



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD
ESTEROIDÓGENICA DE LA GÓNADA DE RECIÉN
NACIDOS Y JUVENILES DE LA LAGARTIJA
VIVÍPARA *Barisia imbricata*.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A:

FRANCISCO GABRIEL GUERRERO SÁNCHEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. MARTÍN MARTÍNEZ TORRES



LOS REYES IZTACALA, EDO. DE MÉXICO, 2017



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.

Recuerda siempre...

No puedes mojar con la palabra agua

Agradecimiento

El presente trabajo de tesis quiero agradecer a un grupo de personas muy importantes, quienes me ayudaron a lograr una de mis metas.

A mis padres, Oscar Quevedo Partida y Alejandra Guerrero Sánchez, ya que estuvieron a mi lado todo el tiempo ayudándome de una u otra manera para concluir este proyecto, además de enseñarme a nunca desistir en mis metas.

A mi tutor, Dr. Martínez-Torres por permitirme formar parte de su equipo de trabajo, compartirme su conocimiento y experiencia, pero sobre todo por su apoyo incondicional como un verdadero amigo.

A mi novia Isabel Alejandra Montiel Gayosso por su ayuda idónea en cada momento de esta gran aventura que fue la licenciatura y tesis, pero sobre todo por ayudar a levantarme en cada caída.

A mis Hermanos Benjamín, Giovanni, Isaac, Iván, Julio, Noel, Oscar y Víctor quienes siempre ha sido un gran apoyo en la conquista de mis metas. Desde cosas tan simples, pero muy significativas que me hacían cobrar fuerza para dar un round más pues no había sonado la campana.

Índice

INTRODUCCIÓN	1
Origen y evolución de los reptiles	1
Huevo Cleidoico	2
Fecundación Interna	2
Características generales	3
Determinación del sexo	6
Determinación sexual genotípica	7
Determinación sexual por temperatura	7
Determinación sexual: un continuo de DSG y DST	8
ANTECEDENTES	10
Desarrollo sexual en saurios	10
Gonadogénesis	10
Cresta genital	10
Gónada bipotencial	11
Diferenciación testicular y ovárica	12
Diferenciación del testículo	12
Diferenciación del ovario	15
Conductos sexuales	17
Conductos de Müller	17
Conducto de Wolff	18
Genitales externos	19
Diferenciación Sexual de los penes	20
Diferenciación Sexual de los clítoris	20
Glándula adrenal	20
Dimorfismo sexual	21
GENERALIDADES DE <i>Barisia imbricata</i>	22
Ciclo Reproductor	23
Dimorfismo sexual	24
JUSTIFICACIÓN	25
OBJETIVO GENERAL	25
Objetivos particulares	25
MATERIAL Y MÉTODOS	26

Trabajo en campo-----	26
Trabajo en laboratorio -----	26
Histología -----	27
Histoquímica. -----	27
Resultados -----	28
Recién nacidos -----	28
Reconocimiento del sexo -----	28
Los resultados histológicos -----	28
Los resultados histoquímicos -----	30
Juveniles de Cuatro meses de edad -----	31
Resultados histológicos -----	31
Los resultados histoquímicos -----	33
Discusión -----	34
Testículo -----	34
Ovario-----	35
Adrenal -----	36
Conclusiones-----	37
REFERENCIAS -----	38

RESUMEN

En los saurios el patrón de desarrollo sexual es un proceso altamente conservado, en ambos sexos: las gónadas, conductos y genitales externos se desarrollan en el último tercio de la etapa embrionaria y existen evidencias de que la actividad del testículo u ovario desencadenan la diferenciación sexual de los conductos y genitales externos. Sin embargo, recientemente se encontró que en *Barisia imbricata* existe heterocronía entre el desarrollo gonadal y el desarrollo/regresión de los genitales externos en machos y hembras respectivamente.

En este trabajo se caracterizó histológica e histoquímicamente el complejo gónada-adrenal-mesonefros de recién nacidos y el complejo gónada-adrenal de juveniles de cuatro meses de vida posnatal de la lagartija vivípara *Barisia imbricata*. En los recién nacidos y juveniles se extrajo quirúrgicamente el complejo gónada-adrenal-mesonefros y gónada-adrenal, respectivamente. En el complejo derecho se realizó la histología utilizando la técnica de Hematoxilina-Eosina y en el izquierdo una técnica histoquímica para determinar la actividad $\Delta^{5-4}3\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa, una enzima involucrada en la síntesis de esteroides sexuales y en los machos de cuatro meses de edad el ensayo para la 17 Cetoreductasa (enzima directamente involucrada en la síntesis de andrógenos).

El estudio reveló que las gónadas de los recién nacidos de *B. imbricata* presentan características histológicas generales de ovario y testículo, pero que no son activas esteroideogénicamente, sino hasta el cuarto mes de edad, en contraste con otros saurios donde las gónadas adquieren la capacidad esteroideogénica en la vida embrionaria. En cambio, la glándula adrenal de los recién nacidos de *B. imbricata* es capaz de sintetizar esteroides sexuales y los juveniles de cuatro meses ya producen andrógenos. Sin embargo, se desconoce cuál es la función de este esteroide ya que no hay diferencias morfológicas en los genitales externos de ambos sexos. De acuerdo con los resultados obtenidos podemos afirmar que hay heterocronía en la diferenciación de las células de Leydig, inicia en la etapa embrionaria y concluye en la vida posnatal temprana. Estas observaciones sugieren que aunque es importante la presencia de hormonas sexuales para la diferenciación de los genitales externos (formación del clítoris en las hembras, desarrollo de los penes en los machos) el otro factor determinante es la presencia de sus respectivos receptores.

INTRODUCCIÓN

Los anfibios fueron los primeros vertebrados que exploraron e intentaron colonizar la tierra, pero sin mucho éxito, pues no podían alejarse demasiado del ambiente acuático, ya que necesitan de éste para reproducirse y evitar la desecación de los huevos. En cambio, otro grupo de vertebrados (los reptiles) fueron los verdaderos colonizadores de la tierra. Para lograrlo debieron implementar varias adaptaciones, como modificar la estrategia reproductora (cópula y tipo de huevo) lo que les permitió colonizar la tierra ([Goin et al., 1978](#)).

Origen y evolución de los reptiles

La clase Reptilia tuvo su origen en un grupo muy ligado a la clase Amphibia: el clado Reptiliomorpha. Dentro de éste hay un grupo conocido como anthracosauria laberintodontos, el cual agrupa a tetrápodos que poseen características de anfibio y de reptil. Por la gran similitud en cráneo, vértebras y extremidades con los primeros reptiles, estos se consideran como sus ancestros más probables ([Goin et al., 1978](#)). Aun cuando no se sabe con certeza cuál fue el primer amniota, se han propuesto candidatos, como: *Solenodonsaurus*, *Westlothiana* y *Casineria* ([Carroll, 1991](#)).

Los reptiles más antiguos de los que se tiene registro fósil son: *Paleothyris*, *Protoclepsyrops* e *Hylonomus* (Fig. 1). Habitaron durante el Carbonífero Superior (aproximadamente 312 millones de años. En Joggins, Nueva Escocia). Eran terrestres ágiles de talla pequeña (longitud hocico-cloaca 15-25 cm), un alto grado de osificación, extremidades bien desarrolladas y similares a los escamosos actuales ([Canoville y Laurin, 2010](#); [Vitt y Caldwell, 2014](#)).

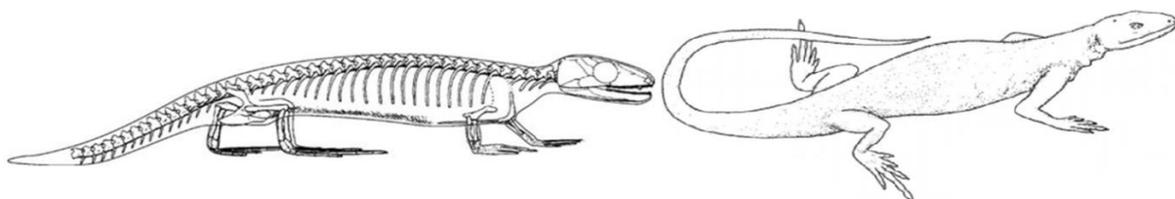


Figura 1. *Hylonomus lyelli*, reptil más antiguo, Nueva Escocia. Tomado de [Carroll y Baird 1972](#).

El florecimiento y dominación del clado Reptilia fue durante la era mesozoica (la riqueza de fósiles en esta era refleja la asombrosa diversidad y radiación que tuvieron) siendo los animales terrestres y voladores más abundantes; no fue así en medios acuáticos; sin embargo, fueron grandes depredadores en todos los ambientes. Para lograr tal diversidad y abundancia debieron desarrollar para cada

Determinación de la actividad esteroidogénica de la gónada de recién nacidos y juveniles de la lagartija vivipara *Barisia imbricata*.

ambiente varias adaptaciones ([Vitt y Caldwell, 2014](#)), a pesar de éstas, casi por completo se extinguieron, en lo que se denominó “la gran extinción masiva del Cretácico-Terciario”, hace 65 millones de años aprox. ([Archibaldn y MacLeod, 2007](#)).

Entre las adaptaciones evolutivas que permitieron la independencia del ambiente acuático y colonizar la tierra, dos fueron las más importantes y trascendentes: 1) un huevo que se pone en tierra sin desecarse (huevo cleidoico. Fig. 2) y 2) la fecundación interna por un órgano especializado (pene) (Fig. 3) ([Strickberger, 1993](#)).

Huevo Cleidoico

El huevo cleidoico permitió a los reptiles poner nidadas en tierra seca; ya que presenta los anexos embrionarios: amnios, corion, alantoides, que mantienen en un medio acuoso al embrión y el saco vitelino que aporta los nutrientes (el vitelo) para todo el desarrollo. Además, una cubierta que protege de microorganismos patógenos, de depredadores invertebrados y evita la desecación, pero permite el intercambio gaseoso. De tal modo, es viable el completo desarrollo del embrión en un ambiente seco y terrestre ([Packard y Packard, 1980](#); [Melitta, 2008](#)).

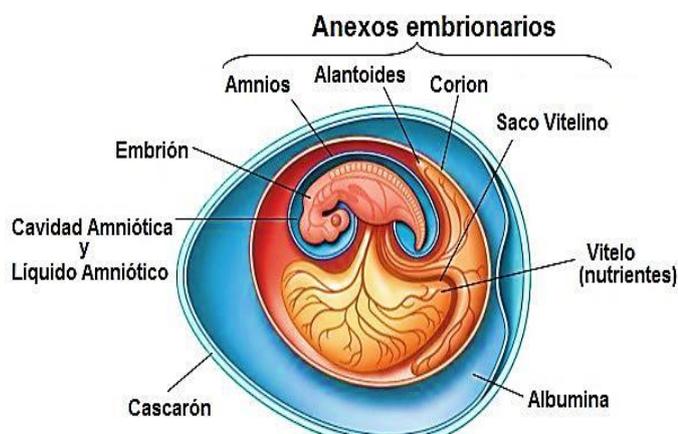


Figura 2. Huevo cleidoico (Modificado de Pearson Education, Inc. 2008).

la desecación, pero permite el intercambio gaseoso. De tal modo, es viable el completo desarrollo del embrión en un ambiente seco y terrestre ([Packard y Packard, 1980](#); [Melitta, 2008](#)).

Fecundación Interna

La fecundación interna se logró en los reptiles porque los machos desarrollaron un órgano especializado para copular, denominado pene ([Melitta, 2008](#)). Éste es exclusivo de los amniotas (reptiles, aves y mamíferos), ya que anfibios y peces carecen de este órgano. Algunas especies de peces usan aletas modificadas o como *Ascaphis trueii* (“rana coluda”) su extensión cloacal, para dirigir a la hembra el espermatozoos ([Gredler et al., 2014](#)). En cambio, los penes en los reptiles están

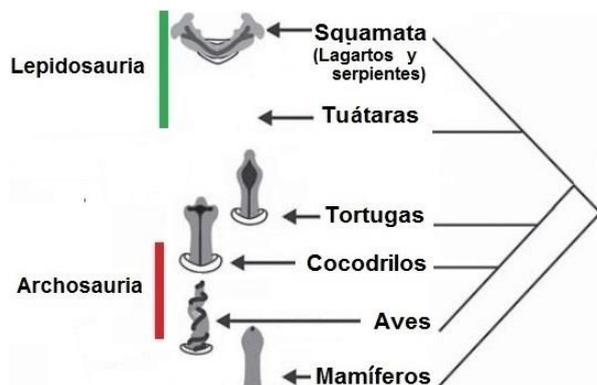


Figura 3. Penes de los amniotas (Tomado de [Gredler et al., 2014](#)).

diseñados exprofeso para la inseminación interna; constituidos por cuerpos fibrosos y cavernosos (pene eréctil), además un surco dorsal de descarga para depositar el semen dentro del tracto reproductor femenino ([Melitta, 2008](#)).

Hubo otras adaptaciones para vivir en tierra, como: 1) desarrollo de uñas, 2) escamas sobre la piel, 3) una segunda vértebra sacra, 4) modificación de huesos tarsales del calcáneo y astrágalo en el talón, 5) reducción drástica del cleitro en la cintura escapular, 6) partición del tronco arterial (que emerge del corazón en tronco aórtico y arteria pulmonar) y 7) un riñón funcional del metanefros ([Melitta, 2008](#)).

Características generales

Los reptiles actuales se dividen en 4 órdenes: Rhinchocephalia, Testudines, Crocodylia, Squamata (Fig. 4). Estos se caracterizan por ser ectotermos y tener escamas dérmicas (de α y β -queratina) y dependiendo del taxón es el tamaño, forma y ubicación ([Vitt y Caldwell, 2014](#)); algunos taxa las tienen sobre osteodermos ([Casas y McCoy, 1979](#)), la piel posee glándulas que principalmente secretan lípidos (sirven como feromonas e impermeabilizante) ([Vitt y Caldwell, 2014](#)). Sistema sanguíneo con corazón tricavitario (excepto Crocodylia) ([Bellairs y Attridge, 1975](#)), esqueleto interno óseo ([Canseco y Gutiérrez, 2010](#)) con cóndilo occipital, atlas y axis ([Vitt y Caldwell, 2014](#)). Normalmente con miembros pares y/o sus vestigios, generalmente éstos presentan cinco dedos con uñas ([Casas y McCoy, 1979](#)) y sin paladar secundario (excepto Crocodylia). Pueden ser terrestres, acuáticos o semiacuáticos. Tienen fecundación interna con pene (excepto tuátaras) ([Vitt y Caldwell, 2014](#)). Tienen respiración pulmonar, simetría bilateral, sistema nervioso

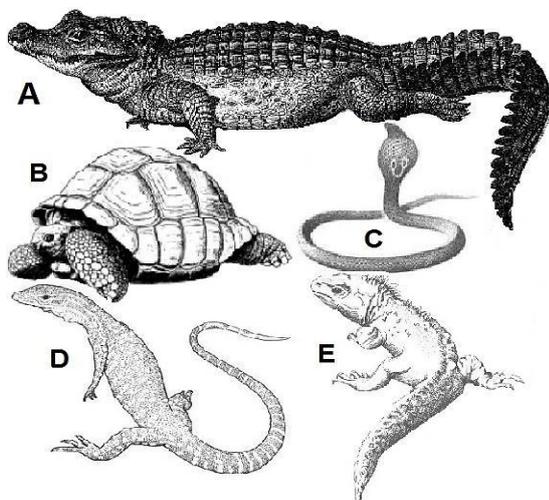


Figura 4. Reptiles actuales: Crocodylia (A), Testudines (B), Squamata (C, D) y Rhinchocephalia (E).

central y periférico ([Bellairs y Attridge, 1975](#)). La mayoría son ovíparos, sólo algunas lagartijas y serpientes son vivíparas ([Canseco y Gutiérrez, 2010](#)).

Rhinchocephalia [Tuátara: 1 especie ([Reptile-database, 2017](#))]. Viven únicamente en Nueva Zelanda ([Hay et al., 2003](#)). Tiene cabeza grande y cola gruesa. Es ovípara con determinación sexual por temperatura ([Pough et al., 2004](#)).

Determinación de la actividad esteroideogénica de la gónada de recién nacidos y juveniles de la lagartija vivípara *Barisia imbricata*.

Crocodylia [Cocodrilos: 25 especies ([Reptile-database, 2017](#))]. Se caracterizan por un cuerpo dorsalmente cubierto de osteodermos (algunas especies también ventralmente), dientes tecodontos, cavidad torácica dividida por un músculo. Son semiacuáticos (membranas interdigitales) ([Pough et al., 2004](#)), de gran talla, robusto, cola aplanada lateralmente, cabeza alargada y plana, fosetas nasales y ojos en posición superior ([Canseco y Gutiérrez, 2010](#)). Poseen glándulas (posiblemente producen feromonas) en la región gular y cloacal. La hembra construye nidos para depositar sus huevos que cuidan hasta la eclosión. Son depredadores. Distribución limitada a los trópicos y algunas áreas templadas ([Vitt y Caldwell, 2014](#)).

Testudines [Tortugas: 341 especies ([Reptile-database, 2017](#))]. Se caracterizan por tener un caparazón (hueso dérmico; cubierto de escamas) donde oculta total o parcialmente cabeza, extremidades y cola ([Canseco y Gutiérrez, 2010](#)). La columna vertebral (excepto cuello y cola) y las costillas están fusionadas al caparazón. El plastrón es la fusión de varias partes de la cintura escapular y huesos dérmicos ([Vitt y Caldwell 2014](#)). La mandíbula en forma de pico córneo (sin dientes, bordes cortantes) ([Canseco y Gutiérrez, 2010](#)). Son ovíparas, construyen nidos para depositar una o varias docenas de huevos, depende del taxón y talla ([Vitt y Caldwell, 2014](#)). Pueden ser acuáticas, semiacuáticas y terrestres ([Pough et al., 2004](#)).

Squamata [Anfisbénidos (Amphisbaenia) 188 especies, Serpientes (*Serpentes*): 3496 especies y Lagartijas: 5987 especies ([Reptile-database, 2017](#))].

