



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon
brevirostris* (Squamata: Scincidae)**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G O

P R E S E N T A:

Erwin Vázquez García



**DIRECTOR DE TESIS:
Maricela Villagrán Santa Cruz
2014**

Ciudad Universitaria, D. F.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Hoja de datos del jurado.

| | |
|---|--|
| 1. Datos del alumno | 1. Datos del alumno. |
| Apellido paterno | Vázquez |
| Apellido materno | García |
| Nombre(s) | Erwin |
| Teléfono | 51719104 |
| Universidad Nacional Autónoma de México | Universidad Nacional Autónoma de México |
| Facultad de Ciencias | Facultad de Ciencias |
| Carrera | Biología |
| Número de cuenta | 306234273 |
| 2. Datos del tutor | 2. Datos del tutor |
| Grado | Dra. |
| Nombre(s) | Maricela |
| Apellido paterno | Villagrán |
| Apellido materno | Santa Cruz |
| 3. Datos del sinodal 1 | 3. Datos del sinodal 1 |
| Grado | Dra. |
| Nombre(s) | Patricia |
| Apellido paterno | Rivas |
| Apellido materno | Manzano |
| 4. Datos del sinodal 2 | 4. Datos del sinodal 2 |
| Grado | M. en C. |
| Nombre(s) | Noé |
| Apellido paterno | Pacheco |
| Apellido materno | Coronel |
| 5. Datos del sinodal 3 | 5. Datos del sinodal 3 |
| Grado | M. en C. |
| Nombre(s) | Adriana |
| Apellido paterno | García |
| Apellido materno | Alarcón |
| 6. Datos del sinodal 4 | 6. Datos del sinodal 4 |
| Grado | Biól. |
| Nombre(s) | Adriana Judith Xochitl |
| Apellido paterno | González |
| Apellido materno | Hernández |
| 7. Datos del trabajo escrito. | 7. Datos del trabajo escrito. |
| Título | Placentación en la lagartija mexicana <i>Plestiodon brevirostris</i> (Squamata: Scincidae) |
| Número de páginas | 78p |
| Año | 2014 |

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por ser mi segunda casa, en la cual pude realizar mi sueño de estudiar, crecer y ser mejor persona día a día.

A la Facultad de Ciencias, la cual me albergó durante el tiempo necesario para conocer buenos compañeros, profesores y así aprender el enigmático y maravilloso mundo que es la Biología.

A la Dra. Maricela Villagrán Santa Cruz, que quiero expresar mi cariño y admiración, además de agradecer su tiempo, paciencia, dedicación, consejos, conocimientos compartidos y apoyo incondicional durante la realización de este trabajo.

A la M. en C. Eva Mendoza Cruz por ser revisora de este trabajo, por sus consejos y apoyo brindado, y a quien además también admiro por ser una gran persona y profesora.

Al Dr. Adrián Nieto de la Colección Herpetológica del Museo Alfonso L. Herrera de la Facultad de Ciencias de la UNAM y al M. en C. Edmundo Pérez Ramos técnico de la misma; al Dr. Víctor Hugo Reinoso Curador de la Colección Nacional de Anfibios y Reptiles del Instituto de Biología de la UNAM y al Sr. Armando Borgonio administrativo asociado de la misma, por haberme brindado los ejemplares para la realización de esta investigación.

Al Dr. Manuel Feria por haberme donado un ejemplar recolectado en campo por él y por indicarme y llevarme al lugar donde se recolectaron los ejemplares de campo.

A los integrantes del laboratorio de Biología de la Reproducción Animal el M. en C. Gabino de la Rosa, el M. en C. Juan Carlos Campuzano, por apoyarme resolviendo algunas de mis dudas.

A mis revisores la Dra. Patricia Rivas Manzano, a la M en C. Adriana García Alarcón, al M. en C. Noé Pacheco Coronel y a la Bióloga Adriana Judith Xóchitl González Hernández por los comentarios que realizaron para mejorar este trabajo.

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

Especialmente Agradezco el apoyo incondicional y esfuerzo realizado por mis padres Modesto Vázquez García y Marisela García Méndez, la compañía de mis hermanos Neri Vázquez García y Jovani Vázquez García y por levantarme cada que caía a mi novia Yazmin Valenzuela Velazquez además de también leer y revisar este trabajo.

A mi querida Soledad Méndez Martínez por cobijarme en su casa y brindarme su tiempo y cariño durante toda mi vida y especialmente en mi estancia en la Facultad de Ciencias.

Investigación realizada gracias al programa de apoyo a proyectos de investigación e innovación tecnológica (PAPIIT) de la UNAM IN223214 Diferenciación gonadal y su expresión génica en el urodelo *Ambystoma mexicanum*. Agradezco a la DGAPA-UNAM la beca recibida.

DEDICATORIA

*Este trabajo es por y para mis padres Modesto y Marisela,
a quienes amo con todo el alma,
quienes me enseñaron a perseverar,
los que nunca se dejan derrotar,
mis mayores ejemplos de vida.*

*Para mis hermanos Neri y Jovani,
por hacerme sonreír,
por quedarse conmigo sin dormir,
por siempre, siempre estar ahí,
por todos los momentos hermosos de nuestra niñez.*

*Para mi pequeña Yaz,
por el tiempo, cariño y comprensión,
por que siempre me da una ilusión.*

Por todo esto y mucho más para ustedes y por ustedes.

Los tengo siempre en mi pensamiento y corazón.

Erwin...

*Enseñarás a volar,
pero no volarán tu vuelo.*

*Enseñarás a soñar,
pero no soñarán tu sueño.*

*Enseñarás a vivir,
pero no vivirán tu vida.*

*Sin embargo...
en cada vuelo,
en cada vida,
en cada sueño,
perdurará siempre la huella
del camino enseñado.*

Madre Teresa de Calcuta

Contenido

| | |
|---|----|
| RESUMEN | 1 |
| INTRODUCCIÓN | 4 |
| ANTECEDENTES | 5 |
| VIVIPARIDAD EN REPTILES..... | 5 |
| HIPÓTESIS SOBRE LA EVOLUCIÓN DE LA VIVIPARIDAD..... | 6 |
| MEMBRANAS EXTRAEMBRIONARIAS O FETALES..... | 8 |
| PLACENTACIÓN..... | 8 |
| TIPOS DE PLACENTA..... | 9 |
| JUSTIFICACIÓN | 15 |
| ESPECIE DE ESTUDIO | 15 |
| DISTRIBUCIÓN DE <i>P. brevirostris</i> | 17 |
| HISTORIA NATURAL DE <i>P. brevirostris</i> | 17 |
| OBJETIVOS | 18 |
| MATERIAL Y MÉTODOS | 18 |
| OBTENCIÓN DE EJEMPLARES..... | 18 |
| MATERIAL RECOLECTADO EN CAMPO..... | 18 |
| PROCESO HISTOLÓGICO. MATERIAL DE COLECCIÓN..... | 19 |
| PROCESO HISTOLÓGICO MATERIAL RECOLECTADO EN CAMPO..... | 20 |
| RESULTADOS | 20 |
| DATOS GENERALES DE LAS HEMBRAS..... | 20 |
| ESTADIO 4 SEGMENTACIÓN..... | 22 |
| ESTADIO 29 CORIOPLACENTA, PLACENTA CORIOVITELINA, CORIOALANTOPLACENTA Y ONFALOPLACENTA..... | 24 |
| ESTADIO 34 PLACENTA CORIOALANTOIDEA Y ONFALOPLACENTA..... | 33 |
| ESTADIO 36 PLACENTA CORIOALANTOIDEA Y ONFALOPLACENTA..... | 38 |
| ESTADIO 40 PLACENTA CORIOALANTOIDEA Y ONFALOPLACENTA..... | 42 |
| DISCUSIÓN | 49 |

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

| | |
|-----------------------------------|-----------|
| SEGMENTACIÓN..... | 49 |
| CORIOPLACENTA..... | 51 |
| PLACENTA CORIOVITELINA..... | 52 |
| PLACENTA CORIOALANTOIDEA..... | 53 |
| ONFALOPLACENTA..... | 54 |
| IMPORTANCIA DE LA PLACENTA..... | 56 |
| EVOLUCIÓN DE LA PLACENTA..... | 57 |
| CONCLUSIÓN..... | 59 |
| PERSPECTIVAS..... | 59 |
| LITERATURA CONSULTADA..... | 61 |
| ANEXO I: TÉCNICA HISTOLÓGICA..... | 68 |

RESUMEN

La viviparidad es el patrón reproductor en el cual las hembras gestan los huevos dentro de su tracto reproductor hasta completar el desarrollo y dan a luz a crías vivas. La viviparidad se encuentra en mamíferos therios, así como entre algunas especies de peces óseos y cartilagosos, anfibios y reptiles. Dentro de los reptiles solo el orden Squamata (serpientes, lagartijas y anfisbénidos) presenta viviparidad, lo que representa el 20% de las especies existentes. Existen dos patrones de nutrición, los cuales representan extremos de un continuo, la lecitotrofia, en donde los nutrientes para el desarrollo embrionario derivan del vitelo que contiene el huevo y la matrotrofia en donde los nutrientes son suministrados directamente por la madre durante la gestación. Dentro de las adaptaciones a la viviparidad en amniotas, las membranas extraembrionarias (saco vitelino, alantoides y corion) juegan un papel muy importante, ya que cuando se colocan en aposición directa con el tejido materno permiten al embrión llevar a cabo un intercambio fisiológico, formando la estructura conocida comúnmente como placenta. En reptiles escamados de acuerdo a la relación de estas membranas con el tejido materno, se definen diferentes categorías placentarias tanto en el polo embrionario como en el abembrionario.

El género *Plestiodon* pertenece al Orden Squamata y está representado en México por 15 especies. Es uno de los géneros de la familia Scincidae con mayor distribución en nuestro país y es donde se presentan los extremos del continuo de especies vivíparas lecitotróficas y matrotróficas; a pesar de ello, solo hay un registro de la placenta en una especie matrotrófica, por lo que el objetivo de esta investigación ha sido determinar el grado de placentación y su ontogenia durante el periodo de gestación en la lagartija *Plestiodon brevirostris*. Para realizar esta investigación se utilizaron ejemplares de la colección del Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias de la UNAM y además tres ejemplares recolectados en campo en la localidad de San Juan del Valle, Municipio de Chilchotla, Puebla. Los ejemplares se disectaron para obtener las cámaras embrionarias dentro del útero, se determinó su volumen y los embriones se categorizaron para correlacionar el estadio de desarrollo con el desarrollo de la placenta. Las cámaras embrionarias se procesaron utilizando la técnica histológica convencional para microscopia óptica,

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

deshidratación en alcoholes graduales, aclarado en xilol, inclusión en paraplast, corte a 5µm y tinción con H-E, Técnica de PAS, PAS contrastada con azul de alciano, Tricrómica de Mallory y la técnica de rojo-azul de alciano.

Los resultados revelaron que *P. brevirostris* es una especie lecitotrófica. Los estadios embrionarios identificados fueron 4, 29, 34, 36 y 40. Ontogénicamente los tipos placentarios que se forman en el polo embrionario son la corioplacenta, placenta coriovitelina, placenta corioalantoidea y la onfaloplacenta que se forma en el polo abembrionario. En el estadio de desarrollo embrionario 29, el corion es la cubierta más externa que envuelve al embrión y en contacto con el útero forma la corioplacenta, la cual permanece aún en algunas zonas del polo embrionario. Periféricamente al embrión, hacia el ecuador, el corion en contacto con el mesodermo y el endodermo extraembrionarios estructuran la onfalopleura trilaminar, que en contacto con la pared uterina constituyen la placenta coriovitelina. Exactamente por encima del embrión se ubica el pequeño alantoides, el cual en contacto con el corion, forma el corioalantoides y a su vez en contacto con el útero estructuran la placenta corioalantoidea. En el polo abembrionario es evidente la onfaloplacenta, la cual es una estructura derivada del saco vitelino, conformada por la interacción funcional entre la onfalopleura bilaminar de la masa aislada de vitelo y el epitelio uterino. En los estadios 34 – 36, el alantoides que está por encima del embrión ha aumentado de volumen y se ubica en todo el polo embrionario, ha sustituido a la corioplacenta y a la placenta coriovitelina por lo que sólo se observa la placenta corioalantoidea ricamente vascularizada. En el polo abembrionario perdura la onfaloplacenta. Finalmente casi al término de la gestación en el estadio 40 el alantoides ocupa el polo embrionario y se desplaza hacia el abembrionario, es evidente el incremento en la vascularización de los tejidos maternos y embrionarios que conforman la placenta corioalantoidea, estos vasos sanguíneos se encuentran en estrecha cercanía. La onfaloplacenta en el polo abembrionario muestra cambios evidentes en los epitelios coriónico y uterino, estos se transforman a epitelios cilíndricos con microvellosidades.

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

La relación materno-fetal que se establece en *P. brevirostris* con base en la histología placentaria refleja que la placenta corioalantoidea presenta una morfoestructura muy simple del Tipo I, lo que implica una cercana aposición del corioalantoides y la pared uterina, de manera que los vasos sanguíneos embrionarios y maternos están en estrecho contacto, lo que sugiere que este tipo placentario tiene una función en el intercambio gaseoso durante la gestación. La estructura de la onfaloplacenta sugiere un papel importante en el transporte o difusión de algunos nutrientes, iones y absorción de la membrana de la cáscara durante la gestación. Esta información es el primer registro para una especie de scincido lecitotrófico y es una contribución para comprender la evolución de la placentación y de la viviparidad en reptiles.

INTRODUCCIÓN

México es reconocido como un país megadiverso por distintos factores, se encuentra dentro de la zona de transición entre dos regiones biogeográficas importantes, la Neoártica y la Neotropical, cuenta con una variedad de sistemas montañosos, altiplanos, cuencas intermontañas y planicies costeras (Lugo-Hubp, 1990), éstas características aunadas con la variación latitudinal, altitudinal, de temperatura, humedad y precipitación dan origen a una gran diversidad de climas presentes en el país. A su vez estos climas conforman una gran variedad de hábitats que permiten el establecimiento de distintas formas de vida.

México se encuentra dentro de los países más ricos en cuanto a número de especies de reptiles (864 especies) debido a las características ya mencionadas, tiene el segundo lugar a nivel mundial (CONABIO, 2013). Por esto el conocimiento tanto de su biogeografía, ecología, taxonomía, etología, embriología y reproducción de este grupo de vertebrados resulta interesante e indispensable, no en vano se les cataloga como organismos modelo por características especiales en sus ciclos de vida (Vite-Silva *et al.*, 2010).

Los miembros de la clase Reptilia pueden ser considerados como los primeros vertebrados auténticamente terrestres que no necesitan regresar al agua para reproducirse (Padilla y Cuesta, 2003), debido a que a partir de este grupo aparece lo que conocemos como huevo amniota o cleidoico (Villagrán-Santa Cruz y Méndez de la Cruz, 2009). Este tipo de huevo ha dado lugar al patrón de reproducción ancestral que es la oviparidad y como resultado posterior a este evento, se inicia la transición de la oviparidad a la viviparidad (Blackburn, 1992). De los cuatro Órdenes de reptiles vivos actuales (Crocodylia, Testudinata, Rhynchocephalia y Squamata) tres son ovíparos y solo una pequeña parte de escamosos (serpientes, lagartijas y anfisbenidos) son vivíparos, (Shine, 1983), representando solo el 20% de las especies existentes (Thompson y Speake, 2006). Estos se encuentran esparcidos geográficamente y en un intervalo muy amplio, tanto de hábitats como de factores físicos, humedad, altitud y latitud (Tinkle y Gibbons, 1977).

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

Por lo general al hablar de viviparidad, a lo primero que se asocia este término es a los mamíferos euterios, pero existe una gran variedad de animales que no son mamíferos y presentan viviparidad. Entre los invertebrados, algunos dípteros, moluscos, anélidos y artrópodos son vivíparos; así mismo entre los vertebrados como algunos peces, anfibios y reptiles se presenta la viviparidad; solo las aves y peces sin mandíbula (Agnatha) son los únicos grupos de vertebrados que no presenta viviparidad (Guillette, 1993). Con esto nos damos cuenta de que la viviparidad en el reino animal no es una característica particular del linaje de los mamíferos, por lo que tenemos que entenderla como una adaptación a diferentes presiones de selección, especialmente al ambiente (Blackburn, 2006).

ANTECEDENTES

VIVIPARIDAD EN REPTILES

A lo largo del tiempo, el estudio de la viviparidad en los diferentes grupos de vertebrados ha sido de gran importancia y ha causado gran interés, ya que entre estos existen ciertas características de dicho proceso que comparten. Esto ha aumentado la curiosidad por entender cómo es que se desarrolló la viviparidad en el mundo animal. Este interés intenta explicar la funcionalidad y la evolución de este modo de reproducción en los diferentes organismos que son vivíparos (Blackburn 2006).

La viviparidad se puede definir como el desarrollo completo de la cría dentro del cuerpo de la madre con una conexión placentar y que puede o no estar rodeado por una membrana de la cáscara (Angelini y Ghiara, 1984; Qualls y Shine, 1998). Finalmente Blackburn (2000) define la viviparidad como el patrón de reproducción en el que las hembras gestan los huevos en desarrollo dentro de sus tractos reproductores y dan a luz a sus crías vivas.

