



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA**

**ONTOGENIA DEL DIMORFISMO SEXUAL DE  
*Barisia imbricata* (Reptilia: Anguidae)**

**TESIS PROFESIONAL**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G O

P R E S E N T A :

**NATALIA FIERRO ESTRADA**

Director de Tesis:  
Biol. Martín Martínez Torres, M. en C.



Los reyes Iztacala, junio de 2009



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.

## AGRADECIMIENTOS

Mi mayor agradecimiento a mi Tutor: M. en C. **Martín Martínez Torres**, por no creer al principio en mi, y aun así permitirme cuidar y trabajar con sus organismos, por obligarme a crecer como Bióloga y por apoyarme en todo momento, gracias a usted ésta tesis es lo que es.

"And anytime you feel the pain. Hey Jude, refrain. Don't carry the world upon your shoulders"  
*(Hey Jude, 1968).*

"Nothing you can make that can't be made. No one you can save that can't be saved. Nothing you can do but you can learn how to be you in time..." *(All You Need is Love, Magical Mystery Tour).*

"Living is easy with eyes closed. Misunderstanding all you see. It's getting hard to be someone..." *(Strawberry Fields Forever, Magical Mystery Tour).*

Muchísimas gracias a mis 31 lagartijas que sin saberlo ayudaron en este trabajo definitivamente sin ellas éste no hubiera sido posible.

NATALIA

Gracias Biol. Beatriz Rubio Morales, por encaminarme en éste proyecto, por abandonarme en él y a pesar de eso y por sobretodo gracias por siempre apoyarme, enseñarme y ayudarme en la realización de éste trabajo.

Gracias MVZ. Eduardo Cid Méndez, sin tu ayuda no se que hubiera sido de mis bichos, gracias por atender con dedicación y esfuerzo todas las emergencias que en éste lapso de tiempo se presentaron.

Gracias Edson, mi fotógrafo estrella, tu colaboración fue esencial para éste trabajo, gracias por estar siempre dispuesto, por tu amistad y por todas las excelentes fotografías.

Gracias Javier, por tenerme paciencia, por enseñarme todas las técnicas que requería y por estar siempre dispuesto a ayudarme.

Y por último Gracias a todas aquellas personas que estuvieron conmigo en el transcurso de este proyecto, ustedes saben quienes son.

NATALIA

Parte de este proyecto fue financiado por el COMECYT y CONACYT- 2008

## ÍNDICE

Pág.

Resumen-----	1
Introducción-----	2
Los reptiles-----	2
Viviparidad en Reptiles-----	4
Biología de <i>Barisia imbricata</i> -----	5
Descripción de la especie-----	5
Distribución-----	5
Historia de vida-----	6
Dimorfismo sexual-----	7
Ontogenia-----	8
Determinación del sexo-----	9
Crecimiento en Reptiles-----	9
<b><math>\Delta^{5-4}</math> 3<math>\beta</math> Hidroxi esteroide deshidrogenasa (<math>\Delta^{5-4}</math> 3<math>\beta</math> HSD)</b> -----	10
Antecedentes-----	11
Justificación-----	12
Objetivo General-----	13
Objetivos Particulares-----	13
Material y Método-----	14
Mantenimiento en Cautiverio-----	14
Alimentación-----	14
Medidas Morfométricas-----	14
Registro Fotográfico-----	15
Análisis de las Gónadas-----	15
Análisis de Datos-----	16
Resultados-----	17
Medidas Morfométricas-----	17
Longitud Hocico-cloaca-----	17
Pigmentación-----	19
Hemipenes-----	21
Características Histológicas de las Gónadas-----	23
Actividad de la <b><math>\Delta^{5-4}</math> 3<math>\beta</math> Hidroxi esteroide deshidrogenasa</b> -----	25
Discusión-----	26
Conclusiones-----	29
Literatura Citada-----	30
Apéndice I-----	32
Apéndice II-----	33

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
Fig. 1 Distribución geográfica de <i>Barisia imbricata</i> -----	6
Fig. 2 Vías de las síntesis de esteroides sexuales-----	10
Fig. 3 Medidas morfométricas tomadas de la cabeza-----	15
Fig. 4 Medidas morfométricas tomadas del cuerpo -----	15
Fig. 5 Curva de crecimiento de Hembras de <i>Barisia imbricata</i> -----	17
Fig. 6 Curva de crecimiento de Machos de <i>Barisia imbricata</i> -----	18
Fig. 7 Gráfica de las Medidas morfométricas-----	19
Fig. 8 Pigmentación de Recién Nacidos-----	19
Fig. 9 Hembra de <i>Barisia imbricata</i> de 8 meses de edad-----	20
Fig. 10 Macho de <i>Barisia imbricata</i> de 8 meses de edad-----	20
Fig. 11 Hembras y Machos de 12 meses de edad-----	20
Fig. 12 Hembra de <i>Barisia imbricata</i> de 15 meses de edad-----	21
Fig. 13 Macho de <i>Barisia imbricata</i> de 15 meses de edad-----	21
Fig. 14 Protohemipene de Hembra-----	21
Fig. 15 Protohemipene de Macho-----	21
Fig. 16 Hemipene de Macho de <i>Barisia imbricata</i> a los 12 meses de edad-----	22
Fig. 17 Cloaca de Hembra de <i>Barisia imbricata</i> a los 12 meses de edad-----	22
Fig. 18 Ovario completo de Hembra-----	23
Fig. 19 Corte histológico de un folículo ovárico de una hembra de 12 meses edad-----	23
Fig. 20 Folículos vitelogénicos-----	24
Fig. 21 Testículo de Macho de <i>Barisia imbricata</i> -----	24
Fig. 22 Corte de Testículo de Macho-----	24
Fig. 23 Corte de Testículo de Macho-----	25
Fig. 24 Corte de gónada positivo a la actividad de la $\Delta 5-4 \beta$ HSD-----	25

## RESUMEN

El dimorfismo sexual (DS) está constituido por el conjunto de características morfológicas (coloración, tamaño, forma, presencia o ausencia de estructuras) que permiten distinguir entre hembras y machos de una misma especie. Éstas se presentan en mayor o menor grado en los adultos de la mayoría de las especies y son el resultado de las diferencias fundamentales en la fisiología, la conducta y la ecología entre la hembra y el macho. Diversos autores han trabajado el DS en varias especies de saurios y fundamentalmente, se han abocado a estudiarlo en adultos; mientras que la ontogenia de este fenómeno ha sido escasamente explorada. Éste trabajo tiene el propósito de estudiar la ontogenia del dimorfismo sexual, desde el momento del nacimiento hasta los primeros 15 meses de vida, en la lagartija vivípara *Barisia imbricata*. Se trabajó con 31 crías provenientes de 3 camadas que nacieron en el invernadero anexo del Laboratorio de Biología de la Reproducción de la FES Iztacala UNAM de 3 hembras gestantes que fueron colectadas en el último mes de la preñez en el municipio de Cuautitlán, Estado de México. Los organismos se mantuvieron en condiciones ambientales naturales dentro de terrarios y se les proporcionó agua y alimento *ad libitum* durante todo el trabajo. Desde el momento del nacimiento hasta cumplir los 15 meses de vida se tomaron registros mensuales de: longitud hocico-cloaca, ancho y largo de la cabeza, longitud de la húmero y del fémur. Además se obtuvo mensualmente un registro fotográfico de la coloración dorsal de cada uno de los organismos y también al azar se eligieron 4 organismos cada mes para seguir un registro fotográfico del desarrollo de los hemipenes. Al cumplir los 12 meses de vida, se obtuvo quirúrgicamente una de las gónadas de 3 organismos de cada sexo para determinar las características histológicas y la actividad de la  $\Delta^{5-4} 3\beta$  Hidroxi esteroide deshidrogenasa ( $\Delta^{5-4} 3\beta$ -HSD). A los quince meses de edad no se encontraron diferencias significativas en la longitud hocico-cloaca de machos y hembras, tampoco se encontraron diferencias en la longitud del fémur, de la húmero y del ancho de la cabeza. En cambio si hubo diferencias significativas en el largo de la cabeza. Todos los organismos presentaron un patrón de coloración similar al momento del nacimiento, sin embargo a los 8 meses de edad se empiezan a observar diferencias en la coloración del dorso entre hembras y machos. Al año de vida el patrón de coloración es más notorio y a los 15 meses éste ya es distintivo de cada sexo. Machos y hembras presentaron al nacer proto-hemipenes, a los 8 meses de edad comienza la regresión de estas estructuras en las hembras y a los 12 meses de edad en los machos presentan una forma anillada y bifurcada. Las gónadas a los 12 meses de edad son capaces de sintetizar esteroides, ya que son positivos a la  $\Delta^{5-4} 3\beta$ -HSD. Además, los machos presentan espermátidas avanzadas y en las hembras los folículos ováricos presentan características similares a las de una hembra adulta no reproductiva. A los 15 meses las hembras han madurado sexualmente pues presentan folículos vitelogénicos. Es posible que estas características dimórficas entre los sexos comiencen a darse con el inicio de la actividad gonadal.

# INTRODUCCIÓN

## Los Reptiles

Los reptiles descendieron de un grupo de anfibios conocido como Antracosaurios, éstos presentaban una mezcla de caracteres Anfibianos y Reptilianos. Desde su origen, hace unos 338 millones de años (Carbonífero Inferior, Era Paleozoica), los reptiles han dado muestras de una enorme capacidad para adaptarse a un mundo cambiante y gran número de formas han ocupado los más diversos ambientes del planeta (Vázquez y Quintero, 2005).