Serpentes carecen de apertura ótica externa, párpado, esternón, cintura pectoral y la mayoría de cintura pélvica y extremidades ([Canseco y Gutiérrez, 2010](#)). Algunas conservan vestigios de extremidades y cintura pélvica (Boidae, Leptotyphlopidae, Typhlopidae). El pulmón izquierdo es reducido, las vértebras dorsales son numerosas. Presentan prolongación de la glotis (permite respirar al tragar), cráneo cinético y las mandíbulas están unidas al frente por el cartílago de Meckel (permite flexibilidad al deglutir) ([Halliday y Adler, 2002](#)), algunas poseen glándulas venenosas ([Lanka y Vitt, 1991](#)). Los vipéridos presentan fosetas termo-sensoriales entre los orificios nasales y el hocico. Los machos tienen dos penes ([Canseco y Gutiérrez, 2010](#)). Hay terrestres, arborícolas, enterradoras, latebrícolas, trogloditas y acuáticas (Hydrophinae y Acrochordidae), pueden ser vivíparas y ovíparas ([Halliday y Adler, 2002](#)).

Las anfibenas sin extremidades (excepto Bipedidae; sólo delanteras), de cuerpo delgado y anillos de escamas (parecen segmentadas), cola corta, no tienen

glándulas en la lengua, ni apertura ótica externa. Son fosoriales (cráneo muy osificado). El pulmón izquierdo es más grande ([Pough et al., 2004](#)). Comen pequeños vertebrados, lombrices y artrópodos. Hay vivíparas y ovíparas ([Halliday y Adler, 2002](#)).

Las lagartijas en general son de cuerpo alargado, poseen cuatro extremidades (excepto: Dibamidae, Pygopodidae, Gymnophthalmidae, Scincidae y en Anguidae algunos miembros), con cola generalmente larga y con autotomía (en algunas especies es prensil) pueden desprenderla y regenerarla. Presentan abertura ótica externa y tiene parpados (excepto: algunos geckos) ([Halliday y Adler, 2002](#)). Son vivíparas u ovíparas. Los machos tienen dos penes. Son cosmopolitas y la mayoría son diurnas pero algunas spp son crepusculares o nocturnas ([Halliday y Adler, 2002](#)).

Como se ha descrito anteriormente la clase Reptilia es muy diversa y esto ha hecho que ocupen una gran variedad de hábitats terrestres y acuáticos, pero la distribución geográfica de cualquier grupo es afectada por el clima y la disponibilidad del alimento. Este grupo no es la excepción. Por la peculiaridad que presentan de ser ectotérmicos, su distribución es limitada claramente por la temperatura ambiental, así que el clima de frío ártico es una barrera eficaz en su dispersión (Fig. 5) ([Porter, 1972](#)). Debido a la amplia distribución de este clado y a la vasta gama de hábitats que ocupan es que este grupo han podido desarrollar una gran variedad de estrategias en la determinación sexual.

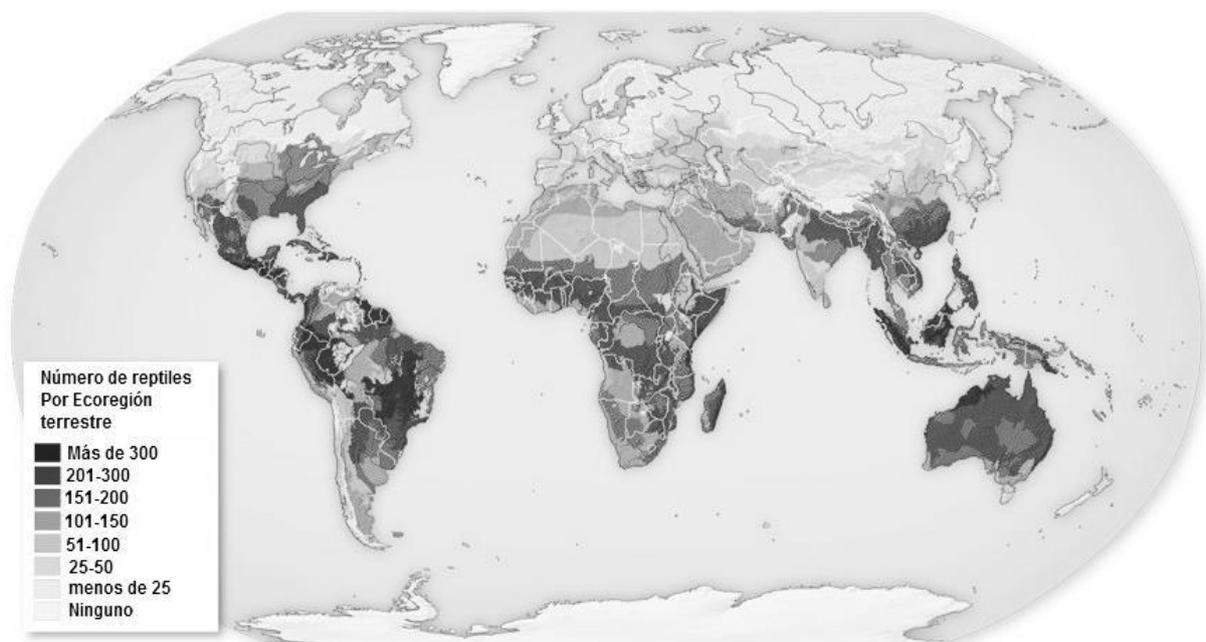


Figura 5. Distribución continental de reptiles (Modificado: *The atlas of global conservation by the nature conservancy & university of California Press*. 2015).

Determinación del sexo

El mecanismo de determinación sexual es un proceso fundamental en especies de reproducción sexual, ya que determina las características sexuales del organismo y esto es de gran importancia, porque sí se desarrolla como macho o hembra tendrá profundas consecuencias en su historia de vida ([Norris y López, 2010](#)).

La investigación ha revelado que hay varios mecanismos de determinación del sexo en reptiles. Esta diversidad es intrigante porque el ratio sexual es tan similar en la mayoría de las especies. De hecho, sin el conocimiento de esta variedad, se esperaría que un único mecanismo se hubiera establecido en una fase temprana de la evolución, pero no es así, ya que en especies relacionadas difieren en aspectos fundamentales de la determinación sexual (Fig. 6) ([Norris y López, 2010](#)). Estos mecanismos van desde el sistema con bases puramente genéticas (determinación sexual genotípica: DSG) hasta el que está sólo bajo la influencia ambiental (determinación sexual por temperatura: DST) ([Norris y López, 2010](#)). Además, hay evidencias de que los dos pueden coexistir (p.ej. *Bassiana duperreyi*, *Pogona vitticeps*, [Shine et al., 2002](#); [Ezaz et al., 2005](#); [Quinn et al., 2007](#); [Radder et al., 2008](#)).

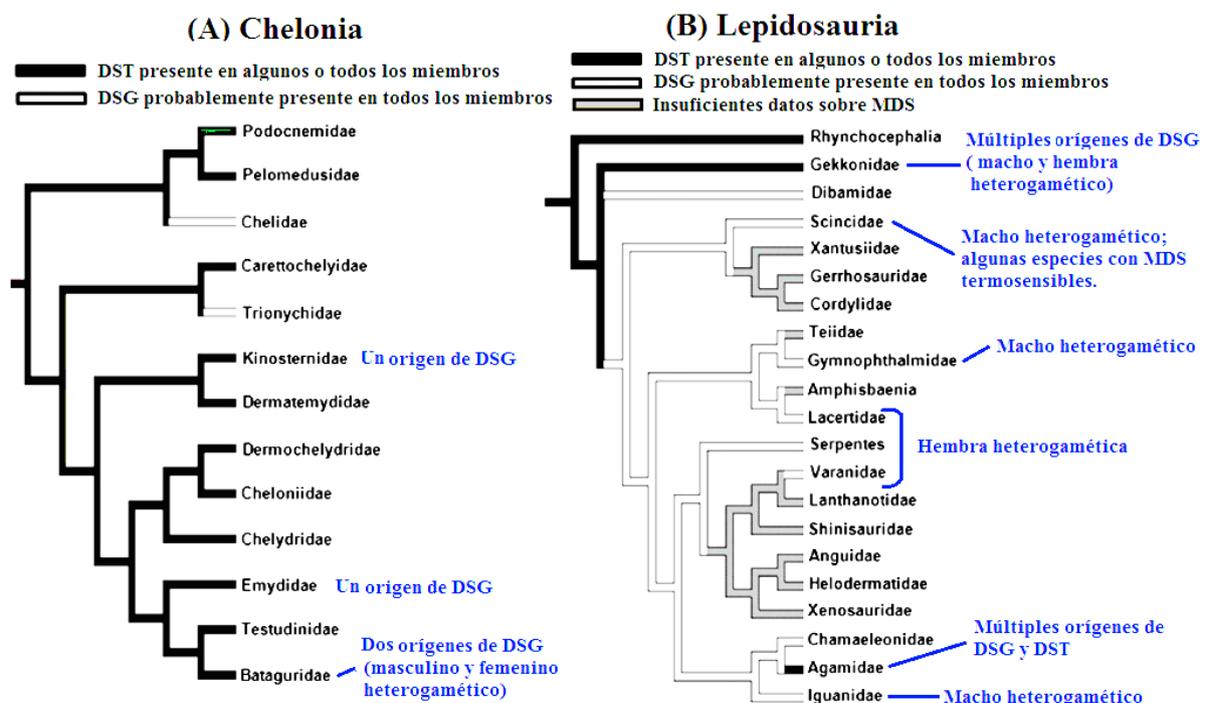


Figura 6. Distribución filogenética de los mecanismos de determinación sexual (MDS) en las familias existentes de (A) Chelonia y (B) Lepidosauria (Squamata + Rhinchocephalia). Determinación sexual por temperatura (DST) determinación sexual genotípica (DSG) (Tomado de [Norris y López, 2010](#)).

Determinación sexual genotípica

La DSG es un mecanismo donde el sexo se determina sólo por factores genéticos. Esto ocurre justo al momento de la fecundación ([Sarre et al., 2004](#)). Es importante destacar que los genes que determinan el sexo se encuentran en los cromosomas sexuales. Éstos dirigen las vías de la diferenciación sexual ([Sarre et al., 2004](#); [Alföldi et al., 2011](#)). Se conocen dos sistemas en los reptiles: Heterogamético masculino XX/XXY (tortugas) ([Sites et al., 1979](#)). Heterogamético femenino ZW/ZWW (serpientes) ([Ciofi y Swingland, 1997](#); [Pough et al., 2004](#)) y ambos son conocidos en los lagartos ([King, 1977](#)) (Fig. 7). Aunque muchas especies presentan DSG, en las que se realizó su cariotipo no muestran evidencia de tener cromosomas sexuales heteromorfos, posiblemente, porque son homomórficos ([Norris y López, 2010](#)). En algunas especies con DSG se puede modificar el sexo por la temperatura de incubación ([Radder et al., 2008](#); [Quinn et al., 2009](#)).

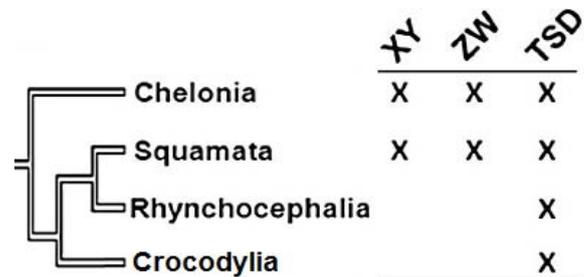


Figura 7. MDS en reptiles: DSG (ZW, XY) y (DST) (Modificado de [Norris y López, 2010](#)).

Determinación sexual por temperatura

La DST ocurre después de la fecundación, en el periodo termo sensible, en el último tercio del desarrollo embrionario ([Martínez-Torres et al., 2015](#)).

La temperatura de incubación donde el ratio sexual 1:1 se denomina temperatura central; si se expresa en los individuales temperatura umbral. Temperaturas por debajo o encima de ésta dan uno u otro sexo, se denominan rango de temperaturas de transición. Típicamente es estrecho (1-2 °C) ([Norris y López, 2010](#)). Cada patrón de transición contiene al menos una temperatura central y un rango de transición, pero esto varía entre taxa, poblaciones e individuos. ([Ewert et al., 2004](#), y [2005](#); [Warner et al., 2008](#)) (Fig. 8). De acuerdo con ello, la evidencia sugiere que la temperatura central tendría una base genética heredable ([Bull et al., 1982](#); [Janes y Wayne, 2006](#)). Entonces podría evolucionar por presiones selectivas, lo que explicaría la diversidad de patrones de DST ([Norris y López, 2010](#)).

Se proponen tres modelos para la relación entre el ratio sexual y la temperatura de incubación ([Pieau, 1996](#); [Kraak y Pen, 2002](#)), pero son generalizaciones de la variedad que presenta este Clado ([Norris y López, 2010](#)). La clasificación es: M-H (macho-hembra) donde temperaturas productoras de machos son bajas y son altas

Determinación de la actividad esteroidogénica de la gónada de recién nacidos y juveniles de la lagartija vivipara *Barisia imbricata*.

las productoras de hembras [algunas tortugas y lagartijas. ([Ewert et al., 1994](#); [Harlow, 2004](#))]. H-M (hembra-macho) es inverso al anterior [tuátara y algunos escamosos. ([Harlow, 2004](#); [Mitchell et al., 2006](#))]. H-M-H (hembra-macho-hembra) temperaturas extremas producen hembras e intermedias machos. Hay dos temperaturas centrales, por lo tanto dos rangos de temperaturas de transición ([Ewert et al., 2005](#)).

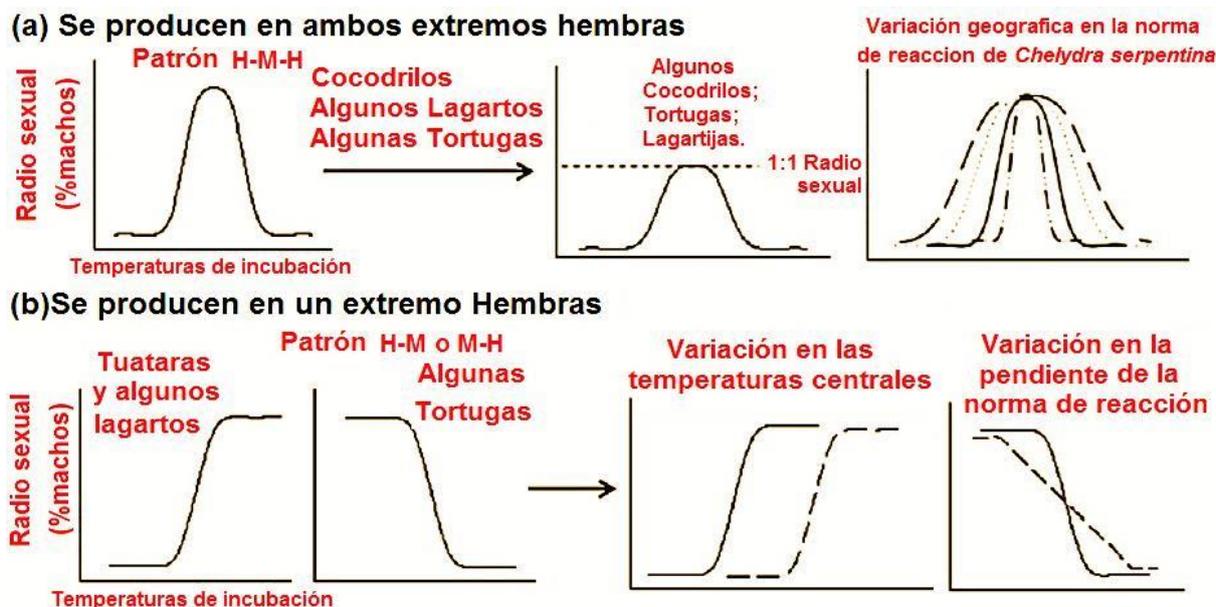


Figura 8. Patrones de DST en reptiles. Los gráficos muestran RS (% Machos) como función del aumento de la TI (x-axes). Patrones principales y variantes (izq. y dcha. de la flecha) (Modificado de [Norris y López, 2010](#)).

Determinación sexual: un continuo de DSG y DST

La perspectiva dicotómica de los mecanismos de la DSG y de la DST implicaba que eran diferentes y por lo tanto mutuamente excluyentes, pero se han identificado especies con sensibilidad térmica y cromosomas sexuales heteromorfos, lo que indica que pueden coexistir e interactúan para la diferenciación sexual (p.ej. *Chelonia mydas*, *Lepidochelys kempi*, *Emys orbicularis*, *Gekko japonicus* [Serre et al., 2004](#); *B. duperreyi* [Radder et al., 2008](#); [Quinn et al., 2009](#); *Trachemys scripta* [Badenhorst et al., 2013](#)). Se sugiere que la DSG y la DST pueden representar los extremos del continuo de estados. Un punto del extremo es puramente genético y otro extremo es puramente ambiental (Fig. 9). En los puntos intermedios serían por niveles variables entre estos dos factores ([Sarre et al., 2004](#); [Barske y Capel, 2008](#); [Badenhorst et al., 2013](#)).