Durante más de un siglo los biólogos han estudiado a los reptiles escamosos vivíparos con la esperanza de arrojar a la luz información sobre la evolución del viviparismo en otros vertebrados. Los análisis filogenéticos han demostrado que la viviparidad en escamosos ha evolucionado con gran frecuencia teniendo más de 100 orígenes

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

independientes, en tiempos geológicamente recientes y a un nivel taxonómico muy bajo (Blackburn, 2006). De este modo la información obtenida en los reptiles escamosos podría extrapolarse o aplicarse a otros grupos de vertebrados, para tener un modelo el cual explique la aparición y evolución de la viviparidad en los diversos taxones (Blackburn y Fleming, 2009).

Dentro de los lacertilios podemos encontrar diferentes formas de nutrición embrionaria: 1) especies ovíparas donde el aporte nutricional para el desarrollo del embrión es el vitelo; 2) especies vivíparas que tienen una placenta muy simple, donde el aporte nutricional para el embrión en desarrollo es el vitelo y el aporte de nutrientes por parte de la madre es muy poco durante la gestación (viviparidad lecitotrófica), pasando por una serie de especies intermedias que presentan una cierta complejidad en cuanto a la placenta y los nutrientes que pasan por esta hasta llegar a 3) especies vivíparas que tienen huevos microlecitos, en las cuales la mayoría de los nutrientes para los embriones son aportados por la madre a través de la placenta durante todo el desarrollo (viviparidad placentotrófica) y además tienen el más alto grado de complejidad placental (Thompson y Speake, 2006).

Se cree que la viviparidad en reptiles surge a partir de un aumento gradual en la retención de los huevos dentro del útero, lo que culminó con el nacimiento de las crías completamente desarrolladas (Guillette, 1993). El modo de reproducción vivíparo implica una serie de especializaciones a varios niveles, entre las cuales están: 1) anatómicas y fisiológicas para que de este modo las hembras gestantes mantengan a sus embriones en desarrollo, 2) endócrinas que controlan las funciones ováricas y del oviducto y 3) moleculares y bioquímicas asociadas con la nutrición embrionaria y el intercambio gaseoso entre la madre y la cría (Blackburn, 2006).

HIPÓTESIS SOBRE LA EVOLUCIÓN DE LA VIVIPARIDAD

Las hipótesis para explicar la evolución de la viviparidad, se basan en los beneficios que conlleva que los organismos sean ovíparos o vivíparos y las ventajas en cuanto al

número de crías que sobreviven. Shine (1985) propone que las hipótesis se pueden clasificar en dos tipos: las basadas en factores ambientales y las basadas en las características de las especies. Dentro de las primeras, una de las que tiene mucho peso en cuanto a la evolución de la viviparidad es la conocida como “hipótesis del clima frío”, en la cual se propone que las especies que son vivíparas ocupan zonas geográficamente más frías que las especies ovíparas. El argumento que se toma en cuenta es que la termorregulación conductual permite que la temperatura del cuerpo de las hembras sea mayor a la que tiene la tierra. Por lo tanto los huevos que se desarrollan dentro del cuerpo materno se encuentran a temperaturas más altas, por lo que se desarrollan más rápido que los huevos que son depositados en el suelo. Ésta retención de los huevos dentro del útero puede traer ventajas como evitar la depredación, la desecación o el exceso de humedad, así como la contaminación por microorganismos (Shine, 1985).

Otra hipótesis es la “imprevisibilidad ambiental”, en donde se propone que la retención uterina prolongada de los huevos ha evolucionado más probablemente en entornos muy variables (clima, depredación o recursos), de esta manera la selección podría favorecer a las hembras que retengan más tiempo sus huevos, por lo que la transición a la viviparidad se verá favorecida (Shine, 1985).

La hipótesis por “factores ambientales” propone que cualquier factor que mate a los huevos en el nido (humedad del sustrato, aridez extrema, depredación de huevos), podría establecer una presión selectiva para la evolución de la retención prolongada de los huevos en el oviducto, favoreciendo la viviparidad (Shine, 1985).

Las hipótesis basadas en las características de las especies, intentan explicar la aparición de la viviparidad en cuanto a la “capacidad defensiva”, “la no dependencia en la velocidad del movimiento”, “los tipos de hábitos acuáticos o arbóreos”, “los hábitos fosoriales o secretivos”, “el cuidado maternal de los huevos”, “las estrategias de termorregulación”, “la frecuencia reproductora” y “las limitaciones fisiológicas” de las especies que presentan esta estrategia (Shine, 1985).

MEMBRANAS EXTRAEMBRIONARIAS O FETALES

Actualmente los estudios sobre las membranas extraembrionarias o fetales han aportado y ampliando la visión de ellas y su participación en tres grandes transformaciones a lo largo de la historia, la evolución del huevo amniota, la evolución de la viviparidad y la evolución de la placentotrofía (Blackburn y Fleming, 2009).

Durante el desarrollo embrionario, la formación de las membranas extraembrionarias o fetales (amnios, corion, alantoides y saco vitelino) ha sido un evento muy importante. Filogenéticamente la primera membrana en formarse es el saco vitelino, esta estructura es de suma importancia, ya que los materiales nutritivos de los que se alimentara el embrión durante la gestación y que se encuentran en el vitelo pueden pasar directo a este a través de los vasos sanguíneos de esta membrana. El alantoides surge como una evaginación del intestino posterior del embrión, funciona como un órgano respiratorio, en su cavidad central retiene los desechos nitrogenados (ácido úrico) producidos por el metabolismo del embrión y provee de agua. El amnios proporciona resistencia al embrión ante la desecación y funciona como un amortiguador, ya que el líquido amniótico protege al embrión contra choques, golpes o movimientos bruscos, y evita que se adhiera a la membrana de la cascara además de mantener la humedad. Finalmente el corion es la membrana más externa que a su vez rodea al embrión, al amnios, al alantoides y al saco vitelino (Villagrán-Santa Cruz y Méndez de la Cruz, 2009).

PLACENTACIÓN

Cuando alguna de las membranas extraembrionarias o fetales (saco vitelino, alantoides y corion) se coloca en aposición directa con el tejido materno y le permite al embrión llevar a cabo un intercambio fisiológico, se forma una estructura conocida comúnmente como placenta (Mossman, 1991). Los grados de placentación en los reptiles escamosos pueden variar de acuerdo a la especie y dependiendo del grado de placentación varían las funciones que pueden llegar a presentar.

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

En la mayoría de las especies de escamosos vivíparos, la lecitotrofia es el patrón de nutrición embrionario que predomina, en este existe poco intercambio entre la madre y la cría a través de la placenta (Stewart y Thompson, 1993), esto implica poca complejidad en la placenta derivada del corioalantoides. En contraste con la mayoría de los escamosos, las lagartijas del género *Mabuya* presentan una placenta corioalantoidea altamente especializada para la absorción de nutrientes desde las primeras etapas de desarrollo, (Ramirez-Pinilla, 2006). Las especializaciones de la alantoplacenta de *Mabuya* son muy similares a los encontrados en las placentas de diferentes mamíferos euterios, en el sentido de que muestran una convergencia impresionante en la organización del tejido y características citológicas de los componentes del endometrio y la membrana corioalantoidea (Ramirez-Pinilla 2006); sin embargo, ninguna especie de mamífero tiene la variedad de especializaciones observados simultáneamente en la cámara embrionaria de *Mabuya*, por lo que esta gran complejidad sugiere que la alantoplacenta que presenta este género de una población Andina, tiene gran importancia en la transferencia de nutrientes para el desarrollo embrionario y fetal.

TIPOS DE PLACENTA

De acuerdo a la relación de las membranas del corion, alantoides y saco vitelino con el tejido materno, se definen tres categorías placentarias en reptiles escamados: 1) la corioplacenta, 2) las placentas que se forman en el polo embrionario derivadas del corioalantoides, y 3) las placentas situadas en el polo abembrionario derivadas del saco vitelino (placenta coriovitelina, onfaloplacenta y onfaloalantoplacenta) (Stewart y Thompson, 2000) (Cuadro 1).

La corioplacenta se forma por la aposición del epitelio uterino y el corion, el cual es la membrana más externa del huevo, este tipo de placenta es transitoria. La formación de la placenta depende del corion que no se vasculariza, de modo que para hacer un intercambio eficiente necesita la conjunción de las membranas vascularizadas como el alantoides (formando las placentas corioalantoicas o alantoplacentas) o el saco vitelino

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

(formando la onfaloplacenta y la onfaloalantoplacenta (Stewart y Thompson, 2000; Ramírez-Pinilla, 2010).

Cuadro 1. Términos y tipos de placenta en escamados

| Nomenclatura | Componentes embriónicos | Fuente |
|---------------------------------|---|------------------------------|
| Corioplacenta | Somatopleura (ectodermo, mesodermo) | Mossman, 1937 |
| Placenta coriovitelina | Onfalopleura trilaminar vascularizada (ectodermo, mesodermo, endodermo) | Mossman, 1937; Stewart, 1985 |
| Onfaloplacenta | Ectodermo, endodermo de la masa aislada de vitelo, mesodermo intravitelino, esplacnopleura (mesodermo, endodermo) | Weekes, 1927a |
| Onfaloalantoplacenta | Ectodermo, endodermo de la masa aislada de vitelo, mesodermo intravitelino, membrana exterior del alantoides (mesodermo, endodermo) | Stewart y Blackburn, 1988 |
| Placenta corioalantoidea | Somatopleura (ectodermo, mesodermo), membrana exterior del alantoides (mesodermo, endodermo) | Harrison y Weekes, 1925 |

Tomado de Stewart, 1992

El desarrollo y vascularización de la onfalopleura trilaminar forma la membrana coriovitelina, la cual contribuye a la formación de la placenta coriovitelina cuando se pone en contacto con el epitelio uterino. La placenta coriovitelina se interrumpe cuando la somatopleura y la esplacnopleura se separan durante la formación del celoma extraembrionario. El alantoides en su desarrollo crece hacia el celoma extraembrionario y se fusiona con el corion (somatopleura). El contacto o aposición entre el corioalantoides y el epitelio uterino constituye la placenta corioalantoidea. En el polo abembrionario la interacción funcional entre la onfalopleura bilaminar (ectodermo - endodermo) de la masa aislada de vitelo y el epitelio uterino forma la placenta del saco vitelino u onfaloplacenta. La placenta onfaloalantoidea deriva de la onfaloplacenta y es formada por la expansión del

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

alantoides dentro del surco de la yema (Villagran Santa-Cruz, 1989; Stewart, 1992; Stewart y Thompson, 2000; Ramírez-Pinilla, 2010).

La placenta corioalantoidea en reptiles escamados ha sido clasificada en cuatro tipos según la complejidad del tejido, (Cuadro 2) esta complejidad se define de acuerdo al grado de aposición entre los tejidos materno-fetales en Tipo I, Tipo II, Tipo III y Tipo IV (Stewart y Thompson, 1998).

La placenta de Tipo I se caracteriza por una simple aposición del corioalantoides con el epitelio uterino, comúnmente con vestigios de la membrana de la cáscara que es lo único que se interpone entre los componentes maternos y fetales. Este tipo de placenta se encuentra en la mayoría de las especies estudiadas, incluyendo las que fueron descritas por Weekes. De acuerdo a Weekes (1935) en este tipo de placenta el epitelio del corioalantoides y del útero es escamoso erosionado, y la interfaz entre el tejido materno y fetal es lisa y sin surcos.

La placenta de Tipo II se ha descrito en algunos Scincidos colectados en Tasmania (Stewart y Thompson, 1998), el epitelio coriónico es cúbico y está un poco interdigitado con el epitelio uterino que es escamoso, además de que los capilares maternos se encuentran muy cercanos al corioalantoides (Weekes, 1935).

La placenta corioalantoidea más especializada reconocida por Weekes (1935) fue la placenta de Tipo III, que también está presente en algunos Scincidos Australianos, así como en la especie de lagartija mediterránea *Chalcides chalcides*. En estas lagartijas, se forma un placentoma que consiste en tejidos maternos (epitelio uterino) y fetales (superficie corionica) interdigitados, que varía de acuerdo a las especies en las que se ha encontrado y un paraplacentoma ubicado entre el placentoma y la onfaloplacenta donde no hay plegamiento de los tejidos, sin especializaciones celulares uterinas o coriónicas, aquí se muestra un tejido parecido a la placenta de Tipo I. Los pliegues uterinos en el placentoma son bien vascularizados y el epitelio es cubico con microvellosidades en la superficie apical,

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

mientras que el epitelio del corioalantoides se compone de células columnares ciliadas (Ramírez-Pinilla, 2010).

Finalmente la placenta de Tipo IV (Cuadro 2) es descrita por Blackburn (1993) para la especie de lagartija *Mabuya heathi* y posteriormente retomada para las especies estudiadas de este género en el Continente Americano. Esta alantoplacenta se caracteriza por que se presentan aereolas coriónicas asociadas con glándulas uterinas, un placentoma convexo con radiación de vellosidades en los pliegues uterinos, un arreglo sincitial del epitelio uterino frente a un epitelio biestratificado formado por células gigantes binucleadas (Blackburn y Vitt, 2002; Ramírez-Pinilla, 2010).

Cuadro 2. Tipos de alantoplacenta en escamados

| Tipo. | Descripción | Fuente |
|-------|---|------------------------------------|
| I | Una cercanía estrecha entre el sistema de vasos sanguíneos maternos y fetales. | Weekes (1935) |
| II | Vasos uterinos en pliegues elevados; ectodermo coriónico engrosado | Weekes (1935) |
| III | La pared uterina adyacente al mesometrio consiste en una serie de pliegues vascularizados alineados con el epitelio engrosado; ectodermo coriónico engrosado. Amplia interdigitación entre los tejidos maternos y fetales, el epitelio materno y fetal presenta microvellosidades. | Weekes (1935) Blackburn (1993a) |
| IV | La pared uterina adyacente al mesometrio consiste de pliegues vellosos con células epiteliales cúbicas a columnares, que sobresalen en una invaginación del corioalantoides; el epitelio coriónico se compone de dos tipos celulares (células gigantes delgadas binucleadas y células columnares) | Blackburn (1993a) |

Tomado de Stewart y Thompson 1998

De acuerdo con los estudios de histología, placentación y desarrollo de membranas extraembrionarias realizados en lacertilios de la familia Scincidae, podemos encontrar que la mayoría de los trabajos han sido realizados en especies Australianas y en su minoría

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

especies de África, Tasmania, Nueva Zelanda y algunas especies del Continente Americano (Cuadro 3).

Cuadro 3. Estudios de membranas extraembrionarias y placentación en la familia Scincidae

| Taxa | Tema | Referencia |
|--|--|--|
| <i>Chalcides chalcides</i> | Anatomía, Histología | Studiati, 1851 Giacomini, 1891 Cate-Hoedemaker, 1933 |
| <i>Chalcides ocellatus</i> | Histología Histología, desarrollo y ultraestructura | Giacomini, 1906 Veith, 1974 |
| <i>Chalcides chalcides</i> | Histología de la placenta | Blackburn, 1993b |
| <i>Chalcides chalcides</i> | Placentación, histología Histología, morfogenesis | Blackburn, 1988 Blackburn y Callard, 1997 |
| <i>Chalcides chalcides</i> | Histología, técnicas inminohistoquímicas, actividad del cuerpo lúteo y placenta. | Guarino <i>et al.</i> , 1998 |
| <i>Chalcides</i> | Histología, elongación del cuerpo y evolución del placentoma | Caputo <i>et al.</i> , 2000 |
| <i>Tachydosaurus rugosus</i> | Anatomía | Haacke, 1885 |
| <i>Sphenomorphus quoyii</i> * <i>Elamprus quoyii</i> | Histología y desarrollo | Weekes, 1927 Thompson, 1977 |
| <i>Elamprus tympanum</i> | Microscopia electrónica, cambios epiteliales del útero durante la gestación | Adams, <i>et al.</i> , 2007. |
| <i>Leiopisma spenceri</i> * <i>Pseudemoia spenceri</i> | Histología y desarrollo | Weekes, 1929 |
| <i>Egernia cunninghami</i> <i>E. striolata</i> <i>E. whitei</i> * <i>Liopholis whitii</i> | Histología y desarrollo | Weekes, 1930 |
| <i>Hemiergis qudrilineatum</i> * <i>Hemiergis quadrilineata</i> | Histología y desarrollo | Weekes, 1930 |
| <i>Leiopisma entrecasteauxii</i> * <i>Pseudemoia entrecasteauxii</i> | Histología Histología y desarrollo | Harrison y Weekes, 1925 Weekes, 1930 |
| <i>L. metallica</i> * <i>Niveoscincus metallicus</i> <i>L. ocellatum</i> * <i>Niveoscincus ocellatus</i> <i>L. pretiosa</i> * <i>Niveoscincus pretiosus</i> | Histología | Weekes, 1930 |

