C) y Hematoxilina-Eosina 1000x (D).



**Fig. 16.** Testículo embrionario de *S. aeneus*. (A). Detalle de un testículo embrionario estadio 38; (B) testículo de un recién nacido y (C) detalle del testículo de un recién nacido. Se observan los cordones testiculares (ct) integrados por espermatogonias (epg) y células de Sertoli (cS). En el intersticio las células de Leydig (cL), vasos sanguíneos (→) y algunas células planas (↘) alrededor de los cordones testiculares. En el exterior se observa un epitelio de tipo plano escamoso (ee) que posteriormente da lugar a la túnica albugínea (ta). (D). Corte transversal de un embrión hembra estadio 39. Se observa la ubicación de los conductos de Wolff (cW) y de Müller (cM) en relación con los órganos internos: mesonefros (ms) y gónadas (g). Hematoxilina-Eosina 1000x (A) y 100x (D) y Tricrómica de Mallory 400X (B) y 1000x (C).

## **8.5 Conductos de Müller y de Wolff en embriones con gónada indiferenciada**

Los conductos de Wolff y de Müller coexisten casi desde el momento de la oviposición y mantienen una estrecha relación con los mesonefros y con las gónadas en desarrollo, ya que estos conductos posteriormente darán lugar a los sistemas de conductos sexuales femeninos y masculinos respectivamente (Fig. 16D). Al momento de la oviposición (estadio 30) los conductos de Müller o paramesonéfricos no están presentes, a diferencia de los conductos de Wolff o mesonéfricos, los cuales se observan desarrollados. A partir del estadio 31 los conductos de Müller se presentan como un engrosamiento del epitelio celómico en la parte dorsolateral del mesonefros (por fuera de este) cercanos a los conductos de Wolff (Fig. 17A). En el estadio 32 se inicia la invaginación del epitelio celómico lateral que formará el conducto paramesonéfrico a ambos lados del mesonefros y es hasta el estadio 33 que comienza a ser evidente. En este punto el conducto presenta una forma elíptica y consiste en una pequeña masa de células mesenquimáticas sin polaridad ni presencia de luz (Fig. 17A). En su región caudal se encuentra en contacto con el conducto de Wolff, el cual se ubica en la parte lateral periférica de cada uno de los mesonefros (Fig. 17B). Los conductos de Wolff tienen una forma que va de circular a ovalada, con una luz bien definida. Están formados por un epitelio columnar con núcleos centrales rodeados por una membrana basal y en su exterior se encuentran revestidos por mesotelio (Fig. 17A y B).

## **8.6 Conductos de Müller en hembras**

A partir del estadio 34 y hasta la eclosión, el conducto de Müller en los embriones hembras se desarrolla. Presenta una forma ovalada o elíptica desde la región más cefálica hasta la más caudal, en esta última porción pierde el contacto observado anteriormente con los conductos de Wolff. Durante los estadios 34 a 36, se observan en el centro células desarregladas con gran actividad mitótica lo que le da la apariencia de epitelio pseudoestratificado, además se encuentra rodeado por varias capas de mesénquima, lo que le da un grosor aproximado de 4 a 5 células (Fig. 17C). En su interior aparece una pequeña luz en ocasiones no tan definida. En el exterior se encuentra revestido por mesotelio. En los estadios siguientes (37 en adelante) y en los recién nacidos su forma es más elíptica y presenta una luz más amplia. Es posible observar una pequeña protuberancia en la parte opuesta a su unión con el mesonefros (Fig. 17D y 18B). El epitelio ahora se observa columnar simple bajo o cúbico con



núcleos basales, la luz es mucho más amplia con respecto a la observada en estadios más tempranos y bien definida, el número de capas de mesénquima que lo rodean es muy similar al observado anteriormente (Fig. 17D). Al momento de la eclosión, las capas de mesénquima que se encontraban envolviéndolo son gradualmente reemplazadas por tejido conjuntivo. Es evidente una mayor amplitud del lumen en la región cefálica con respecto a la región caudal.

### **8.7 Conductos de Wolff en hembras**

En los estadios 34 al 36 los conductos de Wolff se observan bien definidos, presentan una forma circular desde la región cefálica hasta la región caudal y están integrados por células columnares altas que muestran una marcada polaridad alrededor de una luz amplia y bien definida (Fig. 18A). Se encuentran delimitados por una membrana basal completa y están revestidos por mesotelio. A partir del estadio 37 se observan los primeros indicios de la regresión en la porción más cefálica y caudal del conducto, la cual inicia con una lenta obliteración que se prolonga hasta después de la eclosión, lo que hace cambiar su forma pasando de circular a elíptica, al mismo tiempo se observa una considerable pérdida de tamaño. A partir del estadio 39 las células epiteliales pasan de columnares a cúbicas en las porciones caudal y cefálica. A la par de estos eventos se presenta un ligero desarreglo celular con respecto al observado anteriormente. En el interior del conducto es posible observar un pequeño lumen presente hasta después de la eclosión. Asimismo se da un drástico decremento en su tamaño, por lo que se observa muy disminuido en comparación con el conducto de Müller ahora bien desarrollado (Fig. 18B).

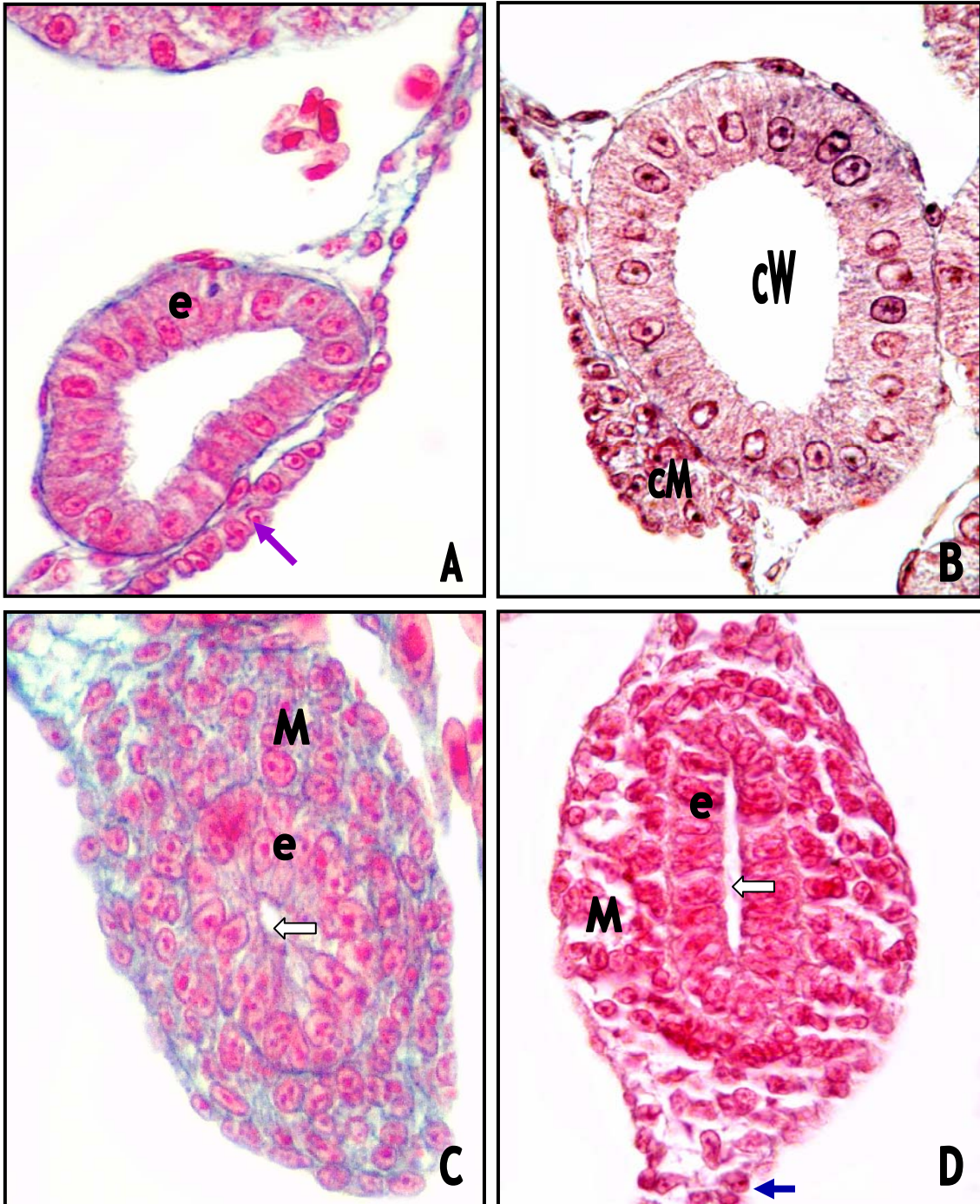
### **8.8 Conductos de Müller en machos**

Durante los estadios 34 al 36 el conducto de Müller se observa en la misma posición y con características morfológicas e histológicas similares a los embriones hembras de la misma edad en su región cefálica y caudal (Fig. 18C). A partir del estadio 37 los primeros signos de regresión aparecen, se inicia con la pérdida de células epiteliales y la compactación del mesénquima que rodea el conducto. Este proceso es más evidente en el extremo caudal, pero también en el cefálico. En estas porciones la luz desaparece dando lugar a cordones celulares que progresivamente aparecen sin células epiteliales cúbicas. En estadios más avanzados, en algunas porciones de la región central raramente es posible observar una pequeña luz. La pérdida de tamaño del conducto de