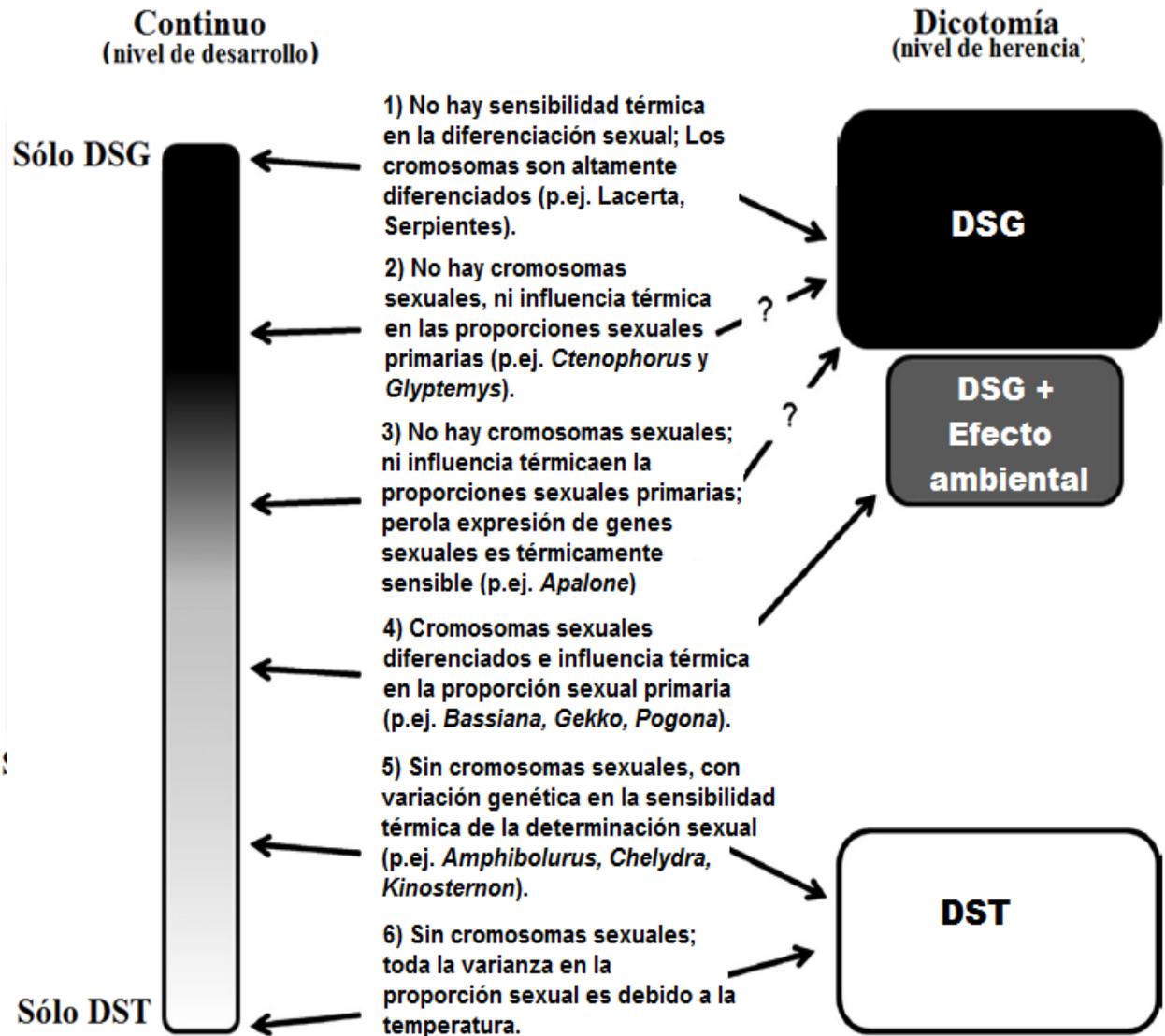


Figura 9. Comparación entre la dicotomía y un continuo (Tomado de [Norris y López, 2010](#)) Diferenciación sexual (DS).

ANTECEDENTES

Desarrollo sexual en saurios

El desarrollo del tracto reproductivo (gónadas, conductos sexuales, genitales externos) en saurios, comienza en el último tercio del desarrollo embrionario donde ocurre la diferenciación de las gónadas ([Martínez-Torres et al., 2015](#)), los conductos de Wolff, Müller ([Forbes, 1956](#); [Austin, 1988](#); [Neaves et al., 2006](#)) y los genitales externos antes que concluya la embriogénesis (p.ej. *Lacerta vivipara*, [Dufaure y Hubert, 1961](#); *Calotes versicolor*, [Doddamani, 1994](#), y [2006](#); *Anolis carolinensis*, [Gredler et al., 2014](#)).

Gonadogénesis

Independientemente del mecanismo de diferenciación sexual, el patrón general de la gonadogénesis se conserva en reptiles. Se divide en tres fases: 1) cresta genital, 2) gónada bipotencial y 3) diferenciación gonadal en testículo u ovario ([Martínez-Torres et al., 2015](#)) depende del genotipo y/o temperatura de incubación en el periodo termo sensible ([Barske y Capel, 2008](#)).

Actualmente, en reptiles, se desconoce el factor específico de la diferenciación gonadal. Sin embargo, se han descrito para los reptiles algunos genes ortólogos que participan en la diferenciación sexual en mamíferos [p.ej. Dmrt1 (Double sex-and mab-3-related transcription factor 1), Sox9 (SRY-like HMG box), HAM (Hormona anti-Mülleriana), Sf1 (Steroidogenic factor 1), Wt1 (Wilms' tumor suppressor gene), gen de la aromatasa y LHx9 (LIM-homeodomain transcription factor 9)] ([Choudhary et al., 2000](#); [Murdock y Wibbels, 2003](#); [Rhen et al., 2007](#); [Shoemaker et al., 2007](#); [Bagheri-Fam et al., 2010](#); [Norris y López, 2010](#); [Bieser et al., 2013](#)).

Cresta genital

La gonadogénesis comienza con el desarrollo de la cresta gonadal (Fig. 10) (ocurre entre las etapas 24-30 del desarrollo embrionario en lagartos (p.ej. *L. vivípara*, [Dufaure y Hubert, 1961](#); *Sceloporus undulatus*, [Austin 1988](#); *C. versicolor*, [Doddamani et al., 1994](#) y [2006](#); *Niveoscincus ocellatus*, [Neaves et al., 2006](#)). Son morfológicamente idénticas (tienen elementos corticales y medulares) en ambos sexos, sin importar la temperatura de incubación y/o genotipo. Se desarrolla del

engrosamiento del epitelio celómico en la superficie ventromedial del riñón mesonéfrico embrionario (Norris y López, 2010). Están formadas por epitelio germinal, células mesenquimales de la pared dorsal del celoma, así como células germinales primordiales (que migran a la cresta, al final de la gastrulación) (Doddamani *et al.*, 1994 y 2006; Martínez-Torres *et al.*, 2015). Son potencialmente dimórficas. La cresta crece en tamaño a medida que las células somáticas como germinales proliferan. (Norris y López, 2010; Rhen y Schroeder, 2010).

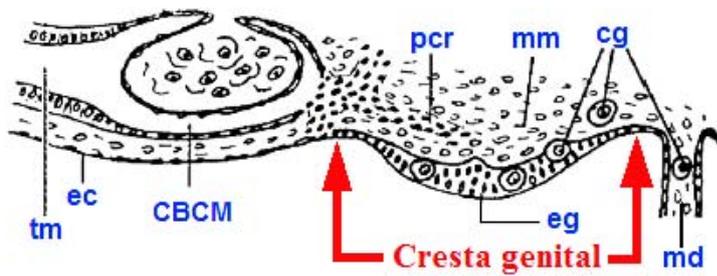


Figura 10. Cresta genital de reptil. CBCM (Cápsula de Bowman del Corpúsculo de Malpighi); ec (epitelio celómico); md (mesenterio dorsal); cg (células germinales); eg (epitelio germinal); mm (mesénquima mesonéfrico); tm (tubo mesonéfrico) pcr (primordio de los cordones de la red). (Modificado de Pieau *et al.*, 1999).

Gónada bipotencial

En la fase de gónada bipotencial (Fig. 11) (en lagartos es más corta que en los otros reptiles: etapas 35-36 del desarrollo embrionario), las células germinales primordiales se multiplican por mitosis (Norris y López, 2010) y la región medular de la gónada bipotencial es invadida por las células epiteliales (del epitelio externo de la cápsula de Bowman), mientras el epitelio celómico bordea los riñones mesonéfricos en el lado lateral de cada gónada y el epitelio germinal de la gónada. Las células de los corpúsculos de Malpighi y el epitelio celómico lateral están organizadas en la parte dorsal para formar los cordones epiteliales. Las células epiteliales germinales dan lugar a finos cordones sexuales que penetran en el mesénquima subyacente inicial (Pieau *et al.*, 1999; Norris y López, 2010). Las células que proliferan de los corpúsculos de Malpighi y el epitelio celómico lateral están organizadas en finos cordones en la parte dorsal del primordio gonadal. Esta estructura gonadal se observa en ambos sexos (Norris y López, 2010).

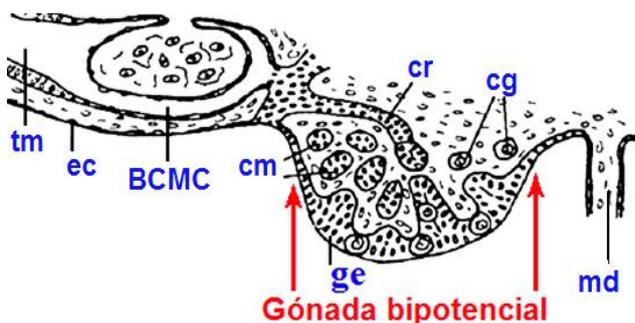


Figura 11. Gónada bipotencial de reptil. CBCM (Cápsula de Bowman del Corpúsculo de Malpighi); ec (epitelio celómico); md (mesenterio dorsal); cg (células germinales); eg (epitelio germinal); cm (cordón medular); tm (tubo mesonéfrico); cr (cordones de la red) (Modificado de Pieau *et al.*, 1999).

Determinación de la actividad esteroideogénica de la gónada de recién nacidos y juveniles de la lagartija vivipara *Barisia imbricata*.

Los genes involucrados en el desarrollo de la gónada bipotencial en reptiles son Sf1 y Wt1. Estos son importantes para la formación y diferenciación. Wt1 parece estar correlacionado con los patrones de la proliferación celular ([Schmahl et al., 2003](#)), y recientemente se implicó a Lhx9 en el desarrollo y proliferación celular. Además, es plausible que desempeñe un papel en la regulación de la expresión de SF1 durante la diferenciación (*T. scripta*) ([Bieser et al., 2013](#)). Así que SF1 actuaría como un factor masculinizante de la gónada bipotencial a través de los genes SOX9 y HAM, o factor feminizante por la activación directa o indirecta de la transcripción del gen de la aromatasa, ya que éste es termo sensible ([Pieau et al., 1999](#)). De hecho, tanto Wt1 y Sf1 están implicados como candidatos para funcionar como “interruptores maestros” (tortuga: DST) ([Valenzuela et al., 2006](#), [Valenzuela, 2007](#) y [2008](#)). Otros genes como DAX1 (Dosage-sensitive sex reversal) y Dmrt1 se producen en ambos sexos antes de la diferenciación gonadal (p.ej. caimanes y tortugas), pero su expresión es termo sensible (*T. scripta*, [Kettlewell, et al., 2000](#); [Shoemaker et al., 2007](#); *Chrysemys picta*, *Apalone mutica*, [Valenzuela, 2008](#)). Sin embargo, el papel exacto de estos genes no es claro, por lo que se requiere más investigación para entender completamente su función ([Norris y López, 2010](#)).

Diferenciación testicular y ovárica

La última fase en la gonadogénesis es la diferenciación testicular u ovárica. Es cuando la gónada bipotencial se comprometen a desarrollarse como testículo u ovario ([Martínez-Torres et al., 2015](#)). Este proceso se conoce como diferenciación gonadal, depende de la temperatura de incubación durante el periodo termo sensible) o cariotipo sexual ([Norris y López, 2010](#)). Esta etapa de la gonadogénesis es fundamental en reptiles con DST ([Sarre et al., 2004](#)).

Diferenciación del testículo

Durante la diferenciación testicular (Fig. 12) (etapa 34-37 del desarrollo embrionario, depende de la especie) el epitelio germinal se aplanan y se mantiene positivo a citoqueratina. Las células germinales migran entre las células epiteliales de los cordones medulares. Estas últimas adquieren características de células de Sertoli., ya que citoqueratina se concentra en el citoplasma basal. ([Pieau et al., 1999](#)). Durante esta etapa hay una proliferación significativa de células de Sertoli, de modo que los cordones medulares van formando el primordio de los cordones

seminíferos con un contorno redondeado, bien delineado por una membrana basal con inmunorreactiva a laminina. De tal manera que el crecimiento de los testículos es regulado por el desarrollo de cordones seminíferos, esto durante el periodo termo sensible. Después de éste, una delgada capa albugínea (compuesta de unos pocos estratos de fibroblastos) se diferencia y rodea los testículos. Las células de Leydig comienzan a diferenciarse entre el tejido intersticial ([Pieau et al., 1999](#)).

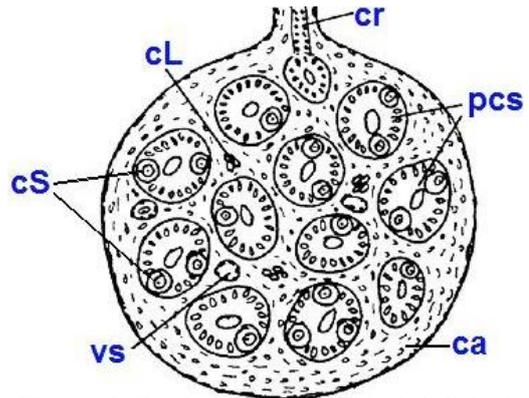


Figura 12. Testículo de reptil RN. cL (célula de Leydig); cS (célula de Sertoli); vs (vaso sanguíneo); cr (cordón de la red); pcs (primordio del cordón seminífero); ca (capa albugínea) (Modificado de [Pieau et al., 1999](#)).

diferenciarse entre el tejido intersticial ([Pieau et al., 1999](#)). Se ha estudiado el efecto de andrógenos exógenos (no aromatizables) en la diferenciación durante el periodo termo sensible. Estos sólo tienen efecto masculinizante en la temperatura central (condición que se produce en los nidos en la naturaleza), pero no tiene efecto en las temperaturas de transición ni temperaturas productoras de hembras; así que se excluye de un papel importante de los andrógenos para llevar a cabo la diferenciación testicular (p.ej. *T. scripta*, [Wibbes y Crews, 1992](#); [Crews y Bergeron, 1994](#); *A. mississippiensis* [Lance y Bogart, 1994](#)).

Un gen importante en la diferenciación sexual es *Dmrt1*, ya que su expresión aumenta en temperaturas productoras de machos y permanece alta durante todo el desarrollo testicular y este gen se encuentra cascada arriba de otro importante gen para la diferenciación del testículo, el gen HAM ([Norris y López, 2010](#)).

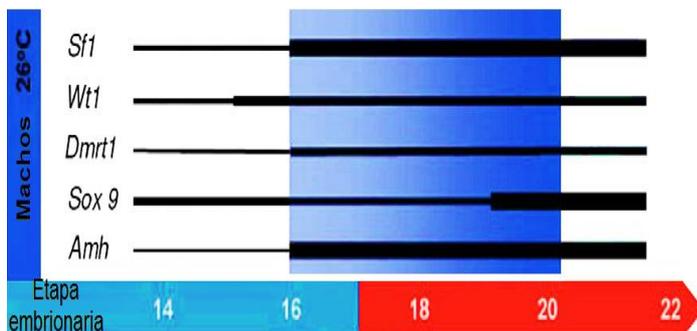


Figura 13. Expresión temporal de genes con un papel crítico en la determinación testicular (*T. scripta*, [Yao y Capel, 2005](#)). El área sombreada representa al periodo termo sensible (Modificado de [Norris y López, 2010](#)).

de HAM en los reptiles no está regulada por *Sox9*, como en los mamíferos. Más bien, la expresión *Sox9* se evidencia después de la expresión de HAM ([Yao y Capel, 2005](#)) (Fig. 13), después de la diferenciación (P.ej. *Alligator mississippiensis* [Western et al., 1999a](#); *Eublepharis macularius*

[Vallely, et al., 2001](#)). *Sox9* En *C. versicolor* se expresa en las células de Sertoli. ([Choudhary et al., 2000](#)). La expresión de *Sox9* ocurre en las gónadas de embriones expuestos a temperaturas productoras de machos, pero la expresión se produce

Determinación de la actividad esteroidogénica de la gónada de recién nacidos y juveniles de la lagartija vivipara *Barisia imbricata*.

después del inicio de la diferenciación testicular, esto sugiere que Sox9 podría estar regulado por otros genes ([Western et al., 1999a](#) y [1999b](#); [Vallely et al., 2001](#)). Los niveles de expresión de WT1 son mayores en temperaturas productoras de machos (*T. scripta* y *C. picta*) que exhiben DST ([Spotila, et al., 1998](#); [Valenzuela, 2007](#)).

Se considera que las células de Sertoli y Leydig son los sitios de síntesis de hormonas esteroides en reptiles. A pesar de que hay síntesis de esteroides por las células de Sertoli, no es muy clara su función en embriones; en cambio, los andrógenos de las células de Leydig entran a la circulación periférica y participan en el control del desarrollo de los órganos sexuales accesorios ([Norris y López, 2010](#)).

La síntesis de andrógenos comienza con la movilización del colesterol de los depósitos del citoplasma a la membrana mitocondrial interna, donde se convierte en pregnenolona (P₅) por C₂₇ cadena lateral del complejo enzimático de escisión del citocromo P450. A partir de eso, la P₅ se lleva al compartimento microsomal donde las enzimas (17 α -hidroxilasa y C_{17, 20}-liasa) unidas a la membrana la convierten en dehidroepiandrosterona (DHEA). 3 β -HSD, junto con Δ^{5-4} isomerasa convierte a la DHEA en androstenediona (Andro), el precursor inmediato de la Testosterona (T) (su síntesis está regulada por 17 β -HSD) ([Norris y López, 2010](#)) (Fig. 14).

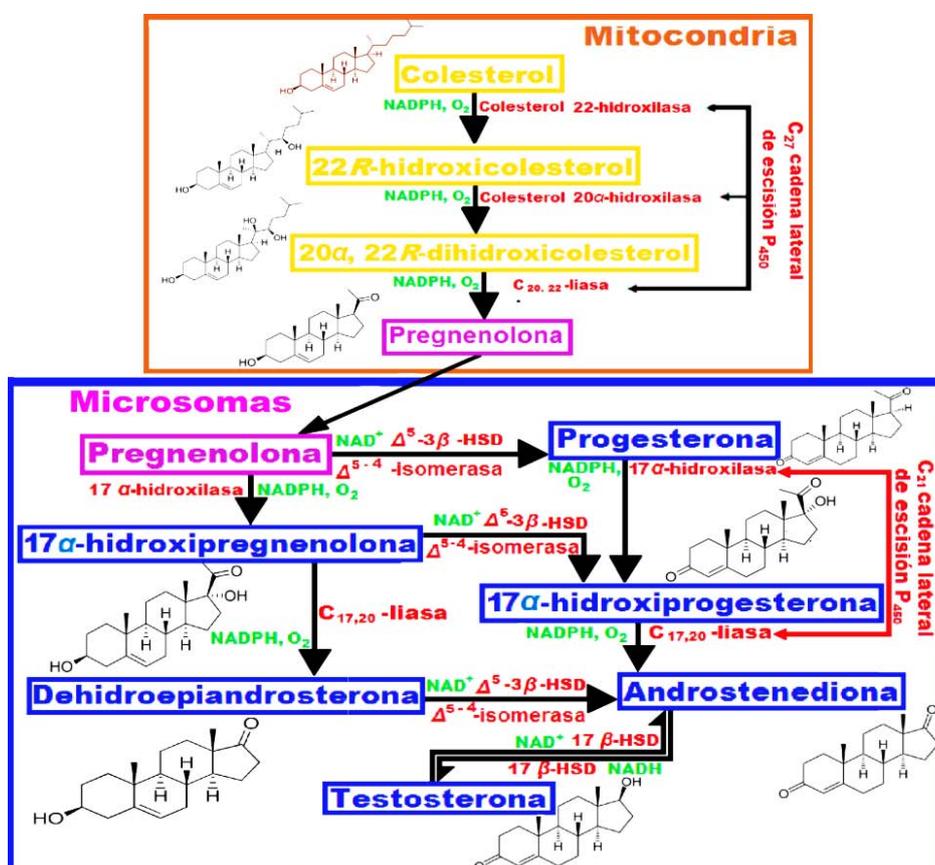


Figura 14. Síntesis de testosterona en reptiles (Modificado de [Norris y López, 2010](#)).