Existen en la actualidad 8,726 especies de reptiles (Vázquez y Quintero, 2005), de los cuales las lagartijas cubren la mayor parte de especies con un aproximado de 4,450 especies (Zug *et al*: 2003).

La característica más evidente de todos los reptiles, aunque no exclusiva, es su piel cubierta de escamas córneas y secas. Está formada por dos capas: la epidermis, situada en la parte exterior y la dermis, en la interior (Vázquez y Quintero, 2005).

La coloración de los reptiles es muy diferente según las distintas especies. Muchas veces depende del medio en que viven, ya que se adaptan a él por homocromía (Fontanillas *et al*: 2000). Ésta cumple numerosas funciones en la vida del reptil: como anunciar su presencia a machos rivales, atraer a la hembras, pasar desapercibido ante los depredadores o presas (coloración críptica), anunciarse como un animal peligroso con llamativos colores (coloración aposemática) y otras más. La piel también participa en la locomoción (Vázquez y Quintero, 2005).

Estos organismos dependen del calor del sol para mantener una temperatura corporal apropiada para el buen funcionamiento de su metabolismo. Para obtener la mayor cantidad de calor del sol, en el menor tiempo posible, han desarrollado numerosas estrategias que combinan adaptaciones fisiológicas y de comportamiento. Las lagartijas oscurecen su piel para aumentar la captación de la energía del sol, ya alcanzada la temperatura óptima, la aclaran para reflejar y reducir la absorción de calor. Por la dependencia del calor del sol se les denomina animales de sangre fría, aunque es más apropiado llamarlos ectotermos (calor externo) (Vázquez y Quintero, 2005).

Los reptiles dependen casi exclusivamente de sus pulmones para respirar y son sus costillas las que les permiten la ventilación con movimientos hacia arriba y hacia abajo (Vázquez y Quintero, 2005).

Presentan corazón parcialmente dividido. Ningún reptil sufre metamorfosis alguna y carecen de glándulas cutáneas (Fontanillas *et al*; 2000).

En todos los reptiles la fecundación de los huevos es interna. Con excepción de las Tuátaras, todos los demás poseen órganos de copulación. Tortugas y cocodrilos tienen un pene, lagartijas y serpientes poseen dos órganos de penetración llamados hemipenes (Vázquez y Quintero, 2005).

La mayoría son ovíparos y algunos pueden ser vivíparos. Los ovíparos ponen los huevos en hoyos que excava la hembra en la tierra o arena, que luego son cubiertos con el mismo material excavado. La incubación es solar, pues es suficiente el calor irradiado por el sol para que se desarrollen y a su debido tiempo nazcan las crías. Éstas se bastan a sí mismas desde que nacen, porque su organismo es perfecto hasta el extremo de parecerse completamente a sus progenitores, aunque puede haber cambios notables en su coloración (Fontanillas *et a*; 2000).

Los reptiles pertenecen a la Clase Reptilia que está conformada por un grupo muy variado de animales que incluyen a las tortugas (Testudines), cocodrilos (Crocodylia), serpientes y lagartijas (Squamata) y las dos Tuátaras (Rhynchocephalia) de Nueva Zelanda (Vázquez y Quintero, 2005).

El orden Squamata contiene tres grupos de reptiles: Sauria (lagartijas), Serpentes (serpientes) y Amphisbaenia (reptiles parecidos a gusanos anillados) (Vázquez y Quintero, 2005).

Los saurios forman un grupo heterogéneo de reptiles que cuentan con más de 4450 especies y ello hace que este grupo de animales tenga una morfología externa un tanto heterogénea, aunque todos ellos poseen cuerpo alargado (Fontanillas *et al*; 2000).

La mayoría de las lagartijas tienen cuatro patas bien desarrolladas y una cola larga; algunas han experimentado la reducción de sus extremidades, a tal grado, que han dejado de ser funcionales y en muchos casos han desaparecido (Vázquez y Quintero, 2005).

Las lagartijas son principalmente carnívoras, localizan a sus presas con la vista, otras se ayudan del olfato, pocas especies tienen dieta herbívora. Con excepción de dos especies del género *Heloderma*, las lagartijas carecen de veneno (Vázquez y Quintero, 2005).

Una particularidad de muchas lagartijas es su capacidad para desprender la cola (autotomía caudal) en situaciones de peligro. La función de este mecanismo es distraer al agresor, pues la cola

desprendida permanece moviéndose convulsivamente mientras la lagartija escapa. Ésta es en poco tiempo regenerada, aunque ya no será igual a la original (Vázquez y Quintero, 2005).

### **Viviparidad en Reptiles**

Durante la historia evolutiva de los reptiles, la estrategia de poner huevos se fue perdiendo en especies de diferentes grupos hasta ser suprimida completamente (Vázquez y Quintero, 2005).

Probablemente la viviparidad surge mediante la retención de huevos, cuando una hembra que "retiene" sus huevos puede tomar el sol, asimismo calentándolos y mejorando el desarrollo de éstos (Pianka *et al.*: 2003).

La evolución de la viviparidad en la mayor parte de los lagartos parece estar ligada a la adaptación a climas fríos, a altas latitudes o a altas elevaciones. La lógica es que la probabilidad de la incubación de huevos se elevará si las hembras en sitios fríos los conservan dentro de sus cuerpos por tiempos más largos. Tomando el sol favorece el desarrollo, mientras que los huevos puestos en la tierra no pueden moverse a los parches de luz del sol para ganar el calor necesario.

Las crías escapan de las cubiertas ovulares poco antes del nacimiento o durante su proceso o bien, tempranamente en el desarrollo embrionario; ésto depende de la especie. En lagartijas donde la viviparidad es más avanzadas desarrollan una placenta corioalantoidea con características similares a la de los primates, que une a la madre con el embrión (Vázquez y Quintero, 2005).

## **Biología de *Barisia imbricata* (Wiegmann, 1828)**

*Barisia imbricata* pertenece a la clase Reptilia, al orden Squamata, subfamilia Guerronotidae y a la familia Anguidae. Es una especie vivípara la cual ha sido registrada en áreas de tierras altas con pastizales amacollados, bosques de pino, bosques de Coníferas, bosques de Oyamel, bosques de Pino-Encino y Encino-Pino. Habita principalmente en zonas con climas templados húmedos y templados. El rango altitudinal que ocupa esta especie comprende de los 2100 a los 4000 msnm (Guillette y Smith, 1982). Esta especie está incluida en La Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001, en la cual se encuentra clasificada como especie con protección especial.

### **Descripción de la especie**

*Barisia imbricata* es una lagartija de tamaño moderadamente grande que se diferencia de las demás especies del género por presentar el siguiente conjunto de características de escamación y coloración (Gillette y Smith, 1982; Zaldívar *et al.*: 2002): tres o cuatro superciliares; elemento cantolorear no dividido o dividido en dos de manera horizontal; de 34 a 45 hileras transversales de dorsales; supranasal fusionada con la postnasal superior; de 8 a 10 hileras de nucales; una sola occipital; coloración dorsal en los adultos con una evidente variación sexual y geográfica, generalmente los machos adultos con un color dorsal que varía de café parduzco a verde olivo immaculado, mientras que las hembras adultas varían de verde olivo immaculado a café parduzco con un patrón de bandas verticales oscuras (Zaldívar *et al.*: 2002).

### **Distribución**

Es una especie endémica para la República Mexicana en donde exhibe una gran distribución geográfica (Fig. 1), ocupando diversas regiones montañosas en: periferia y parte sur de la planicie del centro de México desde Veracruz hasta Jalisco. Ha sido reportada en varias localidades de Jalisco, Michoacán, México, Puebla, Oaxaca, Veracruz, Hidalgo, Guanajuato, Distrito Federal y Morelos (Castro, 2002).

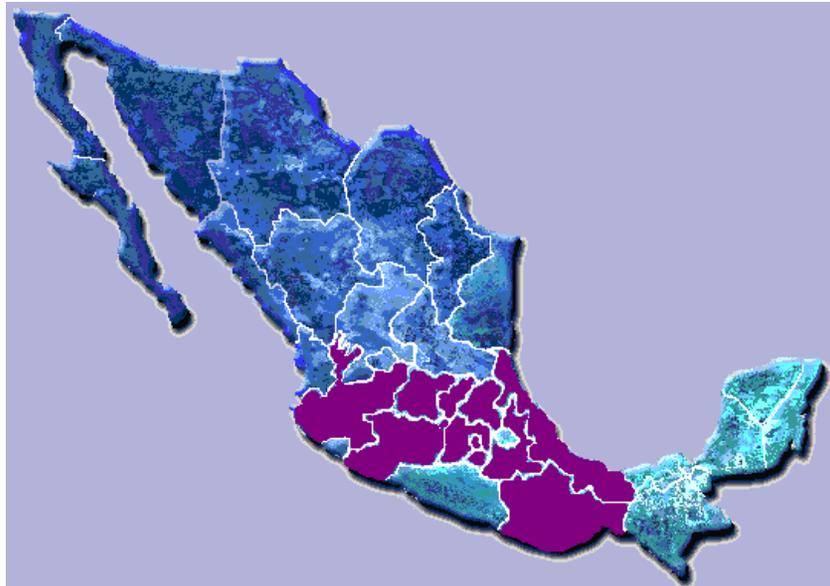


Fig. 1 Distribución geográfica de *Barisia imbricata*, se indica en color morado los Estados de la Republica donde se puede encontrar a esta especie.

## Historia de vida

Esta especie tiene un modo de reproducción vivíparo (Guillette y Casas-Andreu, 1987). Las hembras poseen un ciclo reproductivo anual del tipo verano-otoño, dando a luz crías vivas en los meses de abril a junio (Guillette y Smith, 1982; Zaldívar *et al*: 2002). El tamaño de camada en esta especie está determinado por el número de huevos en el útero y de embriones presentes, éste varía de 6 a 10 (Guillette y Smith, 1982), aunque al parecer puede alcanzar hasta 15.