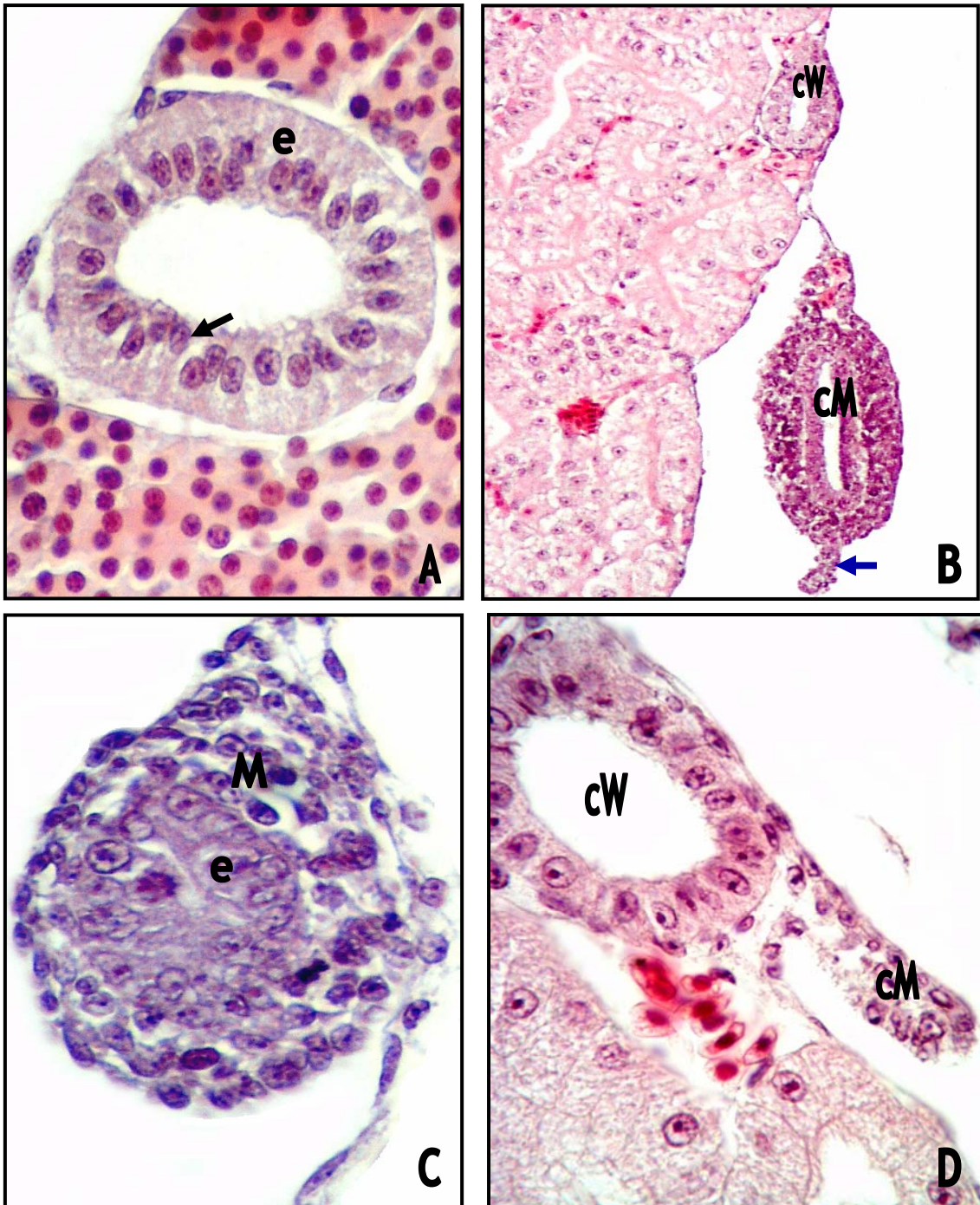
Müller se hace evidente, de tal manera que tiene la apariencia de una pequeña masa celular muy similar a la observada en las etapas indiferenciadas del embrión (Fig. 18D). En las crías recién nacidas a veces se observa una pequeña reminiscencia

### **8.9 Conductos de Wolff en machos**

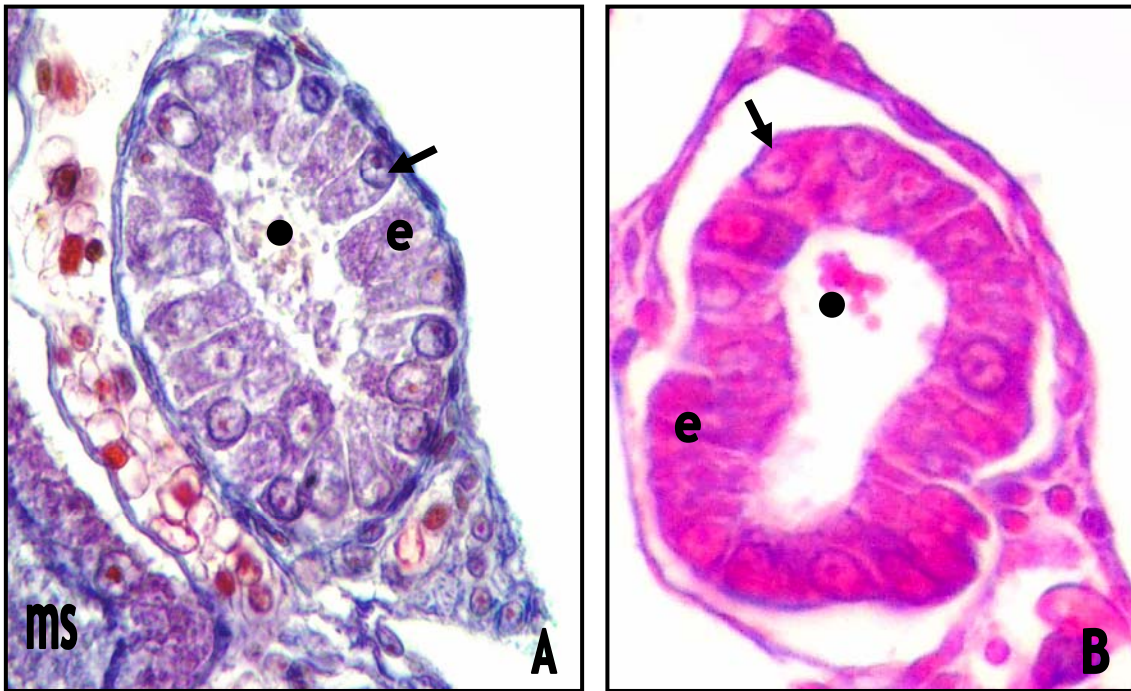
A partir del estadio 34 hasta el momento de la eclosión, los conductos de Wolff se desarrollan. Durante los estadios embrionarios 34 al 36 los conductos de Wolff mantienen una estructura muy similar a la observada en hembras de la misma edad, es decir, una forma más o menos circular, un epitelio columnar alto con núcleos apicales y una membrana basal bien formada a lo largo del conducto. En los machos estadio embrionario 37 no se presentan cambios morfológicos significativos a diferencia de lo ocurrido en las hembras de la misma edad. Al igual que el conducto de Müller, el conducto de Wolff se encuentra rodeado por mesénquima aunque mucho más compacto. En los estadios siguientes se observa un ligero decremento en su tamaño que se da a la par con la regresión de los mesonefros, los núcleos de las células epiteliales dejan de mostrar polaridad hacia el lumen y lentamente cambian su posición hasta quedar basales (Fig. 19A y B). En la luz de los conductos es posible observar material amorfo a partir del estadio 40, siendo más abundante en los recién nacidos y en las crías de mayor edad (Fig. 19A y B). Los conductos de Wolff continúan presentes en el embrión sin mostrar grandes cambios morfológicos o histológicos hasta después de la eclosión. Posteriormente darán lugar al sistema de conductos sexuales masculinos.



**Fig. 17.** Conducto de Wolff y de Müller en *S. aeneus*. (A). Conducto de Wolff en un embrión estadio 31. Se observa con un epitelio columnar (e), en contacto con él un engrosamiento del epitelio celómico lateral que dará lugar al conducto de Müller (➔). (B). Conductos de Wolff y de Müller en un embrión estadio 33. Se observa el conducto de Müller en formación (cM) como una pequeña masa de células epiteliales en contacto con el conducto de Wolff bien formado. (C). Conducto de Müller en un embrión hembra estadio 35 y (D) conducto de Müller en un embrión hembra estadio 38-39. Se observa de forma elíptica con una luz central (⇔), formado por un epitelio de columnar (e), rodeado por varias capas de mesénquima (M) y una pequeña protuberancia (➔) en la parte opuesta a su unión con el mesonefros. Azul-Rojo 1000x (A y C) y Hematoxilina-Eosina 1000x (B y D).



**Fig. 18.** Conducto de Wolff y de Müller en *S. aeneus*. (A) Conducto de Wolff en un embrión hembra estadio 35. Se observa con un epitelio columnar alto y con núcleos apicales (➔). (B). Conducto de Wolff y de Müller en un embrión hembra estadio 39. Se observa el conducto de Müller (cM) bien desarrollado con una protuberancia (➔) y el conducto de Wolff en regresión (cW). (C). Conducto de Müller en un embrión macho estadio 35. Se observa bien desarrollado con un epitelio columnar (e) rodeado por mesénquima (M). (D). Conducto de Wolff y de Müller en un embrión macho estadio 37. Se observa el conducto de Müller (cM) como un cordón de células muy reducido en comparación con el conducto de Wolff (cW) bien desarrollado. Hematoxilina –Eosina 1000x (A, C y D) y 400x (B).



**Fig. 19.** Conducto de Wolff en *S. aeneus*. (A). Conducto de Wolff en un macho recién nacido y (B) conducto de Wolff en un macho de 7 días posteclosión. Se observa la presencia de material amorfo en la luz del conducto (●), el epitelio columnar (e) con núcleos basales (➔). Tricrómica de Mallory 1000x (A) y Wood 1000x (B).