Diferenciación del ovario

Durante la diferenciación ovárica (entre las etapas 32-37. *N. ocellatus*, [Neaves et al., 2006](#); *C. versicolor*, [Doddamani, 1994](#)) las células de la médula no pueden proliferar (a lo largo de estas etapas), los cordones sexuales iniciales se hacen delgados, aparecen fragmentados o evolucionan como pequeñas lagunas bordeadas por un epitelio plano ([Pieau y Dorizzi, 2004](#)), mientras que el epitelio germinal evoluciona como una corteza y después la corteza se espesa ([Neaves et al., 2006](#)). El epitelio germinal se engrosa debido a la proliferación de las células epiteliales y las células germinales que se congregan en la corteza y comienzan a diferenciarse en ovogonias y dan lugar a cistos de ovogonias, de esta manera se inicia el desarrollo de la corteza ovárica ([Austin, 1988](#); [Smith y Joss, 1993](#)). En los cordones medulares del ovario, la citoqueratina se localiza en el citoplasma apical de las células epiteliales. El ovario contiene una corteza prominente con una o dos capas de ovogonias, mientras en la zona medular escasean (etapa 33-35). Los ovocitos comienzan a diferenciarse en la corteza, en particular en la región anterodorsal de la gónada: estas regiones más tarde formarán los lechos germinales ([Austin, 1988](#); [Noris y López, 2010](#)) (Fig. 15).

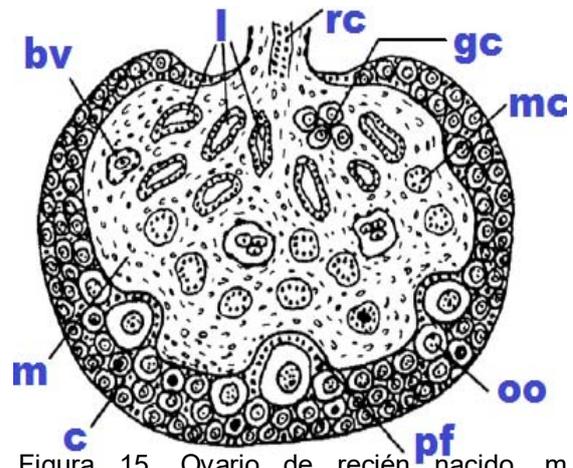


Figura 15. Ovario de recién nacido. m (médula); c (corteza); pf (folículo primordial); oo (ovocito); mc (cordones medulares); gc (células germinales); rc (cordones de la red); bv (vaso sanguíneo); l (lagunas). (Modificado de [Pieau et al., 1999](#)).

Durante las etapas finales del desarrollo embrionario (etapas 36-40) la corteza ovárica termina su desarrollo, conteniendo de seis a diez capas de ovogonias y ovocitos, mientras la médula se degrada y se llena con tejido estromal, además de que los cordones están degenerando o ausentes ([Doddamani, 1994](#)).

Los folículos primordiales están presentes en el ovario al momento del nacimiento o eclosión ([Pieau et al., 2004](#)). Los ovarios de los recién nacidos contienen lechos germinales claramente definidos y algunos folículos primordiales constituidos por un ovocito rodeado por una sola capa de células de la granulosa monomórficas. En el saurio *C. versicolor*, los folículos con una granulosa polimórfica incluyen células piriformes ([Doddamani, 1994](#)).

e inducen la diferenciación de lagunas bordeadas por un epitelio plano. En la parte cortical estimulan en el epitelio germinal inicial la formación de una corteza, se caracteriza por la proliferación de las células germinales y su entrada a meiosis. Si los estrógenos se sintetizan a niveles muy bajos la corteza no se desarrolla y se diferencian los cordones testiculares, esto resultaría en la diferenciación testicular ([Pieau et al., 1998](#)).

Conductos sexuales

Por otro lado, en el desarrollo embrionario los conductos de Wolf y Müller están presentes en ambos sexos en la fase embrionaria, se desarrollan como epidídimo y conductos espermáticos en machos y en oviductos en hembras, respectivamente. El desarrollo de los conductos de Müller es similar en todos los saurios, las únicas variaciones están en el momento de desarrollo y regresión de estas estructuras en cada especie. La regresión de estos conductos en los embriones masculinos se produce después de la diferenciación testicular. Por el contrario, los conductos de Wolff están presentes en hembras y machos después del nacimiento o eclosión ([Fox 1977](#); [Reynaud y Pieau 1985](#); [Austin, 1988](#); [Neaves et al., 2006](#)) (Fig. 17).

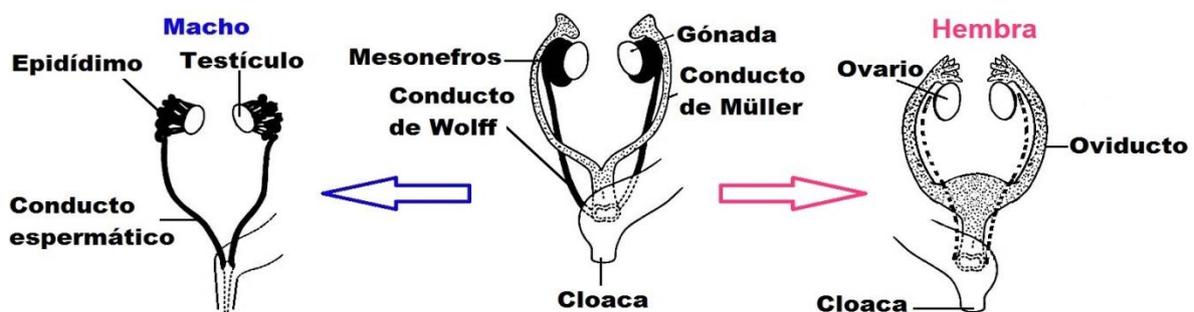


Figura 17. Diferenciación sexual de los conductos sexuales (Modificado de [George y Wilson, 1988](#)).

Conductos de Müller

El conducto de Müller surge de una región del epitelio celómico que cubre la parte craneal del riñón embrionario ([Neaves et al., 2006](#)), son estructuras pareadas y su desarrollo se puede dividir en tres fases: 1) Indiferenciada, 2) Diferenciación y 3) Regresión (en machos) ([Austin, 1988](#)).

Los primordios de los conductos de Müller se manifiestan en los embriones en la etapa 33 aproximadamente (p.ej. *S. undulatus*, [Austin, 1988](#)) (depende de la especie). Se localizan en las superficies dorso-laterales del mesonefros y cercanos a los conductos de Wolff. En este momento son cordones de tejido mesenquimal

Determinación de la actividad esteroideogénica de la gónada de recién nacidos y juveniles de la lagartija vivipara *Barisia imbricata*.

indiferenciado. Los cordones comienzan al nivel del borde posterior de los pulmones y se extienden caudalmente a una distancia muy corta. Los extremos anteriores de éstos se aplanan (son placas de varias células de ancho), cuyas superficies mediales están cubiertas por células epiteliales simples. Estas placas darán lugar al ostium de los tubos uterinos (en etapas 34-35 p.ej. *S. undulatus*). Presentan poco lumen (están revestidos por una capa de epitelio cúbico). Aún no ha alcanzado la cloaca, pero ahora se extiende caudal a la gónada. La porción caudal del ostium presenta una forma de U ([Austin, 1988](#)).

En la diferenciación de los conductos de Müller, las placas del ostium se desarrollan en estructuras bifurcadas en sus extremos craneales. A medida que crecen los cordones los extremos posteriores alcanzan la cloaca y el lumen está presente en la mayor parte del conducto. Tanto el lumen como el revestimiento epitelial se extienden hacia (y se fusionan) con la cloaca. Durante el último periodo del desarrollo embrionario (en hembras) se alargan tanto el ostium como las fimbrias (frecuentemente con un solo vaso sanguíneo) y hay ligero enrollamiento u ondulación del conducto (esto a veces). No hay claras diferencias entre las regiones del conducto que se convertirán en el tubo uterino, el útero y la vagina ([Austin, 1988](#)).

La regresión de los conductos de Müller (en machos) es alrededor de la fase embrionaria 37 (que coincide con la diferenciación testicular en varios saurios (p.ej. *S. undulatus*, [Austin, 1988](#); *N. ocellatus*, [Neaves et al., 2006](#); *C. versicolor*, [Doddamani, 2006](#); *A. carolinensis*, [Holmes y Wade, 2005](#); *B. imbricata* [Martínez-Torres et al., 2015](#)). El ostium generalmente está ausente o reducido (una placa de células) por lo cual los cordones no llegan a la cloaca. En los embriones machos (etapa 39-eclosión), los conductos de Müller están completamente ausentes o reducidos a grupos de una docena de células situadas inmediatamente adyacentes a los conductos de Wolff ([Austin, 1988](#)). Sox9 se expresa en los conductos de Müller durante la regresión de estos en la capa endotelial que los rodea en *C. versicolor* ([Choudhary et al., 2000](#)) que conjuntamente con los WT1 y SF1 activan la transcripción de HAM que inicia la degeneración de los conductos de Müller ([Noris y López, 2010](#)).

Conducto de Wolff

Los primordios de los conductos de Wolff son estructuras pareadas y se forman inicialmente como el conducto colector del riñón pronefrítico. Esta asociación con los

riñones significa que se forma tempranamente en el desarrollo embrionario ([Neaves et al., 2006](#)). Los conductos de Wolff se localizan a lo largo de la periferia dorso-lateral del mesonefros, pero su posición se hace más ventral al acercarse a la cloaca. El revestimiento epitelial de los conductos está compuesto típicamente de una sola capa de células columnares que rodean una luz bien desarrollada. Una membrana basal externa rodea una capa epitelial. Después (aproximadamente las etapas 33-35 en *S. undulatus*) el mesotelio rodea al menos parcialmente cada conducto ([Austin, 1988](#)).

La diferenciación de los conductos de Wolff en epidídimo y conductos espermáticos en machos, es dependiente de andrógenos (dihidrotestosterona y testosterona) ([Guillette et., 1996](#)). Los reptiles machos no poseen glándulas accesorias. La única excepción es el segmento sexual del riñón en Squamata ([Noris y López, 2010](#)). En la hembra ocurren cambios sutiles. Las células del revestimiento epitelial se vuelven cuboidales, el lumen se contrae en tamaño, puede desaparecer en las porciones anteriores del conducto y el mesotelio no es tan grueso como en el macho. Hay una reducción de tamaño en el mesonefros en ambos sexos ([Austin, 1988](#)).

Genitales externos

En los saurios el desarrollo de los genitales externos inicia (en las etapas 29-31) con dos primordios localizados en la unión de los primordios de las extremidades posteriores y la pared ventral del cuerpo. La morfogénesis del tubérculo genital se produce en conjunto con el desarrollo de la cloaca. Los primordios genitales se desarrollan de manera similar en ambos sexos durante los 8-11 días después de la oviposición ([Gredler et al., 2014](#)). La diferenciación sexual de estas estructuras coincide con la diferenciación gonadal ([Guillette et al., 1996](#); [Holmes y Wade, 2005](#); [Neaves et al., 2006](#)), pues la evidencia sugiere que andrógenos y estrógenos son necesarios para la diferenciación del tubérculo genital ([Guillette et al., 1996](#); [Holmes y Wade, 2005](#); [Beck y Wade, 2008](#)). En *A. carolinensis*, los penes expresan altos niveles de RNAm de receptores a andrógenos y bajos niveles de receptores a estrógenos α , mientras que los clítoris sucede de manera inversa ([Gredler et al., 2014](#)) (Fig. 18).

Diferenciación Sexual de los penes

En el desarrollo de los penes tres estructuras son importantes: 1) la cresta fálica, 2) un pequeño primordio medial (cresta fálica secundaria, emerge en el margen craneal de cada primordio fálico) y 3) el ectodermo de superficie a lo largo de la línea media-ventral de cada primordio fálico, el cual invagina para formar el surco espermático y continúan el desarrollo hasta formar un pene por acción de los andrógenos. El proctodeo acomoda los penes internamente entre los labios cloacales anteriores y posteriores. A medida que la membrana cloacal comienza a romperse, formando el orificio cloacal que delinea el límite entre urodeo y proctodeo ([Gredler et al., 2014](#)).

Diferenciación Sexual de los clítoris

En la diferenciación de los clítoris los primordios fálicos han desaparecido y el surco espermático es una pequeña muesca. Los clítoris continuaran retrocediendo hasta comenzar a doblarse medialmente hacia la membrana cloacal y caudalmente hacia el labio cloacal posterior que también se pliegan ligeramente hacia adentro en los márgenes laterales. Una hendidura del epitelio superficial aparece en la cloacal de la hembra, ésta se ira pronunciando cada vez más (donde el endodermo urodeal se encuentra con el ectodermo ventral). El proctodeo a los clítoris hace lo descrito anteriormente ([Gredler et al., 2014](#)).

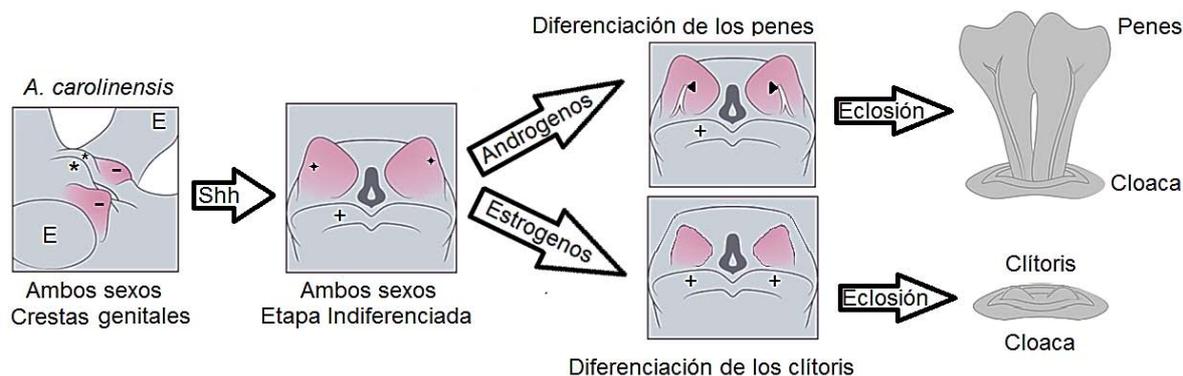


Figura 18. Desarrollo de genitales externos en Squamata. Primordios de extremidades posteriores (E), primordio de la cloaca (*), Primordios genitales externos (-), Genitales indiferenciados (estrella negra), labio cloacal (+), depreciación del surco espermático (triángulo negro).

Glándula adrenal

Las glándulas adrenales en los Squamata son generalmente alargadas y amarillentas, rodeadas por los pliegues del mesorquio o el mesovario (estrecha

continuidad con las gónadas). Se describen dos zonas claramente diferenciadas

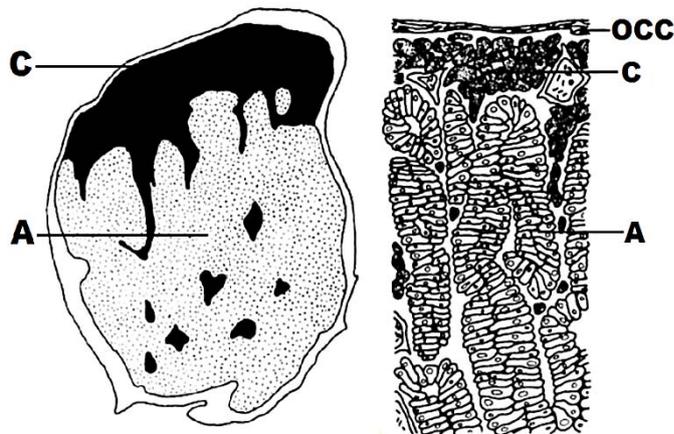


Figura 19. Glándula adrenal en Squamata. Tejido cromafín (C), Tejido adrenocortical (A), (OCC). Tomado de [Chester-Jones et al., 2013](#).

dentro de la glándula adrenal, que la componen: el tejido adrenal y el tejido cromafín ([Chester-Jones et al., 2013](#)) (Fig. 19). Para cada orden de reptil se ha descrito un patrón en la organización histológica y distribución de los dos tipos celulares de Esta glándula ([Rodríguez, 2014](#)) Las células periféricas contienen el sistema

enzimático que produce los mineralcorticoides y las centrales a los glucocorticoides. Las células se organizan en una red de cordones corticales ligeramente conectados. Que están generalmente orientados longitudinalmente a lo largo de la glándula. Hay islotes de tejido cromafín entremezclados con los cordones corticales. El grado de entremezclado varía entre especie ([Chester-Jones et al., 2013](#)). En Anguidae se presentan células prismáticas, pequeñas y con disposición irregular a lo largo de la adrenal ([Rodríguez, 2014](#)). Está envuelta por una delgada capa de tejido conectivo, que consiste en fibras colágenas, reticulares y elásticas que la rodean. El patrón de vascularización es al igual al de otros amniotas (una serie de pequeñas arterias de ramificación de la aorta dorsal) ([Chester-Jones et al., 2014](#)). La síntesis esteroidogénica de las células adrenocorticales ocurre antes que en las células gonadales ([Doddamani, 1994](#), y [2006](#); [Indamar et., al 2014](#)); además presentan receptores α -estrógeno a temperaturas productoras de hembras, esto sugiere la síntesis de hormonas esteroides y su producción puede actuar de forma parácrina para inducir células vecinas en la vía de diferenciación ovárica y podría dirigir la a temperaturas productoras de hembras ([Indamar et., al 2014](#)).