De acuerdo con Guillette y Smith (1982), los machos adultos exhiben una recrudescencia testicular en primavera, una mayor actividad durante el verano y una regresión en el otoño. Por otra parte, las hembras adultas exhiben un patrón reproductivo anual de tipo verano-otoño, el cual se caracteriza por un crecimiento folicular en verano, ovulación en otoño y preñez durante los meses de invierno. El crecimiento folicular en *B. imbricata* está positivamente correlacionado con las precipitaciones durante el verano, pero no está correlacionado con el aumento de la temperatura o el incremento de fotoperiodo. La masa seca de los huevos ovulados y de embriones sugiere que la placenta en esta especie tiene una función nutritiva (Guillette y Casas, 1987).

## Dimorfismo Sexual

Al conjunto de características morfológicas (coloración, tamaño, forma, presencia o ausencia de estructuras) que permiten distinguir entre hembras y machos de una misma especie constituyen el dimorfismo sexual (DS). Éstas se presentan en mayor o menor grado en los adultos de la mayoría de las especies (Le Galliard *et al.*; 2006) y son el resultado de las diferencias fundamentales en la fisiología, en la conducta y en la ecología entre la hembra y el macho (Smith *et al.*; 1997, Olsson *et al.*; 2002; Rubolini *et al.*; 2006).

El crecimiento corporal en los animales está en función de diversas circunstancias como: la alimentación, las condiciones ambientales, el estado sanitario y las características inherentes a la especie, como: sexo, edad y peso corporal al momento del nacimiento (Le Galliard *et al.*; 2006).

El DS puede aparecer en cualquier etapa durante la historia de vida de los animales (Rader *et al.*; 2001).

En el caso de los reptiles el DS entre machos y hembras, con algunas excepciones, es moderado. En los Saurios, Lacértidos y Agámidos, los machos toman colores vivos en la época de celo: cabeza y costado verdes como en *Lacerta agilis*, azul vivo como en la garganta del lagarto verde (*Lacerta viridis*) y en *Agama colonarum* garganta color amarillo intenso, etc. También poseen órganos glandulares particulares, con poros, que según su localización se denominan femorales, anales o abdominales. Estos órganos son glándulas que segregan una especie de materia cérea amarillenta cuya función se desconoce y que están bajo el control directo de la hipófisis (Fontanillas *et al.*; 2000).

Muchos Iguánidos machos llevan crestas dorsales con expansiones eréctiles, casi siempre vivamente coloreadas. La cabeza de los camaleones machos presenta protuberancias coloreadas a modo de cuernos. La cabeza del basilisco (*Basiliscus*) macho está coronada con una especie de casco o sombrero que está ausente en todas las hembras (Fontanillas *et al.*; 2000).

## **Ontogenia**

La serie de transformaciones o cambios que representa el desarrollo del individuo o sus partes, reciben el nombre de *ontogenia*. Este fenómeno se refiere a todo el desarrollo del individuo a través de sus estados embrionarios, iniciando con la concepción, así como aquéllos que lo conducen al estado adulto después del nacimiento (Sadle, 2007).

En el caso del desarrollo embrionario éste comprende el período desde la fecundación hasta el nacimiento del organismo. Consta de las fases de: fecundación, segmentación, gastrulación y organogénesis (Gilbert, 1991).

La Fecundación, es la unión de las dos células reproductoras, los gametos, hasta que se funden en uno solo los respectivos núcleos y parte del citoplasma (Gilbert, 1991).

La Segmentación, es la repetida división por mitosis del ovocito fecundado dando lugar a numerosos blastómeros hasta llegar al estado de blástula. Esta etapa se caracteriza por presentar una cavidad en su interior (Gilbert, 1991).

La Gastrulación, es el proceso de formación de la gástrula. Comprende la invaginación o embolia, que es la forma ordinaria de la gastrulación de la blástula, consiste en que una parte de la misma se introduce en la otra. La parte que queda fuera es el ectodermo de la gástrula y la parte invaginada el endodermo (Gilbert, 1991). Los movimientos que ocurren en este estadio tienen lugar a través del centro gastrulatorio; en los reptiles es el Nudo de Hensen.

La Organogénesis, Es la formación de los esbozos de los órganos y diferenciación de los mismos (Gilbert, 2005).

Después del nacimiento, en los mamíferos las siguientes etapas de vida están bien tipificadas en pre-puber, puer y adulto, en el caso de los vertebrados estas etapas no están bien definidas. Algunos autores han definido en los saurios los siguientes estadios: crías, juveniles y adultos basándose en el tamaño del organismo así como en las características de la gónada.

En el caso de los juveniles la principal característica es que estos aun no son maduros sexualmente, en cambio en los adultos la característica principal es que son aptos para reproducirse.

## **Determinación del sexo**

En los vertebrados se presentan diferentes mecanismos a partir de los cuales se determina el sexo. Durante la fertilización, el sexo genético del cigoto se determina al momento en que se fusiona el pronúcleo masculino con el femenino (Salame y Villalpando, 1998).

Otro mecanismo con el cual se determina el sexo de los individuos independientemente de su sexo cromosómico, se presenta en algunas especies de tortugas y cocodrilos, por acción de la temperatura de incubación. En general, en los huevos de un nido que se incuban a una temperatura entre 26-27°C, el sexo de los embriones se determina como masculino y sus gónadas se diferencian en testículos. Los huevos que se incuban a una temperatura entre 30-32°C, forman embriones que se determinan femeninos, diferenciándose sus gónadas en ovarios (Salame y Villalpando, 1998).

Una vez determinado el sexo genético del individuo, en un momento y tiempo específico del desarrollo embrionario, se expresarán los genes involucrados en la diferenciación sexual gonadal. Durante esta etapa, ocurren una serie de eventos celulares y moleculares que confluyen en la morfogénesis y diferenciación del testículo y del ovario, así como los genitales internos y externos (Salame y Villalpando, 1998).

Cuando el organismo nace o eclosiona se termina el desarrollo embrionario. La duración total de este depende de la temperatura (la del suelo o la de la madre) y de la especie (Salame y Villalpando, 1998).

## **Crecimiento en Reptiles**

El crecimiento de los reptiles es rápido hasta un poco después de la madurez sexual. Además, las variaciones individuales debidas al régimen alimenticio son considerables. Los Reptiles se distinguen de otros vertebrados amniotas en que su crecimiento es continuo e ilimitado (Fontanillas *et al*; 2000).

La edad de la madurez sexual depende de la especie y del clima, tanto como de la tasa de crecimiento. El primer acoplamiento puede tener lugar al cabo de un año o incluso menos en algunos escamosos, por lo general se da a los 18 meses (Fontanillas *et al*; 2000).

## $\Delta^{5-4}$ 3 $\beta$ Hidroxi esteroide deshidrogenasa ( $\Delta^{5-4}$ 3 $\beta$ HSD)

La  $\Delta^{5-4}$  3 $\beta$  HSD es una enzima clave en la síntesis de esteroides sexuales (Fig. 2). La función fundamental de ésta, es permitir que la pregnenolona utilice la vía  $\Delta^4$  para formar los esteroides biológicamente mas potentes.

Ésta enzima se encarga de eliminar un hidrogeno del grupo hidroxilo para convertirlo en un grupo ceto y de cambiar la doble ligadura de la posición 5-6 a la posición 5-4 de tal manera que la pregnenolona se transforma inicialmente en progesterona. Ésta hormona puede ser liberada a la circulación (como en el caso del cuerpo lúteo) o bien puede ser utilizada como precursor para la síntesis de otros esteroides sexuales, por ejemplo el 17 $\beta$  estradiol (como en el caso de los folículos pre-vitelogénicos).

Si ésta enzima no esta presente entonces la pregnenolona puede transitar por la vía  $\Delta^5$  y formar esteroides de menor potencia biológica (Miller, 1998).