## IX. DISCUSIÓN

### 9.1 Aspectos reproductores

El número de huevos por nidada no se vio afectado por el cautiverio debido a que las hembras estaban grávidas al momento de ser capturadas, por otro lado, el estadio de desarrollo al momento de la oviposición y eclosión de las crías coinciden con lo reportado anteriormente en condiciones naturales para esta especie por Manríquez (1995) y Gómez-Espejo (2005). No obstante, el período y duración de la gestación fue variable; esto se debe a que entre los reptiles existe una considerable variación en el tiempo de desarrollo de los embriones (Tabla A), incluso dentro de las poblaciones de una misma especie. En algunas especies vivíparas (ver Robert y Thompson, 2001; Wapstra *et al.*, 2004; Neaves *et al.*, 2006; Quinn *et al.*, 2007; Radder *et al.*, 2008), pero en especial en las especies ovíparas (ya que una buena parte del desarrollo se lleva a cabo en un medio externo a la madre), este proceso suele estar muy influenciado por factores ambientales. Estos factores pueden ser muy diversos, desde los más comunes como la temperatura y humedad hasta las características físicas del nido, los cuales además de afectar el período de desarrollo influyen directamente en la sobrevivencia de las crías (Packard, 1991).

En este estudio las condiciones de temperatura y humedad no fueron controladas, debido a esto la duración de cada estadio de desarrollo no pudo ser medida, sin embargo, el intervalo de incubación para *S. aeneus* se obtuvo (51-61 días). Este período de incubación difiere con el reportado por Guillette (1986) para la misma especie observado en el campo (12-14 días). En la presente investigación, se observó de manera empírica que las condiciones de temperatura y humedad influyen el desarrollo de los embriones de *S. aeneus*, es decir, aquellos huevos con sustratos húmedos y calientes se desarrollaron más rápidamente que los que tenían poca humedad y bajas temperaturas, algo similar se ha observado anteriormente otras especies de reptiles como el camaleón común, *Chamaeleo chamaeleon* (Díaz-Paniagua y Cuadrado, 2003).

**Tabla A.** Duración del período de incubación para varias especies de reptiles (De Goin, 1978).

(\*Intervalo de incubación de *Sceloporus aeneus* observado en este estudio).

<b>Especies</b>	<b>Período de incubación (días)</b>
<i>Caretta caretta</i>	31-65
<i>Chelodina longicollis</i>	90-120
<i>Chelydra serpentina</i>	81-90
<i>Eumeces fasciatus</i>	28-49
<i>Lacerta a. agilis</i>	49-84
<i>Sceloporus undulatus</i>	70-84
<b><i>Sceloporus aeneus</i>*</b>	<b>51-61</b>
<i>Alsophis cantherigerus</i>	89-97
<i>Coluber constrictor mormon</i>	51-64
<i>Elaphe guttata emoryi</i>	72-77
<i>Lampropeltis getulus californiae</i>	66-83
<i>Naja naja</i>	69-76
<i>Pituophis m. melanoleucus</i>	59-101
<i>Pituophis m. annectens</i>	64-77

## 9.2 Desarrollo de la gónada indiferenciada

En *Sceloporus aeneus* como en otras especies de reptiles, la gónada está integrada básicamente por dos elementos: las células sexuales y las células somáticas. En general se ha coincidido en que las células sexuales (ovogonias y espermatogonias) se originan de las células germinales primordiales; no así en el caso de los elementos somáticos, los cuales al parecer pueden derivarse del epitelio celómico, del mesénquima subyacente, o bien, del blastema mesonéfrico (Forbes, 1956; Raynaud, 1960; Miller, 1963, Dufaure, 1966, Pieau *et al.*, 1999).

La formación y desarrollo de las gónadas en *S. aeneus* puede dividirse en 2 etapas principales: la aparición de la gónada indiferenciada o “bipotencial” y la diferenciación hacia ovario o testículo. La primera etapa (que precede a la diferenciación sexual) se caracteriza por la presencia de células germinales en la gónada embrionaria rodeadas por abundantes células somáticas que en conjunto dan lugar a los cordones sexuales, muy similar a lo que se presenta en otras especies de reptiles (Risley, 1933; Forbes, 1940, 1956; Marin y Sabbadin, 1966; Miller, 1963; Pieau *et al.*, 1999; Doddamani, 1994, 2006; Neaves *et al.*, 2006). Este período indiferenciado o de bipotencialidad sexual de la gónada es variable entre los distintos grupos de reptiles y entre las distintas especies (Miller, 1963; Austin, 1988; Doddamani, 1994, 2006). En *S. aeneus* el período indiferenciado es breve y comprende tres estadios de desarrollo (30-33) tal y como

ocurre en *S. undulatus* (Austin, 1988). No obstante, “la gónada bipotencial”, distinguible por una clara regionalización de la gónada en médula (interna) y corteza (externa) es evidente únicamente durante el estadio 33 en esta especie, mientras que en la lagartija *Calotes versicolor* (Doddamani, 1994, 2006) ésta característica se presenta en el estadio 32, en ambas especies ocurre previo a la diferenciación gonadal.

Durante toda la etapa indiferenciada de la gónada en *S. aeneus* se observan cordones celulares que se extienden desde los mesonefros (cerca de los corpúsculos renales) hasta entrar en contacto con las gónadas. Esta característica ha sido reportada por Austin (1988) en otra lagartija del mismo género: *S. undulatus*, así como también en algunos mamíferos como el ratón (Dagmar *et al.*, 2007), el conejo (Wartenberg *et al.*, 1991) e incluso en los humanos (Satoh, 1991), por lo que se ha sugerido que los mesonefros y estructuras presentes en él (tubos mesonéfricos, cápsula de Bowman y glómerulo) juegan un papel fundamental en la formación de la gónada con la contribución directa de algunas células capaces de dar lugar a los distintos tipos somáticos presentes en la gónada masculina y femenina.

En especies con DST como las tortugas *Lepidochelys olivacea*; *Chelydra serpentina*; *Emys orbicularis*; *Testudo graeca*; el aligátor americano *Alligator mississippiensis* y los tuátaras (*Sphenodon sp.*), las células externas de la cápsula de Bowman y de los corpúsculos de Malpighi, así como las que bordean al riñón mesonéfrico, proliferan y se organizan en delgados cordones (“rete cords”) que posteriormente en el desarrollo dan lugar a la rete testis y a la rete ovarii en el testículo y ovario respectivamente (Pieau *et al.*, 1999). De acuerdo con esto, en *S. aeneus* morfológicamente se observa una importante y estrecha relación entre los mesonefros y las gónadas en formación con la presencia de la red de cordones hasta estadios avanzados del desarrollo (estadio 36-37), lo cual sugiere una contribución activa de este órgano en el proceso. Sin embargo, los datos únicamente morfológicos dificultan llegar a una conclusión general sobre el papel de los mesonefros en la gonadogénesis de esta especie; por lo que información experimental (como la realizada en mamíferos) es fundamental para establecer las relaciones concretas con este órgano.



### 9.3 Diferenciación sexual

En *S. aeneus*, inmediatamente después del período de bipotencialidad, inicia paralelamente en ambos sexos la diferenciación gonadal durante el estadio 34, hecho también observado por Austin (1988) en *S. undulatus*. La diferenciación simultánea hacia ovario o testículo se da en varias especies de reptiles como las lagartijas *Xantusia vigilis* (Miller, 1963); *Calotes versicolor* (Doddamani, 1994, 2006) y *Niveoscincus ocellatus* (Neaves *et al.*, 2006) y la tortuga de caparazón blando, *Apalone spinifera* (Greenbaum y Carr, 2001); entre otras. No obstante, el inicio de este proceso durante el desarrollo embrionario varía considerablemente entre especies. Por otro lado, existen reptiles en los cuales este proceso no está sincronizado y el desarrollo de uno u otro sexo ocurre antes o después, por ejemplo: el cocodrilo de agua salada, *Crocodylus porosus* (Smith y Joss, 1994); el aligátor americano, *Alligator mississippiensis* (Forbes, 1940); y el lucián, *Anguis fragilis* (Raynaud y Pieau, 1985) entre otras.

En las hembras de *S. aeneus*, es claramente visible la proliferación del epitelio cortical al momento de su diferenciación en el estadio 34. La corteza se observa constituida por ovogonias, ovocitos tempranos y células somáticas aún no diferenciadas. En la parte medular se observan escasas células germinales, fibras de tejido conjuntivo y células somáticas. Durante el desarrollo progresivo del ovario, las ovogonias se vuelven más abundantes y son observadas frecuentemente en proliferación principalmente en la parte dorsal y ventral de la corteza ovárica junto con algunos ovocitos desde estadios tempranos (35-36). Estas mismas características del ovario embrionario fueron descritas por Austin (1988), quien sugiere que la zona dorsal de concentración de ovogonias y ovocitos probablemente da lugar a uno de los dos lechos germinales en *S. undulatus*. Una región similar (a la ventral en *S. aeneus*) ha sido reportada por Díaz-Juárez (2008) en crías recién nacidas de iguana negra (*Ctenosaura pectinata*) y se refiere a ella como “un nicho germinal”. Con base en estas observaciones, es posible que las áreas de proliferación de ovogonias y ovocitos descritas en el presente trabajo se traten de los dos futuros lechos germinales presentes en el ovario adulto de *S. aeneus*.

En concordancia con lo observado en *S. undulatus* (Austin, 1988) durante el desarrollo del ovario, en *S. aeneus* se presenta una “meiosis inmediata” en el estadio 34 (justo cuando la diferenciación de la gónada ha comenzado). En la lagartija tropical *Calotes versicolor* (Doddamani, 1994) los primeros ovocitos desnudos son observados durante el

estadio 35, mientras que en *Xantusia vigilis* (Miller, 1963) éstos se observan en embriones de 7 mm de longitud.

El inicio de la foliculogénesis en *S. aeneus* se presenta durante el estadio 38, con la entrada en contacto de las células granulosas con los ovocitos como ocurre en *Anolis carolinensis* (Forbes, 1956) y *Xantusia vigilis* (Miller, 1963); no obstante, los primeros folículos primordiales son observados varios días después de la eclosión como en las hembras de *S. undulatus* (Austin, 1988), *Calotes versicolor* (Doddamani, 1994), *Niveoscincus ocellatus* (Neaves *et al.*, 2006) y *Ctenosaura pectinata* (Díaz-Juárez, 2008).