Cuadro 3. Continuación

| | | |
|--|---|--|
| <i>Niveoscincus ocellatus</i> | Ontogenia de la placenta, histología | Stewart y Thompson, 2004 |
| <i>Niveoscincus</i> | Histología y ontogenia de la placenta | Stewart y Thompson, 2009 |
| <i>Niveoscincus coventryi</i> <i>Pseudemoia spenceri</i> | Ontogenia de la placenta, histología | Stewart y Thompson, 1998 |
| <i>Tiliqua nigrolutea</i> <i>T. scincoides</i> | Histología y desarrollo Anatomía e histología Histología y desarrollo | Weekes, 1930 Flynn, 1923 Weekes, 1930, 1934 |
| <i>Bassiana duperreyi</i> (ovipara) <i>Pseudemoia entrecasteauxii</i> (vivípara) | Histología, comparación entre el desarrollo de las membranas extraembrionarias | Stewart y Thompson, 1996 |
| <i>Eumecia anchietae</i> | Histología, desarrollo de membranas extraembrionarias | Flemming y Branch, 2001. |
| <i>Mabuya multifasciata</i> * <i>Eutropis multifasciata</i> <i>Mabuya heathi</i> * <i>Brasiliscincus heathi</i> | Histología Huevo microlecito, breve descripción de la morfología y transferencia de nutrientes | Weekes,1930; Blackburn et al., 1981; Blackburn et al., 1984, Blackburn, 1985 |
| <i>Mabuya mabouya</i> | Histología de la alantoplacenta | Ramírez-Pinilla, 2001 |
| <i>M. heathi</i> | Especialización de la placenta corioalantoidea | Blackburn y Vitt, 2002 |
| <i>M. mabouya</i> | Histología, morfogénesis de membranas extraembrionarias y placentación | Jerez y Ramírez-Pinilla, 2003 |
| <i>M. mabouya</i> | Microscopía electrónica de transmisión, histología, especialización de la placenta | Ramírez-Pinilla <i>et al.</i> , 2006 |
| Genero <i>Mabuya</i> | Histología, descripción morfológica de la placenta | Leal y Ramírez-Pinilla, 2008 |
| <i>Mabuya sp.</i> | Intercambio de nutrientes | Rueda-Parra, 2008 |
| <i>Mabuya sp</i> | Estudios funcionales de la placenta usando Técnica inmunohistoquímica | Wooding <i>et al.</i> , 2010 |
| <i>Mabuya unimarginata</i> | Ontogenia de la placenta, descripción histológica. | Villagrán Santa-Cruz <i>et al.</i> , 1994 |
| <i>Trachylepis ivensi</i> | Histología, implantación invasiva. | Blackburn y Flemming, 2012 |

Tomado de Villagrán Santa-Cruz M, 1989 y completado. *El nombre taxonómico actual se muestran en menor tamaño

JUSTIFICACIÓN

Los estudios realizados con relación a las membranas extraembrionarias en reptiles proporcionan información importante para comprender la evolución del huevo amniota, la evolución de la viviparidad y la evolución de la matrotrofia (Blackburn y Fleming, 2009). En los últimos años a nivel mundial se ha abordado el estudio de la placentación en especies de diferentes familias, siendo la Familia Scincidae una de las más estudiadas especialmente en especies Australianas, Africanas y Sudamericanas. La importante información que esto refleja es de una gran relevancia ya que en esta familia se presentan los extremos en cuanto a la viviparidad y placentación, con especies lecitotróficas con poca complejidad placentaria hasta especies completamente matrotólicas, las cuales tienen un alto grado de placentación, siendo comparable con la placenta que presentan los mamíferos euterios. Aunque ya existen algunos trabajos relacionados con la viviparidad y placentación en lacertilios mexicanos, solo se han realizado en algunas especies de la familia Phrynosomatidae como *Sceloporus bicanthalis* (Guillette y Jones, 1985), *S. mucronatus* y *S. grammicus* (Villagrán-Santa Cruz, 1989, Villagrán-Santa Cruz *et al.*, 2005), *S. megalepidurus* (Villagrán-Santa Cruz *et al.*, 2005) y una sola especie de las familias Xantusidae, Anguidae y Scincidae (*Lepidophyma pajapanensis*, *Barisia imbricata imbricata* y *Mabuya unimarginata*, respectivamente) (Villagrán-Santa Cruz y Méndez de la Cruz 1997; Martínez, 1997; Villagrán-Santa Cruz *et al.*, 1994, 2011); lo que hace evidente que son pocos estudios en relación con la gran diversidad de especies que tenemos en nuestro país. Por lo cual consideramos importante aportar nuevos datos al conocimiento de la viviparidad y placentación y realizar la presente investigación con el scincido *Plestiodon brevirostris* para determinar el grado de placentación así como la ontogenia de la placenta a lo largo de la gestación. Esta especie es endémica de México y su ubicación taxonómica es la siguiente.

ESPECIE DE ESTUDIO

Reino: Animalia

Phylum: Chordata

Clase: Reptilia

Orden: Squamata

Familia: Scincidae

Género: *Plestiodon*

Especie: *Plestiodon brevirostris* (GÜNTHER 1860)



Foto tomada por Erwin Vázquez García

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

La familia Scincidae está conformada por lagartijas de tamaños pequeños, de 27 a 350mm LHC (Laurie y Caldwell, 2013), y es una de las más diversas y ampliamente distribuidas en el mundo. Esta familia se divide en cuatro subfamilias y comprende unas 1260 especies, que se distribuyen en el Norte y centro de América, así como en varias regiones de África, Europa y Asia (García-Vázquez y Feria-Ortiz, 2006)

En México la familia Scincidae está representada por cuatro géneros, *Mabuya*, *Mesosincus*, *Plestiodon* y *Scincella* (García-Vázquez y Feria-Ortiz, 2006). La mayoría de estas lagartijas son diurnas. El género *Plestiodon* está representado en México por 15 especies y es uno de los géneros de scíncidos más distribuidos en nuestro país. La mayoría de las especies de este género viven en bosques de pino o encino, propios de montaña (altas elevaciones). Son de comportamiento huidizo y rara vez son observados en su hábitat (García-Vázquez y Feria-Ortiz, 2006). Son lagartijas que alcanzan una longitud hocico-cloaca de 69 mm, la longitud de la cola es 1.2 a 1.4 veces mayor que la longitud del cuerpo. La cabeza es ligeramente alargada y triangular (Fig. 1). Presenta escamas internasales. Las escamas dorsales y ventrales son cicloides, lisas y brillantes. Las extremidades son delgadas y al juntarlas se encuentran separadas por cuatro escamas. Poros femorales ausentes.

Presenta una amplia banda café oscuro en el dorso; otra banda lateral oscura se origina desde el nostrilo, se continúa posteriormente, finalizando aproximadamente en el primer tercio de la cola; por arriba y por abajo de esta banda lateral corre una delgada línea clara que se origina desde la escama rostral finalizando un poco más allá de la base de la cola. La cola es de color azul metálico. El vientre es verde grisáceo.



Fig. 1. Vista dorsal de la cabeza de *Plestiodon brevirostris*

(Canseco-Márquez y Gutiérrez-Mayén, 2010)

DISTRIBUCIÓN

Plestiodon brevirostris es una especie endémica de México, con una amplia distribución, desde el norte del país en Chihuahua y Durango, sur de la Sierra Madre Oriental, y en el centro y sur, en los estados de México, Morelos, Guerrero, Oaxaca, Puebla, Tlaxcala y Veracruz (Fig. 2).

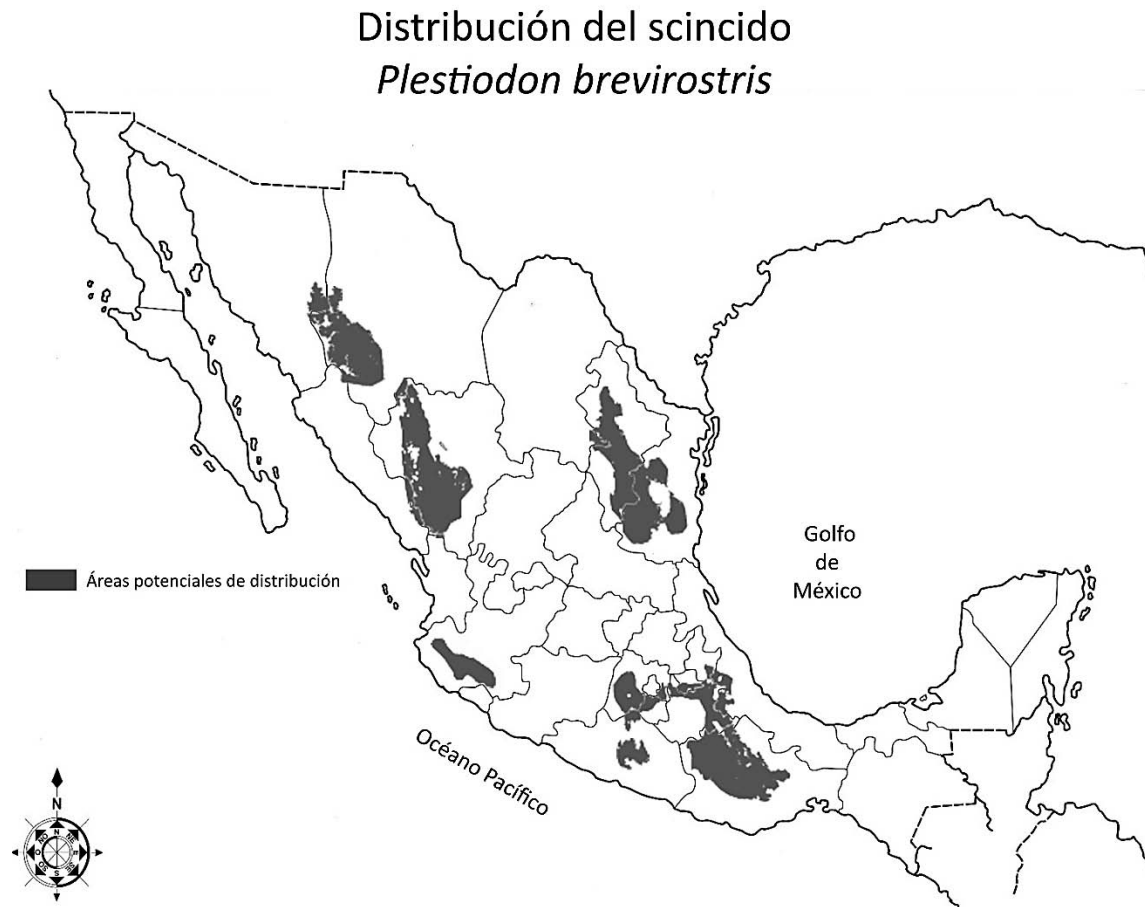


Fig. 2. Distribución de *Plestiodon brevirostris*. Tomado y editado de Ochoa-Ochoa et al., 2006.

Historia natural

P. brevirostris es una especie insectívora, se alimenta de escarabajos (Coleóptera, familias Nitidulidae, Dascillidae y Tenebrionidae), larvas de mariposa (Lepidóptera), otros invertebrados como arañas (Orden Araneae), y en baja proporción, material vegetal. Su modo de reproducción es vivíparo (Canseco-Márquez y Gutiérrez-Mayén, 2010).

OBJETIVOS

General

Determinar el grado de placentación así como la ontogenia de la placenta a través de la gestación en la lagartija de la familia Scincidae *Plestiodon brevirostris*.

Particulares

- Categorizar los diferentes estadios de desarrollo embrionario.
- Relacionar los estadios de desarrollo embrionario con la formación de las membranas extraembrionarias.
- Definir la relación de las membranas extraembrionarias con el tejido materno y determinar el tipo de placentación.
- Definir la ontogenia de la placenta en el polo embrionario como en el abembrionario a lo largo de la gestación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Obtención de ejemplares

Se utilizaron ejemplares de la colección de anfibios y reptiles del Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias (MZFC) perteneciente a la Universidad Nacional Autónoma de México. Se seleccionaron hembras adultas y preñadas, especialmente colectadas entre los meses de octubre a mayo para tener el mayor número de organismos que abarcaran la temporada de gestación tomando como referencia otra especie del género *Plestiodon* que habita un ambiente templado (Guillete, 1983; Ramírez-Bautista, *et al.*, 1996).

Material recolectado en campo

Se colectaron de manera manual tres hembras preñadas de *Plestiodon brevirostris* en la localidad de San Juan del Valle, Municipio de Chilchotla, Puebla (19° 15' 22.5" N; 97° 11' 53.8" W), uno el 14 de abril de 2012 y dos el 21 de marzo del 2013, las cuales fueron transportadas en costales al lugar donde se mantuvieron en cautiverio. Estas hembras preñadas se mantuvieron por un tiempo dentro de un terrario con condiciones naturales de sol y alimento (larvas de polilla y grillos) hasta que llegó el momento de sacrificarlas.

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

Tanto a los ejemplares provenientes del MZFC y los colectados en campo se les midió la longitud hocico cloaca (LHC) con un vernier. Posteriormente se realizó la disección retirando las vísceras para poder identificar los oviductos con las cámaras embrionarias y los embriones en desarrollo dentro de estas. Se consideró el número de embriones en desarrollo y se midió el ancho y largo de cada una de las cámaras embrionarias para calcular el volumen de las mismas, utilizando para ello la fórmula de una elipsoide $V = \frac{4}{3} \pi a^2 b$, donde $a = \frac{1}{2}$ del ancho y $b = \frac{1}{2}$ del largo (Jones, 1970). Los oviductos con las cámaras embrionarias fueron extraídos y se refijaron en formol al 10% neutro. Las cámaras embrionarias se separaron y cada una se procesó con la técnica histológica para microscopía de luz. Cada uno de los embriones en desarrollo dentro de su cámara se clasificó y se determinó el estado de desarrollo de acuerdo con la tabla de Dufaure y Hubert (1961). Cabe aclarar que de los ejemplares de colección solo se retiró uno de los oviductos y el ovario del mismo lado.

Proceso histológico. Material de colección

Cada cámara embrionaria dentro del útero se procesó con la técnica histológica convencional, deshidratación en alcoholes graduales (30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% y 100 %), aclarado en xileno e inclusión en paraplást. Los cortes se realizaron en un micrótomos de rotación a un grosor de 5 μm y las preparaciones se tiñeron alternadamente con las técnicas de tinción de Hematoxilina-Eosina (H-E), Tricrómica de Mallory, Ácido peryódico y reactivo de Schiff (PAS), PAS contrastada con azul de Alciano y la técnica de Rojo núcleo resistente-Azul de alciano. El material histológico se interpretó y clasificó de acuerdo a Stewart y Thompson (2000) para determinar el tipo de placentación. Se tomaron fotografías con una cámara digital Olympus C-5050 y las imágenes fueron construidas usando Adobe Photoshop CS6.

Proceso histológico. Material recolectado en campo

Los ejemplares se sacrificaron con una inyección de pentobarbital sódico en una concentración uno a diez a nivel del corazón para después realizar la disección. Se realizó la fijación del material en distintos fijadores como Bouin, paraformaldehído al 4% y Karnovsky. La hembra recolectada el 14 de abril de 2012 fue sacrificada el día 19 de ese mismo mes y se fijó en Bouin. Respecto a las hembras recolectadas el 21 de marzo del 2013, de la hembra #1 se extrajo una cámara embrionaria del lado izquierdo que se colocó en paraformaldehído y una del útero derecho que se colocó en Bouin. De la hembra #2 se extrajeron las 3 cámaras embrionarias del lado derecho colocando una en Bouin, otra en formol y la última en Karnovsky. El día 3 de abril del 2013, las muestras que se encontraban en el fijador de Bouin se pasaron a Formol al 10 %, las muestras en paraformaldehído se pasaron a PBS y los que se encontraban en Karnovsky fueron cambiados a Buffer de Cacondilatos. Cabe aclarar que en este trabajo solo se utilizaron las cámaras embrionarias fijadas en bouin y se procesaron con la técnica histológica convencional para microscopía de luz como el material de colecciones.

RESULTADOS

DATOS GENERALES DE LAS HEMBRAS

Se obtuvo un total de 7 hembras gestantes, las cuales fueron recolectadas en diversas localidades y en diferentes épocas del año. Así mismo obtuvimos cámaras embrionarias con embriones en diferentes estadios de desarrollo, los cuales fueron: 4, 29, 34, 36 y 40 (Cuadro 4).

De la Colección Anfibios y Reptiles del Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias (MZFC), de la UNAM se obtuvieron cuatro hembras gestantes: El ejemplar con número de serie 21015 se recolectó en la Sierra de Oaxaca, con una LHC de 59 mm, presentó 2 embriones en el útero izquierdo y 3 embriones en el derecho, el estadio de desarrollo de los embriones fue 4.

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

El ejemplar con número de serie 03922, se recolectó en el estado de Guerrero, el 2 de marzo de 1987, su LHC fue de 56 mm, presentó 2 embriones en el útero izquierdo y 1 en el derecho y el estadio de desarrollo fue 29.

El ejemplar con número de serie 02861, se recolectó en Omiltemi, Guerrero, el 23 de Octubre de 1985, su LHC fue de 64 mm, presentó 2 embriones en el útero izquierdo y 2 embriones en el derecho y el estadio de desarrollo fue 34.

El ejemplar con número de serie 02860, se recolectó en Omiltemi Guerrero, el 23 de octubre de 1985, su LHC fue de 65 mm, presentó 2 embriones en el útero izquierdo y 2 embriones en el derecho con un estadio de desarrollo de 36.

Ejemplares de campo

La hembra recolectada el 14 de abril del 2012, con LHC de 63 mm presentó 2 embriones en el útero izquierdo y 2 embriones en el derecho y su estadio de desarrollo fue 40. De las hembras recolectadas en la misma localidad el 21 de marzo del 2013, la #1 presentó una LHC de 63 mm, con 1 embrión en el útero del lado izquierdo y 3 embriones en el derecho. La hembra #2 presentó una LHC fue de 69 mm, 2 embriones en el útero izquierdo y 3 embriones en el derecho y el estadio de desarrollo 40.