Dimorfismo sexual

El dimorfismo sexual ha sido estudiado ampliamente y se ha observado en una gran variedad de organismos. En los Squamata se puede expresar de distintas formas: talla corporal (un sexo más grande que otro), proporciones corporales distintas entre sexos (ancho de la cabeza o extremidades; los machos tienden a tener cabezas más grandes y troncos más cortos que las hembras) ([Olsson et al.,](#)

[2002](#); [Pough et al., 2004](#)), diferente coloración, presencia de expansiones gulares, crestas, escamas post-anales (en machos, p.ej. *A. carolinensis*; [Lovern y Wade, 2003](#)) u otros ornamentos. Estas diferencias entre el fenotipo de macho y hembra pueden ser el resultado de la selección natural y/o la selección sexual o ambos ([Pough et al., 2004](#); [Dashevsky et al., 2013](#)). Por lo tanto, los recién nacidos en varias especies de Squamata son sexualmente dimórficos; sin embargo, hay otros sin dimorfismo sexual, por lo que es imposible distinguir entre macho y hembra, así que la diferencia más importante y definitiva entre los sexos es la presencia de penes en machos y su ausencia en hembras. La observación de estas estructuras ha sido ampliamente utilizada para sexar a los recién nacidos cuando no hay dimorfismo sexual ([Martínez-Torres et al., 2015](#)).

GENERALIDADES DE *Barisia imbricata*

Barisia imbricata (Weigmann, 1828) es una lagartija vivípara, pertenece a la clase Sauropsida, orden Squamata, familia Anguidae, género *Barisia*. Es comúnmente conocida como “escorpión” o “alicante” ([Martínez-Torres, 1999](#); [CONABIO, 2017](#)). Es endémica de México, se distribuye en regiones de clima templado y elevación de los 2200-3800 m.s.n.m ([García-Vázquez et al., 2006](#)), particularmente, a lo largo del Eje Neo volcánico Transversal Mexicano ([Smith, et al., 2002](#)), se ha registrado en los estados de: Aguascalientes, Chihuahua, Coahuila, CDMX, Durango, Estado de México, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas, Tlaxcala, Veracruz y Zacatecas ([Tihen, 1949](#); [Guillette y Smith, 1982](#); [Good, 1988](#); [Ballinger et al., 2000](#)) (Fig. 20).



Figura 20. Distribución de *B. imbricata* (República mexicana) (Modificado de [Zaldívar-Riverón, 2005](#)).

Factor de riesgo

Entre los principales factores de riesgo para la especie en varias zonas de su distribución destacan el cambio de uso de suelo para actividades agrícolas y ganaderas, la tala inmoderada, así como su exterminio debido a la falsa creencia de que es venenosa ([Zaldívar-Riverón, 2001](#)). **Nom-059-ECOL-2010**. Sujeta a protección especial.

B. Imbricata parece tolerar bien las alteraciones hechas a su hábitat original ya que se le suele encontrar debajo de cortezas de árboles y/o troncos tirados en zonas de cultivo y claros de terreno cercanos al bosque ([Zaldívar-Riverón, 2001](#)), de hábitos terrestres, termofílica, con temperatura corporal de 18-20 °C ([Villamar-Duque, 1998](#)). Es primariamente insectívora ([Guillette y Casas-Andreu, 1987](#)), aunque puede alimentarse de crías de otras especies como *Sceloporus grammicus* y *Sceloporus aeneus* ([Guillette y Smith, 1982](#)) y puede practicar la ovofagia ([Martínez-Torres, 1999](#)). Se diferencia de las demás especies del género por presentar el siguiente conjunto de características de escamación son: tres o cuatro superciliares; elemento cantoloreal no dividido o dividido en dos de manera horizontal; de 34 a 42 escamas longitudinales y 14 hileras transversales de escamas dorsales; ventralmente son lisas, tienen un total de 49 a 59 escamas longitudinales y 12 transversales. La supranasal fusionada con la postnasal superior; de ocho a diez hileras de nucales y una sola occipital, además de un pliegue granular ventrolateral es evidente y bien desarrollado ([Guillette y Smith, 1982](#); [Canseco y Gutiérrez, 2010](#)).

Ciclo Reproductor

B. imbricata es de reproducción estacional anual. El ciclo reproductor de ambos sexos se relaciona con la precipitación ([Guillette y Casas-Andreu, 1987](#)). Las hembras activas reproductivamente están entre los 77.5-124.7 mm (longitud hocico-cloaca). La vitelogénesis inicia en el verano (finales de Agosto y principios de Septiembre), la ovulación ocurre en otoño (Noviembre o principios de Diciembre) y el apareamiento es previo a la maduración del folículo ([Guillette y Casas-Andreu, 1987](#); [Martínez-Torres et al., 2006a](#)), la gestación dura alrededor de siete meses (inicia a finales de otoño y termina ya entrada la primavera), el parto ocurre entre Mayo-Julio ([Martínez-Torres et al., 2003, 2006a, y 2006b](#)). El conteo de folículos vitologénicos sugiere que puede haber camadas de diez crías ([Guillette y Casas-Andreu, 1987](#)) aunque puede alcanzar hasta quince crías ([Aguilar-Martínez, 2011](#)). Los machos son activos reproductivamente a partir de 87.1 mm (longitud hocico-cloaca), exhiben un patrón de recrudescencia testicular en primavera (Abril-Mayo), con un pico de actividad en verano (Julio-Agosto) y una regresión en Septiembre ([Guillette y Casas-Andreu, 1987](#)).

Dimorfismo sexual

Los adultos muestran dimorfismo sexual en el patrón de coloración (la mayoría de las poblaciones del Eje Neovolcánico Transversal Mexicano. En la hembra la coloración va del marrón al verde olivo y presentan un patrón dorsal que consiste en una amplia banda media dorsal flanqueada por bandas oscuras. El macho presentan una coloración uniforme que va del marrón al verde olivo, a menudo presenta un moteado blanco a lo largo del cuerpo (Fig. 21) ([Zaldívar-Riverón et al., 2005](#)). También hay diferencias en el ancho de la cabeza y la masa corporal en el macho es mayor que en la hembra ([Zaldívar-Riverón et al., 2005](#); [Dashevsky et al., 2013](#)). Sin embargo, las crías no presentan dimorfismo sexual corporal (Fig. 21) y ambos sexos nacen con penes ([Martínez-Torres et al., 2015](#)), aunque con frecuencia el patrón de coloración en ambos sexos es muy similar al que presenta la hembra adulta (Fig. 23) ([Dashevsky et al., 2013](#)).



Figura 21. Dimorfismo sexual en *B. imbricata*; hembra (izq.), Macho (dcha).



Figura 22. Crías recién nacidos de *B. imbricata*. Sin dimorfismo sexual.



Figura 23. Juveniles de 10 meses de edad presentan el patrón de hembra ambos sexos. El organismo de la parte superior es hembra, y el de la parte inferior es macho.

JUSTIFICACIÓN

Barisia imbricata es la única especie de lagartija, hasta ahora reportada, que presenta heterocronía en la regresión de los penes en las hembras con respecto al patrón establecido en todos los saurios estudiados ([Martínez-Torres et al., 2015](#)), de tal manera que al momento del nacimiento hembra y macho presentan penes. Hasta el momento se desconoce si la permanencia de los penes en los recién nacidos de ambos sexos de *B. imbricata* se debe a la ausencia de actividad gonadal y si la regresión o el crecimiento de estas estructuras, en hembras y machos, respectivamente, está relacionado con la adquisición de la actividad esteroideogénica ovárica o testicular durante el desarrollo posnatal. Esta situación la hace un excelente modelo para estudiar los mecanismos que regulan el desarrollo y regresión de estas estructuras.

OBJETIVO GENERAL

✚ Determinar si el complejo gónada-adrenal-mesonefros de recién nacidos y complejo gónada-adrenal de juveniles, hembras y machos, de *B. imbricata* son esteroideogénicamente activos.

Objetivos particulares

❖ Tipificar la estructura histológica del complejo gónada-adrenal-mesonefros de recién nacidos y complejo gónada-adrenal de juveniles, hembras y machos, de *B. imbricata*.

❖ Determinar si el complejo gónada-adrenal-mesonefros de los recién nacidos y complejo gónada-adrenal de juveniles, hembras y machos, de *B. imbricata* son positivos a la $\Delta^{5-4}3\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa y/o a la 17 Cetoreductasa.

MATERIAL Y MÉTODOS

Trabajo en campo

Se colectaron manualmente hembras adultas de *B. imbricata* en cuatro coletas durante los meses de Enero a Febrero del 2015. En el Parque Ecoturístico “Rancho El Colibrí” (19° 18' 52" Norte y 98° 42' 28" Oeste, altitud de 2300 msnm.) del paraje Llano Grande perteneciente al Municipio de Ixtapaluca, Estado de México. Se transportaron en costales de manta al Laboratorio de Biología de la Reproducción de la Unidad de Morfo-Fisiología de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México.

Trabajo en laboratorio

Se estableció la condición reproductora de las hembras dos meses después de su colecta por la técnica de ultrasonido de acuerdo a Martínez-Torres ([et al., 2006b](#)). Una vez que se determinó el estado reproductor, se separaron las hembras que estaban preñadas y se mantuvieron en terrarios de cristal con las siguientes dimensiones: 30 cm de alto x 20 cm de ancho y 30 cm de largo, a la temperatura ambiente (de entre 26.5-30.5 °C) y se alimentaron con *Acheta domesticus*, larvas de *Galleria mellonella* y agua *ad libitum* hasta el momento del parto, después se dejaron a disposición del Laboratorio de Biología de la Reproducción.

Una vez que se obtuvieron los recién nacidos se seleccionaron a cuatro machos y cuatro hembras. El resto de las crías se mantuvieron en un terrario de cristal con las siguientes dimensiones: 30 cm de alto x 40 cm de ancho y 30 cm de largo, a temperatura ambiente (entre 26.5 a 30.5 °C), se asoleaban durante una hora al día, se alimentaron con *A. domesticus*, larvas de *G. mellonella* y agua *ad libitum* hasta llegar a los cuatro meses de edad, donde se seleccionaron dos machos y 1 hembra.

Para el reconocimiento del sexo de los recién nacidos, se anestesiaron en cámaras de éter y se realizó una laparotomía para la observación directa de los conductos reproductores de acuerdo con la técnica por Martínez-Torres ([et al., 2015](#)). Una vez que se identificó el sexo de los recién nacidos se procedió a la selección antes descrita. Inmediatamente se realizó extracción quirúrgica del complejo gónada-adrenal- mesonefros (C-GAM) en los recién nacidos y los juveniles de cuatro meses de edad, el complejo gónada-adrenal (C-GA).

El complejo gónada-adrenal-mesonefros derecho se usó para la técnica de histología y el complejo izquierdo se utilizó para la técnica de histoquímica de la $\Delta^{5-4}3\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa ($\Delta^{5-4}3\beta$ -HSD). En las juveniles de cuatro meses de edad el complejo gónada-adrenal derecho se usó para la técnica de histología y el complejo izquierdo se utilizó para la técnica de histoquímica de la $\Delta^{5-4}3\beta$ -HSD y de la 17 Cetoreductasa (17CR)

Histología

El C-GAM derecho de cada uno de los recién nacidos, al igual que los C-GA de los juveniles de cuatro meses se fijaron en paraformaldehído amortiguado al 4% a 4 °C durante 12 h. Después se procedió a lavarlos en agua destilada, continuando con la deshidratación en alcoholes graduales desde el 50% hasta el 100% y finalmente, se aclararon con xilol para después infiltrarlos de parafina durante 12 h a 60 °C \pm 2 °C. Al día siguiente se incluyeron en parafina para elaborar cortes de 7 μ m. Las láminas fueron desparafinadas y rehidratadas para la tinción con hematoxilina de Harris y Eosina alcohólica ([Luna, 1968](#)) y se procedió a la caracterización histológica de los tejidos.

Histoquímica.

Los C-GAM izquierdos de los recién nacidos, al igual que el C-GA del juvenil de cuatro meses (macho), se incluyeron en Tissueteck y se congelaron en una mezcla de CO₂ sólido y acetona, se conservaron a -40 °C hasta el momento del ensayo.

Se realizaron cortes de 10 μ m a -30 °C en criostato. Los cortes del C-GAM de los recién nacidos se incubaron a 32 °C por 1 h con pregnenolona, azul de tetrazolium y Nicotin adenin dinucleotido, para detección de la $\Delta^{5-4}3\beta$ -HSD. Para el C-GA del macho de cuatro meses, inicialmente se incubó a 32 °C por 1 h con pregnenolona, azul de tetrazolium y Nicotin adenin dinucleotido, para detección de la $\Delta^{5-4}3\beta$ -HSD y al ser positivos se sometieron a un segundo ensayo los cortes restantes, en éste se incubaron a 32 °C por 1 h con testosterona, azul de tetrazolium y Nicotin adenin dinucleotido, para detección de la 17CR. Después se fijaron en formol amortiguado al 4% a temperatura ambiente por 5 minutos y se montaron con gelatina glicerada ([Levy, 1959](#)). Las laminillas se observaron en microscopios para caracterización histológica y ver si fueron positivos en los ensayos histoquímicos al ver los precipitados de formazán.

Resultados

Recién nacidos

Reconocimiento del sexo

Las gónadas en los recién nacidos se reconocen por presentar una forma ovoide y de apariencia como gel blanquecino, esto es tanto para el ovario como el testículo, ya que la morfología externa son muy similar ambas gónadas. Así que, se procedió a identificar el sexo por la presencia del oviducto, esto indica que es hembra, por lo tanto la ausencia indica que es macho. La glándula adrenal es ovoide amarillenta y de consistencia más compacta (que la gónada) en su morfología externa. El mesonefros es de forma alargada y de color amarillo ligeramente trasparente (Fig. 23).

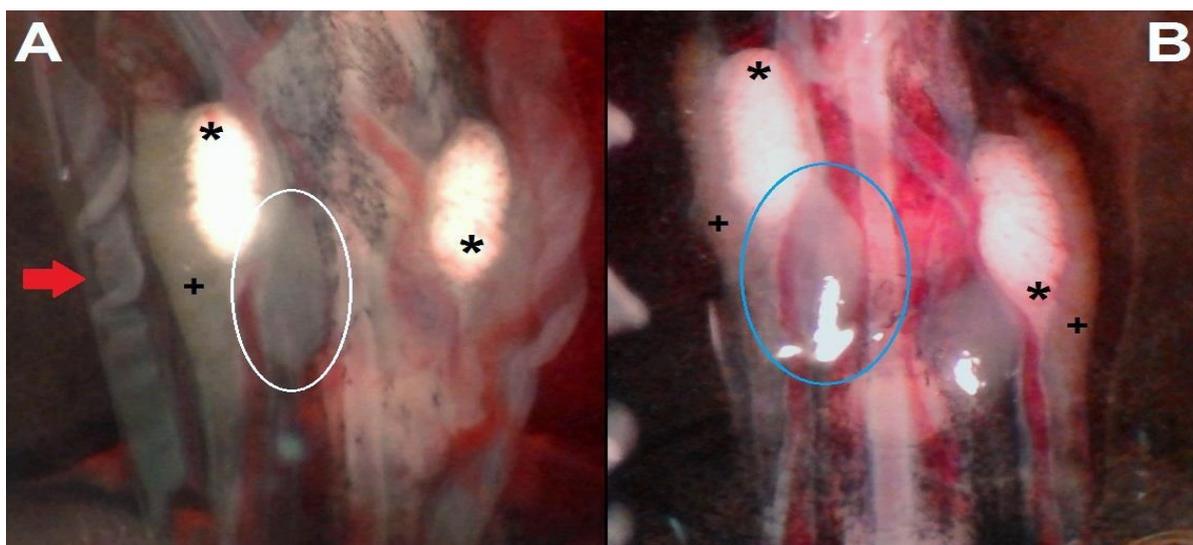


Figura 24. Tracto reproductivo del recién nacido de *Barisia imbricata*. (A) Sistema reproductivo femenino, (B) sistema reproductivo masculino. Ovario (circulo blanco), Oviducto (flecha roja), Testículo (circulo azul) Glándula adrenal (*), Mesonefros (+). Estereoscopio (4X).

Los resultados histológicos

En la caracterización histológica de los C-GAM de ambos sexos ha revelado que las gónadas tanto de hembras y como machos son muy diferentes histológicamente. Es decir, presentan las características básicas propias de un testículo o de un ovario, como: cordones testiculares o bien folículos primordiales, respectivamente (Fig. 25 y Fig. 26).

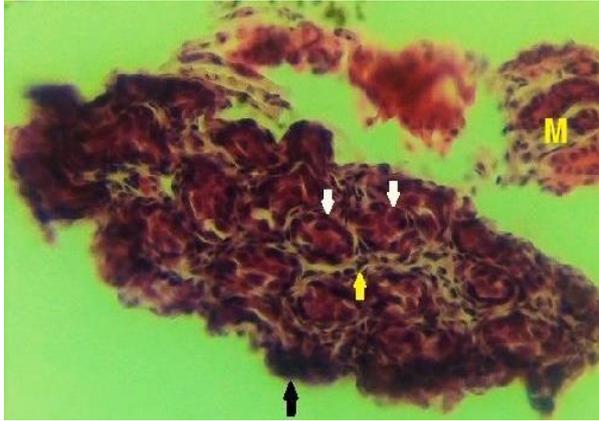


Figura 26. Testículo de recién nacido de *B. imbricata*, capa albugínea (flecha negra), cordones seminíferos (flechas blancas), células intersticiales (flecha amarilla). Mesonefros (M).

En las hembras recién nacidas los ovarios presentan las características propias de este órgano, pues están constituidos por una corteza y una médula bien definidas. En la médula se presenta pequeñas lagunas y vasos sanguíneos, mientras que en la corteza están presentes ovogonias, algunas se encuentran en cistos. Además de algunos folículos primordiales, los cuales están rodeados solamente por una capa de células foliculares (Fig. 27).

En los machos recién nacidos los testículos presentan características propias de este órgano, ya que está constituido por una médula bien desarrollada, la cual está conformada por los cordones seminíferos que contienen algunas espermatogonias. Además, entre los intersticios de los cordones se encuentran células intersticiales y células pre-Leydig y algunos vasos sanguíneos (Fig. 28).

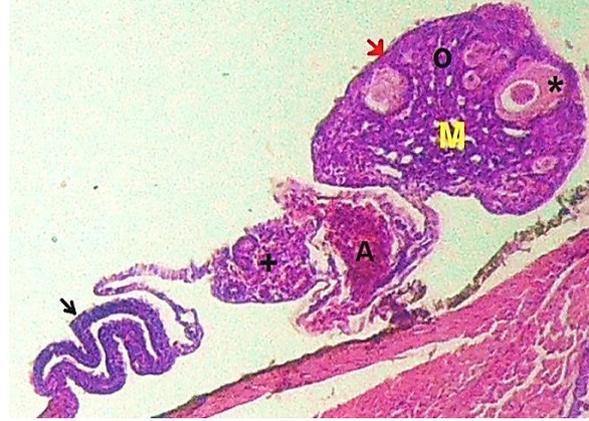


Figura 25. Ovario (o) de recién nacida de *B. imbricata*. Corteza (flecha roja), Médula (M), Folículos primordiales (*). Adrenal (+), Mesonefros (*). Oviducto (flecha).