La diferenciación de la gónada hacia testículo es claramente visible a partir del estadio 34, con el inicio de la formación de los cordones testiculares en la médula y la regresión de la corteza. El inicio de la diferenciación del testículo se da más lento en comparación con el ovario; sin embargo, en los estadios siguientes, el desarrollo del testículo se acelera, de tal manera que los cambios celulares y morfológicos se dan más rápido que los de su contraparte. Desde el estadio 35 hasta la eclosión, pueden ser observados en la periferia del testículo embrionario algunos cordones testiculares con una pequeña luz central, coincidiendo con lo observado en el testículo de *S. undulatus* (Austin, 1988) y de *Calotes versicolor* (Doddamani, 2006) y que posiblemente se deba a una disposición más laxa de los cordones testiculares en esta zona a diferencia de la parte central en donde se encuentran más compactados.

Las espermatogonias son observadas frecuentemente en estadios tempranos dentro de los cordones testiculares y posteriormente se vuelven más abundantes. Al igual que en los machos de *Xantusia vigilis* (Miller, 1963), *S. undulatus* (Austin, 1988) y *Calotes versicolor* (Doddamani, 2006) estas células no entran a la meiosis hasta después del nacimiento. Por otro lado, las células de Sertoli son reconocibles morfológicamente desde el estadio 37, lo que coincide con el desarrollo testicular en otras lagartijas como *Xantusia vigilis* (Miller, 1963), *Lacerta sicula* (Chieffi y Botte, 1966), *Anguis fragilis* (Raynaud, 1960), *Lacerta viridis* (Raynaud y Pieau, 1970) y *S. undulatus* (Austin, 1988). En el intersticio, las células de Leydig se encuentran formando pequeños grupos a partir del estadio 38 en *S. aeneus*, y son identificables por su morfología y disposición cerca de vasos sanguíneos. En los machos de *S. undulatus* (Austin, 1988) y otras lagartijas (Raynaud y Pieau, 1985), este tipo celular es evidente únicamente poco antes de la eclosión.

Por otro lado, las células miodes peritubulares presentan un desarrollo más lento que el resto de los tipos celulares y apenas son visibles en el estadio 38. Pueden reconocerse morfológicamente por su forma plana y por su ubicación paralela a la lámina basal de los cordones testiculares.

La comparación en los tiempos de diferenciación sexual durante el desarrollo entre lagartijas y otros reptiles se dificulta principalmente por la utilización de diferentes métodos de clasificación embrionarios. En algunos trabajos ésta se hace con base en diferentes parámetros como: días de incubación (ver Raynaud y Pieau, 1985), longitud de los embriones (ver Miller, 1963; Forbes, 1940); masa (g) (ver Raynaud y Pieau, 1985) y algunas estructuras externas como las extremidades, los ojos, etc. (ver Dufaure y Hubert, 1961). Sin embargo, los días de incubación, la longitud y la masa de los ejemplares no suele ser un buen punto de referencia dado que estas características varían considerablemente entre las distintas especies. Por ello, la creación de una clasificación general del desarrollo de los reptiles (conjuntando toda la información disponible de los diferentes grupos) se hace necesaria para comparaciones futuras más precisas que tomen como punto de partida los mismos parámetros.

#### **9.4 Desarrollo de los conductos reproductores**

Durante el período indiferenciado en *S. aeneus*, los conductos reproductores (mesonéfricos o de Wolff y paramesonéfricos o de Müller) coexisten en los embriones de machos y hembras casi desde la oviposición (estadio 30 y 31) hasta el estadio 36; después del cual el inicio de la regresión de uno u otro se hace evidente; por lo que la presencia de ambos conductos en los embriones se extiende más allá del comienzo de la diferenciación gonadal. Al momento de la oviposición es posible observar en los embriones indiferenciados el conducto de Wolff bien desarrollado a diferencia del conducto de Müller, el cual está en proceso de formación y se presenta apenas como un engrosamiento del epitelio celómico lateral del mesonefros en el estadio 31. El hecho de que el conducto de Wolff se encuentre bien desarrollado al momento de la oviposición en esta especie sugiere que al igual que en otros vertebrados, sirve como el principal conducto excretor embrionario (Wilson *et al.*, 1981; Lawrence *et al.*, 1992).

El epitelio que da origen al conducto de Müller comienza su invaginación en el estadio 32 y está perfectamente formado en el estadio 34. Una evolución similar de este conducto se presenta en *S. undulatus* (Austin, 1988) y en *Niveoscincus ocellatus* (Neaves *et al.*, 2006). Mientras que en *Alligator mississippiensis*, el primordio de este conducto se presenta en embriones de 10 mm de longitud, es decir, mucho más temprano en el desarrollo (Forbes, 1940). En los embriones femeninos el conducto de Müller crece en tamaño y se desarrolla de tal manera que adquiere numerosas capas de mesénquima y una forma elíptica con una luz amplia y bien delimitada. Por otro lado, el conducto de Wolff que hasta el estadio 36 se encontraba bien desarrollado en los embriones femeninos de *S. aeneus*, comienza su regresión a partir del estadio 37, con una lenta, pero considerable pérdida de tamaño y desarreglo de sus componentes celulares, afín a lo reportado por Austin (1988) en *S. undulatus*. La regresión del conducto mesonéfrico se da en dirección céfalo-caudal, pero también caudo-cefálica como en el pollo y el caimán (Austin, 1989). Este proceso degenerativo del conducto de Wolff se prolonga hasta la eclosión y es posible observar rara vez alguna reminiscencia.

En los embriones masculinos de *S. aeneus*, la coexistencia de ambos conductos reproductores se da de igual forma que en su contraparte femenina. En los machos, el conducto de Wolff se desarrolla y mantiene una forma y tamaño similar a la observada en estadios más tempranos. En el estadio 40, en los recién nacidos y en crías de algunos días posteclosión se observa la presencia de un material amorfo en la luz del conducto, el cual podría tratarse de algún tipo de secreción. Esta particularidad ha sido reportada en los conductos de Wolff de los embriones de ratón (Nájera, 2001). Por otro lado, el conducto paramesonéfrico inicia su regresión en el estadio 37 (paralelo a la diferenciación de las células de Sertoli en los cordones testiculares) mostrando una pérdida de tamaño, desarreglo en sus células, apoptosis y en general, las mismas características del conducto de Wolff en regresión en los embriones hembras, pero en comparación con este último, los eventos degenerativos del conducto de Müller se dan de manera más rápida. Estos sucesos en el desarrollo de los conductos reproductores en los embriones femeninos y masculinos de *S. aeneus* coinciden con lo observado en otras especies de reptiles (Forbes, 1940; Raynaud y Pieau, 1985; Austin, 1988, 1989), incluso en otros vertebrados (Nájera, 2001).

## X. CONCLUSIONES

- Las hembras de la especie *S. aeneus* depositan sus huevos entre el estadio de desarrollo 30 y 31 y la eclosión de los mismos se da en el estadio 40.
- El período de incubación de los huevos de *S. aeneus* es de 51-61 días (a 25-30° C de día y 23° C por la noche).
- El desarrollo temprano de las gónadas y de los conductos reproductores es igual en ambos sexos. Los embriones pasan por un estado sexual indiferenciado, en el cual los primordios de las estructuras masculinas y femeninas están presentes.
- Al momento de la oviposición (estadio 30 y 31) se observa la presencia de una gónada indiferenciada o “bipotencial” que se prolonga hasta el estadio de desarrollo 33, por lo que el período de bipotencialidad sexual es breve en esta especie.
- Los primeros signos de diferenciación del ovario ocurren el estadio 34 con la proliferación del epitelio cortical y el comienzo de la regresión medular.
- Los primeros signos de diferenciación del testículo ocurren en el estadio 34 con el comienzo de la formación de los cordones seminíferos y la degeneración de la corteza.
- El desarrollo del ovario y sus componentes celulares (células granulosas, células tecales, etc.) se da manera más lenta en relación al desarrollo del testículo y sus componentes celulares (células de Sertoli, células de Leydig, etc.).
- El comienzo de la foliculogénesis ocurre en las hembras después de su nacimiento (40 días después aproximadamente).
- El conducto de Wolff se encuentra bien desarrollado al momento de la oviposición en contraparte al conducto de Müller, el cual se hace evidente hasta el estadio 33.
- El conducto de Wolff y de Müller coexisten durante un período relativamente extenso en los embriones de ambos sexos (hasta el estadio 36); sin embargo, la regresión del conducto de Müller se da de manera más rápida en los machos de lo que sucede con el conducto de Wolff en las hembras.

## XI. RECOMENDACIONES Y PERSPECTIVAS

El presente trabajo documenta la diferenciación y desarrollo del sistema reproductor (en especial de la gónada) en la especie *S. aeneus*. Actualmente se sabe poco sobre los mecanismos complejos que controlan este proceso en lagartijas y en general en vertebrados; por ello, esta tesis contribuye al conocimiento y entendimiento de este fenómeno biológico, sentando una base morfológica sobre los acontecimientos particulares que ocurren en el sistema reproductor durante el desarrollo embrionario de esta especie de lagartija. Lo anterior resulta de gran utilidad en el planteamiento de futuras investigaciones más detalladas sobre este tópico.

A pesar de ser un buen parámetro, la descripción morfológica de las células somáticas que forman parte de los distintos componentes gonadales, tanto ováricos como testiculares, no resulta suficiente para determinar la diferenciación completa de estos elementos. Por lo anterior, se recomienda:

Realizar estudios cito e histoquímicos que permitan establecer la relación entre la morfología y la fisiología celular de manera más certera. Asimismo, estudios sobre morfogénesis gonadal con microscopía electrónica y expresión genética para determinar los genes relacionados con la diferenciación sexual.

Explorar el uso de nuevas técnicas como la inmunohistoquímica para establecer linajes celulares (células germinales primordiales y somáticas: Sertoli, Leydig, tecaes, granulosa).

Hacer investigación experimental sobre los efectos de agentes externos (temperatura, humedad, altitud, disponibilidad de recursos, etc.) e internos (hormonas, genes, etc.) sobre el desarrollo embrionario en las distintas especies de reptiles con base en el conocimiento previo del desarrollo embrionario en condiciones naturales.