Cuadro 4. Ejemplares colectados, medidas del embrión y cámaras embrionarias.

| Número | Fecha de recolecta del ejemplar | Longitud LHC (mm) | Número total de embriones | *Estadio de desarrollo | Promedio de la cámara embrionaria Largo x ancho (mm) | Volumen promedio de la cámara embrionaria (mm ³) |
|---------------|---------------------------------|-------------------|---------------------------|------------------------|--|--|
| 21015 MZFC | Sin fecha | 59 | 5 | 4 | 8 x 6 | 201.062 |
| 03922 MZFC | 2/05/87 | 56 | 3 | 29 | 8.5 X 8 | 320.4432 |
| 02861 MZFC | 23/10/85 | 64 | 4 | 34 | 10 x 7 | 261.728 |

Cuadro 4. Continuación.

| | | | | | | |
|---------------|----------|----|---|-----------|------------|---------|
| 02860 MZFC | 23/10/85 | 65 | 4 | 36 | 11.5 x 8.5 | 434.326 |
| Campo | 14/04/12 | 63 | 4 | 40 | 13 x 10 | 680.68 |
| Campo | 21/03/13 | 63 | 4 | 40 | 11.5 x 7.5 | 334.318 |
| Campo | 21/03/13 | 69 | 5 | 40 | 11.5 x 6.5 | 260.752 |

*De acuerdo al cuadro de desarrollo de Deffaure y Hubert 1966.

ESTADIO 4 SEGMENTACIÓN

Los embriones del ejemplar 21015 se encontraban en estadio 4 (segmentación). En este estadio se pueden distinguir las dos regiones características de los huevos en desarrollo, el polo embrionario y en el extremo contrario el abembrionario (Fig. 3A). En el polo embrionario es evidente el disco embrionario, en donde en esta etapa temprana del desarrollo de segmentación solo se observan los blastómeros en división (Fig. 3B - D); aún no se forma ningún anexo extraembrionario, por lo que no se observa ningún tipo placentario. El disco embrionario se sitúa sobre la gran masa de vitelo, el vitelo se encuentra delimitado por la membrana vitelina, está conformado de gotas lipídicas de diferente tamaño las cuales en su mayoría son esféricas (Fig3A - C). El huevo se encuentra rodeado solo por una delgada membrana de la cáscara, en la cual se puede distinguir el límite interno formado por una capa hialina acelular la cual se tiñe de azul por su afinidad al azul de la técnica tricrómica de Mallory (Fig. 3C, D) o de morado por su afinidad al colorante de Schiff de (PAS) (Fig. 3E). La gruesa pared uterina se encuentra en estrecho contacto con la membrana de la cascara, no muestra una gran vascularización pero si son evidentes grandes vasos, así como su capa muscular externa. El epitelio uterino es cúbico bajo simple y en algunos sitios es plano simple, especialmente en la cercanía con los vasos sanguíneos (Fig. 3C-E).

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

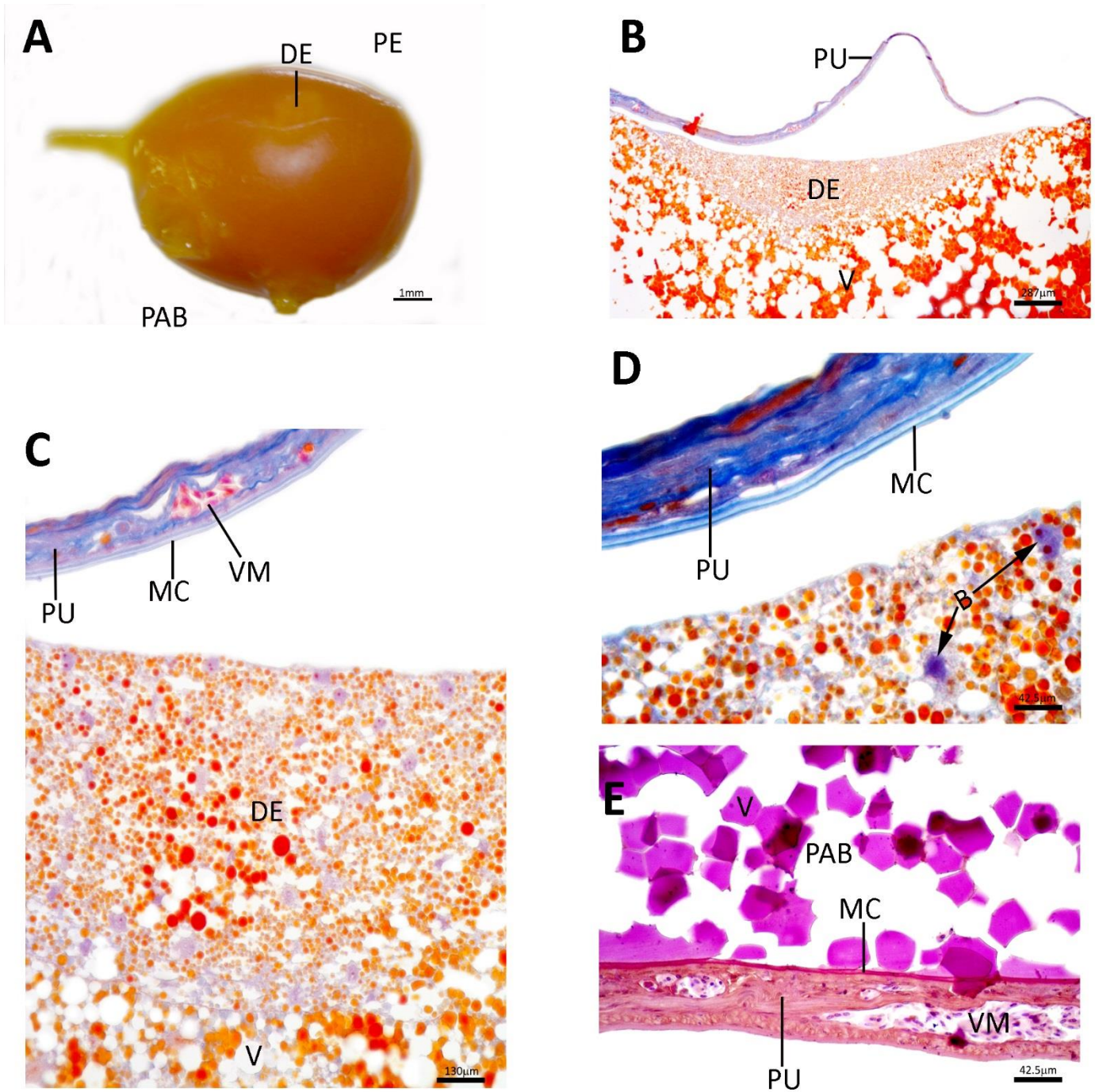


Fig. 3. *Plestiodon brevirostris*, estadio de desarrollo 4 (segmentación). A. Cámara embrionaria, la ubicación del disco embrionario en la superficie de la masa de vitelo, denota la regionalización entre los polos embrionario y abembrionario. B. Disco embrionario sobre la gran masa de vitelo. C. Disco embrionario en contacto con la pared uterina. D. Detalle de un extremo de la imagen anterior, note los núcleos de los blastómeros. E. Polo abembrionario en estrecho contacto con la membrana de la cáscara y la pared uterina. B- blastómeros, DE- Disco embrionario, MC- Membrana de la cáscara, PAB- Polo abembrionario, PE- Polo embrionario, PU- Pared uterina, V- Vitelo, VM- Vaso sanguíneo materno. Tinción B, C, D tricrómica de Mallory, E PAS

ESTADIO 29. CORIOPLACENTA, PLACENTA CORIOVITELINA, CORIOALANTOPLACENTA Y ONFALOALANTOPLACENTA

Los embriones en estadio de desarrollo 29, se caracterizan por tener 40 pares de somitas, corazón con aurícula y ventrículo diferenciados. Las hendiduras branquiales 1, 2 y 3 están abiertas y los miembros han formado un muñón.

En este estadio es evidente la regionalización del huevo en desarrollo en la cámara embrionaria; el polo embrionario y contrario a este el abembrionario (Fig. 4A, B). En el polo embrionario situado sobre la gran masa de vitelo se observa al embrión en desarrollo así como sus membranas extraembrionarias (amnios, saco vitelino, alantoides y corion) (Fig. 4B). El amnios es la membrana más inmediata al embrión, lo rodea a manera de una membrana sacular, está formado de ectodermo y mesodermo avascular (somatopleura) y provee al embrión de un ambiente favorable para su desarrollo. El saco vitelino es la estructura más evidente, ya que está constituida por la gran masa de vitelo. El saco vitelino, en el estadio de desarrollo 29 ha sido envuelto por las diferentes membranas extraembrionarias. En el polo embrionario por una onfalopleura trilaminar (ectodermo, mesodermo y endodermo) y en el polo abembrionario por una onfalopleura bilaminar (ectodermo y endodermo). En el saco vitelino están contenidos los nutrientes para el embrión en desarrollo. El alantoides derivado del intestino posterior del embrión es un órgano sacular que se ubica en la región dorsal embrionaria y en su desarrollo se extiende hacia el celoma extraembrionario, está estructurado de endodermo cuyas células forman un epitelio cúbico simple hacia la cavidad alantoidea y externamente se extiende una red de vasos sanguíneos derivados del mesodermo extraembrionario. En el alantoides se vierten los desechos del metabolismo embrionario y también interviene en el intercambio gaseoso. Finalmente el corion derivado de la somatopleura extraembrionaria (ectodermo y mesodermo avascular) es la membrana más externa que rodea el embrión y se ubica en toda la periferia del huevo en desarrollo. Estas membranas extraembrionarias al hacer contacto con la pared uterina estructuran los diferentes tipos placentarios en los polos embrionario y abembrionario (Fig. 4B).

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

En esta etapa de desarrollo la interfaz materno-embionaria en el polo embionario consiste de tres tipos de placenta, la corioplacenta, la placenta coriovitelina y la corioalantoplacenta o placenta corioalantoidea. Es una etapa de transición ya que aún se observan restos de los dos primeros tipos placentarios y el inicio del desarrollo de la corioalantoplacenta. Es interesante hacer notar que la membrana de la cáscara en este polo embionario ya no es evidente por lo que los tejidos maternos y embionarios están en contacto. En el polo abembionario se estructura otra de las placentas propia del saco vitelino, esta es la onfaloplacenta (Fig. 4B).

CORIOPLACENTA Y PLACENTA CORIOVITELINA

El corion avascular por encima del embrión al hacer contacto con la pared uterina, la cual ya presenta una rica vascularización, conforma con ella la estructura placentaria conocida como corioplacenta, que transitoriamente es la capa más externa en el polo embionario del huevo (Figs. 4B y 5A-C). Esta placenta es periférica a la placenta corioalantoidea, en los cortes histológicos se localiza en dos pequeñas áreas en la región dorsolateral del huevo entre las placentas coriovitelina y la placenta corioalantoidea (Figs. 4B y 5B). El ectodermo coriónico está estructurado de células cúbicas y la pared uterina adyacente es gruesa ricamente vascularizada y con un epitelio cúbico bajo simple o plano especialmente en contacto con los grandes vasos sanguíneos (Fig. 5C).

La placenta coriovitelina se ubica contigua a la corioplacenta en la región dorsolateral del huevo en el polo embionario (Fig. 4B). Se estructura por el contacto de la pared uterina con la membrana coriovitelina. Esta membrana ha derivado de la onfalopleura trilaminar que envuelve al saco vitelino (ectodermo, mesodermo y endodermo) (Fig. 6A, B). El mesodermo forma el área vascular debido al proceso de angiogénesis y hematopoyesis, cuando los vasos se extienden dentro del mesodermo estructuran la membrana coriovitelina. Esta placenta está delimitada por encima del ecuador en el "sinus terminalis" por la formación del surco vitelino (Fig. 4B). El ectodermo coriónico no es uniformemente continuo, en algunas regiones se pueden observar pliegues que muestran o no una correspondencia con la pared uterina, en otras las células son

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

cúbicas, cúbicas bajas o escamosas (Fig. 6B-D). El epitelio uterino es cúbico bajo simple y en algunas regiones escamoso especialmente en donde se observan los vasos sanguíneos (Fig. 6B, D).

CORIOALANTOPLACENTA O PLACENTA CORIALANTOIDEA

Justo por encima del embrión hacia un lado podemos ver un tercer tipo placentario en el cual interviene el alantoides. En esta etapa el alantoides ocupa solo menos de una tercera parte del polo embrionario (Figs. 4B, 5B y 7A). Durante el proceso de desarrollo y expansión del alantoides hacia el celoma extraembrionario su membrana externa se fusiona con el corion, estructurado de ectodermo y mesodermo (somatopleura) y forma la membrana corioalantoidea la cual es vascularizada por los vasos derivados del alantoides, ya que el corion es una estructura avascular. Las células del ectodermo coriónico van de cúbicas a escamosas, y las células de la membrana del alantoides que establecen contacto son también escamosas de manera que solo sobresalen los vasos sanguíneos en contacto con los vasos sanguíneos maternos de la pared uterina (Figs. 5B y 7B) estructurando así una placenta corioalantoidea de tipo I. En algunos sitios de la membrana interna del alantoides que da hacia la cavidad del mismo se forman pequeños pliegues (Fig. 7C). La pared uterina en contacto es delgada y ricamente vascularizada, el epitelio es cúbico, o escamoso, especialmente en las zonas donde los vasos sanguíneos se observan en el límite uterino (Fig. 7D).

Tanto la corioplacenta, como la placenta coriovitelina son estructuras transitorias durante el desarrollo en escamados, ya que el alantoides en su extensión hacia el celoma extraembrionario por la periferia del huevo reemplazará estos tipos placentarios.

ONFALOPLACENTA

En el polo abembrionario situado por debajo del ecuador, podemos observar a la gran masa de vitelo separada de una delgada capa de vitelo periférica y paralela a la pared uterina (Fig. 4B). Este último es el surco o grieta vitelina, el cual se forma por la proliferación de células mesodérmicas derivadas del “sinus terminalis” que se introducen a nivel del

ecuador en el saco vitelino (células mesodérmicas intravitelinas). De este modo el saco vitelino se separa en la gran masa de vitelo, un espacio denominado grieta o surco vitelino y la estrecha capa de vitelo que queda por debajo del surco vitelino y que aún conserva la onfalopleura bilaminar (ectodermo y endodermo) la cual recibe el nombre de masa aislada de vitelo. Esta masa aislada de vitelo limitada hacia la grieta vitelina por células intravitelinas y hacia la pared uterina por su onfalopleura bilaminar al ponerse en contacto con el epitelio uterino soportado por una rica red vascular conforman la onfaloplacenta (Fig. 8A). La membrana de la cáscara ha disminuido y se restringe a dos zonas laterales por debajo del ecuador. Se observa muy laxa, plegada e hipertrofiada, es fácilmente reconocible con la técnica de PAS y la técnica tricrómica de Mallory (Fig. 8 A-D).

Las células del endodermo de la onfalopleura bilaminar son escamosas y forman una capa en la base (Fig. 8 D). Las del epitelio del ectodermo coriónico, que se distinguen a partir y por debajo de donde las células intravitelinas forman el surco vitelino, son cúbicas (Fig. 8 C), pero cambian haciéndose más altas, columnares y forman pliegues especialmente en las zonas donde aún se observa la membrana de la cáscara (Fig. 8 B y D). En estas zonas hay una estrecha correspondencia entre el epitelio coriónico, la membrana de la cáscara y el epitelio uterino el cual también se hipertrofia, cambiando en ciertas regiones de cúbico a columnar y formando pliegues (Fig.8D).