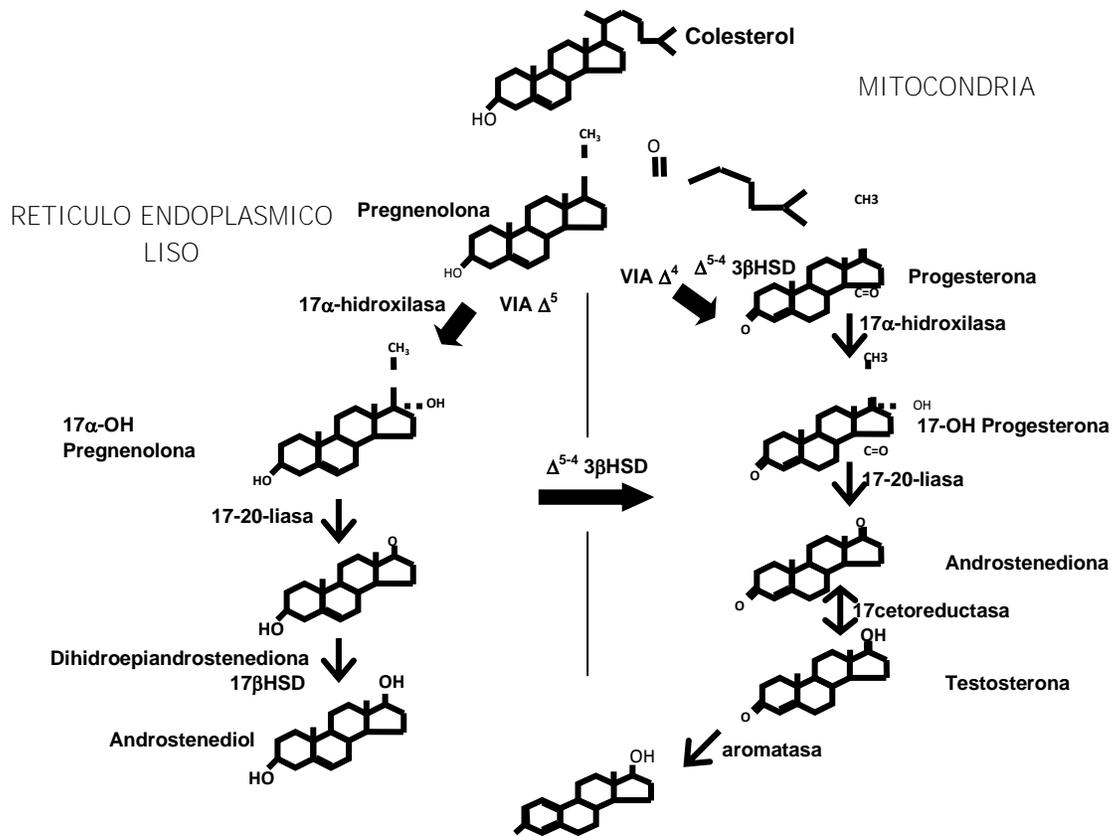


Fig. 2 Vías de las síntesis de esteroides sexuales (Martínez-Torres *et al.*: 2003).

## ANTECEDENTES

Se ha reportado que en los Saurios es muy común que en los adultos el macho sea más grande que la hembra, que sea más colorido o que presente diferencias en la longitud del fémur, de la tibia o de las falanges. Aunque también existen especies en que se ha reportado que la talla de la hembra es mayor que la de los machos como *Xenosaurus newmanorum*, (Smith *et al*: 1997), *Scaloporus virgatus*, (Cox y John-Alder, 2005) *Mabuya planiformis*, (Rubolini *et al*: 2006).

Sin embargo, la diferencia entre sexos más importante es la presencia de hemipenes en los machos y la ausencia de ellos en las hembras. En el caso de los sceloporinos, como *Sceloporus spinosus* y muchos saurios como *Amphibolurus nobbi*, (Harlow, 1996) se ha observado que el indicador más claro al momento del nacimiento, es la presencia de hemipenes en machos y su ausencia en las hembras (Martínez-Torres, com. personal). Se desconoce hasta el momento si en *B. imbricata* se presenta esta misma situación.

Los estudios acerca de los mecanismos que regulan el desarrollo de las gónadas, los conductos reproductores y los genitales externos en las especies vivíparas se han llevado a cabo fundamentalmente en los mamíferos, particularmente en roedores. A partir de estos estudios se ha establecido que el desarrollo de los caracteres fenotípicos externos propios del macho depende de la actividad testicular (Gilbert, 1991; Blecher, 2007). Se desconoce si en los reptiles se da esta misma condición.

Las gónadas son órganos bifuncionales que producen células germinales y hormonas sexuales. Las dos funciones se interrelacionan estrechamente, porque durante el desarrollo de las células germinales se requieren altas concentraciones locales de las hormonas sexuales (Miller, 1988).

En México, un país rico en herpetofauna, los estudios acerca del dimorfismo sexual han sido enfocados sólo a los adultos (Smith *et al*: 1997, Ramírez-Bautista y González-Romero, 2002). No obstante se desconoce la ontogenia de las características dimórficas en especies de saurios mexicanos y de otras latitudes.

## OBJETIVO GENERAL

Determinar la edad a la que se establece el dimorfismo sexual en *Barisia imbricata*.

### Objetivos Particulares

- Determinar la presencia de hemipenes en los recién nacidos y/o la edad en la que se manifiesta alargamiento o reducción de los mismos en hembras y machos.
- Precisar la edad en la que se presentan los cambios morfométricos (largo cabeza, ancho cabeza, long. hocico-cloaca, largo húmero y largo fémur, así como el patrón de coloración) que nos permiten diferenciar entre hembras y machos.
- Establecer las características histológicas de la gónada, así como la actividad de la  $\Delta^{5-4}$   $3\beta$  Hidroxi esteroide deshidrogenasa ( $\Delta^{5-4}$   $3\beta$  HSD) a los 12 meses de edad.
- Estipular el momento en que las hembras maduran sexualmente

## **MATERIAL Y MÉTODO**

### **Mantenimiento en cautiverio**

Se mantuvieron en cautiverio 31 organismos de *B. imbricata* nacidas en el invernadero anexo del Laboratorio de Biología de la Reproducción en la Unidad de Morfofisiología, en la FES-Iztacala, provenientes de 3 hembras gestantes que fueron colectadas en el último mes de la preñez en el municipio de Cuautitlán, Estado de México.

Para el cuidado de los organismos se adecuaron tres encierros. El primero con unas medidas de 142 cm. de largo por 103 cm. de ancho y 54 cm. de alto, los otros dos con unas medidas de 117.50 cm. de largo por 71.50 de ancho y 33 cm. de alto.

Para los terrarios se utilizaron tinas de plástico a las cuales se les hicieron perforaciones en la base con un taladro. Después se colocó una cama de tezontle de 2cm aproximadamente cubierta con tela de mosquitero y finalmente, arriba de esta una cama de tierra de aproximadamente 5 cm. de espesor. Cada terrario se acondicionó con pasto, troncos, rocas y plantas.

Los encierros se colocaron en el invernadero anexo de la Unidad de Morfofisiología donde estuvieron expuestos al sol y a la lluvia. También se regó con agua en los días que no llovía.

### **Alimentación**

Durante los tres primeros meses de vida se les ofrecieron grillos (*Achaeta domestica*) de tamaño cabeza de clavo tres veces a la semana. A partir del cuarto mes a todos los organismos se les proporcionaron grillos dos veces por semana y un día a la semana se les brindó gusano de cera (*Galleria mellonella*). El alimento *ad limitum* se colocó en cada terrario. Cada quince días el alimento fue esparcido con calcio y vitaminas especiales para reptiles (Marca: Biomaa).

### **Medidas Morfométricas**

Los organismos fueron marcados por ectomización de falanges al inicio del estudio, es decir el día de su nacimiento. A cada uno se le asignó un número de organismo, el cual se anotó en una hoja de registro por ejemplar. Ésta contenía los siguientes campos: ancho de cabeza, largo de cabeza, longitud hocico-cloaca, longitud cola, largo húmero, largo fémur y si la lagartija perdió la cola se tomó la longitud de regeneración de ésta, en la misma hoja se anotó el peso, la fecha de medición y en caso de ser necesario algunas observaciones sobre el organismo (si presentaba alguna herida, si se mostraba débil, etc.)

Desde el momento del nacimiento hasta los 15 meses de edad todos los organismos fueron medidos (Fig. 3 y Fig. 4) y pesados mensualmente, con un vernier y una balanza semi-analítica, respectivamente.

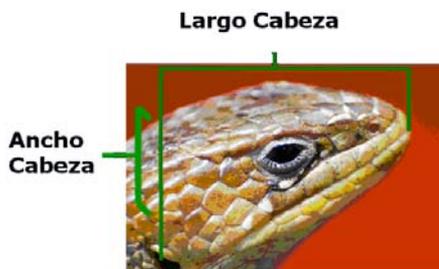


Fig. 3 Medidas tomadas de la cabeza

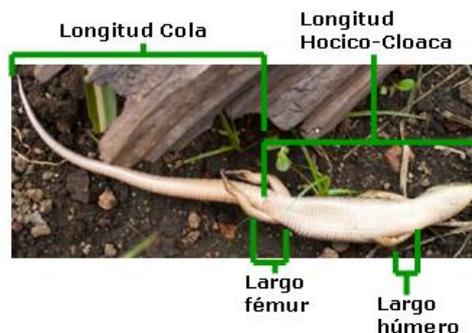


Fig. 4 Medidas tomada del cuerpo

### Registro fotográfico

Por mes se tomó un registro fotográfico del dorso completo de cada organismo, con el fin de observar cambios en la coloración y en el patrón de manchado en cada uno.

Cada mes se escogieron al azar 4 organismos (2 posibles hembras y 2 posibles machos), a cada organismo se le provocó manualmente la emisión de los protohemipenes y con un microscopio estereoscópico se capturaron las imágenes de estas estructuras. Al final del estudio, una vez conociendo ya el sexo de cada organismo, se eligieron las fotografías adecuadas para realizar el seguimiento de los hemipenes.

### Análisis de las Gónadas

Las gónadas fueron obtenidas quirúrgicamente bajo condiciones de anestesia profunda de 3 organismos hembras y de 3 machos cuando cumplieron los 12 meses de edad. Cada ejemplar fue anestesiado con éter-etílico, se practicó una incisión ventrolateral y se extrajo una gónada.

La gónada (testículo u ovario) se cortó a la mitad con una navaja, una porción se fijó en solución de Smith por 24hrs. Este tejido sirvió para establecer las características histológicas de la gónada (Ver Apéndice I).

La otra mitad se incluyó en Tissuetek y se congeló de inmediato en una solución de acetona y Co2 sólido (Martínez-Torres *et al*, 2003) y se almacenó a  $-40^{\circ}\text{C}$  hasta el momento del ensayo. Este tejido se utilizó para determinar la actividad de la  $\Delta^{5-4} 3\beta$  HSD (Ver Apéndice II) (Luna, 1968).

Para determinar el momento en que las hembras son maduras sexualmente, a los 15 meses de vida se practicó cirugía exploratoria a tres hembras. Los organismos fueron anestesiados con éter-etílico, se practicó una incisión ventrolateral y se determinó la presencia de folículos vitelogénicos o embriones cuyas imágenes fueron capturadas mediante el software MOTIC.