El estudio de los aspectos ontogénicos en los distintos grupos de reptiles (tortugas, cocodrilos, lagartijas, serpientes, tuátaras), requiere de un trabajo colectivo, y se pueden coordinar e integrar acciones para:

Elaborar y validar un sistema de caracterización embrionaria para cada grupo de reptiles que incorpore el análisis del desarrollo embrionario de las especies conocidas con base en las mismas características (histológicas, morfométricas, etc.) que permitan hacer comparaciones futuras más precisas entre los distintos grupos de reptiles y entre otros vertebrados.

Promover el interés en el conocimiento de diversos aspectos reproductivos a nivel ecológico, morfológico y fisiológico tomando como modelo a los diferentes grupos de reptiles para análisis posteriores de biología comparada y evolutiva.

## XII. LITERATURA CITADA

Allard S., Adin P., Gouedard L., di Clemente N., Josso N., Orgebin-Crist M. C., Picard J. Y. y Xavier F. 2000. Molecular mechanism of hormone-mediated Müllerian Duct regression: Involvement of  $\beta$ -catenin. *Development* 127:3349-3360.

Andrews R., Méndez de la Cruz F. R., Villagrán M. y Rodríguez F. 1999. Field and select body temperatures of *Sceloporus aeneus* and *Sceloporus bicanthalis*. *Journal of Herpetology* 33:93-100.

Austin H. B. 1988. Differentiation and development of the reproductive system in the iguanid lizard, *Sceloporus undulatus*. *General and Comparative Endocrinology* 72:351-363.

Austin H. B. 1989. Mullerian-duct regression in the american alligator (*Alligator mississippiensis*). *Developmental Biology* 169:29-36

Bishop-Calame S. 1965. Nouvelles recherches concernant le role du canal de Wolff dans la différenciation du mésonephros del l'embryon de poulet. *Journal of Embryology and Experimental Morphology* 14:239-245.

Bull J. 1980. Sex determination in reptiles. *The Quarterly Review of Biology* 55:3-21.

Casas-Andreu G., Valenzuela-López G. y Ramírez- Bautista A. 1991. Cómo hacer una colección de anfibios y reptiles. Cuadernos del Instituto de Biología, UNAM. México. 68 págs.

Castro-Franco R. y Bustos M. 2003. Lagartijas de Morelos, México: Distribución, hábitat y conservación. *Acta Zoológica Mexicana (n.s)* 88:123-142.

Chieffi G. y Botte V. 1966. II differenziamento istochimico dell' interrenale e dei tessuti somatici della gonade embrionale di *Lacerta sicula*. *Atti Accad Nazion Lincei* 39:589-594.

Clawson D. C. y Domm L. V. 1963. The glycogen content of the primordial germ cells in the white leghorn chick embryo. *Anatomical Record* 145:218-219.

Cooke F. y Buckley P.A. 1987. Avian genetics: A population and ecological approach. Academic Press, London 3:145-146.

Coudhary B., Ganesh S. y Raman R. 2000. Evolutionary conservation of the gene *CvSox9* in the lizard, *Calotes versicolor*, and its expresion during gonadal differentiation. *Development Genes and Evolution* 210:250-257.

Crews D. 1994. Temperature, steroids and sex determination. *Journal of Endocrinology* 142:1-8.

Crews D. 2003. Sex determination: where environment and genetics meet. *Evolution and Development* 5:50-55.



Dagmar W., Palmer, S. y Koopman, P. 2007. Sex determination and gonadal development in mammals. *Physiology Review*. 87:1-28.

Díaz-Juárez G. 2008. Desarrollo de las crías de *Ctenosaura pectinata* (Sauria: Iguanidae): aspectos histológicos y ultraestructurales. Tesis de licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias. UNAM. México. 77 págs.

Díaz-Paniagua C. y Cuadrado M. 2003. Influence of incubation conditions on hatching success, embryo development and hatching phenotype of common chameleon (*Chamaeleo chamaeleon*) eggs. *Amphibia-Reptilia* 24:429-440.

Diwan A. P. y Dhakad N. K. 1995. Embryology of Reptiles. Anmol Publications. New Delhi. 459 págs.

Doddamani L. S. 1994. Histoenzymological studies on the embryonic and posthatching development of the ovary in the tropical oviparous lizard, *Calotes versicolor*. *Journal of Morphology* 222:1-10.

Doddamani L. S. 2000. Development of the adrenal gland in the tropical lizard, *Calotes versicolor*. *General Comparative Endocrinology* 117:89-102.

Doddamani L. S. 2006. Differentiation and development of testis in the oviparous lizard, *Calotes versicolor*. *Journal of Experimental Zoology* 305A:299-308.

Dufaure J. P. y Hubert J. 1961. Table de développement du lézard vivipare: *Lacerta* (*Zootoca*) *vivipara* Jacquin. *Arch. Anat. Microscop. Morphol Exp.* 50:309-328.

Dufaure J. P. 1966. Recherches descriptives et expérimentales sur les modalités et facteurs du développement de l'appareil génital chez le lézard vivipare (*Lacerta vivipara*). *Arch. Anat. Microscop. Morphol. Exp.* 55(3):437-537.

Ewert M. A. y Nelson C. E. 1991. Sex determination in turtles: diverse pattern and some possible adaptive values. *Copeia* 91:50-69.

Fernández-Terán. M., Piedra M. E., Simandl B. K., Fallon J. F. y Ros M. A. 1997. Limb initiation and development is normal in the absence of the mesonephros. *Developmental Biology* 189:246-255.

Forbes T. R. 1940. Studies on the reproductive system of the alligator. IV. Observations on the development of the gonad, the adrenal cortex, and the Müllerian duct. *Contributions to Embryology* 174:129-155.

Forbes T. R. 1956. The development of the reproductive system of a lizard, *Anolis carolinensis*. *American Journal of Anatomy* 98:139-157.

Fox H. 1985. The gonads: Urinogenital system of reptiles. Págs. 48-105 en: Gans C. y Dawson W. T. (Eds.). *Biology of the reptilia*. Vol.6. Academic Press, New York, USA.

Gaitonde S. G. y Gonder M. 1984. The structure and steroidogenic potential of the developing gonad and interrenals in the tropical oviparous lizard, *Calotes versicolor* (Daud.). *Reproduction Nutrition Development* 24(6):915-926.

- García-Peña G. 2001. Modulación termodependiente en la producción de estrógenos durante la determinación sexual de *Gallus gallus* (White Leghorn), como una reminiscencia reptiliana de las aves. Tesis de licenciatura en Biología. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM. México. 55 págs.
- Gilbert S. F. 2006. Developmental biology. Médica Panamericana, Buenos Aires y México. 771 págs.
- Goin C. J., Goin O. B. y Zug G. R. 1978. Introduction to herpetology. W.H. Freeman and Company. New York. 122 págs.
- Gómez-Espejo I. 2005. Desarrollo y sobrevivencia de la nidada del lacertilio *Sceloporus aeneus* en el Nevado de Toluca, Edo. de México. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM. México. 52 págs.
- Greenbaum E. y Carr J. L. 2001. Sexual differentiation in the spiny softshell turtle (*Apalone spinifera*), a species with genetic sex determination. Journal of Experimental Zoology 290:190-200.
- Guillette L. J. J. 1981. Reproductive strategies and evolution of the viviparity in two allopatric populations of the mexican lizards *Sceloporus aeneus*. Doctoral thesis in Physiology. University of Colorado. USA. 120 págs.
- Guillette L. J. J. 1986. Notes on oviposition and nesting in the high elevation lizard, *Sceloporus aeneus*. Copeia 1:232-233.
- Hardisty M. W. 1978. Primordial germ cells and the vertebrate line. Págs. 1-45 en: Jones R. E. (Eds.). The vertebrate ovary. Plenum Press, New York.
- Hernández G. O. 1995. Estudio comparativo del patrón reproductor de los machos de dos especies de lagartijas emparentadas con distinto modo reproductor: *Sceloporus aeneus* y *Sceloporus bicanthalis*. Tesis de licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias. UNAM. México. 89 págs.
- Hubert J. 1968. A propos de la lignée germinale chez 2 reptiles : *Anguis fragilis* L. et *Vipera aspis* L. Comptes Rendus de l'Académie des Sciences Paris 266:231-233.
- Hubert J. 1976. La lignée germinale chez les reptiles au tours du développement embryonnaire. Annales de Biologie Clinique 15:548-565.
- Hubert J. 1985. Origin and development of oocytes. Págs. 43-71 en: Gans C. y Dawson W. (Eds.). Biology of the reptilia. Vol.15 (2). Academia Press, London and New York.
- Huhtaniemi I. 1994. Fetal testis-a very special endocrine organ. European Journal of Endocrinology 130:25-31.
- Jameson E. W. 1988. Vertebrate reproduction. A wiley-Interscience publication. Estados Unidos. 526 págs.
- Janzen F. J. y Paukstis G. L. 1991. Environmental sex determination in reptiles. ecology, evolution and experimental design. The Quarterly Review of Biology 66(2):149-179.