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

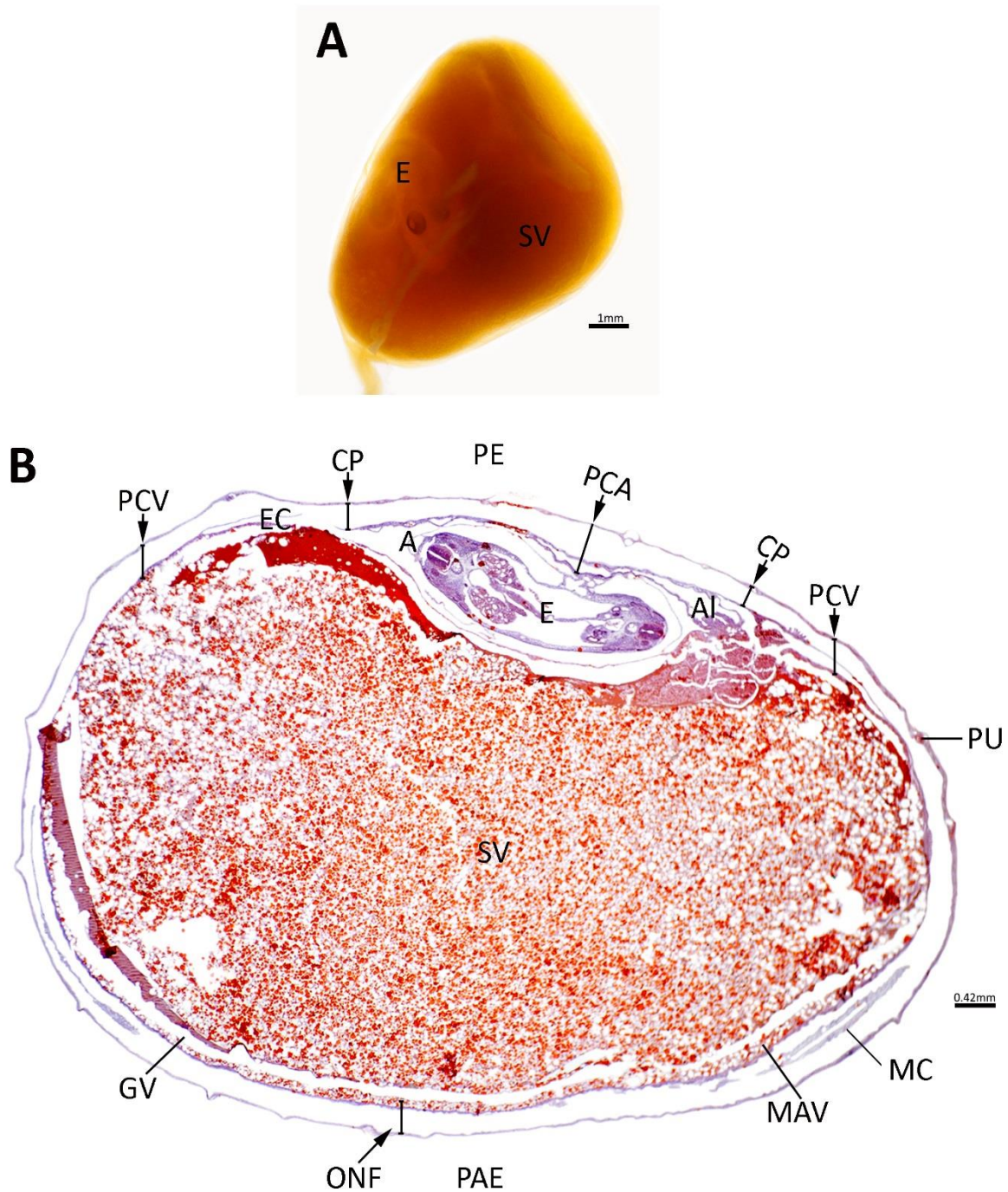


Fig. 4.- Placentación en el scincido *Plestiodon brevirostris* en el estadio 29. Corioplacenta, Placenta Coriovitelina, Placenta Corioalantoidea y Onfaloplacenta. A. Cámara embrionaria en donde se muestra al embrión en desarrollo sobre el vitelo. B. Corte sagital de la cámara embrionaria, en donde puede verse la ubicación del polo embrionario y abembrionario, los anexos extraembrionarios y los tipos placentarios que se forman en cada una de estas zonas. A- Amnios, Al-Alantoides, EC- Ectodermo corionico, CP- Corioplacenta, E- Embrión, GV- Grieta vitelina, MAV- Masa aislada de vitelo, MC- Membrana de la cáscara, ONF- Onfaloplacenta, PAE- Polo abembrionario, PE- Polo embrionario, PU- Pared uterina, PCA- Placenta corioalantoidea, PCV- Placenta coriovitelina, SV- Saco vitelino. Tinción Hematoxilina-Eosina

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

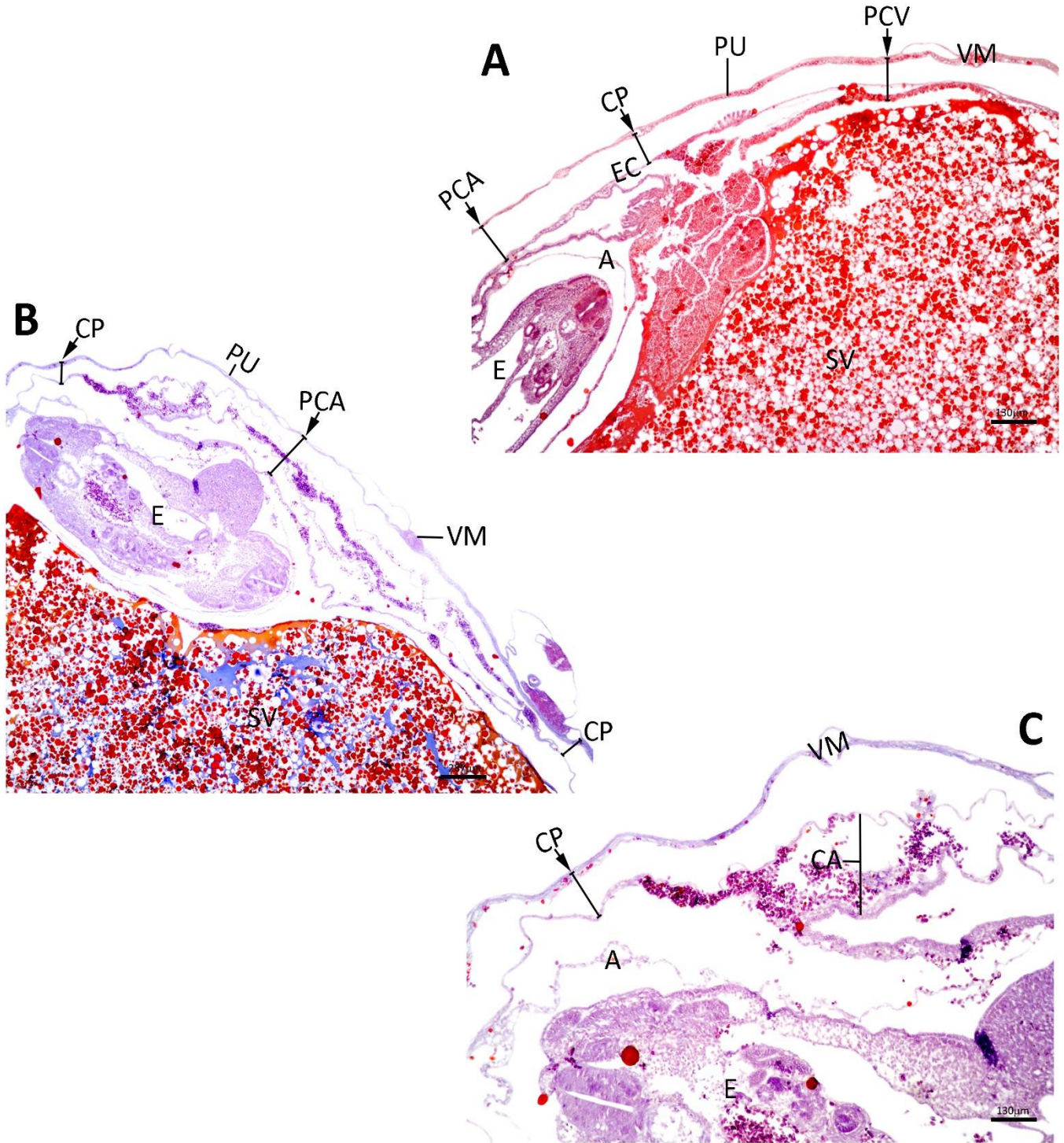


Fig. 5.- Placentación en el scincido *Plestiodon brevirostris* en el Estado 29. Corioplacenta. A,B y C. Ubicación, límites y estructura de la corioplacenta. A- Amnios, EC- Ectodermo corionico, CA- Corioalantoides, CP- Corioplacenta, E- Embrión, PU- Pared uterina, PCA- Placenta corioalantoidea, PCV- Placenta coriovitelina, SV- Saco vitelino. VM-Vaso sanguíneo materno. Tinción A. Hematoxilina-Eosina, B. y C. Tricromica de Mallory

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

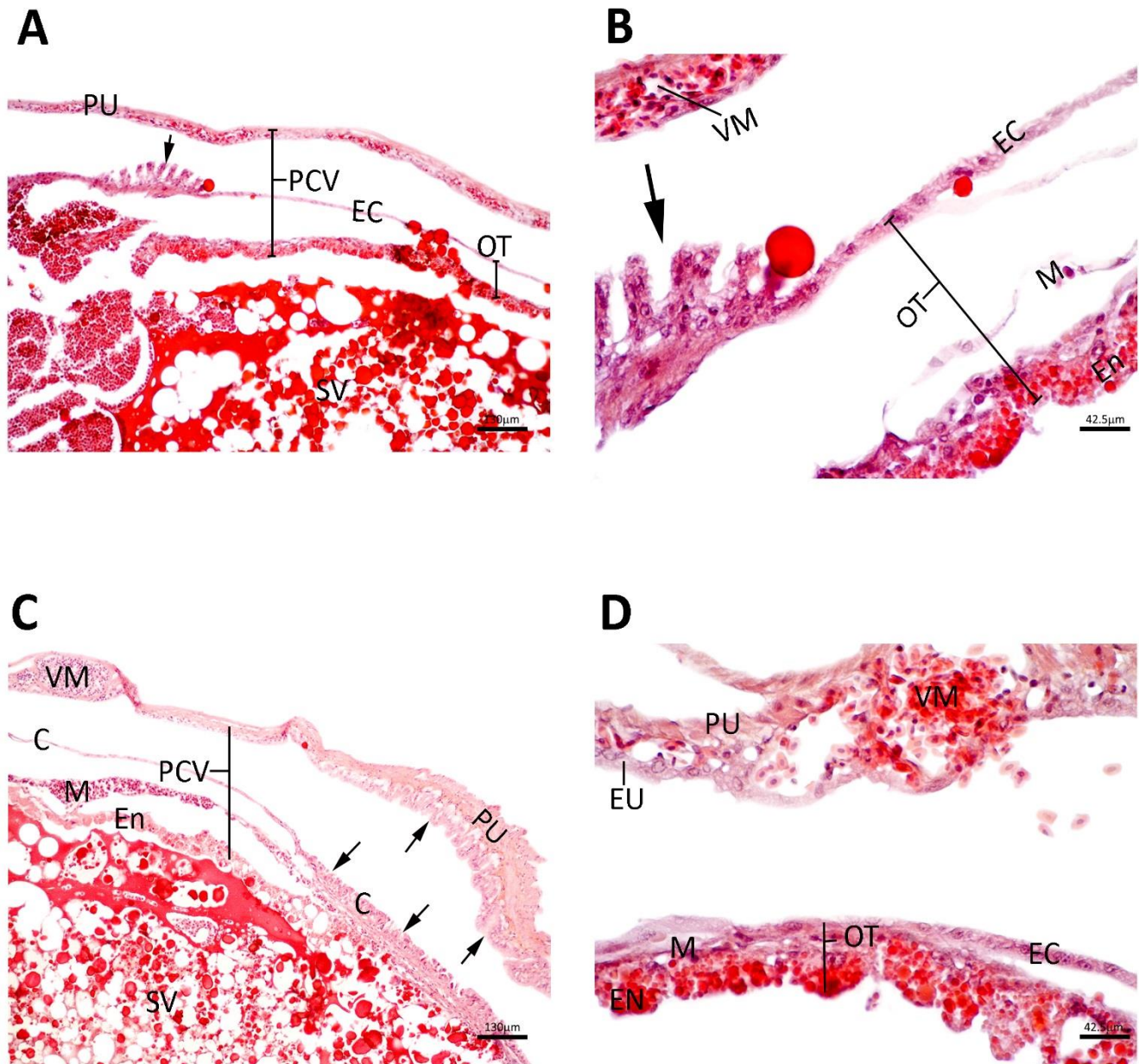


Fig.6.- Placentación en el scincido *Plestiodon brevirostris* en el estadio 29. Placenta Coriovitelina. A. Estructura de la onfalopleura trilaminar (ectodermo, mesodermo y endodermo) en contacto con la vascularizada pared uterina. B. Detalle de la imagen anterior, note la irregularidad del ectodermo corionico y la formación de pliegues (flecha) C. Variación del epitelio corionico y la correspondencia o no con la pared uterina (Flechas). D. Detalle de la vascularización de la pared uterina en contacto con la onfalopleura trilaminar, note el cambio en las células del epitelio uterino. EC- Ectodermo corionico, EN- Endodermo, M- Mesodermo, PU- Pared uterina, PCV- Placenta coriovitelina, OT- Onfalopleura trilaminar, VM- Vaso sanguíneo materno. Tinción Hematoxilina-Eosina

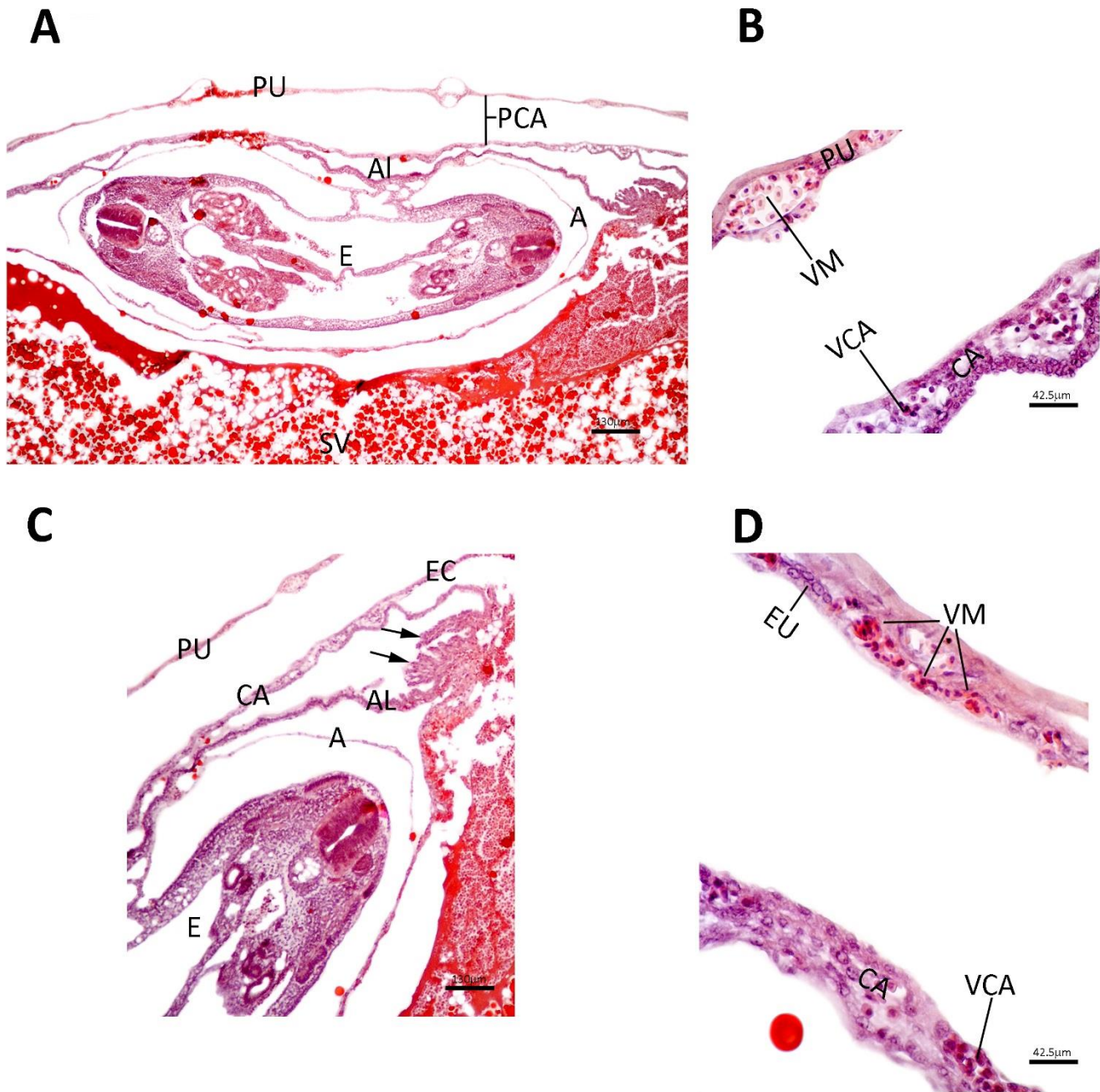


Fig. 7.- Placentación en el scincido *Plestiodon brevirostris* en el estadio 29. Placenta corioalantoidea. A. Desarrollo del alantoides hacia el celoma extraembrionario y su relación con el corion y la pared uterina. B. Detalle de una extremo de la imagen anterior y contacto de la membrana corioalantoidea con la vascularizada pared uterina. C. Pliegues internos hacia la cavidad del alantoides, contacto con el corion y formación de la membrana corioalantoidea. D. Pared uterina vascularizada y cambio del epitelio uterino en contacto con los vasos sanguíneos de la membrana corioalantoidea. A- Amnios, AL- Alantoides, EC- Ectodermo corionico, CA- Corioalantoides, E- Embrión, EU- Epitelio uterino, PCA- Placenta corioalantoidea, PU- Pared uterina, SV- Saco vitelino, VCA- Vaso del corioalantoides, VM- Vaso sanguíneo materno. Tinción Hematoxilina-Eosina