### **Análisis de Datos**

Se tomaron las medidas morfométricas a lo largo de 15 meses, al final de éstos, los datos se analizaron con una T-Student para determinar en qué momento se presentaron diferencias significativas entre sexos. En el caso de las medidas: largo de cabeza, ancho de cabeza, largo fémur y largo húmero, se sacaron índices antes de ser analizadas.

Los índices fueron obtenidos dividiendo la medida tomada (largo de cabeza, ancho de cabeza, largo fémur y largo húmero), entre la longitud hocico-cloaca de cada organismo y multiplicándolo por 100.

Los datos de la longitud Hocico-Cloaca fueron graficados para cada sexo, con éstos se determinaron los cambios en el crecimiento.

## RESULTADOS

Al momento del nacimiento no fue posible identificar el sexo de cada organismo ya que no se observó ningún rasgo distintivo entre ellos. Machos y hembras presentaron protohemipenes, coloración similar y medidas morfométricas sin diferencia significativa.

### Medidas Morfométricas

Los recién nacidos no mostraron diferencias significativas en cuanto a las medidas morfométricas tomadas.

### Longitud hocico-cloaca.

Al momento del nacimiento las crías midieron  $36\text{mm} \pm 0.634$  (desv. est.) de Longitud Hocico-cloaca y a los 15 meses las Hembras alcanzaron 92.83mm (Fig. 5) y 90.16mm los Machos (Fig.6); sin embargo, no se observó diferencia significativa.

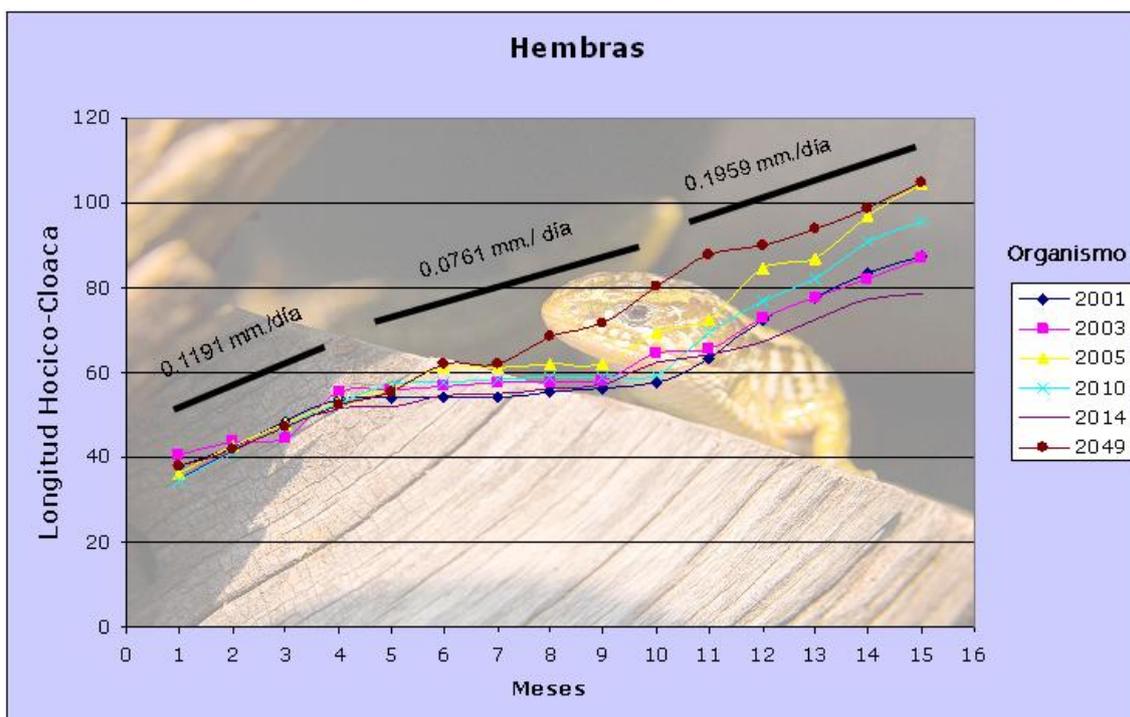


Fig. 5 Curva de crecimiento de Hembras de *Barisia imbricata*, donde se observa que en los primeros 4 meses la tasa de crecimiento fue de 0.1191 mm/día, en los siguientes 6 meses fue de 0.0761 mm/día y en los últimos 5 meses la tasa corresponde a 0.1959 mm/día.

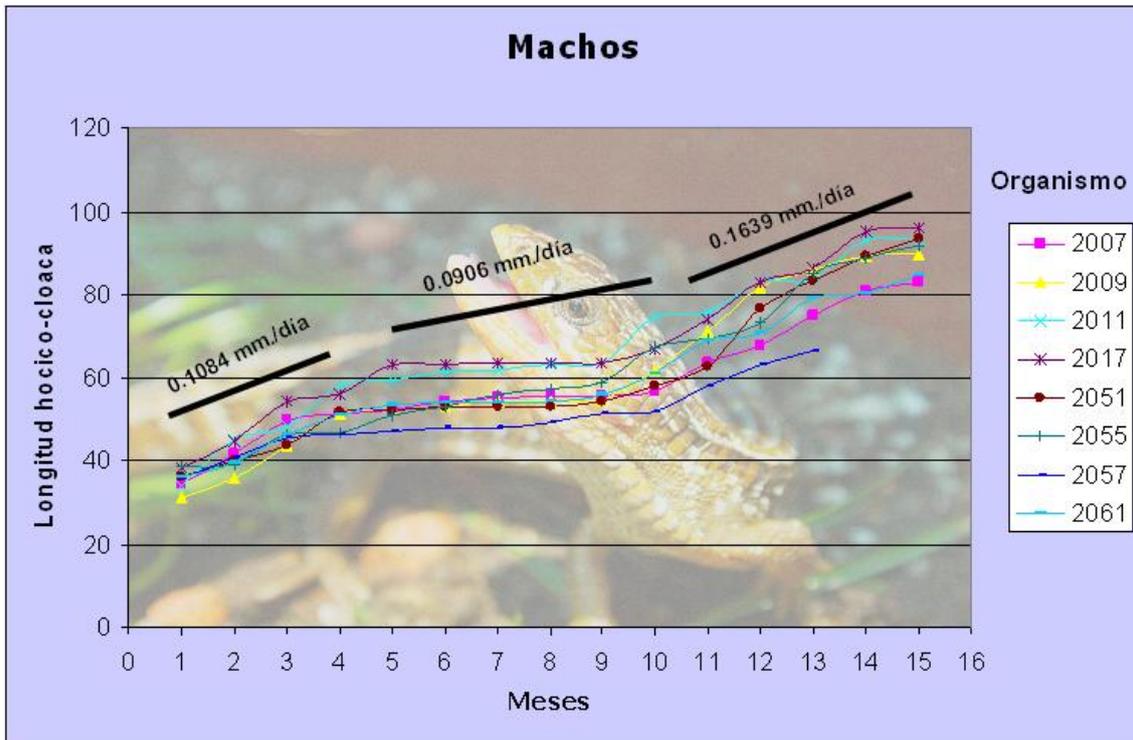


Fig. 6 Curva de crecimiento de Machos de *Barisia imbricata*, en la que se marca la tasa de crecimiento, la cual para los 4 primeros meses es de 0.1084 mm/día, 0.0906 mm/día para los siguientes 6 meses y en los últimos 5 meses fue de 0.1959 mm/día.

En ambas gráficas cabe resaltar que el patrón de crecimiento es similar. Todos los organismos crecen notoriamente hasta el cuarto mes de vida, disminuyendo entre el quinto y el décimo mes, a partir del onceavo mes los organismos vuelven a incrementar su ritmo de crecimiento notoriamente, ésto fue confirmado con las tasas de crecimiento.

En cuanto a las demás medidas morfométricas tomadas, no se observaron diferencias significativas en el ancho de cabeza, largo húmero y largo fémur a lo largo de este estudio. Sólo se presentó diferencia en el largo de la cabeza al mes quince de vida, siendo más grande en el macho que en la hembra (Fig. 7).

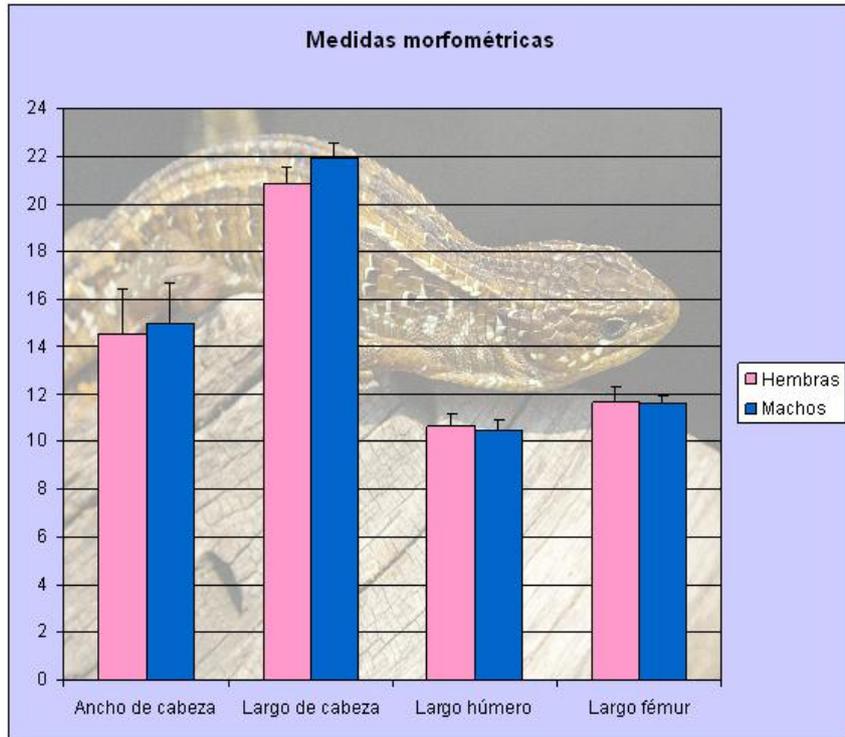


Fig. 7 Medidas morfométricas en las que se comparan hembras y machos. Cada barra muestra su desviación estándar y sólo el largo de cabeza mostró diferencia significativa.