- Jiménez F. 2001. Evaluación de la participación del sistema nervioso en el proceso de diferenciación sexual gonadal en la tortuga marina *Lepidochelys olivacea*. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas (Biología Experimental). Facultad de Ciencias. UNAM. México. 49 págs.
- Jones R. E. 1978. Ovarian cycle in nonmammalian vertebrates. Págs. 731-762 en: Jones R. E. (Eds.). The vertebrate ovary. Plenum Press, New York.
- Joss J. M. P. 1989. Gonadal development and differentiation in *Alligator mississippiensis* at male and female producing incubation temperatures. *Journal of Zoology* 218: 679-687.
- Josso N. Picard J. Y. y Tran D. 1977. The antimüllerian hormone. *Recent Progress in Hormone Research* 33:117-167.
- Lacadena J. R. 2001. Genética y sexualidad. Departamento de Genética (U.C.M.). [http://cerezo.pntic.mec.es/~jlacaden/webmec13/ge\\_sex2\\_1.html](http://cerezo.pntic.mec.es/~jlacaden/webmec13/ge_sex2_1.html)
- Lance V. A. y Bogart M. H. 1994. Studies on sex determination in the american alligator. *Journal of Experimental Zoology* 270:79-85.
- Lawrence W. D., Whitaker D., Sigmura H., Cunha G., Dickersin R. y Robboy S.J. 1992. An ultrastructural study of the developing tract in early human fetuses. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 167:185-193.
- Leyton V., Miranda E. y Bustos-Obregón E. 1982. Cytological characterization of the germinal line during testicular differentiation in the lizard, *Liolaemus gravenhorsti* (Gray). *Journal of Morphology* 174:169-184.
- MacLaughlin D. y Donahoe P. 2004. Sex determination and differentiation. *N. Engl. J. Med.* 350:367-78.
- Manríquez M. N. L. 1995. Estrategias reproductoras en las hembras de dos especies hermanas de lacertilios: *Sceloporus aeneus* y *S. bicanthalis*. Tesis de Licenciatura en biología. Facultad de Ciencias. UNAM. México. 102 págs.
- Marin G. y Sabbadin A. 1959. Sviluppo e differenziamento delle gonadi in *Lacerta sicula* campestris. *Tai Accad Naz Lincei RC Sed Solen.* Págs. 1-37 en: Gans C. Parsons T.S. (Eds.). *Biology of the reptilia*, Vol.6. Academic Press, New York, USA.
- McCarrey J. R. y Abott U. K. 1979. Mechanism of genetic sex determination, and germ cell development in animals. *Advances in Genetics* 20:217-290.
- Mendietta L. 1964. Origine e differenziamento della gonade in *Gonglyus ocellatus*. *Monitore Zoology Italian* 70:201-210.
- Merchant-Larios H. 1978. Ovarian differentiation. Págs 47-77 en: Jones R. E. (Eds.). *The vertebrate ovary*. Plenum Press, New York.
- Merchant-Larios H., Villalpando-Fierro I. y Centeno-Urruiza B. 1989. Gonadal morphogenesis under controlled temperature in sea turtle *Lepidochelys olivacea*. *Herpetological Monographs* 3:43-61.

- Merchant-Larios H., Moreno-Mendoza N. y Buehr M. 1993. The role of mesonephros in cell differentiation and morphogenesis of the mouse fetal testis. *Inter. J. Dev. Biol.* 37:407-415.
- Miller M. R. 1963. The histogenesis of the endocrine organs of the viviparous lizard, *Xantusia vigilis*. *General and Comparative Endocrinology* 3:579-605.
- Miranda F. y Hernández X. E. 1963. Los tipos de vegetación de México y su clasificación. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 28:29-179.
- Moore K., Persaud I. y Orizaga-Samperio J. 1999. *Embriología clínica*. Mcgraw-Hill Interamericana México. 606 págs.
- Moreno-Mendoza N., Harley V. R. y Merchant-Larios H. 1999. Differential expression of SOX9 in gonads of the sea turtle *Lepidochelys olivacea* at male-or female-promoting temperatures. *Journal of Experimental Zoology* 284:705-710.
- Mrosovsky N. y Pieau C. 1991. Transitional range of temperatura, pivotal temperatures and thermosensitive stages for sex determination in reptiles. *Amphibia-Reptilia* 12:169-179.
- Muthukkaruppan V. R., Kanakambika P., Manickavel V. y Veeraraghavan K. 1970. Analysis of the development of the lizard *Calotes versicolor*. I. A series of the normal stages in the embryonic development. *Journal of Morphology* 130:479-490.
- Nájera N. 2001. Apoptosis en el desarrollo y regresión de los conductos de Wolff y Müller durante la diferenciación sexual del ratón. Tesis de licenciatura en Biología. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. México. 51 págs.
- Neaves L., Wapstra E., Birch D., Girling J. y Joss M. 2006. Embryonic gonadal and sexual organ development in a small viviparous skink, *Niveoscincus ocellatus*. *Journal of Experimental Zoology* 305A:74-82.
- Olmo E., Odierna G. y Capriglione T. 1987. Evolution of sex-chromosomes in lacertid lizards. *Chromosoma (Berl)* 96:33-38.
- Packard G. C. 1977. The physiological ecology of reptilian eggs and embryos, and the evolution of viviparity within the class Reptilia. *Biological Reviews*, 52:71-105.
- Pieau C., Mignot T. M., Dorizzi M. y Guichard A. 1982. Gonadal steroid levels in the turtle *Emys orbicularis* L: A preliminary study in embryos, hatchings and youngs as a function of the incubation temperature of eggs. *General and Comparative Endocrinology* 47:392-398.
- Pieau C., Dorizzi M. y Richard-Mercier N. 1999. Temperature dependent sex determination and gonadal differentiation in reptiles. *Cellular and Molecular Life Sciences* 55:887-900.
- Quinn A. E., Georges A., Sarre S. D., Guarino F., Ezaz T. y Graves J. A. 2007. Temperatura sex reversal implies sex gene dosage in a reptile. *Science* 316:411.

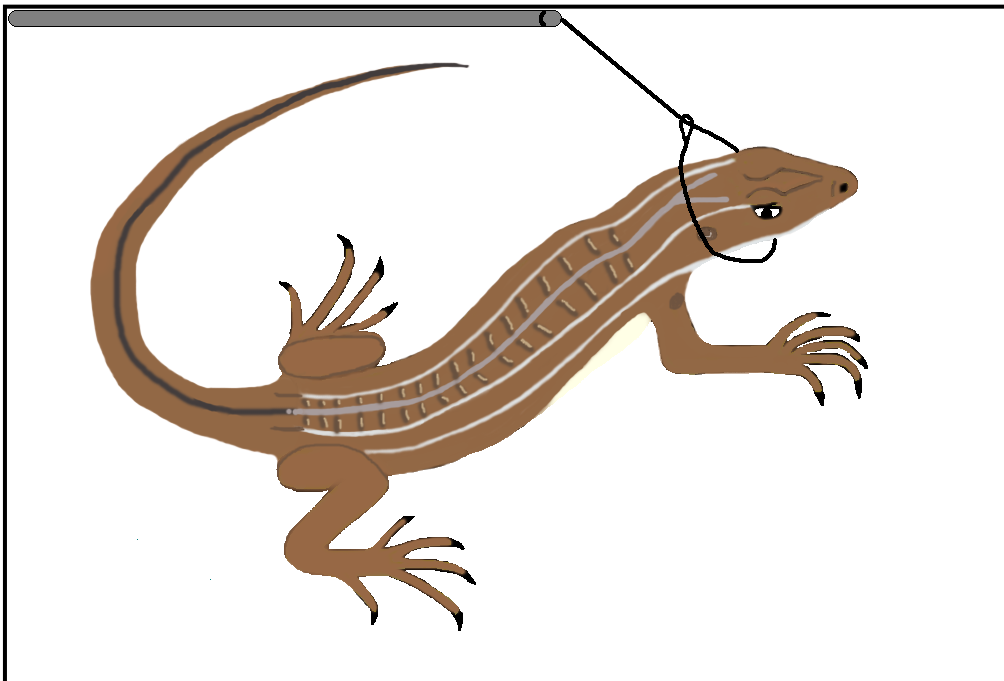
- Radder R. S., Quinn A. E., Georges A., Sarre S. D. y Shine R. 2008. Genetic evidence for co-occurrence of chromosomal and thermal sex-determining system in a lizard. *Biol. Lett.* (in press) DOI: 10.1098/rsbl.2007.0583.
- Raff R. A. 1996. *The shape of life. Genes, development and the evolution of animal form.* The University of Chicago Press. Chicago 544 págs.
- Raman R. 2002. Sex determination and gonadal differentiation in vertebrates: a case for unity in diversity. *Proceedings of the Indian National Science Academy. (PINSIA) B* No.6:529-546.
- Raynaud A. 1960. Sur la différenciation sexuelle des embryons d'orvet (*Anguis fragilis* L.) *Bull. Soc. Zool. France* 85:210-230.
- Raynaud A., Pieau C. y Raynaud, J. 1970. Etude histologique comparative de l'allongement des canaux de Müller, de l'arrêt de leur progression en direction caudale et de leur destruction chez les embryons males de diverses espèces de reptiles. *Ann. Embryol. Morphog.* 3:21-47.
- Raynaud A. y Pieau C. 1985. Embryonic development of the genital system. Págs 151-287 en: Gans C. y Billet B. (Eds). *Biology of the reptilia.* Vol.15. Academia Press. New York. Wiley.
- Rey R. 2001. Diferenciación sexual embrio-fetal: de las moléculas a la anatomía. *Revista Chilena de Anatomía* (online). Vol. 19. No.1:75-82.
- Rhen T. y Crews D. 1999. Embryonic temperature and gonadal sex organize male-typical sexual and aggressive behavior in a lizard with temperature-dependent sex determination. *Endocrinology* Vol.140 No.10:4501-4508.
- Risley P. L. 1933. Contributions on the development of the reproductive system in *Sternotherus odoratus* (Latreille). I. The embryonic origin and migration of the primordial germ cells. *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie* 18: 459-492.
- Robert K. A. y Thompson M. B. 2001. Viviparous lizard selects sex of embryos. *Nature* Vol. 412 698-699.
- Salame-Méndez A. y Villalpando-Fierro I. 1998. La diferenciación sexual en vertebrados: hipótesis y teorías. *Acta Zoológica Mexicana* 73:89-110.
- Sánchez-Herrera O. Herpetofauna of the Predregal de San Angel. *Bulletin of the Maryland Herpetological Society* 16 (1):9-18.
- Satoh M. 1991. Histogenesis and organogenesis of the gonad in the human embryos. *Journal of Anatomy* 177:85-107.
- Shine R., Warner D. y Radder R. 2007. Windows of embryonic sexual lability in two lizard species with environmental sex determination. *Ecology* 88(7):1781-1788.