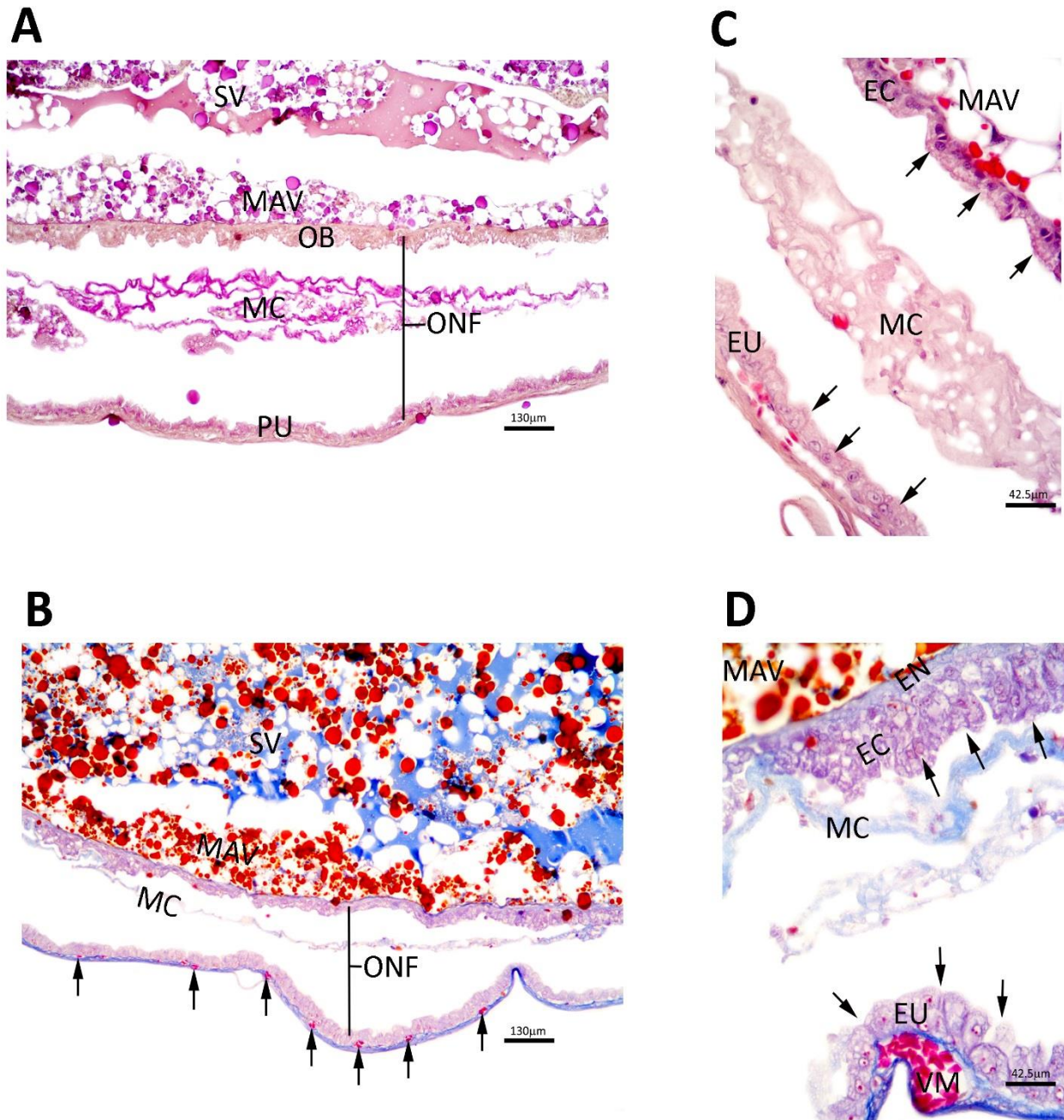


Fig. 8.-Placentación en el scincido *Plestiodon brevirostris* en el estadio 29. Onfaloplacenta. A. Acomodo espacial de los tejidos que forman la onfaloplacenta. B. Vascularización de la pared uterina (flechas). C y D. Cambio en la estructura de la onfaloplacenta. Las flechas muestran las diferencia en el epitelio corionico y uterino. EC- Ectodermo corionico, EN- Endodermo, EU- Epitelio uterino, MAV- Masa aislada de vitelo, MC- Membrana de la cascara, OB- Onfalopleura bilaminar, ONF- Onfaloplacenta, PU- Pared uterina, SV- Saco vitelino, VM- Vaso sanguíneo materno. A y C Tinción Hematoxilina-Eosina, B y D Tricromica de Mallory

ESTADIO 34. PLACENTA CORIOALANTOIDEA Y ONFALOPLACENTA

Los embriones en estadio 34 de desarrollo presentan miembros que cuentan con 5 dígitos bien diferenciados de la palma. El ojo tiene brotes escleróticos, y todas las hendiduras branquiales están cerradas, las aberturas nasales ya están formadas.

CORIOALANTOPLACENTA O PLACENTA CORIOALANTOIDEA

En esta etapa del desarrollo en el polo embrionario la corioplacenta y la placenta coriovitelina ya no son visibles. El alantoides en su desarrollo se ha extendido aún más por el celoma extraembrionario, quedando en estrecho contacto con el corion y organizando así una mayor área de la placenta corioalantoidea tipo I (Fig. 9A, B). Este tipo placentario se extiende hasta donde llega el alantoides, un poco por debajo del nivel del ecuador de la cámara embrionaria y los tejidos que la constituyen son sumamente delgados; la membrana corioalantoidea presenta vasos sanguíneos de diferente calibre y la pared uterina que contacta con la membrana corioalantoidea también presenta vasos sanguíneos de diferentes tamaños, aunque en su mayoría son pequeños (Fig. 10A-C). El epitelio de la membrana corioalantoidea, como de la pared uterina, es cúbico bajo simple o escamoso, especialmente en la zona de contacto de los vasos sanguíneos (Fig. 10B y C); además es continuo hasta la región por debajo del ecuador de la cámara embrionaria, la superficie de ambas fases es lisa, a diferencia del estadio 29 en donde el útero y la membrana corioalantoidea presentaba en algunas regiones pliegues que se correspondían en ambos tejidos (Fig. 5A, 6C).

ONFALOPLACENTA

En el polo abembrionario se conservan los tejidos que estructuran la onfaloplacenta (Fig. 9B), pero estos tienen cambios importantes. Por debajo del ecuador de la cámara embrionaria en donde inicia este tipo placentario la onfalopleura bilaminar limitante de la masa aislada de vitelo muestra un epitelio coriónico simple, que va de cúbico en la circunferencia por debajo del ecuador y se transforma a cúbico alto o columnar

especialmente en el polo opuesto al embrión (Fig. 11A, B). El epitelio coriónico se hipertrofia, las células aumentan de volumen drásticamente y algunas son binucleadas, en otros sitios el epitelio coriónico forma algunos pliegues, en otros se engruesa y tiene un aspecto de epitelio estratificado (Fig. 11C y F-G). Las células del endodermo de la onfalopleura bilaminar forman una capa discontinua en la base del ectodermo coriónico que se une a la capa aislada de vitelo (Fig. 11G). El epitelio de la pared uterina correspondiente, también cambia a partir de donde se forma la masa aislada de vitelo, muestra células cúbicas, que cambian a cúbicas hipertrofiadas y conforme avanza hacia la parte media de la cámara embrionaria se transforman a columnares altas (Fig. 11C-F). La pared uterina se encuentra bien vascularizada por vasos sanguíneos de variable diámetro (Fig. 11 B, D, E). Es evidente que entre la onfalopleura bilaminar y el epitelio uterino, predominantemente en dos zonas laterales aún quedan algunos restos de la membrana de la cáscara, aunque hay otros puntos en los que también se observan restos (Fig. 11 A, B) los cuales han sido degradados y pareciera que son reabsorbidos por ambos epitelios, el coriónico y el uterino (Fig. 11 E-H). Algunas células de la onfalopleura bilaminar (ectodermo coriónico) y de la pared uterina, presentan en el interior de su citoplasma un material con la misma afinidad tintórea que los pequeños restos de la membrana de la cáscara, evidentes por su afinidad con la técnica de PAS (Fig. 11F-H).

El saco vitelino se ha reducido y presenta una rica vascularización derivada de la esplacnopleura e incluso llega a tener vasos sanguíneos de gran tamaño. En el polo abembrionario el mesodermo intravitelino que se encuentra justo por encima de la masa aislada de vitelo se encuentra muy vascularizado (Fig. 11 A-C).

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

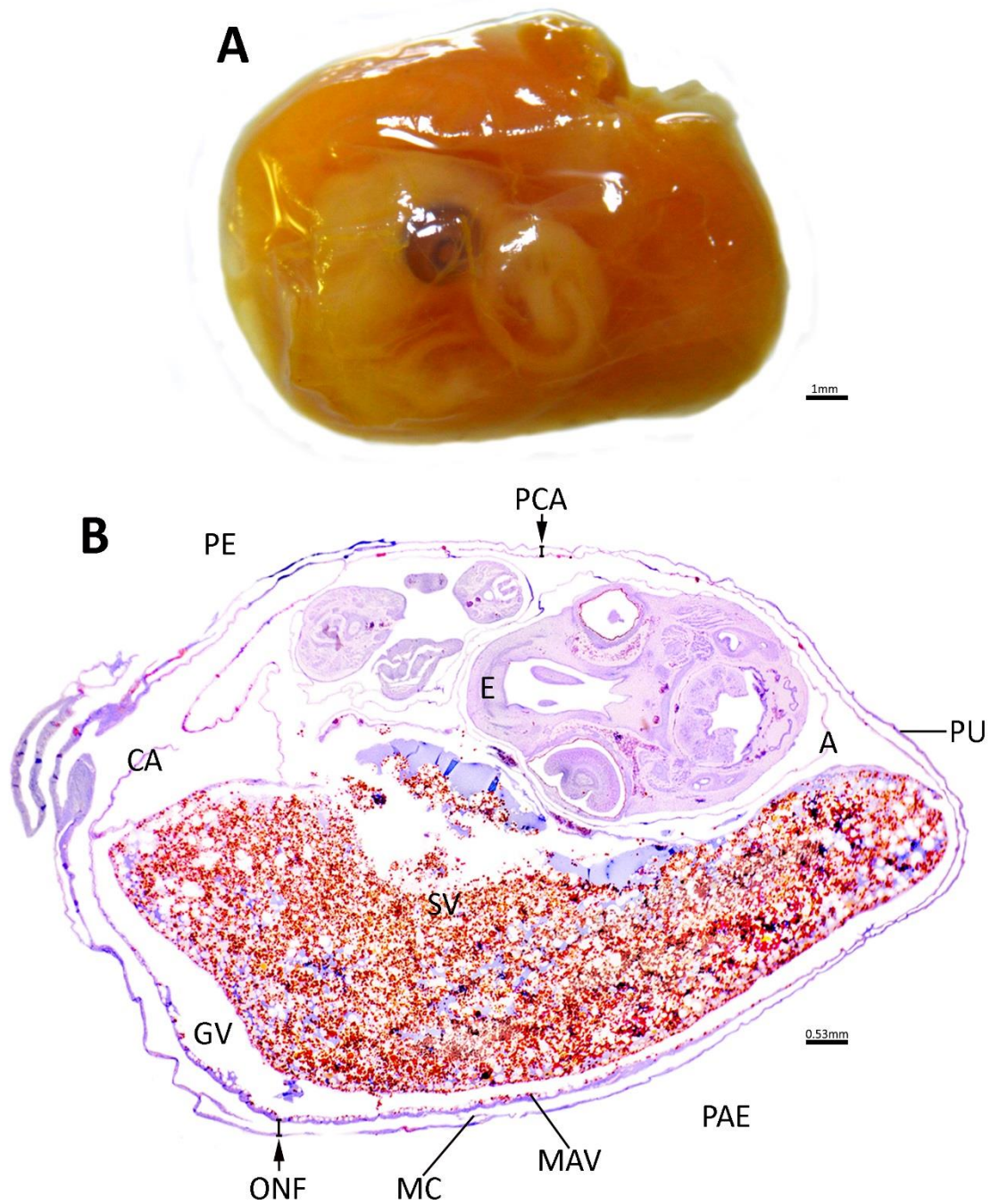


Fig. 9.- Placentación en el scincido *Plestiodon brevirostris* en el estadio 34. Placenta corioalantoidea y Onfaloplacenta. A. embrión en desarrollo dentro de la cámara embrionaria. B. Corte sagital de la cámara embrionaria, en donde puede verse la ubicación de los polos embrionario y abembrionario, los anexos extraembrionarios y los tipos placentarios que se forman en cada una de estas zonas. A- Amnios, CA-Corioalantoides, E- Embrión, GV- Grieta vitelina, MAV- Masa aislada de vitelo, MC- Membrana de la cáscara, ONF- Onfaloplacenta, PAE- Polo abembrionario, PCA- Placenta corioalantoidea, PE- Polo embrionario, PU- Pared uterina, SV- Saco vitelino. Tinción tricromica de Mallory

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

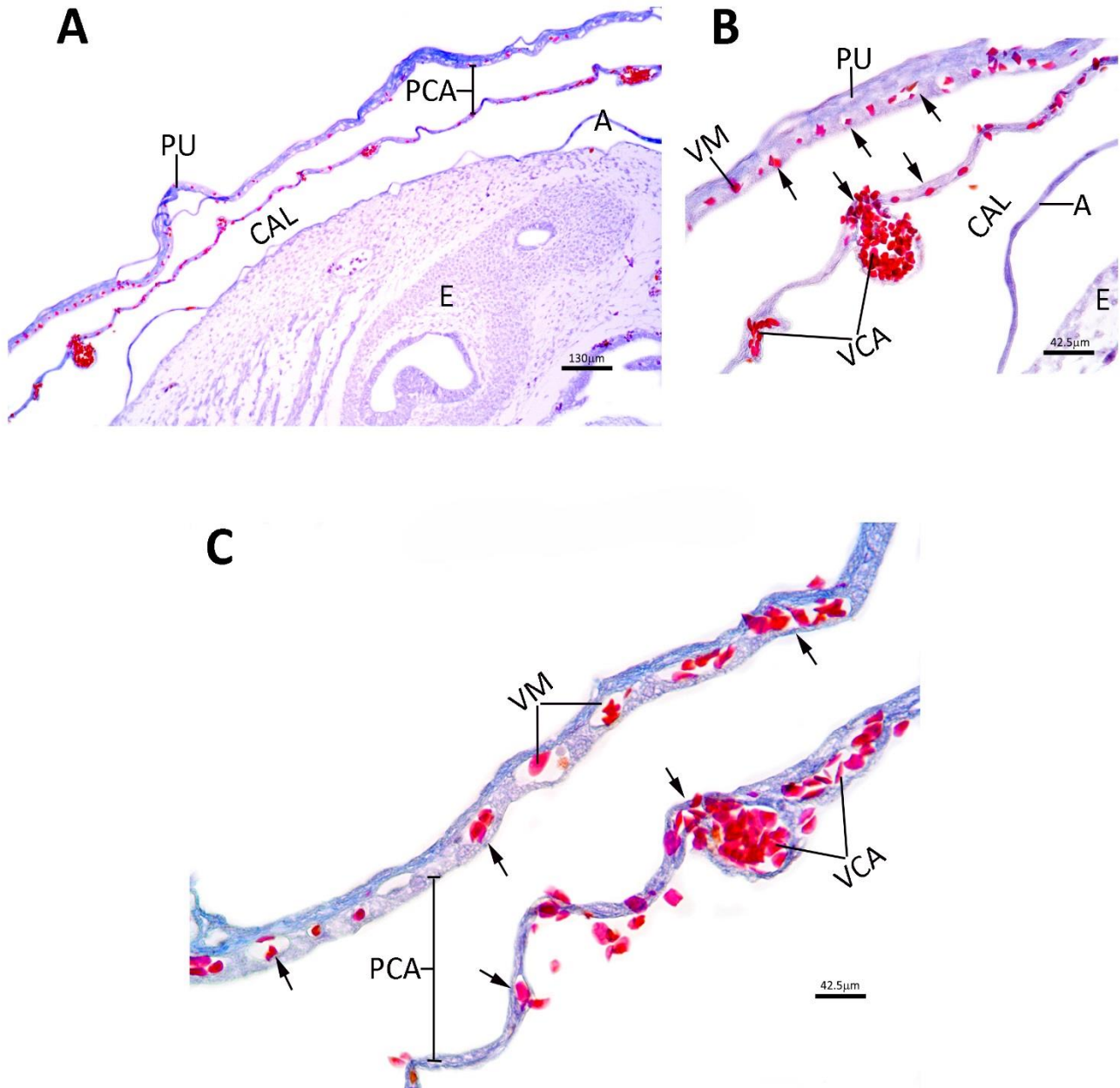


Fig. 10. Placentación en el scincido *Plestiodon brevirostris* en el estadio 34. Placenta corioalantoidea. A. Membrana corioalantoidea en contacto con la pared uterina estructurando así la placenta corioalantoidea Tipo I. B. Detalle de un extremo de la placenta corioalantoidea. Note la rica vascularización en la pared uterina y la membrana corioalantoidea (flechas). C. Zonas de contacto y vascularización de la placenta corioalantoidea. A- Amnios, CAL- Cavity del alantoides, E- Embrión, PU- Pared uterina, PCA- Placenta corioalantoidea, VM- Vaso sanguíneo materno. VCA- Vaso sanguíneo corioalantoideo. Tinción Tricrómica de Mallory