### **Pigmentación.**

El primer rasgo distintivo que fue observado a simple vista entre hembras y machos fue la coloración del dorso. Este cambio comenzó a presentarse a los ocho meses.

Todos los críos presentaron al momento del nacimiento una coloración café claro y en la región dorsomedial una línea quebrada negra a lo largo del cuerpo (Fig. 8).



Fig. 8 Pigmentación en Recién Nacidos donde se indica la línea quebrada.

A los 8 meses se empezaron a manifestar los primeros cambios fehacientes en la pigmentación. En los machos esas líneas quebradas comienzan a alargarse hacia los lados formando líneas (Fig. 9) y en las hembras estas líneas se empiezan a engrosar formando bandas (Fig. 10).



Fig. 9 Macho de 8 meses.

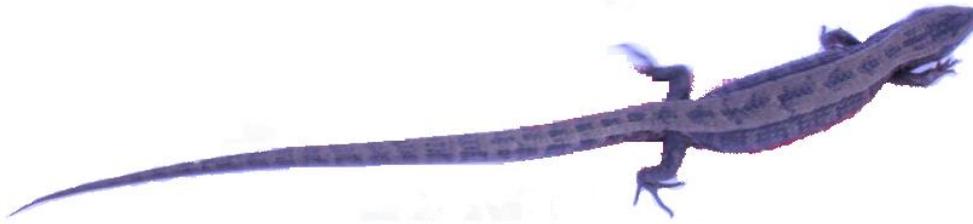


Fig. 10 Hembra de 8 meses.

En cambio, a los 12 meses las líneas ya son claramente transversales en los machos y en las hembras la línea de bandas negras es muy notoria (Fig. 11).



Fig. 11 Hembras y Machos de 12 meses de edad

Para los 15 meses de edad ya se observan diferencias tajantes en la pigmentación entre hembras y machos, reconocibles a simple vista.

La hembra presenta un patrón marcado de bandas oscuras a lo largo del eje medio dorsal y en el resto del dorso café claro (Fig. 12). En el caso de los machos se observan líneas transversales en lugar de bandas y su matiz se torna verde olivo (Fig. 13).



Fig. 12 Hembra de 15 meses de edad. — = 1cm.



Fig. 13 Macho de 15 meses de edad. — = 1cm.

### **Hemipenes**

Ambos sexos presentaron protohemipenes al momento del nacimiento (Fig. 14 y Fig. 15). El alargamiento en machos y su reducción en hembras comenzó a ser notoria a los ocho meses de edad.



Fig. 14 Protohemipene de una hembra



Fig. 15 Protohemipene de un macho

Todos los organismos muestran hasta los 6 meses de edad características similares en cuanto a la estructura de los protohemipenes; sin embargo, a partir de los 8 meses de vida empieza la

regresión de éstos en las hembras, siendo cada vez menos evidentes y perdiendo la forma cilíndrica. En cambio, los hemipenes de los machos continúan alargándose y adquieren forma cilíndrica.

A los 12 meses de edad los machos ya presentan los dos hemipenes bien desarrollados. En éstos se puede observar una forma anillada y la porción distal de cada hemipene está bifurcada (Fig. 16).

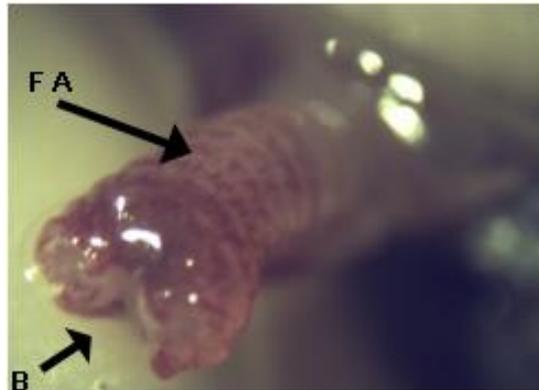


Fig. 16 Hemipene de un macho de *Barisia imbricata* a los 12 meses de edad donde se observa la forma anillada (FA) y en la porción distal una bifurcación (B).

En cambio las hembras de 12 meses de edad ya no presentan protohemipenes, sólo se observa la cloaca (Fig. 17).

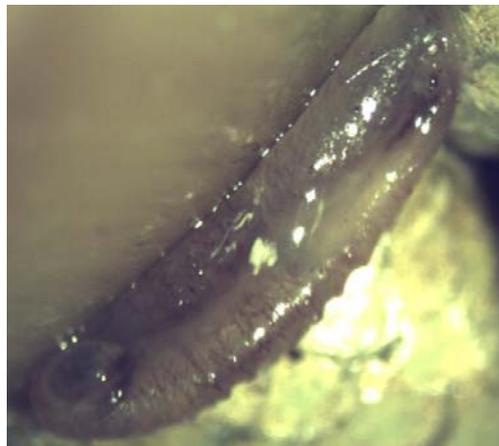


Fig. 17 Cloaca de una hembra de *Barisia imbricata* a los 12 meses de edad.

## Características Histológicas de las Gónadas

En el caso de las hembras se observó que los folículos ováricos (Fig. 18) de una hembra de 12 meses presentan características similares a las de una adulta no reproductiva, es decir el folículo presenta: una zona pelúcida, teca interna y pared folicular (Fig. 19).

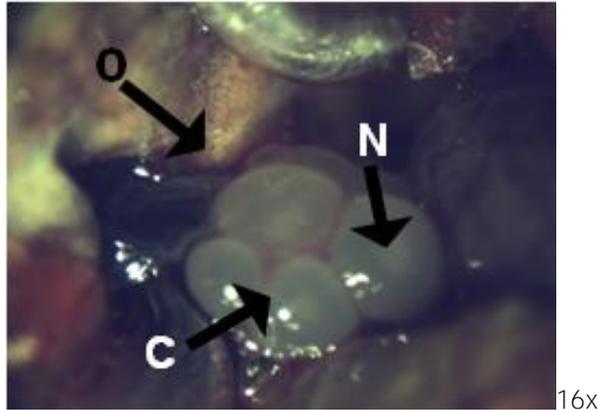


Fig. 18 Ovario completo (O) de *Barisia imbricata* a los 12 meses de edad. Se observan folículos previtelogénicos de diferentes diámetros, en los cuales se diferencian el núcleo (N) y el citoplasma (C).

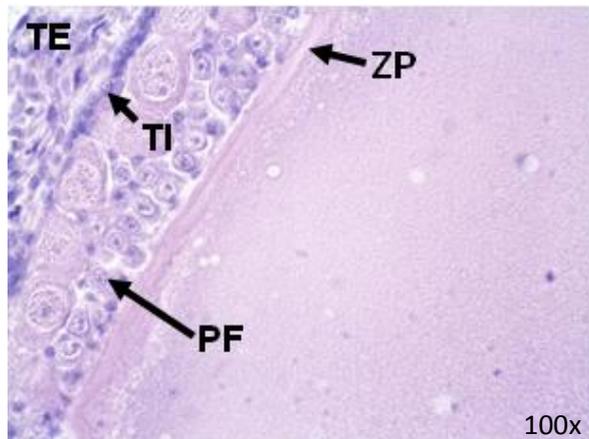


Fig. 19 Corte histológico de un folículo ovárico de una hembra de 12 meses edad. Es un fólculo en estado previtelogénico donde se observa la zona pelúcida (ZP), la Teca Interna (TI), la Pared Folicular (PF) y la Teca Externa (TE).

Fueron observados Folículos vitelogénicos de 6mm a los 15 meses de vida (Fig. 20).

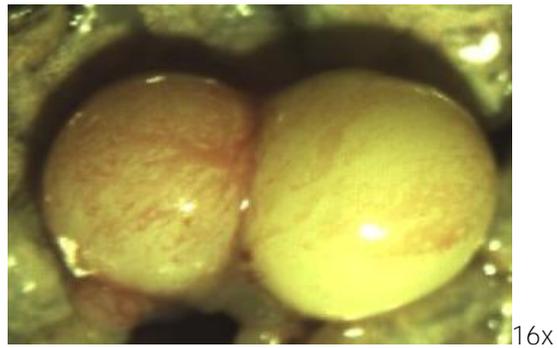


Fig. 20 Folículos vitelogénicos de una hembra de *Barisia imbricata*.

En los machos se observó que a los doce meses de vida ya se ha iniciado la espermatogénesis. Además de espermatogonias y espermatocitos, es posible encontrar espermátidas avanzadas en los cordones seminíferos (Fig. 22) y en el tejido intersticial células de Leydig hipertrofiadas (Fig. 23).



Fig. 21 Testículo de macho de *Barisia imbricata* a los 12 meses de edad.