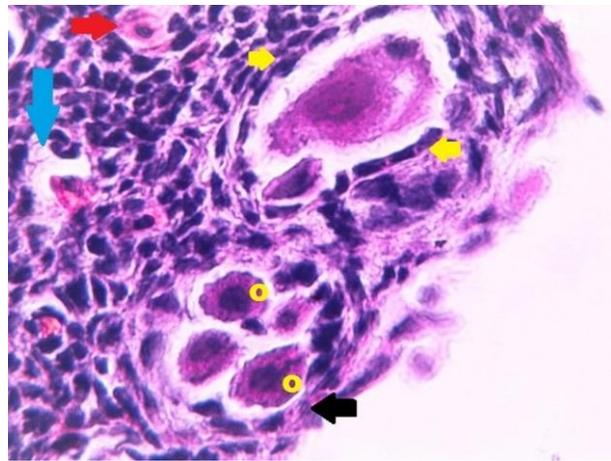


Figura 27. Ovario de recién nacida. Células foliculares (flechas amarillas), ovogonias (o), Cisto (flecha negra), capilar (flecha roja), laguna (flecha azul) (40x).

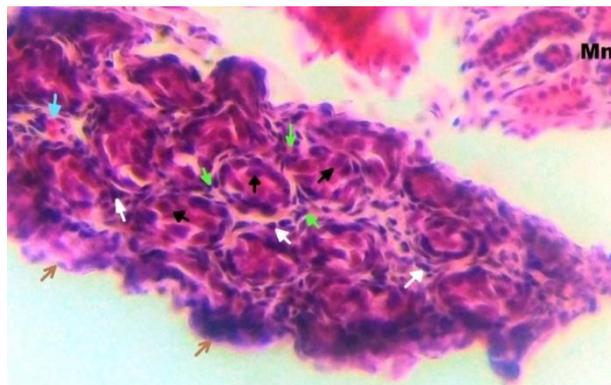


Figura 28. Testículo de recién nacido. Presenta dentro de los cordones testiculares algunas espermatogonias (flechas negras), células intersticiales (flechas verde) y células pre-Leydig (flechas blancas) y vascularización (flecha azul) y capa albugínea (flechas maron). Mn (mesonefros).

Determinación de la actividad esteroidogénica de la gónada de recién nacidos y juveniles de la lagartija vivípara *Barisia imbricata*.

Las glándulas adrenales de ambos sexos están constituidas de tejido adrenocortical y rodeado por una fina capa de tejido conjuntivo. Las células adrenocorticales presentan abundantes gotitas de lípidos en el citoplasma con un núcleo basófilo un arreglo similar se observa en la zona glomerular, mientras que en la periferia las células (menor cantidad de lípidos) y presentan un arreglo similar al de la zona reticular (Fig. 29).

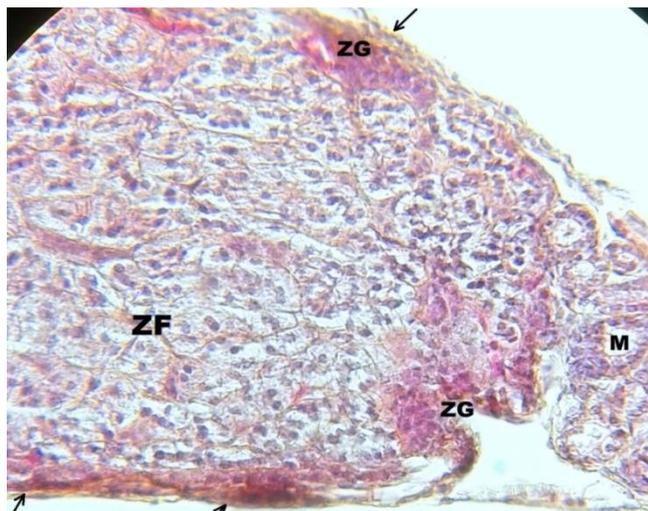


Figura 29. Glándula adrenal (a 10X) está constituida por tejido adrenocorticoide en algunas zonas en arreglo similar a la zona glomerular (ZG) y en otras como zona fasciculada (ZF), cápsula (flechas negras). M (mesonefros).

El mesonefros de ambos sexos está conformado por túbulos mesonérficos como se puede observar en las imágenes 30 y 31.

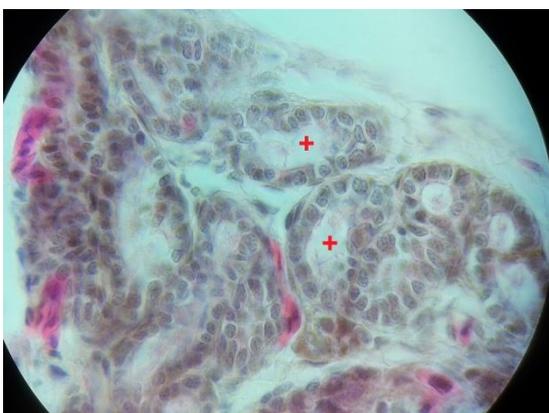


Figura 31. Mesonefros de macho recién nacido (10X), se puede observar los conductos mesonérficos (+).

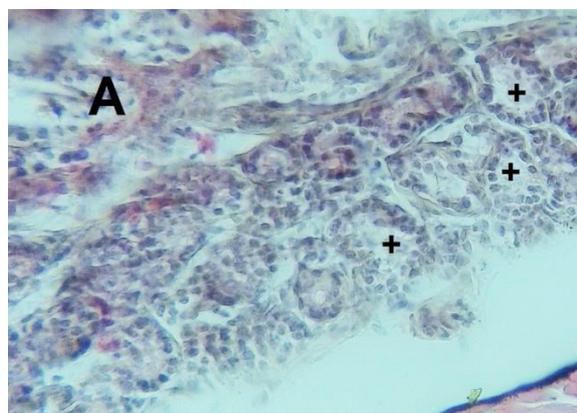


Figura 30. Mesonefros de hembra recién nacida (10X), se pueden observar los conductos mesonérficos (+).

Los resultados histoquímicos

Los resultados de los ensayos histoquímicos para las enzimas $\Delta^{5-4}3\beta$ -HSD en los recién nacidos revelaron que tanto los testículos como los ovarios carecen de la capacidad de síntesis de esteroides, pues dieron negativo al igual que el mesonefros. Sin embargo, la glándula adrenal si presentó actividad esteroidogénica para dicha enzima (Fig. 32). La actividad enzimática es más intensa en el centro de la adrenal, lo que indica que es tejido adrenocortical está situado allí (Fig. 33 y 34).

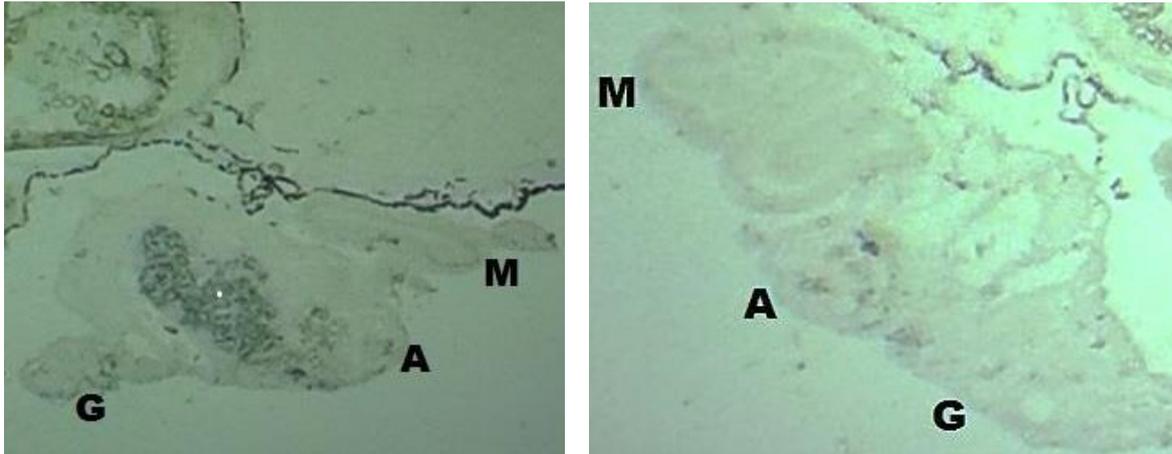


Figura 34. Complejo gónada-adrenal-mesonefros de recién nacido. La actividad de la Δ^{5-4} 3β -HSD (precipitados de gránulos de formazán) únicamente se presentó en la glándula adrenal (A). Gónada (G), Mesonefros (M) no presenta precipitados (4X).

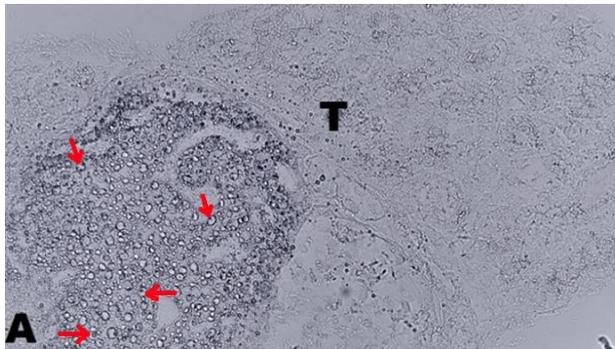


Figura 33. Testículo y adrenal de recién nacido (10X) Los gránulos de formazán (algunos señalados por flechas rojas) que indican actividad enzimática de la Δ^{5-4} 3β -HSD.

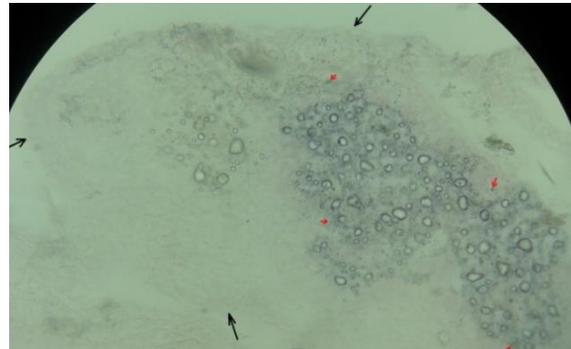


Figura 32. Adrenal de recién nacido (10X) (límites de la adrenal flechas negras) los gránulos de formazán (algunos marcados con flechas rojas) que indican actividad enzimática de la Δ^{5-4} 3β -HSD.

Juveniles de Cuatro meses de edad

Resultados histológicos

En los juveniles de cuatro meses de edad, ya hay una diferencia en la morfología externa entre las gónadas de macho y hembra (Fig. 35 y 36). El ovario es blanquecino y tiene una forma como de un racimo de uvas, el testículo es blanquecino y completamente liso a la vista. Las adrenales son ovaladas, alargadas y amarillentas, no hay presencia del mesonefros.

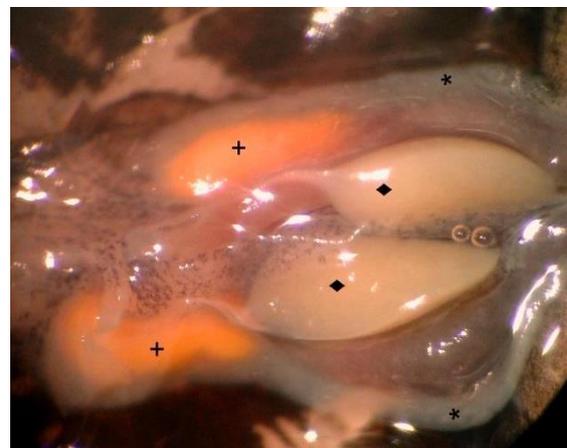


Figura 35. Tracto reproductivo masculino de cuatro meses. Los testículos (♦) están conectados al espermiducto (*) rodeando las adrenales (+). Estereoscopio (3.5X).

Determinación de la actividad esteroidogénica de la gónada de recién nacidos y juveniles de la lagartija vivipara *Barisia imbricata*.

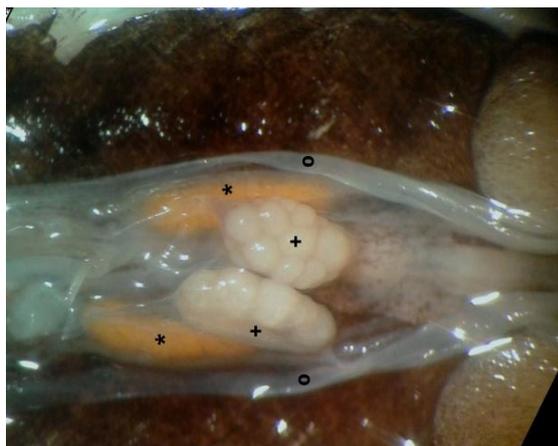


Figura 36. Tracto reproductivo femenino de hembras de cuatro meses los ovarios (+) presentan folículos blancos, las adrenales son amarillas (*) y oviducto (o). Estereoscopio (3.5X).

Los resultados de los cortes histológicos de los juveniles de 4 meses de edad, han revelado que los ovarios presentan folículos previtelogénicos, con teca (interna y externa) y células polimórficas foliculares (Fig. 36 y 37).

Los testículos están constituidos aun por cordones testiculares, pero con un diámetro mayor, por lo que el número de espermatogonias se incrementó al que se presenta el testículo de los recién nacidos, además que entre los intersticios ya se presentan células de Leydig maduras (Fig. 39). En los juveniles de cuatro meses de edad en ambos sexos la glándula adrenal presenta espacios sinusoides, células adrenocorticales de forma columnar con núcleos basófilos, además de gotitas de lípidos en el citoplasma (Fig. 40).

El mesonefros no se encuentra presente, en las hembras, se reabsorbió,

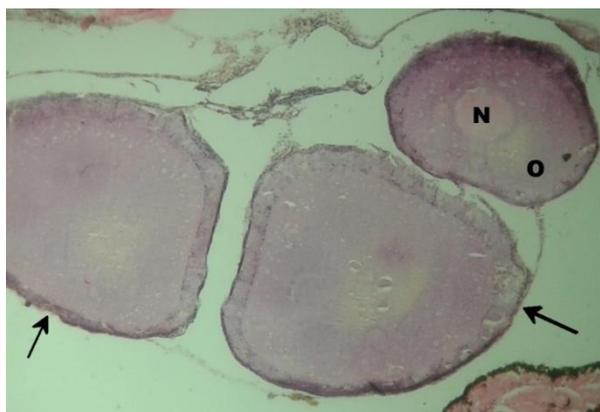


Figura 37. Hembra de cuatro meses. Folículos previtelogénicos (flecha negra), núcleo (N), ovoplasma (O) (10X).

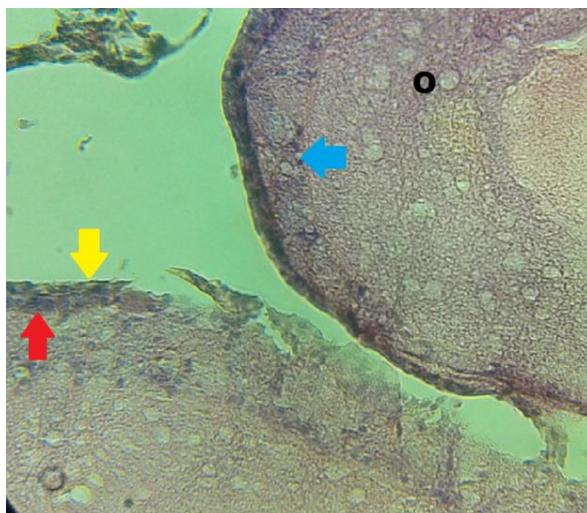


Figura 38. Hembra de cuatro meses. Folículos pre-vitelogénicos, ovoplasma (O), células foliculares (flecha azul), teca externa (flecha amarilla), teca interna (flecha roja) (40X).



Figura 39. Macho de cuatro meses de edad. El testículo presenta cordones testiculares (flechas negras), células de Leydig (flechas verdes), espermatogonias (flechas azules), células de Leydig (flechas amarillas), vascularización (flechas rojas) (10X).

y en los machos se diferenciaron en parte de los conductos sexuales.

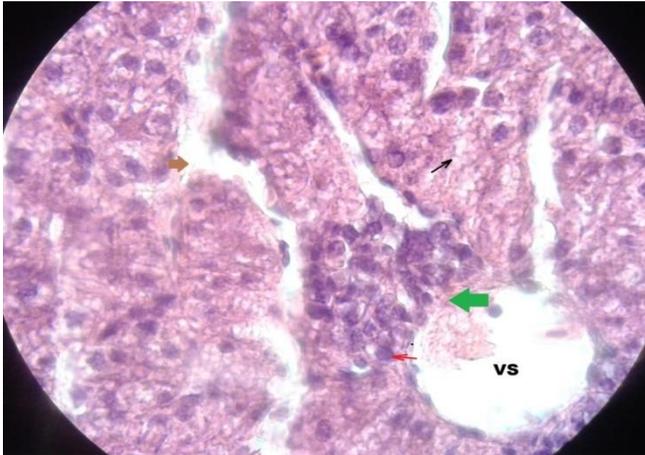


Figura 40. Adrenal de juvenil de cuatro meses de edad. Vaso sanguíneo (vs), células adrenocorticales (flecha verde), espacio sinusoide (flecha marón), núcleos (flecha roja), gotas de lípidos (imagen negativa de los lípidos) (flecha negra) (40x).