- Smith C. A. y Joss J. M. P. 1994. Steroidogenic enzyme activity and ovarian differentiation in the saltwater crocodile, *Crocodylus porosus*. *General Comparative Endocrinology* 93: 232-245.
- Spotila L. D., Spotila J. R. y Hall S. E. 1998. Sequence and expression analysis of WT1 and Sox9 in the red-eared slider turtle, *Trachemys scripta*. *Journal of Experimental Zoology* 251:417-427.
- Tokarz R. 1978. Oogonial proliferation, oogenesis, and folliculogenesis in nonmammalian vertebrates. Págs 161-173 en: Jones R. E. (Eds.). *The vertebrate ovary*. Plenum Press, New York.
- Torres-Maldonado L. y Merchat-Larios H. 2006. Aspectos moleculares de la determinación del sexo en tortugas. *Ciencia Ergo. Sum. Vol.13 No.002* 176-182.
- Urban M. 2007. Hábitos alimentarios de *Sceloporus aeneus* (Reptilia: Phrynosomatidae) en la localidad La Palma, Tlazala, Municipio Isidro Fabela, Estado de México. Tesis de licenciatura en Biología. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM. México. 58 págs.
- Valleley E., Cartwright E., Croft N., Markham A. y Coletta P. 2001. Characterisation and expression of Sox9 in the leopard gecko, *Eublepharis macularius*. *Journal of Experimental Zoology (Mol Dev Evol)* 291:85-91.
- Wapstra E., Olsson M., Shine R., Edwards A., Swain R. y Joss J. M. 2004. Maternal basking behaviour determines offspring sex in a viviparous reptile. *Proc. R. Soc. Lond. B (suppl.)* 271:s230-s232.
- Wartenberg H., Winsky Y., Viebahn C. y Schmoke C. 1991. Fine structural characteristics of testicular cord formation in the development rabbit gonad. *Journal of Electron Microscopy Technique* 19:133-150.
- Western P., Harry J., Marshall J. A. y Sinclair A. 1999. Temperature-dependent sex determination in the american alligator: AMH precedes Sox9 Expression. *Developmental Dynamics* 216:411-419.
- Western P. y Sinclair A. 2001. Sex, genes and heat: triggers of diversity. *Journal of Experimental Zoology* 290:624-631.
- Wilson J., George F. y Griffin E. 1981. The hormonal control of sexual developmental. *Science* 211:1278-1284.







### XIII. APÉNDICES

#### 13.1. Método de colecta para lagartijas (vara con lazada)






Este método consiste en el uso de una vara larga, en cuyo extremo se coloca una cuerda en forma de asa o lazada, que se introduce en el cuello de la lagartija y se tira con rapidez hacia arriba o hacia atrás del animal. Este método es de gran eficacia para recolectar organismos vivos (Casas-Andreu *et al.*, 1991).



**13.2 Resumen de la clasificación de desarrollo embrionario basada en Dufaure y Hubert (1961).**

<b>ESTADIO DE DESARROLLO</b>	<b>CARACTERÍSTICAS</b>	<b>ESQUEMA</b>
<b>ESTADIO 30</b>	Embriones con 50 pares de somitas, muñones de los miembros bordeados por una pequeña cresta y comienzo de la pigmentación de los ojos	
<b>ESTADIO 31</b>	Embriones con los muñones de las extremidades aplanados en su porción más distal constituyendo la “paleta”, ojos más prominentes y pigmentados	
<b>ESTADIO 32</b>	Embriones con miembros que se distinguen en dos regiones: zeugopodio y estilopodio y la región parietal comienza a aparecer	
<b>ESTADIO 33</b>	Embriones con párpados circulares que comienzan a desarrollarse, mandíbula inferior en formación y dígitos de la paleta de las extremidades en diferenciación	
<b>ESTADIO 34</b>	Embriones con dedos diferenciados en cada una de las paletas de las extremidades, el ojo presenta algunas papilas escleróticas y narinas formadas	
<b>ESTADIO 35</b>	Embriones con dedos individuales unidos por una membrana con presencia de puntos de pigmento que se concentran en los extremos, mandíbula inferior totalmente formada y ojo pineal con un círculo pigmentado	



<b>ESTADIO 36</b>	Embriones con diferenciación de algunas escamas del cuerpo, dedos de los miembros totalmente individualizados y pigmentados en los márgenes de las uñas	
<b>ESTADIO 37</b>	Embriones con los dedos totalmente libres desde la palma, uñas diferenciadas, con algunas escamas contorneando las patas, párpado desarrollado y cabeza con puntos de pigmento	
<b>ESTADIO 38</b>	Embriones con escamas del cuerpo muy evidentes, dedos totalmente separados con uñas bien diferenciadas, globos oculares no tan prominentes y el borde interno del párpado casi llega al cristalino	
<b>ESTADIO 39</b>	Embriones con dedos cubiertos de escamas aún no diferenciadas, escamas del cuerpo pigmentadas y las de la cabeza empiezan a diferenciarse	
<b>ESTADIO 40</b>	Embriones con pigmentación igual a la del nacimiento, escamas de los miembros, la cabeza y el cuerpo totalmente diferenciadas y pigmentadas	

### 13.3 Técnica histológica

#### 1. Seleccionar la muestra.

**2. Fijar la muestra:** la finalidad de la fijación es preservar los tejidos de forma similar a su estado “in vivo” y aumentar la dureza de la muestra para facilitar su posterior corte. Los fijadores usados en este estudio fueron bouin y formol al 10% neutro.

**3. Lavar la muestra:** la finalidad es eliminar los excesos de fijador.

**4. Incluir en parafina:** la finalidad es endurecer la muestra homogéneamente para poder obtener cortes finos de ella. Comienza con la \*deshidratación de la muestra, la cual se coloca en alcoholes de gradación creciente (30°, 40°, 50°, 60°, 70°, 80°, 90°, absoluto). Posteriormente se pasa por un disolvente para aclarar (xilol) y por una mezcla de parafina-xilol y parafina. Finalmente la muestra se introduce y acomoda en parafina líquida hasta que queda totalmente embebida. Una vez que se endurece la parafina se obtiene un bloque sólido que contiene la muestra.

**5. Cortar la muestra:** el bloque se coloca en el microtomo y se realiza el corte de la muestra con el grosor deseado (5  $\mu\text{m}$ ). Los cortes resultantes se extienden en un portaobjetos y se montan en baño María con gelatina para que se adhieran bien al portaobjetos.

**6. Teñir los cortes:** la finalidad es resaltar las estructuras de interés. Se procede a hacer la tinción deseada (hematoxilina-eosina, azul alciano-rojo núcleo resistente, tinción de Wood, tricrómica de Masson y tricrómica de Mallory).

#### 7. Observar los cortes al microscopio óptico.

\* Los tiempos de deshidratación y aclaración varían de acuerdo al tamaño de la muestra.

## 13.4 Tinciones

### a) Hematoxilina de Gill- eosina

Los cortes que se tiñeron se colocaron en:

1. Estufa durante 10 minutos a 56° C
2. Xilol 20 minutos (en dos recipientes diferentes, 10 minutos en cada uno).
3. Absolut/xilol 1-3 minutos
4. Absolut 1-3 minutos
5. Alcohol 96° 1-3 minutos
6. Alcohol 70° 1-3 minutos
7. Alcohol 50° 1-3 minutos
8. Agua destilada 1-3 minutos
9. Hematoxilina- eosina (10-15 minutos)
10. Agua destilada (para eliminar los excesos de colorante)
11. Alcohol 96°
12. Absolut
13. Absolut/ Xilol
14. Xilol
15. Xilol
16. Montaje con resina sintética

#### \*Hematoxilina de Gill

- Agua destilada 750 ml
- Etilenglicol 250 ml
- Hematoxilina (polvo) 2 g
- Yodato de sodio 0.2 g
- Sulfato de aluminio 17.6 g
- Ácido acético glacial 20 ml ó ácido cítrico 1g

Se agregan en el orden que están los reactivos, se ponen en agitación una hora a temperatura ambiente y se filtra.

#### \* Eosina acuosa

- Eosina amarilla 1 g
- Agua destilada 100 ml

Se disuelve la eosina en el agua destilada y se filtra.

## **b) Azul alciano-rojo núcleo resistente**

Los pasos del 1 al 8 son los mismos (estufa, xilol, alcoholes y agua destilada)

9. Ácido acético al 3% 3 minutos
10. Azul alciano 30 minutos
11. Agua corriente (rápido)
12. Agua destilada (rápido)
13. Rojo núcleo resistente 3-5 minutos
14. Agua corriente (para eliminar los excesos de colorante)
15. Alcohol 96°
16. Absoluto
17. Absoluto/ Xilol
18. Xilol
19. Xilol
20. Montaje con resina sintética

\*Azul alciano

- Azul alciano 1g
- Acido acético al 3% 100 ml

Se disuelve el azul de alciano en el ácido acético, el pH debe ser de 2.5

\*Rojo núcleo resistente

- Rojo núcleo resistente 0.1g
- Sulfato de aluminio al 5% 100 ml

Se hierve lentamente, se enfría, se filtra y se añade un grano de timol.

## **c) Tinción de Wood (Doddamani, 2000)**

Los pasos del 1 al 8 son los mismos (estufa, xilol, alcoholes, agua destilada)

9. Colorante de Wood 2-5 minutos
10. Agua destilada (para eliminar los excesos de colorante)
11. Alcohol 96°
12. Absoluto
13. Absoluto/ Xilol
14. Xilol
15. Xilol
16. Montaje con resina sintética

\* Colorante de Wood

- Eosina amarillenta acuosa al 1%
- Azul de anilina acuoso al 0.5%
- Buffer de acetato 5 M pH 4.0

Se mezcla todo en una proporción 1:1.