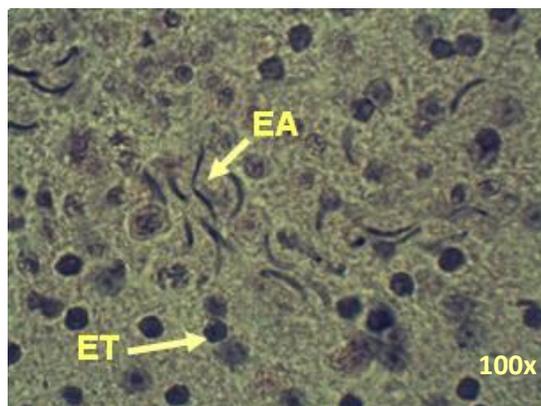


Fig. 22 Corte de testículo de un macho de *Barisia imbricata* de 12 meses de edad. Se observan Espermátidas Tempranas (E T) y Espermátidas Avanzadas (EA).



Fig. 23 Corte de testículo de un macho de *Barisia imbricata* de 12 meses de edad. Se observan Células de Leydig (CL).

### Actividad de la $\Delta^{5-4} 3\beta$ -HSD

Se observó que a los doce meses de edad ambas gónadas (ovario y testículo) son positivas a la actividad de la  $\Delta^{5-4} 3\beta$ -HSD, ya que en los cortes de ambas gónadas se observaron depósitos de gránulos de formazán en la pared folicular (Fig. 24). Si la enzima estaba presente indicaba que la actividad había comenzado.

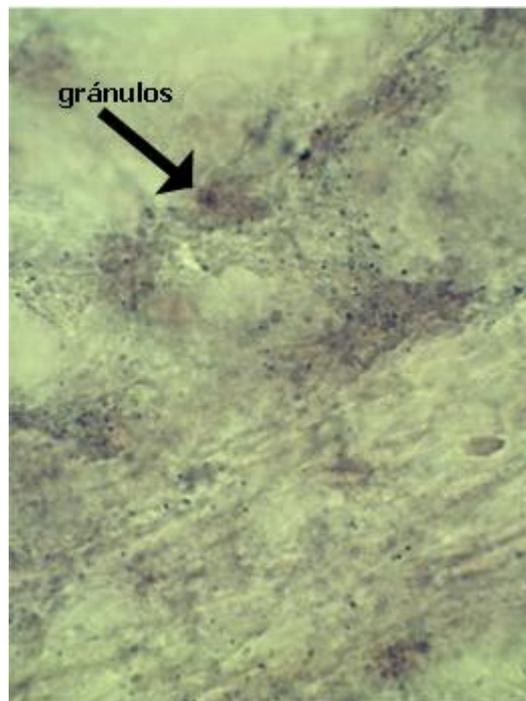


Fig. 24 Corte de gónada positivo a la actividad de la  $\Delta^{5-4} 3\beta$ -HSD. Donde se observan los depósitos de gránulos de formazán en la pared folicular.

## DISCUSIÓN

En este trabajo se observó que al momento del nacimiento los crios de *Barisia imbricata* no presentaron ninguna diferencia entre sexos. En ambos caso se observó la presencia de protohemipenes.

La presencia de hemipenes es un caracter que permite distinguir hembras de machos en diversas especies de Saurios por ejemplo, *Sceloporus spinosus*. Sin embargo en *Barisia imbricata* esto no puede ser aplicable hasta después de los ocho meses de edad, que es cuando los machos ya desarrollaron los hemipenes y las hembras reabsorbieron los protohemipenes.

La presencia de protohemipenes tanto en hembras como machos recién nacidos no había sido reportada en ningún saurio, este sería el primer dato, por lo que debe ser estudiado más a fondo.

La primera característica dimórfica observable a simple vista en esta especie fue la diferencia de pigmentación entre sexos. Seguida del alargamiento de hemipenes en los machos así como la reducción de estos en las hembras que comienza a ser notorio al octavo mes, por lo que podría estar ligado con el inicio de la actividad esteroidogénica. Creemos pertinente hacer más estudios sobre este aspecto.

En este estudio se encontró que los ejemplares de 12 meses de edad de *B. imbricata* nacidos en cautiverio no presentan diferencia en la longitud hocico-cloaca como otros autores han señalado para adultos en otras especies de saurios.

Los trabajos publicados hasta el momento acerca del dimorfismo sexual en saurios se han hecho con organismos adultos colectados del campo, (*Xenosaurus newmanorum*, Smith *et al*; 1997; *Scaloporus virgatus*, Cox and John-Alder, 2005; *Mabuya planiformis*, Rubolini *et al*; 2006). Esto puede llevar a conclusiones erróneas debido a que los autores desconocen la edad de los organismos. Por ejemplo, se ha señalado que en muchas especies los machos tienen una talla mayor a la de las hembras; sin embargo, no toman en cuenta que se desconoce la edad de los organismos que están siendo utilizados.

Cabe mencionar que el patrón de crecimiento podría estar regulado por las condiciones ambientales ya que los meses donde el crecimiento fue menor concuerdan con los meses más fríos, de septiembre del 2007 a febrero del 2008.

Se ha reportado para una especie asiática *Calotes versicolor* su ontogenia del dimorfismo sexual donde se muestra que los machos tienen cabeza considerablemente más grandes que las hembras (Rader *et al*; 2001), machos de *Xenosaurus newmanorum* presentan cabeza significativamente más grande que las hembras, los autores lo atribuyen con niveles de agresividad en los machos. Lo relacionan con reportes que en lagartijas de esta especie mantenidas en cautiverio se ha podido observar que los pares macho-macho son bastante agresivos y los pares macho-hembra o hembra-hembra tienen ausencia de interacciones agresivas entre ellos. Esto puede ser un indicador de que los machos desarrollan cabezas grandes para poder combatir en encuentros macho-macho y que esta característica puede estar relacionada con la selección que las hembras hacen de los machos (Lemos y González, 2001). En este trabajo la única diferencia significativa notada fue el largo de cabeza siendo mayor para machos que para hembras de 12 meses de vida.

Es ampliamente conocido que algunos reptiles presentan características dimórficas que nos permiten reconocer en la etapa adulta a las hembras de los machos (Fontanillas *et al*; 2000). Dentro de las más notorias están: las crestas en los machos, muchos Iguánidos machos llevan crestas dorsales con expansiones eréctiles, casi siempre vivamente coloreadas, la cabeza de los camaleones machos presenta protuberancias coloreadas a modo de cuernos y la cabeza del basilisco (*Basiliscus*) macho está coronada con una especie de casco o sombrero que falta en todas las hembras (Fontanillas *et al*; 2000).

Existen otras que son menos notorias como: los poros que poseen los machos de algunas especies como los Iguánidos. Y finalmente existen otras características que únicamente se manifiestan en el periodo de reproducción de los Saurios, Lácertidos y Agámidos, los machos toman colores vivos en la época de celo: cabeza y costado verdes en *Lacerta agilis*, azul vivo en la garganta del lagarto verde (*Lacerta viridis*) y en *Agama colonarum* garganta color amarillo intenso, etc. (Fontanillas *et al*; 2000).

Además, en los saurios existe un vacío en el conocimiento de cuáles características son las que aparecen inicialmente y cuáles son los mecanismos que regulan la aparición de éstas. Se sabe que en los Sceloporinos el macho se distingue de la hembra por la presencia de hemipenes y en algunas especies la presencia de colores vivos en organismos adultos.

Otro factor que se desconoce de la historia de vida de muchos saurios es el tiempo al que alcanzan la madurez sexual. La mayoría de los autores ligan la madurez sexual con la longitud hocico-cloaca como por ejemplo los individuos de *Acanthodactylus erythrus* quienes alcanzan la madurez sexual al año y medio de edad, coincidiendo con la segunda primavera, cuando los machos tienen un tamaño de 58-65 mm y las hembras 60-66 mm de longitud de cabeza y cuerpo (Belliere, 2007).

En el caso de *Barisia imbricata* se observó que a los 15 meses de edad ya presentan los folículos vitelogénicos. Esta característica indica claramente que la hembra ya es madura sexualmente. Sin embargo en este trabajo se encontró que en la gónada de las hembras ya hay actividad esteroidogénica desde los 12 meses. Esta situación podría estar implicada en la adquisición del patrón de pigmentación en las hembras. Aunque los machos también presentaron actividad esteroidogénica a los 12 meses, para los 15 meses no mostraron ningún rasgo que pudiera indicar que fueran maduros sexualmente, en el caso de la adquisición de color también creemos puede estar ligada de forma similar a las hembras.

Finalmente, aunque el número de organismos que se utilizaron en este trabajo podrían ser insuficientes para describir los datos encontrados, son muy significativos y pueden dar paso a investigaciones más a fondo.

## CONCLUSIONES

- Machos y hembras de *Barisia imbricata* no presentan Dimorfismo Sexual al momento del nacimiento, éste va apareciendo gradualmente.
- Todos los recién nacidos presentan proto-hemipenes.
- La primera característica diferencial que se observa entre hembras y machos es la pigmentación; siendo claramente evidente a los quince meses. La segunda es la reducción de los hemipenes en las hembras y el alargamiento de este en los machos. La tercera es el largo de la cabeza en los machos al mes quince.
- A los 12 meses de edad en ambos sexos sus gónadas son esteroideogénicamente activas y ya presentan actividad de la  $\Delta^{5-4} 3\beta$  HSD.
- Las hembras maduran sexualmente a los 15 meses de vida.