Los resultados histoquímicos

Los ensayos histoquímicos han revelado que los testículos a los 4 meses de edad presentan actividad esteroideogénica para la Δ^{5-4} 3 β -HSD y 17 CR (Fig. 30), esto por los precipitados de formazán, los cuales se localizan entre los cordones testiculares, es decir, en los intersticios donde están presentes las células de Leydig. También las glándulas adrenales en ambos sexos son esteroideogénicamente activa para las mismas enzimas (Fig. 41

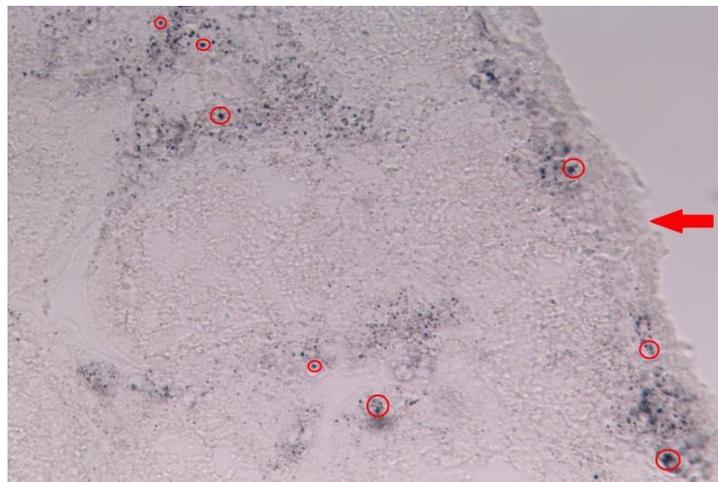


Figura 43. Ensayo histoquímico para la actividad enzimática de 17 CR en testículo de macho de cuatro meses de edad. Los precipitados de formazán indican actividad enzimática de 17 CR (en círculos rojos algunos ejemplos de los precipitados), capa albugínea (flecha roja).

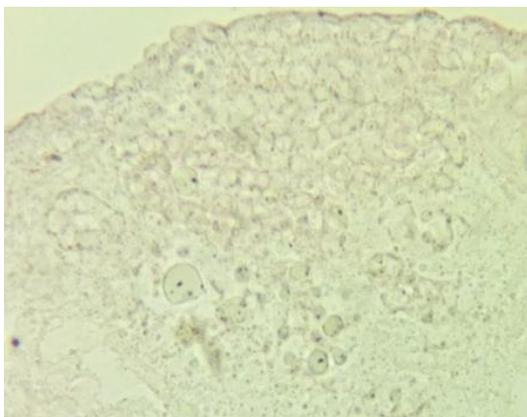


Figura 41. Actividad de la 17 CR (precipitados de formazán), adrenal de macho de cuatro meses de edad (40X).

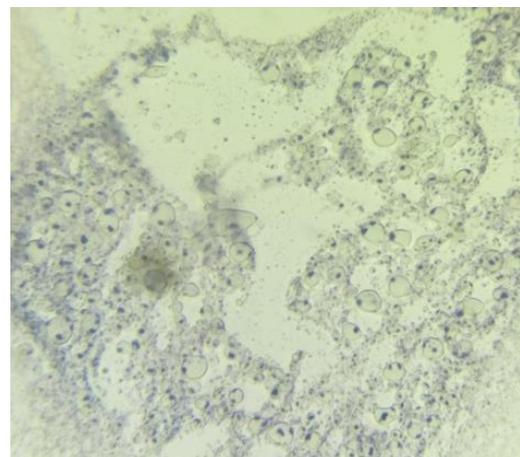


Figura 42. Actividad de la 17 CR (precipitados de formazán), adrenal de hembra de cuatro meses de edad (40X).

Discusión

En los saurios, como en el resto los vertebrados, se sigue un patrón en el desarrollo embrionario que consiste en una cascada de eventos altamente regulados en tiempo y espacio, pero un cambio en la etapa de desarrollo en que se llevan a cabo se le conoce como heterocronía ([Keyte y Smith, 2014](#)). En todas las especies de saurios hasta ahora estudiados, la diferenciación morfológica gonadal y la capacidad de síntesis esteroideogénica ocurren en etapas embrionarias (como en *N ocellatus*, [Neaves et al., 2006](#); *C. calotes versicolor*, [Doddamani, 2006](#); *A. carolinensis*; [Gredler et al., 2014](#)); sin embargo, este trabajo muestra evidencias de que la lagartija vivípara Mexicana, *B. imbricata*, se sale de este patrón.

La diferenciación gonadal en los Squamata parece ser un factor crítico para desencadenar el desarrollo del sistema reproductor, ya que cuando ocurre la formación de las gónadas (en ovario o testículo) da comienzo la diferenciación de los conductos sexuales y los genitales externos ([Neaves et al., 2006](#); [Doddamani, 2006](#); [Indamar et al., al 2014](#); [Gredler et al., 2014](#)), ocurriendo todos estos cambios dentro del periodo embrionario. En cambio, en *B imbricata* [Martínez-Torres y colaboradores \(2015\)](#) encontraron que hay heterocronía entre el desarrollo gonadal y la diferenciación de los genitales externos. En adición a esta situación, este trabajo encontró además que en este saurio hay heterocronía en la diferenciación testicular y ovárica.

Testículo

En *C. versicolor*, en el desarrollo embrionario el testículo presenta cordones seminíferos, el tejido intersticial tiene algunas células de Leydig maduras ya que fue positivo para la enzima $\Delta^{5-4} 3\beta$ -HSDH y dentro de los cordones testiculares, en las células de Sertoli (etapa 36) ([Doddamani, 2006](#)). En *N. ocellatus* ([Neaves et al., 2006](#)) y *A. carolinensis* ([Holmes y Wade, 2005](#)), el testículo presenta cordones seminíferos y alrededor de los cordones hay tejido intersticial con células de Leydig maduras (en etapa 37), ya que hay evidencias indirectas de que los testículos son esteroideogénicamente activos, pues existe una correlación entre la diferenciación gonadal y la del tubérculo genital ([Neaves et al., 2006](#); [Holmes y Wade, 2005](#)). Adicionalmente se reportó que en los proto-penes se expresan transcritos de receptores a andrógenos y bajos niveles de receptores a α -estrógenos (A.

carolinensis, [Gredler et al., 2014](#)). Este conjunto de evidencias directas e indirectas indica que en los saurios los testículos son activos esteroidogénicamente y que participan activamente en el desarrollo de los genitales externos. En contraste con los recién nacidos de *B. imbricata* que presentan características histológicas incipientes, pues la cantidad de espermatogonias en los cordones seminíferos es escasa y en el tejido intersticial las células no muestran características histológicas típicas de células esteroidogénicas, además en apoyo a este punto de vista, se encontró que no presentan actividad.

En este estudio se demostró que a los cuatro meses de la vida posnatal ya hay actividad esteroidogénica testicular en *B. imbricata*, además que muestran características histológicas típicas de células esteroidogénicamente activas, es decir en este momento son células de Leydig maduras. Este proceso terminal de diferenciación ocurre de manera tardía, en relación a *N. ocellatus*, ([Neaves et al., 2006](#)), *C. calotes versicolor*, ([Doddamani, 2006](#)) *A. carolinensis*, ([Gredler et al., 2014](#)) donde esta función aparece durante el desarrollo embrionario (etapa 34-37). Además se observó que la actividad esteroidogénica en *B. imbricata* sólo ocurre en las células de Leydig, mientras que en *C. versicolor* a partir de los 20 días después de la eclosión hay actividad esteroidogénica débil en el interior de los túbulos seminíferos, en células de Sertoli. Adicionalmente presenta espermatocitos primarios y el lumen empieza formarse cuando alcanzan un mes de vida posnatal ([Doddamani, 2006](#)). En cambio en *B. imbricata* no hay evidencias contundentes de que la división meiótica se ha iniciado, pues aunque hay espacios en algunos cordones seminíferos la mayoría son aun compactos y no presentan actividad de la $\Delta^{5-4}3\beta$ -HSD. Estas evidencias indican que hay un retraso temporal en la diferenciación testicular, tanto de las células de Leydig como Sertoli en comparación a las especies antes descritas.

Ovario

En los saurios hasta ahora estudiados el desarrollo ovárico comienza entre las etapas 34 a 37, presentan la medula y corteza bien definidas; la primera tiene algunas lagunas y en la segunda hay varias ovogonias (*C. versicolor*, [Doddamani, 1994](#); *N. ocellatus*, [Neaves et al., 2006](#); *A. carolinensis*, [Holmes y Wade, 2005](#)). Además en *C. versicolor* los folículos ováricos son positivos para la $\Delta^{5-4}3\beta$ -HSD (etapa 36) ([Doddamani, 1994](#)). En otras especies (*N. ocellatus* [Neaves et al., 2006](#); *A. carolinensis*, [Holmes y Wade, 2005](#)) hay evidencias indirectas de que los ovarios

son activos esteroidogénicamente, ya que hay una correlación entre la diferenciación sexual gonadal y la regresión de los tubérculos genitales. Adicionalmente se encontró que los clítoris expresan transcritos de receptores a α -estrógenos y bajos niveles de receptores a andrógenos (*A. carolinensis*, [Gredler et al., 2014](#)). Este conjunto de observaciones indica que los ovarios son esteroidogénicamente activos y sugiere que participan en el desarrollo del tracto reproductor. En cambio, los ovarios de los recién nacidos de *B. imbricata*, aunque son similares en las características histológicas, no presentan actividad de $\Delta^{5-4}3\beta$ -HSD, así que son esteroidogénicamente inactivos. Esto indica un desfase temporal en el desarrollo del ovario con respecto al resto de los saurios estudiados.

A los cuatro meses de edad, los cortes mostraron que los ovarios ya presentan folículos previtelogénicos con teca (interna y externa) y células polimórficas foliculares. Este aspecto ya lo presentan los críos de un mes de vida posnatal del saurio *C. versicolor*, y que son esteroidogénicamente activos ([Doddamani, 1994](#)). En *B. imbricata* se desconoce si ya poseen esta capacidad.

Adrenal

Un hecho que llama la atención es que la glándula adrenal de los recién nacidos de ambos sexos de *B. imbricata* presenta actividad de $\Delta^{5-4}3\beta$ -HSDH, esto demuestra que es capaz de producir esteroides. Sin embargo, es posible que los esteroides producidos por esta glándula no participen en el desarrollo y/o regresión de los penes, ya que no se distinguen diferencias morfológicas en estas estructuras entre hembras y machos. En machos de cuatro meses de edad de *B. imbricata*, la glándula adrenal es capaz de producir T, esto concuerda con otros Squamata, que la glándula sintetiza este andrógeno (p.ej. *Naja naja*, [Gottfried et al., 1967](#); *C. versicolor*, [Indamar et al., 2014](#)). Se necesitan realizar estudios más detallados para determinar cuál es la función de estos esteroides en *B. imbricata*, porque a pesar de que el testículo y la adrenal ya son capaces de sintetizar testosterona, los penes continúan siendo similares en ambos sexos. Esta situación podría deberse a que los penes carecen de receptores a andrógenos, ya que en estudios previos se ha demostrado que en *A. carolinensis* estas estructuras pueden responder en ambos sexos a la administración de esteroides sexuales ([Holmes y Wade, 2005](#)) y demostraron que los andrógenos son esenciales para el desarrollo del pene (*A. carolinensis*, [Forbes, 1939](#); [Raynaud y Pieau, 1985](#); [Gredler et al., 2014](#)) y los estrógenos para la

formación de clítoris ([Gredler et al., 2014](#)). En este sentido se encontró que la administración de andrógenos a embriones hembras y estrógenos a embriones machos, retienen o regresaban los penes respectivamente ([Holmes y Wade, 2005](#)). Sin embargo, para que ocurra esta respuesta es fundamental la presencia de sus respectivos receptores ([Gredler et al., 2014](#)). Entonces, en *B. imbricata* la ausencia de receptores y su aparición en la vida posnatal (particularmente en la fase pre-adulta) podría estar correlacionada con la retención de los penes en la hembra y su regresión previa a la madurez sexual ([Martínez-Torres et al., 2015](#)). Estas observaciones hacen necesario un estudio más detallado para determinar en qué momento aparecen los receptores a T y E en los tubérculos genitales en ambos sexos de *B. imbricata*.

Conclusiones

1. Las gónadas de recién nacidos de *B. imbricata* presentan características básicas propias del ovario y testículo; sin embargo, no son activas esteroidogénicamente.
2. Las células de Leydig de los recién nacidos no han concluido su diferenciación.
3. La glándula adrenal posee actividad esteroidogénica, tanto de recién nacidos como de juveniles y en estos últimos es capaz de sintetizar andrógenos, pero se desconoce cuál sería la función de este esteroide en los recién nacidos de este saurio.
4. Los machos juveniles de cuatro meses tienen células de Leydig maduras, las cuales ya son esteroidogénicamente activas y las hembras de esta edad presentan folículos previtelogénicos.
5. El desarrollo y diferenciación de las células de Leydig presentan heterocronía en relación al resto de los saurios actualmente estudiados.

REFERENCIAS

- ✚ Aguilar-Martínez, G. F. 2011. Reporte del tamaño de una camada de *Barisia imbricata* (Wiegmann, 1828) (Reptilia: Anguillidae). *Acta zoológica mexicana*, 27 (3), 803-809.
- ✚ Alföldi, J., Di Palma, F., Grabherr, M., Williams, C., Kong, L., Mauceli, E., Ray, D. A. 2011. The genome of the green anole lizard and a comparative analysis with birds and mammals. *Nature*, 477 (7366), 587-591.
- ✚ Archibald, J. D., y MacLeod, N. 2007. Dinosaurs, extinction theories for. In San Diego State University and Natural History Museum.
- ✚ Austin, H. B. 1988. Differentiation and development of the reproductive system in the iguanid lizard, *Sceloporus undulatus*. *General and comparative endocrinology*, 72(3), 351-363.
- ✚ Badenhorst, D., Stanyon, R., Engstrom, T., Valenzuela, N. 2013. A ZZ/ZW micro chromosome system in the spiny softshell turtle, *Apalone spinifer*, reveals an intriguing sex chromosome conservation in Trionychidae. *Chromosome research*, 21 (2), 137-147.
- ✚ Bagheri-Fam, S., Sinclair, A. H., Koopman, P., y Harley, V. R. 2010. Conserved regulatory modules in the Sox9 testis-specific enhancer predict roles for SOX, TCF/LEF, Forkhead, DMRT, and GATA proteins in vertebrate sex determination. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 42(3), 472-477.
- ✚ Ballinger, R. E., Lemos-Espinal, J. A., y Smith, G. R. 2000. Reproduction in females of three species of crevice-dwelling lizards (genus *Xenosaurus*) from Mexico. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 35(3), 179-183.
- ✚ Barske, L. A., Capel, B. 2008. Blurring the edges in vertebrate sex determination. *Current opinion in genetics & development*, 18(6), 499-505.
- ✚ Beck, L. A., y Wade, J. 2008. Steroid receptor expression in the developing copulatory system of the green anole lizard (*Anolis carolinensis*). *General and comparative endocrinology*, 157(1), 70-74.
- ✚ Bellairs A. D'A. y Attridge J. 1975. Los reptiles. H. Blume. España. Pp. 73-79.
- ✚ Bickham, J. W. 1984. Patterns and modes of chromosomal evolution in reptiles. *Chromosomes in evolution of eukaryotic groups*, 2, 13-40.
- ✚ Bieser, K. L., Wibbels, T., Mourad, G., Paladino, F. 2013. The Cloning and Expression Analysis of Lhx9 During Gonadal Sex Differentiation in the Red-Eared Slider Turtle, *Trachemys scripta*, a Species with temperature-dependent sex determination. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, 320(4), 238-246.
- ✚ Bull, J. J., Vogt, R. C., Bulmer, M. G. 1982. Heritability of sex ratio in turtles with environmental sex determination. *Evolution*, 333-341.
- ✚ Canoville, A., y Laurin, M. 2010. Evolution of humeral microanatomy and lifestyle in amniotes, and some comments on palaeobiological inferences. *Biological Journal of the Linnean Society*, 100 2, 384-406.
- ✚ Canseco Márquez, L., y Gutiérrez Mayén, M. G. 2010. *Anfibios y reptiles del Valle de Tehuacán-Cuicatlán*. México, DF: CONABIO: Fundación para la Reserva de la Biósfera Cuicatlán; Puebla, Pue.: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

- ✚ Carroll, R. L., & Baird, D. 1972. *Carboniferous stem-reptiles of the family Romeriidae*. Harvard University.
- ✚ Carroll, R.L. 1991. «The origin of reptiles». En Schultze H.-P., Trueb L. *Origins of the higher groups of tetrapods — controversy and consensus*. Ithaca: Cornell University Press. pp. 331-53.
- ✚ Casas A.G. y McCoy C.J. 1979. ¿Qué es un reptil? En: Anfibios y reptiles de México. Edit Limusa. México. p. 34
- ✚ Chester-Jones, I., Ingleton, P. M., y Phillips, J. G. 2013. *Fundamentals of comparative vertebrate endocrinology*. Springer Science & Business Media.
- ✚ Choudhary, B., Ganesh, S., y Raman, R. 2000. Evolutionary conservation of the gene *Cvsox9* in the lizard, *Calotes versicolor*, and its expression during gonadal differentiation. *Development genes and evolution*, 210(5), 250-257.
- ✚ Ciofi, C., y Swingland, I. R. 1997. Environmental sex determination in reptiles. *Applied Animal Behaviour Science*, 51(3), 251-265.
- ✚ Crews D. and Bergeron J. M. (1994) Role of reductase and aromatase in sex determination in the red-eared slider (*Trachemys scripta*), a turtle with temperature-dependent sex determination. *J. Endocrinol.* 143: 279–289.
- ✚ Dashevsky, D., Meik, J. M., Mociño-Deloya, E., Setser, K., y Schaack, S. 2013. Patterns of sexual dimorphism in Mexican alligator lizards, *Barisia imbricata*. *Ecology and evolution*, 3(2), 255-261.
- ✚ Doddamani, L. S. 1994. Histoenzymological studies on embryonic and posthatching development of the ovary in the tropical oviparous lizard, *Calotes versicolor*. *Journal of Morphology*222: 1-10.
- ✚ Doddamani, L. S. 2006. Differentiation and development of testis in the oviparous lizard, *Calotes versicolor* (Daud.). *Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology*305: 299-308.
- ✚ Dufaure, J. P., y Hubert, J. 1961. Table De Développement Du Lézard Vivipare-Lacerta (Zootoca) Vivipara Jacquin. *Archives D'Anatomie Microscopique Et De Morphologie Expérimentale*, 50(3), 309.
- ✚ Ewert, M. A., Etchberger, C. R., Nelson, C. E. 2004. Turtle sex-determining modes and TSD patterns, and some TSD pattern correlates. *Temperature-dependent sex determination in vertebrates. Smithsonian Books, Washington, DC*, 21-32.
- ✚ Ewert, M. A., Jackson, D. R., & Nelson, C. E. 1994. Patterns of temperature-dependent sex determination in turtles. *Journal of Experimental Zoology*,270 (1), 3-15.
- ✚ Ewert, M. A., Lang, J. W., Nelson, C. E. 2005. Geographic variation in the pattern of temperature-dependent sex determination in the American snapping turtle (*Chelydra serpentina*). *Journal of Zoology*, 265(1), 81-95.
- ✚ Ezaz, T., Quinn, A. E., Miura, I., Sarre, S. D., Georges, A., Graves, J. A. M. 2005. The dragon lizard *Pogona vitticeps* has ZZ/ZW micro-sex chromosomes. *Chromosome Research*, 13(8), 763-776.
- ✚ Forbes, T. R. 1956. The development of the reproductive system of a lizard, *Anolis carolinensis*. *American Journal of Anatomy*, 98(1), 139-157.