## d) Tricrómica de Masson

Los pasos del 1 al 8 son los mismos (estufa, xilol, alcoholes, agua destilada)

9. Bouin toda la noche o 1 hora a 56° C
10. Lavar el agua corriente 10 minutos
11. Lavar en agua destilada
12. Hematoxilina férrica 15 minutos
13. Agua corriente (para eliminar los excesos de colorante)
14. Agua destilada
15. Escarlata de Biebrich 1 minuto
16. Agua destilada
17. Ácido fosfotúngstico- fosfomolibdico 15 minutos
18. Azul de anilina ó verde rápido 30-40 minutos
19. Agua destilada (rápido)
20. Alcohol 96° (rápido)
21. Absoluta
22. Absoluta/ Xilol
23. Xilol
24. Xilol
25. Montaje con resina sintética

### \*Hematoxilina férrica

- Solución acuosa de cloruro férrico al 29% 4 ml
- Agua destilada 95 ml
- Ácido hidroclorehídrico concentrado 1 ml

### \* Escarlata de Biebrich

- Solución acuosa de escarlata de Biebrich al 1% 90 ml
- Solución de fuscina ácida al 1% 10 ml
- Ácido acético glacial 1 ml

### \*Azul de anilina

- Azul de anilina 2.5 g
- Ácido acético glacial 2 ml
- Agua destilada 100 ml

### \*Ácido fosfotúngstico-fosfomolibdico

- Ácido fosfomolibdico 5 g
- Ácido fosfotúngstico 5 g
- Agua destilada 200 ml

## e) **\*\*Tricrómica de Mallory**

Los pasos del 1 al 8 son los mismos (estufa, xilol, alcoholes, agua destilada)

9. Tiosulfato de sodio (hiposulfito) al 2.5% 5 minutos
10. Lavar el agua corriente 15 minutos
11. Fuscina ácida al 1% 5-10 minutos
12. Agua destilada (rápido)
13. Ácido fosfomolibdico al 1% 3-5 minutos
14. Solución compuesta 5-10 minutos
15. Agua destilada (para eliminar los excesos de colorante)
16. Alcohol 96° (rápido)
17. Absoluto
18. Absoluto/ Xilol
19. Xilol
20. Xilol
25. Montaje con resina sintética

\*Fuscina ácida al 1%

- Fuscina ácida 1g
- Agua destilada 100 ml

\*Solución compuesta

- Azul de anilina 0.5 g
- Orange G 2g
- Ácido oxálico 2 g
- Agua destilada 100 ml

\*\*Para esta técnica se requiere que las muestras estén fijadas en Senker o formol.

## f) **Fijadores**

\*Bouin

- Solución acuosa saturada de ácido pícrico 30 ml
- Formol 10 ml
- Agua destilada 2 ml

\*Formol al 10%

- Formol 10 ml
- Agua destilada 90 ml

## XIV. GLOSARIO

**Cápsula de Bowman:** envoltura externa del glomérulo en forma de copa ubicada en el del riñón de todos los vertebrados.

**Celoma:** Cavidad en el embrión de los celomados de la que se originan las principales cavidades del cuerpo.

**Células de Leydig:** células de forma redonda o poligonal situadas en el intersticio entre los túbulos seminíferos de los testículos. Contiene un núcleo central y un citoplasma muy eosinófilo, son las encargadas de sintetizar testosterona.

**Células de Sertoli:** células columnares que tapizan los conductos seminíferos de los testículos que producen una proteína, la **ABP** (*Androgen Binding Protein*) para fijar la testosterona y la hidroxitestosterona producidas fuera del testículo y que son necesarias para la maduración de las células germinales. Sus funciones conocidas incluyen la fagocitosis de los restos celulares producidos durante la diferenciación de las células germinales, sustento físico en el proceso de diferenciación, formación de la barrera hematotesticular y mantenimiento del microambiente tubular para la correcta proliferación y diferenciación de las espermatogonias primitivas.

**Células germinales primordiales:** células germinales de origen extraembrionario; precursoras de los gametos masculino y femenino. Constituyen el único linaje celular capaz de transmitir el genoma a la siguiente generación.

**Células granulosas:** células responsables del desarrollo del gameto femenino en el ovario. Derivan de las células epiteliales celómicas de la cresta gonadal. Las células granulosas forman una capa simple alrededor de los ovocitos en el folículo ovárico primordial e inician la formación de un disco prolífero de múltiples capas rodeando el óvulo en el folículo de Graaf. La principal función de las células granulosas son la producción de esteroides.

**Células somáticas:** células que forman el conjunto de tejidos y órganos de un ser vivo, procedentes de células madre originadas durante el desarrollo embrionario y que pasan por un proceso de proliferación celular, diferenciación celular y apoptosis

**Células tecales:** células del estroma aplanadas que forman una cubierta fuera de la lámina basal, revistiendo el folículo ovárico maduro. Las células tecales son esteroideogénicas y producen principalmente andrógenos, que sirven como precursores de los estrógenos en las células granulosas.

**Conducto mesonéfrico:** conducto embrionario que comienza con los rudimentos del riñón pronefrico y que se desarrolla para formar el sistema de conductos masculino: el epidídimo, el conducto deferente y su ampolla, así como las vesículas seminales y el conducto eyaculatorio.

**Conducto paramesonéfrico:** conducto embrionario que emerge como una bolsa peritoneal, se extienden caudalmente uniéndose al seno urogenital y se desarrolla en el sistema de conductos femeninos: los conductos uterinos y útero.

**Cordones seminíferos:** estructuras macizas observadas dentro del testículo embrionario, constituidas por espermatogonias y células somáticas del tipo pre-Sertoli.

**Cordones sexuales:** estructuras macizas dentro de las gónadas indiferenciadas, constituidas por grupo de células germinales y somáticas ordenadas longitudinalmente en forma de cordón.

**Corpúsculo renal:** unidad anatómica funcional del riñón de los vertebrados donde radica la función de filtración del plasma sanguíneo. Está constituida por el ovillo capilar glomerular y la cápsula de Bowman. Posee una forma esférica y tiene un polo vascular por donde entran y salen la arteria aferente y eferente, y un polo urinario en la zona opuesta, que conecta con el túbulo proximal

**Cresta gonadal:** estructuras pares en forma de pliegue, constituidas por células mesenquimáticas, células germinales y revestidas por epitelio celómico. Se desarrollan en el mesonefros a partir del mesodermo intermedio y dan lugar a la gónada femenina y masculina.

**Cromosomas heterólogos:** cromosomas que forman un par con otro de distinta estructura y distintos alelos y que se recombinan durante la meiosis. En mamíferos

**Cromosomas homólogos:** cromosomas que forman un par y se recombinan durante la meiosis. Tienen la misma estructura y los mismo loci pero distintos alelos, ya que cada uno de ellos procede de un progenitor.

**Desmosoma:** estructura de la membrana celular especializada para la adhesión entre células contiguas .

**Espermatogonias:** célula germinal masculina de la cual derivan, por divisiones sucesivas, los espermatoцитos.

**Estroma:** trama o armazón de un tejido u órgano, que sirve para sostener entre sus mallas los elementos celulares y extracelulares que sustentan la cohesividad particular de cada tejido y colabora con la histoarquitectura de un órgano.

**Factores epigenéticos:** mecanismos fuera del gen o genes que alteran la expresión de estos y pueden cambiar el fenotipo.

**Folículo ovárico:** estructura básica de la corteza del ovario que contiene un ovocito. Los ovocitos están constituidos por una capa de células granulosas que proporciona un microambiente nutricional. El número y tamaño de folículos es variable dependiendo de la edad y estado reproductivo.

**Gónada:** estructura anatómica que constituye el órgano reproductor de los animales, aquí se producen los gametos o células sexuales masculinas y femeninas. En los vertebrados desempeña una función endocrina por lo que se le conoce también como glándula sexual.

**Gononefrotomo:** tejido en el extremo del somita a partir del cual se forman las gónadas y el aparato excretor



**Intersticio:** Hendidura o espacio intercelular, por lo general pequeño que media entre dos cuerpos o entre dos partes de un mismo cuerpo. Está compuesto por filtrado de plasma con proteínas, donde puede haber o no una pequeña cantidad de células

**Lámina basal:** una fina capa de matriz extracelular que separa el tejido epitelial y otros tipos celulares del tejido conectivo.

**Lecho germinal:** es una pequeña región dentro de la superficie del ovario que consiste de ovogonias en división, ovocitos desnudos y folículos primordiales. El número de lechos germinales presentes en cada ovario varía de acuerdo a la especie de lagartija.

**Mesénquima:** tejido conjuntivo embrionario que forma la mayor parte del mesodermo del que derivan tanto los tejidos conectivos y musculares del cuerpo como los vasos sanguíneos y linfáticos.

**Mesenterio:** membrana serosa que constituye un repliegue plano del peritoneo, principalmente de tejido conjuntivo, que contiene numerosos vasos sanguíneos y linfáticos con destino a las vísceras abdominales, y que une al estómago y el intestino con las paredes posteriores del abdomen, dando así posicionamiento a estos órganos digestivos

**Mesodermo:** capa u hoja media embrionaria de las tres en que se disponen las células del blastodermo después de haberse efectuado la segmentación

**Mesonefros:** uno de los tres brotes nefrales (estructuras excretoras) que se forman sucesivamente durante el desarrollo embrionario de los amniotas y que constituye el sistema excretor definitivo en la mayoría de los peces y en los anfibios. .

**Ovogonias:** célula germinal femenina de la cual derivan, por división meiótica, los ovocitos.

**Protrusión:** avance anormal de un tejido, tumor u órgano, por aumento de volumen o por una causa posterior que los empuja.

**Somitas:** cada uno de los segmentos longitudinales en que se divide el mesodermo del tronco del embrión y que dan lugar por delaminación, fusión y migración al esqueleto axial, la dermis dorsal y los músculos de la espalda, la pared del cuerpo y las extremidades.

**Tubos seminíferos:** estructuras ubicadas dentro del testículo en forma de tubo (con una luz central) con paredes constituidas por espermatogonias y células de Sertoli. Las espermatogonias al dividirse por meiosis dan lugar a los espermatozoides que se liberan en la luz del túbulo después del proceso de espermiogénesis.

**Tejido conjuntivo:** tipo de tejido fundamental integrado por células de diversos tipos, en su mayoría de origen mesenquimático, situadas en una matriz intercelular constituida por diversos tipos de fibras proteicas, llamadas fibras conjuntivas, embutidas en una sustancia fundamental amorfa. El tejido conjuntivo se encuentra rellenando los espacios entre otros tejidos o formando el estroma.