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

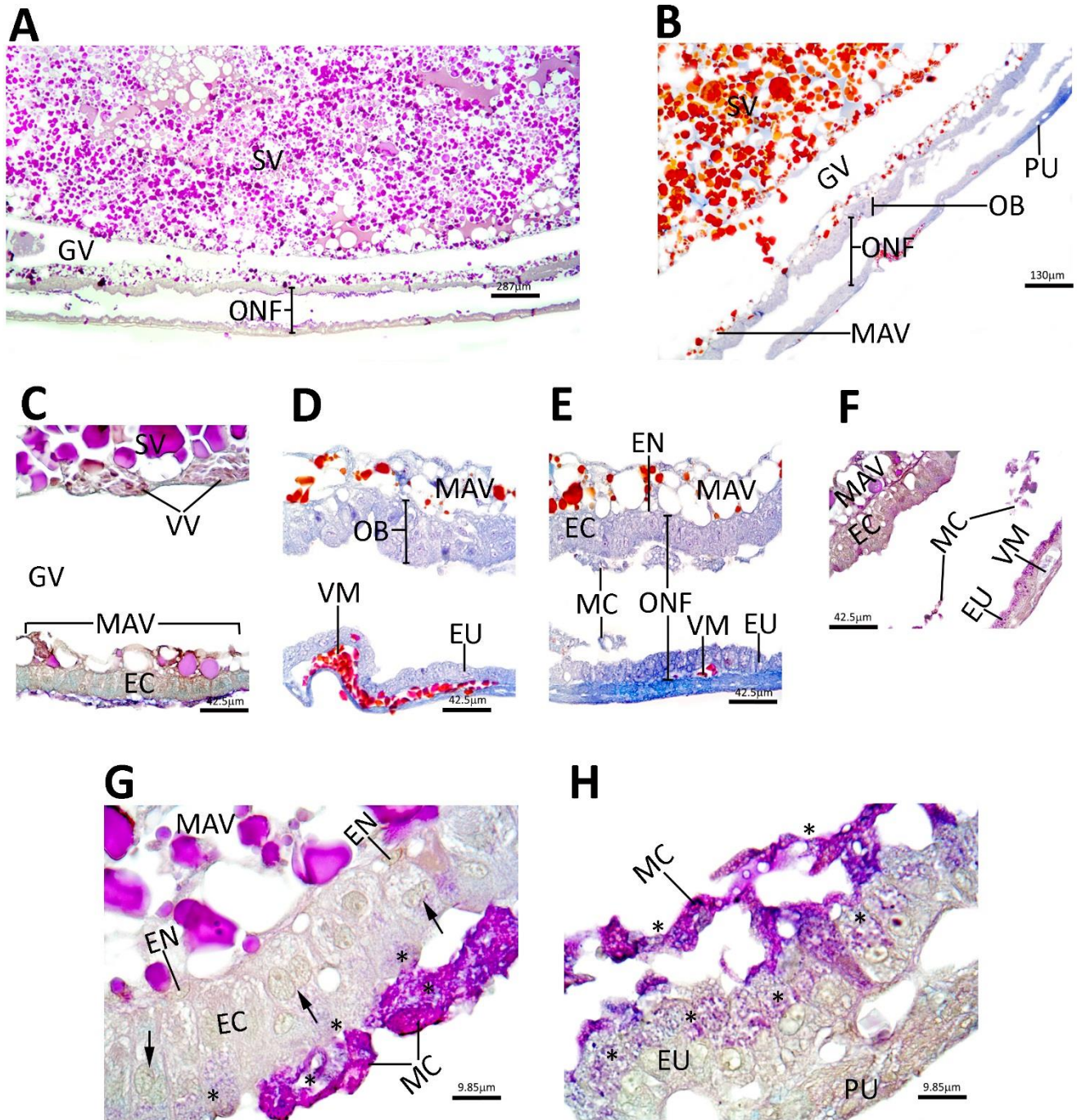


Fig. 11.- Placentación en el scincido *Plestiodon brevirostris* en el estadio 34. Onfaloplacenta. A. y B. Región central de la onfaloplacenta en el polo abembrionario. C. - F. Cambios en el epitelio coriónico y epitelio uterino correspondiente en la onfaloplacenta. G. Masa aislada de vitelo y epitelio coriónico hipertrofiado con algunas células binucleadas (flechas). H. Note la relación entre la membrana de la cascara y el epitelio uterino. Los asteriscos muestran la similitud por la afinidad al colorante entre la membrana de la cascara y el citoplasma de las células del ectodermo corionico y el epitelio uterino. EC- Ectodermo corionico, EN- Endodermo, EU- Epitelio uterino, GV- Grieta vitelina, MAV- Masa aislada de vitelo, MC- Membrana de la cascara, OB- onfalopleura bilaminar, ONF- Onfaloplacenta, PU- Pared uterina, SV- Saco vitelino, VM- Vaso sanguíneo materno, VV- Vaso vitelino. Tinción A,C,F,G,H PAS; B,D,E Tricrómica de Mallory

ESTADIO 36. PLACENTA CORIOALANTOIDEA Y ONFALOPLACENTA

En los embriones en desarrollo de este estadio es importante notar que la membrana entre los dígitos se acorta. Desaparece gradualmente de la punta externa de los dedos hacia la parte interna de estos y ocurre más rápidamente en las extremidades posteriores. Los dedos son ligeramente ondulados y muestran un esbozo de las garras y hay una concentración importante de pigmento en el esbozo de las garras del dedo anular. Se inicia la diferenciación de las escamas en el cuerpo, excepto en la cabeza (Fig. 12A).

CORIOALANTOPLACENTA O PLACENTA CORIOALANTOIDEA

En esta etapa el alantoides se ha desarrollado y extendido en el celoma extraembrionario y ocupa un poco menos de dos tercios de este espacio. La membrana corioalantoidea está en estrecho contacto con la pared uterina por lo que en el polo embrionario solo se observa la placenta corioalantoidea (Fig. 12 B). En este estadio de desarrollo embrionario es evidente el incremento en la vascularización de los tejidos que estructuran este tipo placentario (Fig. 13 A, B), el epitelio uterino es escamoso, de tal forma que los vasos sanguíneos quedan en estrecho contacto con los vasos sanguíneos del corioalantoides (Fig. 13 C- E).

ONFALOPLACENTA

En el polo abembrionario la estructura de la onfaloplacenta es similar al estadio 34, aunque es evidente una reducción en el grosor de la masa aislada de vitelo (Fig. 14 A). El epitelio coriónico limitante de la región central de la onfaloplacenta es cúbico y las células incrementan en volumen (Fig. 14 B, C), pero en los extremos es cúbico bajo y en algunos sitios plano o escamoso (Fig. 14 D, E). En el saco vitelino se ha incrementado la vascularización y son evidentes los vasos sanguíneos de la esplacnopleura en la periferia. La membrana de la cáscara ha sido reabsorbida y solo quedan algunos restos entre las células del ectodermo coriónico y la pared uterina. Hay un incremento en la vascularización de la pared uterina y el epitelio limitante va de cúbico a cúbico bajo o plano especialmente en los sitios donde se observan los vasos sanguíneos (Fig. 14B, C).

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

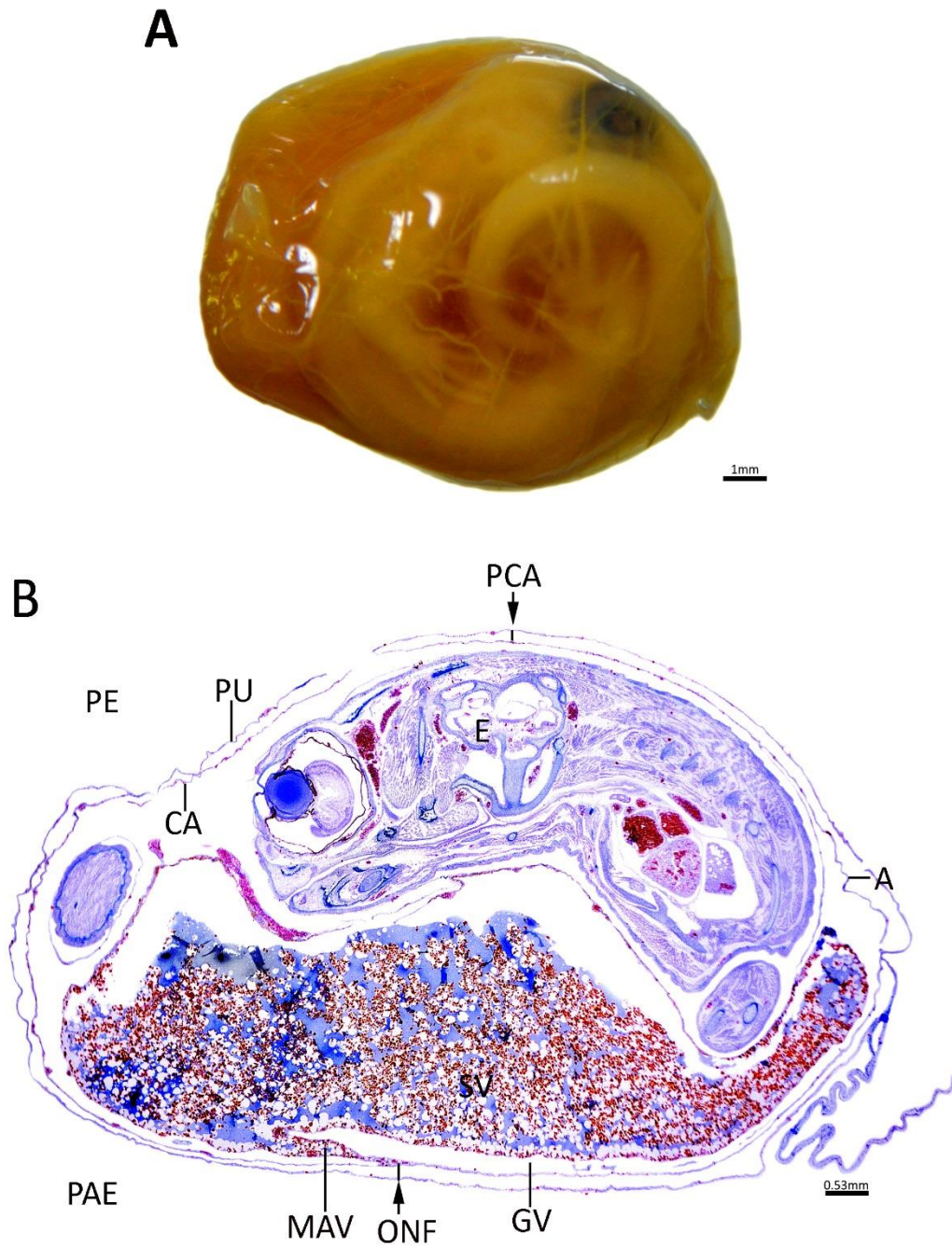


Fig. 12.-Placentación en el scincido *Plestiodon brevirostris* en el estadio 36. Placenta corioalantoidea y Onfaloplacenta. A. Embrión en desarrollo dentro de la cámara embrionaria. B. Corte sagital de la cámara embrionaria en donde se nota la ubicación de los polos embrionario y abembrionario, los anexos extraembrionarios y los tipos placentarios que se forman en cada una de estas zonas. A- Amnios, CA- Corioalantoides, E- Embrión, GV- Grieta vitelina, MAV- Masa aislada de vitelo, ONF- Onfaloplacenta, PAE- Polo abembrionario, PCA- Placenta corioalantoidea, PE- Polo embrionario, PU- Pared uterina, SV- Saco vitelino. Tinción Tricromica de Mallory

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

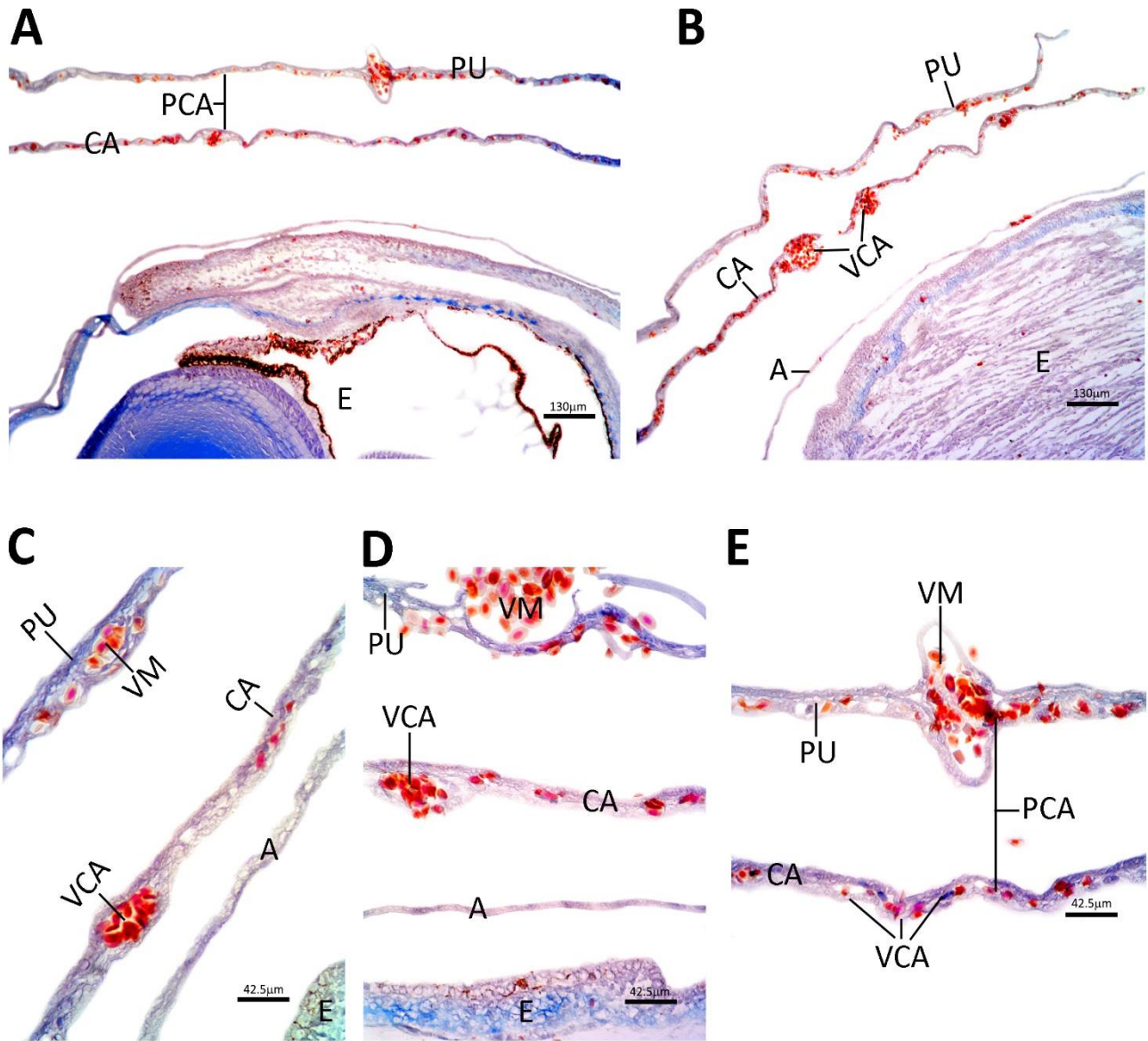


Fig. 13.- Placentación en el scincido *Plestiodon brevirostris* en el estadio 36. Placenta Corioalantoidea. A, B Membrana corioalantoidea en contacto con la pared uterina estructurando la placenta corioalantoidea. Note el incremento en la vascularización de ambos tejidos. C-E Detalle de algunas regiones de la placenta corioalantoidea, en donde es evidente el epitelio uterino plano, la rica vascularización y la proximidad de los tejidos. A- Amnios, E- Embrión, CA- Corioalantoides, PCA- Placenta corioalantoidea, PU- Pared uterina, VM- Vaso Sanguíneo Materno, VCA- Vaso sanguíneo corioalantoideo. Tinción tricrómica de Mallory