Determinación de la actividad esteroideogénica de la gónada de recién nacidos y juveniles de la lagartija vivípara *Barisia imbricata*.

- ✚ Fox, I. I. 1977. The urogenital system of reptiles. In C. Gans and T. Parsons (eds.). *Biology of the Reptilia*. Academic Press, New York, vol. 6, pp. 1–157.
- ✚ García-Vázquez U. O., J. L. Aguilar-López, M. Feria-Ortiz I. Durán-Fuentes. 2006. Reporte de una hembra gestante de *Barisia ciliaris* (Smith, 1942). *Boletín de la Sociedad Herpetológica Mexicana*, 14: 45-46.
- ✚ George, F.W. y Wilson, J.D. 1988. Sex determination and differentiation. En: *The Physiology of Reproduction*. (eds. E Knobil, J. Neill, L. Ewing, L. Markert, G.S. Greenwald Y D. Pfa?) 12, New York: Raven Press.
- ✚ Gredler, M. L., Sanger, T. J., and Cohn, M. J. 2014. Development of the cloaca, hemipenes, and hemiductores in the green anole, *Anolis carolinensis*. *Sexual Development*, 9: 21-33
- ✚ Goin, C. J., Gin O. B., Zug G. R. 1978. Origen and evolution of reptiles. En: *Introduction to herpetology*. W. H. Freeman and company. 3^{er} ed. USA. Pp. 72-87.
- ✚ Good, D. A., 1988: Phylogenetic relationships among gerrhonotine lizards. An analysis of external morphology. *Univ. California Publ. Zool.* 121, 1–139.
- ✚ Gottfried, H., Huang, D. P., Lofts, B., Phillips, J. G., y Tam, W. H. 1967. In vitro production of steroids by the adrenal and testicular tissues of the cobra (*Naja naja*). *General and Comparative Endocrinology*, 8(1), 18-31.
- ✚ Guillette Jr, L. J. y Casas-Andreu, G. 1987. The reproductive biology of the high elevation Mexican lizard *Barisia imbricata*. *Herpetologica*, 29-38.
- ✚ Guillette Jr, L. J., Pickford, D. B., Crain, D. A., Rooney, A. A., & Percival, H. F. 1996. Reduction in penis size and plasma testosterone concentrations in juvenile alligators living in a contaminated environment. *General and comparative endocrinology*, 101(1), 32-42.
- ✚ Guillette Jr, L. J., y Smith, H. M. 1982. A review of the Mexican lizard *Barisia imbricata*, and the description of a new subspecies. *Transactions of the Kansas Academy of Science*. 1903, 13-33.
- ✚ Halliday, T. y K. Adler. 2002. *Firefly Encyclopedia of Reptiles and Amphibians*. Firefly Books, New York.
- ✚ Hay, J. M., Daugherty, C. H., Cree, A., y Maxson, L. R. 2003. Low genetic divergence obscures phylogeny among populations of *Sphenodon*, remnant of an ancient reptile lineage. *Molecular phylogenetics and evolution*, 29(1), 1-19.
- ✚ Harlow, P. S. 2004. Temperature-dependent sex determination in lizards. *Temperature-dependent sex determination in vertebrates*, 42-52.
- ✚ Head, G., May, R. M., Pendleton, L. 1987. Environmental determination of sex in the reptiles. *Nature*, 329, 198-199.
- ✚ Holmes, M. M., y Wade, J. 2005. Sexual differentiation of the copulatory neuromuscular system in green anoles (*Anolis carolinensis*): normal ontogeny and manipulation of steroid hormones. *Journal of Comparative Neurology*, 489(4), 480-490.
- ✚ Inamdar, L. S., Khodnapur, B. S., Nindi, R. S., Dasari, S., y Seshagiri, P. B. (2015). Differential expression of estrogen receptor alpha in the embryonic adrenal–kidney–gonadal complex of the oviparous lizard, *Calotes versicolor* (Daud.). *General and comparative endocrinology*, 220, 55-60.

- ✚ Janes, D. E., y Wayne, M. L. 2006. Evidence for a genotype× environment interaction in sex-determining response to incubation temperature in the leopard gecko, *Eublepharis macularius*. *Herpetologica*, 62 (1), 56-62.
- ✚ Janzen, F. J. 1992. Heritable variation for sex ratio under environmental sex determination in the common snapping turtle (*Chelydra serpentina*). *Genetics*, 131(1), 155-161.
- ✚ Joss J. M. P. (1989) Gonadal development and differentiation in *Alligator mississippiensis* at male and female producing incubation temperatures. *J. Zool. (Lond.)* 218: 679–687
- ✚ Keyte, A. L., & Smith, K. K. (2014, October). Heterochrony and developmental timing mechanisms: changing ontogenies in evolution. In *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 34, pp. 99-107). Academic Press.
- ✚ Kettlewell, J. R., Raymond, C. S., y Zarkower, D. 2000. Temperature-dependent expression of turtle DMRT1 prior to sexual differentiation. *Genetics*, 26, 174–178.
- ✚ King, M. 1977. The evolution of sex chromosomes in lizards. *Evolution and reproduction*, 55-60.
- ✚ Kraak, S. B. M. y Pen, I. 2002. Sex-determining mechanisms in vertebrates. In I. C. W. Hardy (Ed.), “Sex Ratios: Concepts and Research Methods” (pp. 158–177). Cambridge: Cambridge University Press.
- ✚ Lance V. A. and Bogart M. H. (1994) Studies on sex determination in the American alligator, *Alligator mississippiensis*. *J. Exp. Zool.* 270: 79–85
- ✚ Lanka, V. y Vit. Z. 1991. *Anfibios y Reptiles*. Susaeta, S.A, Madrid.
- ✚ Levy, H., Deane, H. W., y Rubin, B. L. 1959. Visualization of steroid-3 β -ol-dehydrogenase activity in tissues of intact and hypophysectomized rats 1. *endocrinology*, 65(6), 932-943.
- ✚ Lovern, M. B., y Wade, J. 2003. Yolk testosterone varies with sex in eggs of the lizard, *Anolis carolinensis*. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 295(2), 206-210.
- ✚ Luna, L.G. 1968. *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. McGraw-Hill Company, New York. 219 p.
- ✚ Martínez-Torres, M., Álvarez-Rodríguez, C., y Andrade-Terrazas, J. 2006a. Características de las membranas extraembrionarias desalojadas por los críos de *Barisia imbricata* (Reptilia: Anguidae) después del nacimiento. *Bol. Soc. Herpetol. Mex*, 14, 38-42.
- ✚ Martínez-Torres, M., Guzmán-Rodríguez, R., Cárdenas-León, M., y Brunner-Reynaldo, N. 2006b. Follicular development and ovulation determined by ultrasound imaging in the viviparous lizard *Barisia imbricata* (Reptilia: Anguidae). *The Southwestern Naturalist*, 51(3), 401-406.
- ✚ Martínez-Torres, M., Hernández-Caballero, M. E., Alvarez-Rodriguez, C., Luis-Díaz, J. A., y Ortiz-López, G. 2003. Luteal development and progesterone levels during pregnancy of the viviparous temperate lizard *Barisia imbricata* (Reptilia: Anguidae). *General and comparative endocrinology*, 132(1), 55-65.
- ✚ Martínez-Torres, M., Rubio-Morales, B., Piña-Amado, J. J., and Luis, J. 2015. Hemipenes in females of the Mexican viviparous lizard *Barisia imbricata imbricata* (Squamata: Anguidae): an example of heterochrony in sexual development. *Evolution and Development* 17: 270-277.

Determinación de la actividad esteroideogénica de la gónada de recién nacidos y juveniles de la lagartija vivípara *Barisia imbricata*.

- ✚ Martínez-Torres, M. 1999. *Barisia imbricata imbricata* (Popocatepetl Imbricate Alligator lizard) Oophagy. *Herpet Rev*, 30, 165-166.
- ✚ Melitta M. 2008. Calse Reptilia. Curso de Biología animal, Sección de vertebrados. Facultad de ciencias.
- ✚ Mitchell, N. J., Nelson, N. J., Cree, A., Pledger, S., Keall, S. N., Daugherty, C. H. 2006. Support for a rare pattern of temperature-dependent sex determination in archaic reptiles: evidence from two species of tuatara (*Sphenodon*). *Frontiers in Zoology*, 3(1), 1.
- ✚ Moore, B. C., Uribe-Aranza'bal, M. C., Boggs, A. S. P., Guillette, J., y Louis, J. 2008. Developmental morphology of the neonatal alligator (*Alligator mississippiensis*) ovary. *J. Morphol.*, 269, 302–312.
- ✚ Murdock, C., y Wibbels, T. 2003. Expression of Dmrt1 in a turtle with temperature-dependent sex determination. *Cytogenet Genome Res* 101:302–308.
- ✚ Neaves, L., Wapstra, E., Birch, D., Girling, J. E., & Joss, J. M. 2006. Embryonic gonadal and sexual organ development in a small viviparous skink, *Niveoscincus ocellatus*. *Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology*, 305(1), 74-82.
- ✚ Norris O. D. y López H. K: 2010. Hormones and Reproduction of Vertebrates, Volume 3, 1st Edition.
- ✚ Olsson, M., Shine, R., Wapstra, E., Ujvari, B., y Madsen, T. 2002. Sexual dimorphism in lizard body shape: the roles of sexual selection and fecundity selection. *Evolution*, 56(7), 1538-1542.
- ✚ Packard, G.C. y M.J. Packard. 1980. Evolution of the cleidoic egg among reptilian antecedent of birds. *Amer. Zool.* 20:351-362.
- ✚ Pieau, C. 1996. Temperature variation and sex determination in reptiles. *Bioessays*, 18, 19–26.
- ✚ Pieau, C., Dorizzi, y M., Richard-Mercier, N. 1999. Temperature-dependent sex determination and gonadal differentiation in reptiles. *Cell. Mol. Life. Sci.*, 55, 887–900.
- ✚ Pieau C., Dorizzi M., Richard-Mercier N. and Desvages G. 1998. Sexual differentiation of gonads as a function of temperature in the turtle *Emys orbicularis*: endocrine function, intersexuality and growth. *J. Exp. Zool.* 281: 400–408
- ✚ Pieau C. 1972. Effets de la température sur le développement des glandes génitales chez les embryons de deux Chéloniens, *Emys orbicularis* L. et *Testudo graeca* L. *C. R. Acad. Sci. Paris* 274: 719–722.
- ✚ Pieau, C., y Dorizzi, M. 2004. Oestrogens and temperature-dependent sex determination in reptiles: all is in the gonads. *Journal of Endocrinology*, 181(3), 367-377.
- ✚ Porter R. K. 1972. The geographical distribution of amphibians and reptiles. En; Herpetologie. W. B. Sandres Company. EUA.
- ✚ Porter C. A.; Sites J. W. Jr. 1986. Evolution of *Sceloporus grammicus* complex (Sauria: Iguanidae) in central Mexico: population cytogenetics. *Systematic Biology* 35: 334-358.
- ✚ Pough, F.H., Andrews, R.M., Cadle, J.E., Crump, M.L., Savitzky, A.H., Wells, K.D. 2004. Herpetology. 3rd ed. Herpetology Prentice-Hall, Upper Saddle River, New Jersey.
- ✚ Quinn, A. E., Georges, A., Sarre, S. D., Guarino, F., Ezaz, T., Graves, J. A. M. 2007. Temperature sex reversal implies sex gene dosage in a reptile. *Science*, 316 (5823), 411-411.

- ✚ Quinn, A. E., Radder, R. S., Sarre, S. D., Georges, A., Ezaz, T., y Shine, R. 2009. Isolation and development of a molecular sex marker for *Bassiana duperreyi*, a lizard with XX/XY sex chromosomes and temperature-induced sex reversal. *Molecular Genetics and Genomics*, 281(6), 665-672.
- ✚ 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 systems in a lizard. *Biology Letters*, 4 (2), 176-178.
- ✚ Rhen, T., y Schroeder, A. 2010. Molecular mechanisms of sex determination in reptiles. *Sexual Development*, 4(1-2), 16-28.
- ✚ Rhen T, Metzger K, Schroeder A, Woodward R. 2007. Expression of putative sex-determining genes during the thermo sensitive period of gonad development in the snapping turtle, *Chelydraserpentina*. *Sex Dev* 1:255–270.
- ✚ Raynaud, A., y Pieau, C. 1985. Embryonic development of the genital system. In C. Gans and F. Billett (eds.). *Biology of the Reptilia*. John Wiley & Sons, New York, vol. 15, pp. 149–300.
- ✚ Rodríguez Alonso, A. (2014). Contribución al estudio estructural y ultra estructural de las glándulas de secreción de esteroides del reptil *Gallotia galloti*.
- ✚ Sarre, S. D., Georges, A., Quinn, A. 2004. The ends of a continuum: genetic and temperature-dependent sex determination in reptiles. *Bioessays*, 26 (6), 639-645.
- ✚ Schmahl J, Yao HH, Pierucci-Alves F, Capel B. 2003. Colocalization of WT1 and cell proliferation reveals conserved mechanisms in temperature-dependent sex determination. *Genesis*. 35: 193–201.
- ✚ Shine, R., Elphick, M. J., Donnellan, S. 2002. Co-occurrence of multiple, supposedly incompatible modes of sex determination in a lizard population. *Ecology Letters*, 5 (4), 486-489.
- ✚ Sites, J. W., Bickham, J. W., Haiduk, M. W. 1979. Derived X chromosome in the turtle genus *Staurotypus*. *Science*, 206 (4425), 1410-1412.
- ✚ Smith, H. M., Burg, T. M., Chiszar, D. 2002. Evolutionary speciation in the Alligator lizards of the genus *Barisia*. *Bulletin of the Maryland Herpetological Society*, 38(1), 23-26.
- ✚ Smith, C., McClive, P. J., Western, P. S., Reed, K. J., y Sinclair, A. H. 1999. Conservation of a sex determining gene. *Nature*, 402, 601–602.
- ✚ Smith, C. A., & Joss, J. M. 1993. Gonadal sex differentiation in Alligator mississippiensis, a species with temperature-dependent sex determination. *Cell and tissue research*, 273(1), 149-162.
- ✚ Shoemaker, C., Ramsey, M., Queen, J., y Crews, D. 2007. Expression of Sox9, Mis, and Dmrt1 in the gonad of a species with temperature-dependent sex determination. *Developmental Dynamics*, 236, 1055–1063.
- ✚ 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*. *J. Exp. Zool.*, 281, 417–427.
- ✚ Strickberger 1993. Del agua al aire: Anfibios, reptiles y aves. En: *Evolución*. Omega. España.
- ✚ Tihen, J. A. 1949. The genera of gerrhonotine lizards. *American Midland Naturalist*, 41(3), 580-601.

Determinación de la actividad esteroidogénica de la gónada de recién nacidos y juveniles de la lagartija vivipara *Barisia imbricata*.

- ✚ Valenzuela, N. 2007. Relic thermosensitive gene expression in a turtle with genotypic sex determination. *Evolution*, 62, 234–240.
- ✚ Valenzuela, N. 2008. Evolution of the gene network underlying gonadogenesis in turtles with temperature-dependent and genotypic sex determination. *Integrative and Comparative Biology*, 48, 476–485.
- ✚ Valenzuela, N., LeClere, A., Shikano, T. 2006. Comparative gene expression of steroidogenic factor 1 in *Chrysemys picta* and *Apalone mutica* turtles with temperature-dependent and genotypic sex determination. *Evolution and development*, 8 (5), 424-432.
- ✚ Valleley, E., Carwright, E., Croft, N., Markham, A., y Coletta, L. 2001. Characterization and expression of Sox9 in the leopard gecko, *Eublepharis macularius*. *J. Exp. Zool.*, 291, 85–91.
- ✚ Villamar-Duque, T. E. 1998. Contribución al conocimiento de las preferencias térmica en Anguidos (Replia, Sauria). Tesis de Licenciatura FES Iztacala UNAM.
- ✚ Vitt, L. J., y Caldwell, J. P. 2014. *Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles*. 4th edition Ed, Academy Press, USA.
- ✚ Warner, D. A., Lovern, M. B., & Shine, R. 2008. Maternal influences on offspring phenotypes and sex ratios in a multi-clutching lizard with environmental sex determination. *Biological Journal of the Linnean Society*, 95(2), 256-266.
- ✚ Western, P. S., Harry, J. L., Graves, J. A., & Sinclair, A. H. 1999a. Temperature-dependent sex determination: Upregulation of SOX9 expression after commitment to male development. *Developmental dynamics*, 214(3), 171-177.
- ✚ Western, P. S., Harry, J. L., Graves, J. A., y Sinclair, A. H. 1999b. Temperature-dependent sex determination in the American alligator: AMH precedes SOX9 expression. *Developmental Dynamics*, 216, 411–419.
- ✚ Wibbels T. and Crews D. 1992. Specificity of steroid hormone-induced sex determination in a turtle. *J. Endocrinol.* 133: 121–129.
- ✚ Yao, H.-C. H., y Capel, B. 2005. Temperature, genes, and sex: a comparative view of sex determination in *Trachemys scripta* and *Mus musculus*. *J. Biochem.*, 138, 5–12.
- ✚ Yao, H. H. C. 2005. The pathway to femaleness: current knowledge on embryonic development of the ovary. *Molecular and celular endocrinology*, 230(1), 87-93.
- ✚ Zaldívar-Riverón, A., Nieto-Montes de Oca, A., Laclette, J. P. 2005. Phylogeny and evolution of dorsal pattern in the Mexican endemic lizard genus *Barisia* (Anguidae: Gerrhonotinae). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 43(3), 243-257.
- ✚ Zaldívar-Riverón, A., y de Oca, A. N. M. 2001. Natural history and distribution of the lizard *Barisia rudicollis* (Anguidae). *The Southwestern Naturalist*, 46(3), 391-396.
- ✚ <http://www.reptile-database.org/db-info/SpeciesStat.html>
- ✚ <http://bios.conabio.gob.mx/especies/8000491>