## LITERATURA CITADA

- Belliure, J. 2007. Lagartija colirroja –*Acanthodactylus erythrurus*. Ecosistemas. 2007:1.
- Blecher, S.R. and Erickson R. P. 2007. Genetics of sexual development: a new paradigm. Am. J. Med Genet A. 143:3053-3068.
- Castro, F.R. 2002. Herpetofauna del corredor biológico Chichinautzin y la Sierra de Huautla en el estado de Morelos. Informe final del Proyecto L319.
- Cox R.M. and Jhon-Alder, H.B. 2005. Testosterone has opposite effects on male growth in lizards (*Sceloporus* spp.) with opposite patterns of sexual size dimorphism. J. Exp Biol. 208:4679-87.
- Fontanillas, P.J., García, A.C., y Garpar, S.I. 2000. Los Reptiles: Biología, comportamiento y patología. Mundi-Prensa libros. España. 160p.
- Gilbert, S.F. 1991. Developmental Biology. Third Edition. U.S.A.
- Guillette L.J., Jr., and Casas-Andreu, G., 1987. The reproductive biology of the high elevation Mexican lizard *Barisia imbricata*. Herpetologica. 43:29-38.
- Guillette, L.J., Jr., and Smith, H.M., 1982. A review of the Mexican lizard *Barisia imbricata*, and the description of a new subspecies. Trans. Kansas Acad. Sci. 85:13-33.
- Harlow, P.S., 1996. A Harmless technique for Sexing Hatchling Lizards. Herpetological Review. 27(2):71-72.
- Le Galliard J. F., Massot M., Landys, M.M., and Meyland., S. 2006. Ontogenic sources of variation in sexual size dimorphism in a viviparous lizard. Journal of Evolutionary Biology. 19:690-704.
- Lemos-Espinal, J. A. y González-Espinoza, J. 2001. Demografía e historia de vida de la lagartija *Xenosaurus newmanorum* en Xilitla, San Luis Potosí. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. R232. México D. F.
- Levy H. et al., 1959. Visualization of steroid 3-ol-dehydrogenase activity in tissue of intact and hypophysectomized rats. Endocrinology. 65:932-943.
- Luna, G.L., 1968. Manual of Histological Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology, third ed. Mc Graw-Hill, New York.
- Martínez-Torres, M., Hernández-Caballero, M.E., Álvarez-Rodríguez, C., Luis-Díaz, J. A., Ortiz-López, G., 2003. Luteal development and progesterone levels during pregnancy of the viviparous temperate lizard *Barisia imbricata imbricata* (Reptilia: Anguillidae). General and Comparative Endocrinology. 132: 56-65.

- Miller, W.D. 1988. Molecular biology of the steroid hormone synthesis. *Endocr. Rev.* 9:295-318.
- Olsson M., Shine R., Wapstra E. Uivari B, and Madsen T. 2002. Sexual dimorphism in lizard body shape: roles of sexual selection and fecundity selection. *Evolution International Journal Organisms Evolution.* 56:1538-1542.
- Pianka, E.R. and Vitt., L.J., 2003. *Lizards, Windows to the Evolution of Diversity.* University of California Press, California. 348p.
- Radder, R.S., Shanbhag, B.A., and Saidapur, S.K. 2001. Ontogeny of Sexual Size Dimorphism in the Tropical Garden Lizard, *Calotes versicolor* (Daud.) *Journal of Herpetology.* 35:156–160
- Ramírez-Bautista, A., and González-Romero, A. 2002. Some reproductive and feeding characteristics of the viviparous Mexican Lizard *Sceloporus torquatus* (Phrynosomatidae). *Southwestern Naturalist.* 47:98-102.
- Rubolini, D., Pupin F., Sacchi R., Gentilli A. Zuffi M. A. Galleotti P. and Saino N. 2006. Sexual dimorphism in digits length ratios in two lizard species. *Anat Record A.* 288:491-497.
- Sadle, T.W. 2007. *Embriología Médica.* Panamericana 7a Edición. 84 -92 pp.
- Salame, M.A., y Villalpando, F.I. 1998. La diferenciación sexual en vertebrados: Hipótesis y Teorías. *Acta Zoologica México.* 73: 89-110.
- Smith, G. R. Lemos-Espinal J. A. and Ballinger R. E. 1997. Sexual dimorphism in two species of knob-scaled lizards (genus *Xensaurus*) from Mexico. *Herpetological.* 53:200-205.
- Vázquez, D.J., y Quintero., D.G.E. 2005. *Anfibios y reptiles de Aguascalientes.* CONABIO. México, D.F. 318 p.
- Zaldívar, R.A., Schmidt, W., y Hermes, P. 2002. *Barisia imbricata.* Revisión de las categorías en el proyecto de norma oficial mexicana (PROY-NOM-059-2000) para las especies de lagartijas de la familia Anguidae (Reptilia). Museo de Zoología "Alfonso L. Herrera", Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto W026. México. D.F.
- Zug, G. R., Vitt, L.J., and Caldwell, J.P. 2001. *Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles.* Academic Press, San Diego.

## **APÉNDICE I**

### **Técnica Histológica de Rutina**

El tejido fijado en Smith fue lavado con solución salina durante 24 hrs. Siguiendo con la deshidratación del tejido en un gradiente de alcohol, desde 60% hasta alcohol al 96% por una hora cada uno en agitación, después en alcohol absoluto por 12 hrs. Prosiguiendo a la inclusión en parafina, primero el tejido se pasó por parafina I por una hora, siguiendo con parafina II por una hora y finalmente la gónada se incluyó en parafina para inclusiones histológicas. Se cortaron los tejidos de 5  $\mu\text{m}$  en un micrótomos rotario y los cortes se adhirieron en un portaobjetos con solución Ruyter. Los portaobjetos se colocaron en el horno para desparafinar.

### **Técnica de tinción con Hematoxilina y Eosina (Luna, 1968)**

Los portaobjetos se pasaron por un tren de tinción con los siguientes elementos: Xilol I y Xilol II por 5 min. cada uno para terminar de desparafinar, un gradiente de alcohol desde 100% al 70% para rehidratar los tejidos, un lavado rápido en agua corriente, después se colocaron en hematoxilina por 7 min., siguiendo con un paso rápido en agua corriente, alcohol ácido, agua corriente, agua amoniacal y agua corriente, después se colocaron en Eosina por 5 min. y por último se pasaron por alcohol al 96%, alcohol al 100%, Xilol I, Xilol II, por un minuto cada uno. Los tejidos se montaron con resina sintética.

## **APÉNDICE II**

### **Técnica Histológica para detectar la actividad de la $\Delta^{5-4} 3\beta$ Hidroxi Esteroide Deshidrogenasa**

Para preparar el medio de incubación se disolvieron 60 mg de NAD (Nicotin Adenin Dinucleótido) en 30 ml. de amortiguador de fosfatos con pH de 7.4 aparte se disolvieron 30 mg de NBT (Azul Nitro de Tetrazolio) en 30 ml del amortiguador. Ambas soluciones se mezclaron bajo agitación, de esta solución se usaron 20 ml como control, a 20 ml se les agregó pregnenolona y a los otros 20 ml testosterona, las hormonas fueron previamente disueltas en 0.5ml de dimetil formamida.

Cada solución final se colocó en una caja Koplín a 37°C donde se incubaron los tejidos por 1 hr, los cuales habían sido cortados anteriormente en un criostato a temperatura de -20°C aprox. En cada caja se colocó una laminilla con cortes de machos y hembras. Pasado el tiempo las laminillas se lavaron con agua destilada y se fijaron los cortes con glicerol (Levy *et al*, 1959).

- Miller, W.D. 1988. Molecular biology of the steroid hormone synthesis. *Endocr. Rev.* 9:295-318.
- Olsson M., Shine R., Wapstra E. Uivari B, and Madsen T. 2002. Sexual dimorphism in lizard body shape: roles of sexual selection and fecundity selection. *Evolution International Journal Organisms Evolution.* 56:1538-1542.
- Pianka, E.R. and Vitt., L.J., 2003. *Lizards, Windows to the Evolution of Diversity.* University of California Press, California. 348p.
- Radder, R.S., Shanbhag, B.A., and Saidapur, S.K. 2001. Ontogeny of Sexual Size Dimorphism in the Tropical Garden Lizard, *Calotes versicolor* (Daud.) *Journal of Herpetology.* 35:156–160
- Ramírez-Bautista, A., and González-Romero, A. 2002. Some reproductive and feeding characteristics of the viviparous Mexican Lizard *Sceloporus torquatus* (Phrynosomatidae). *Southwestern Naturalist.* 47:98-102.
- Rubolini, D., Pupin F., Sacchi R., Gentilli A. Zuffi M. A. Galleotti P. and Saino N. 2006. Sexual dimorphism in digits length ratios in two lizard species. *Anat Record A.* 288:491-497.
- Sadle, T.W. 2007. *Embriología Médica.* Panamericana 7a Edición. 84 -92 pp.
- Salame, M.A., y Villalpando, F.I. 1998. La diferenciación sexual en vertebrados: Hipótesis y Teorías. *Acta Zoologica México.* 73: 89-110.
- Smith, G. R. Lemos-Espinal J. A. and Ballinger R. E. 1997. Sexual dimorphism in two species of knob-scaled lizards (genus *Xensaurus*) from Mexico. *Herpetological.* 53:200-205.
- Vázquez, D.J., y Quintero., D.G.E. 2005. *Anfibios y reptiles de Aguascalientes.* CONABIO. México, D.F. 318 p.
- Zaldívar, R.A., Schmidt, W., y Hermes, P. 2002. *Barisia imbricata.* Revisión de las categorías en el proyecto de norma oficial mexicana (PROY-NOM-059-2000) para las especies de lagartijas de la familia Anguidae (Reptilia). Museo de Zoología "Alfonso L. Herrera", Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto W026. México. D.F.
- Zug, G. R., Vitt, L.J., and Caldwell, J.P. 2001. *Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles.* Academic Press, San Diego.