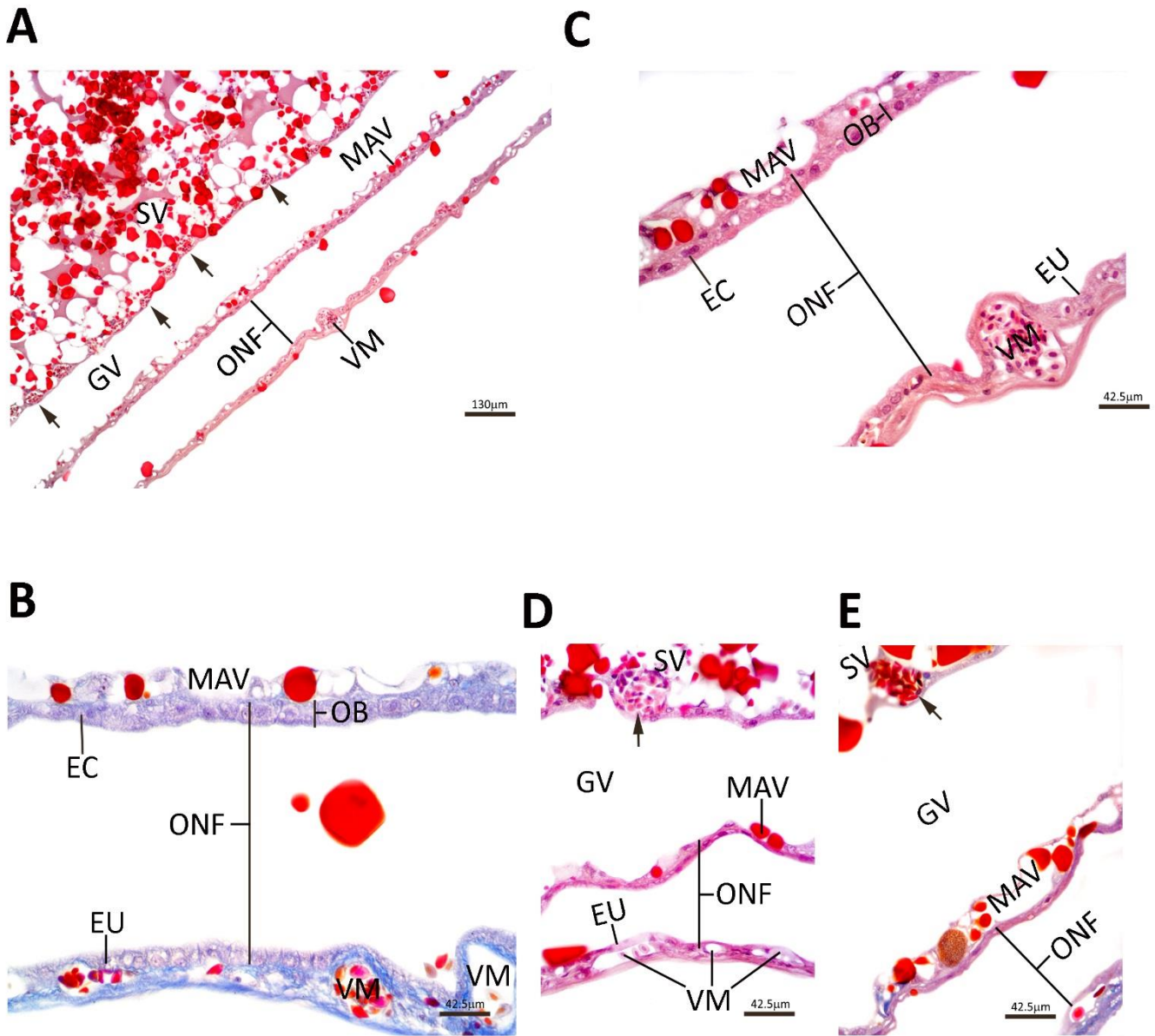


Fig. 14.- Placentación en el scincido *Plestiodon brevirostris* en el estadio. 36. Onfaloplacenta. Detalle en el cambio del epitelio uterino y en la onfalopleura bilaminar. A. Región central de la onfaloplacenta. B. Acercamiento de un extremo de la imagen anterior, note el tipo de epitelio limitante de la onfalopleura bilaminar y de la pared uterina. C. Detalle de la onfaloplacenta en la región central. D. E. Detalle de los extremos de la onfaloplacenta, note el cambio en la estructura del epitelio coriónico y uterino. Las flechas muestran la vascularización de la esplacnopleura. EC- Ectodermo coriónico, EU- Epitelio uterino, GV-Grieta vitelina, MAV- Masa aislada de vitelo,OB-Onfalopleura bilaminar ONF- Onfaloplacenta, SV- Saco vitelino, VM- Vaso sanguíneo materno. Tinción A, C, D, Hematoxilina-Eosina. B y E Tricrómica de Mallory

ESTADIO 40. PLACENTA CORIOALANTOIDEA Y ONFALOPLACENTA

En las crías en desarrollo en este estadio las escamas del cuerpo y de las extremidades están completamente diferenciadas y muestran una clara pigmentación, siendo evidente que empiezan a adquirir la pigmentación que presentarán al nacer. Las escamas de la mandíbula inferior y cefálicas son completamente diferenciadas (Fig. 15A).

CORIOALANTOPLACENTA O PLACENTA CORIOALANTOIDEA

En el polo embrionario el alantoides se ha extendido aún más por el celoma extraembrionario y ocupa más de dos tercios de la cámara embrionaria por lo que la placenta corioalantoidea ocupa esta gran área (Fig. 15B). Los tejidos maternos y embrionarios que estructuran este tipo placentario son sumamente delgados y es evidente el incremento de la vascularización con vasos sanguíneos de diferentes calibres (Fig. 16A, B). El epitelio uterino es muy bajo casi escamoso especialmente en las zonas donde hay vasos sanguíneos, pareciera ser que estos se abren paso entre las células epiteliales y quedan en estrecho contacto con los vasos del corioalantoides (Figs. 16C, D; 17A). En la membrana del amnios también es evidente la vascularización en algunas zonas, debido a la fusión de esta membrana con la membrana interna del alantoides produciendo lo que se conoce como alantoamnios (Fig. 16D). Cabe resaltar que en este estadio de desarrollo es posible identificar tanto la sangre materna como la sangre embrionaria, ya que específicamente con la tinción tricrómica de Mallory, se distingue fácilmente cada una de ellas, porque se muestra en dos tonos de rojo por la diferente tinción de los eritrocitos (Figura 16C). Así mismo en las zonas donde el alantoides se ha extendido hacia el polo abembrionario y que queda en contacto con el saco vitelino es evidente notar la rica vascularización de la membrana corioalantoidea como de la pared uterina (Fig. 17B, C).

ONFALOPLACENTA

Debido al desarrollo y extensión del alantoides hacia el polo abembrionario, el área que ocupa la onfaloplacenta se ve reducida (Fig. 15 B). Es además evidente un cambio en su

estructura, especialmente se nota que la masa aislada de vitelo se reduce aún más, solo se observan pequeñas gotas de vitelo en algunas regiones aisladas entre sí (Fig. 18A, B). Las células del ectodermo coriónico limitantes de la masa aislada de vitelo en los extremos de la onfalopleura bilaminar, son completamente escamosas, solo se alcanzan a ver sus núcleos aplanados y en la pared uterina correspondiente sobresalen los vasos sanguíneos. Cabe hacer notar que en el saco vitelino también se ha incrementado la vascularización y las células de origen endodérmico que lo rodean son grandes, voluminosas y su citoplasma está completamente lleno de gotas de secreción, quedando en estrecho contacto con los vasos sanguíneos (Fig. 18A). Comparativamente con el estadio previo (36) el epitelio coriónico especialmente en la zona central de la onfaloplacenta va de tipo cúbico a cúbico alto (Fig. 18B), las células son más grandes y voluminosas, con los núcleos ubicados en diferente posición y algunas células son binucleadas, es sobresaliente un borde en cepillo en la cara apical este epitelio (Fig. 18C, D). Las células endodérmicas de la onfalopleura bilaminar permanecen en la base del epitelio coriónico en contacto con la capa aislada de vitelo como una hilera discontinua de células aplanadas o cúbicas (Fig. 18C, D, 19B, C). De la misma manera el epitelio uterino en contacto con esta zona presenta cambios importantes, las células cambian de cúbicas a cúbicas altas, especialmente en la zona central de la onfaloplacenta son cilíndricas con núcleos basales o centrales (Figs. 18B, C, D, 19B), así mismo es evidente también el borde en cepillo limitando este epitelio, pocos vasos sanguíneos sobresalen en esta zona y la pared muscular es delgada pero está bien definida (Fig. 18C, D). Es interesante hacer notar que el citoplasma de las células del epitelio uterino presenta gránulos con un aspecto muy similar a los restos de la membrana de la cáscara evidentes con la técnica de PAS-Azul de Alciano (Fig. 19 D). La membrana de la cáscara casi desaparece, son notables los restos de esta, especialmente en la región central de este tipo placentario, entre los tejidos maternos y embrionarios que estructuran la onfaloplacenta (Figs. 15B; 18B, D). Así mismo, es importante hacer notar que a pesar de que las crías en desarrollo ya se encuentran en estadio 40, el saco vitelino aunque se ha reducido, aun ocupa un área importante de la cámara embrionaria (Fig. 15 A), además hay un incremento importante en la vascularización del saco vitelino (Fig. 19 A).

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

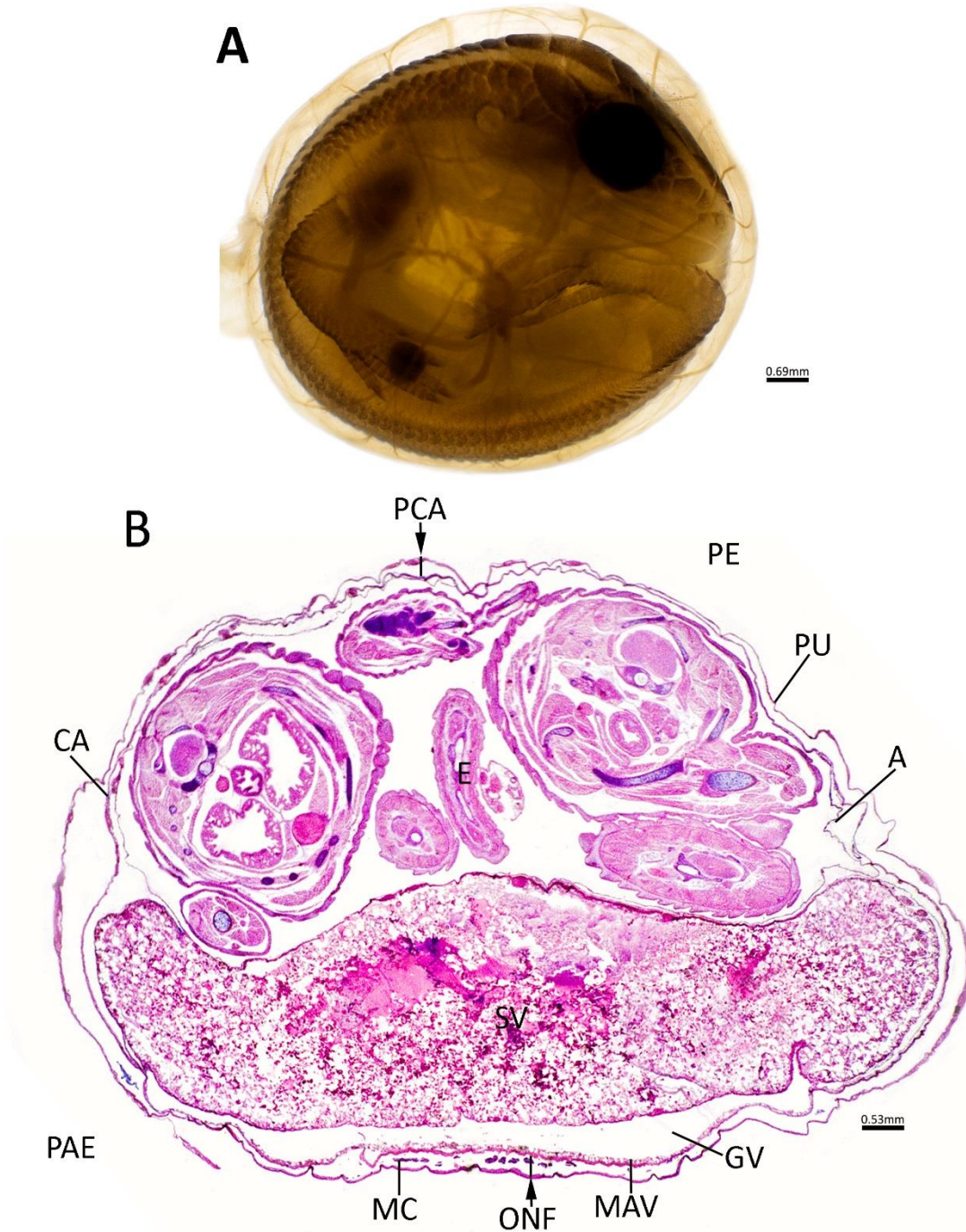


Fig.- 15.- Placentación en el scincido *Plestiodon brevirostris* en el estadio 40. Placenta corioalantoidea y Onfaloplacenta. A Embrión en desarrollo dentro de la cámara embrionaria. B Corte sagital de la cámara embrionaria en donde se nota la ubicación de los polos embrionario y abembrionario, los anexos embrionarios y los tipos placentarios que se forman en cada una de estas zonas. A- Amnios, CA- Corioalantoides, E- Embrión, GV- Grieta vitelina, MAV- masa aislada de vitelo, ONF Onfaloplacenta, PAE- Polo abembrionario, PCA- Placenta corioalantoidea, PE- Polo embrionario, PU- pared uterina, SV- Saco vitelino. Tinción de PAS- Azul de alciano

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevivrostris* (Squamata: Scincidae)

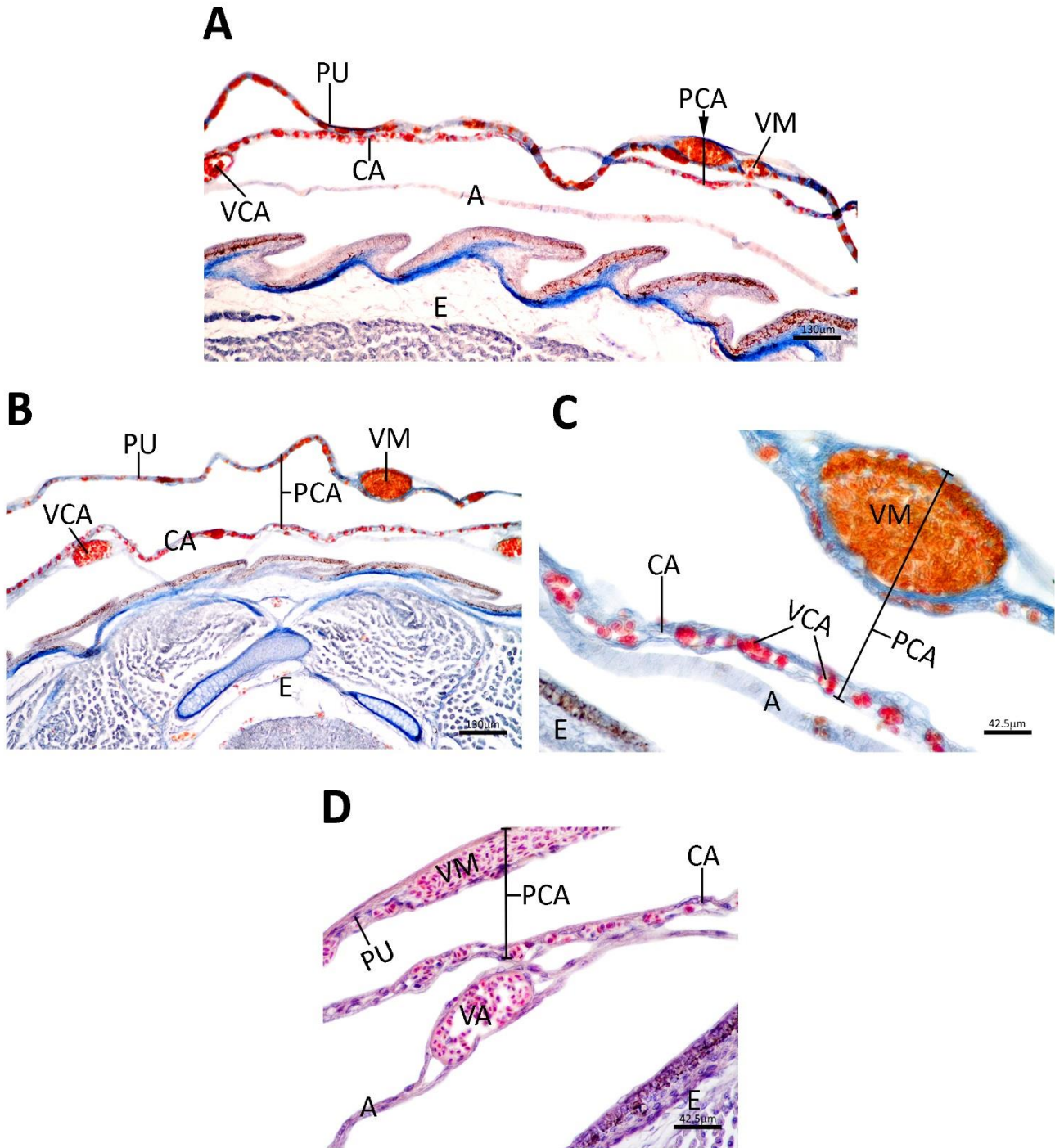


Fig. 16.- Placentación en el scincido *Plestiodon brevivrostris* en el estadio 40. Placenta corioalantoidea. A, B. Placenta corioalantoidea sobre la región dorsal de la cría en desarrollo en el polo embrionario. Note la rica vascularización y los vasos sanguíneos de diferentes calibres en la pared uterina así como en el corioalantoides. C. Detalle de la imagen B, en donde es evidente la cercanía de los vasos sanguíneos y la diferente afinidad tinteora entre la sangre materna y la fetal. D. Incremento en la vascularización de la placenta corioalantoidea, incluso en la membrana interna del alantoides en contacto con el amnios estructurando así el alantoamnios. A- Amnios, CA- Corioalantoides, E- Embrión, PCA- Placenta Corioalantoidea, PU- Pared Uterina, VA- Vaso sanguíneo Alantoideo, VM Vaso sanguíneo materno. Tinción A. B. C. Tricrómica de Mallory. D. Hematoxilina-Eosina

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

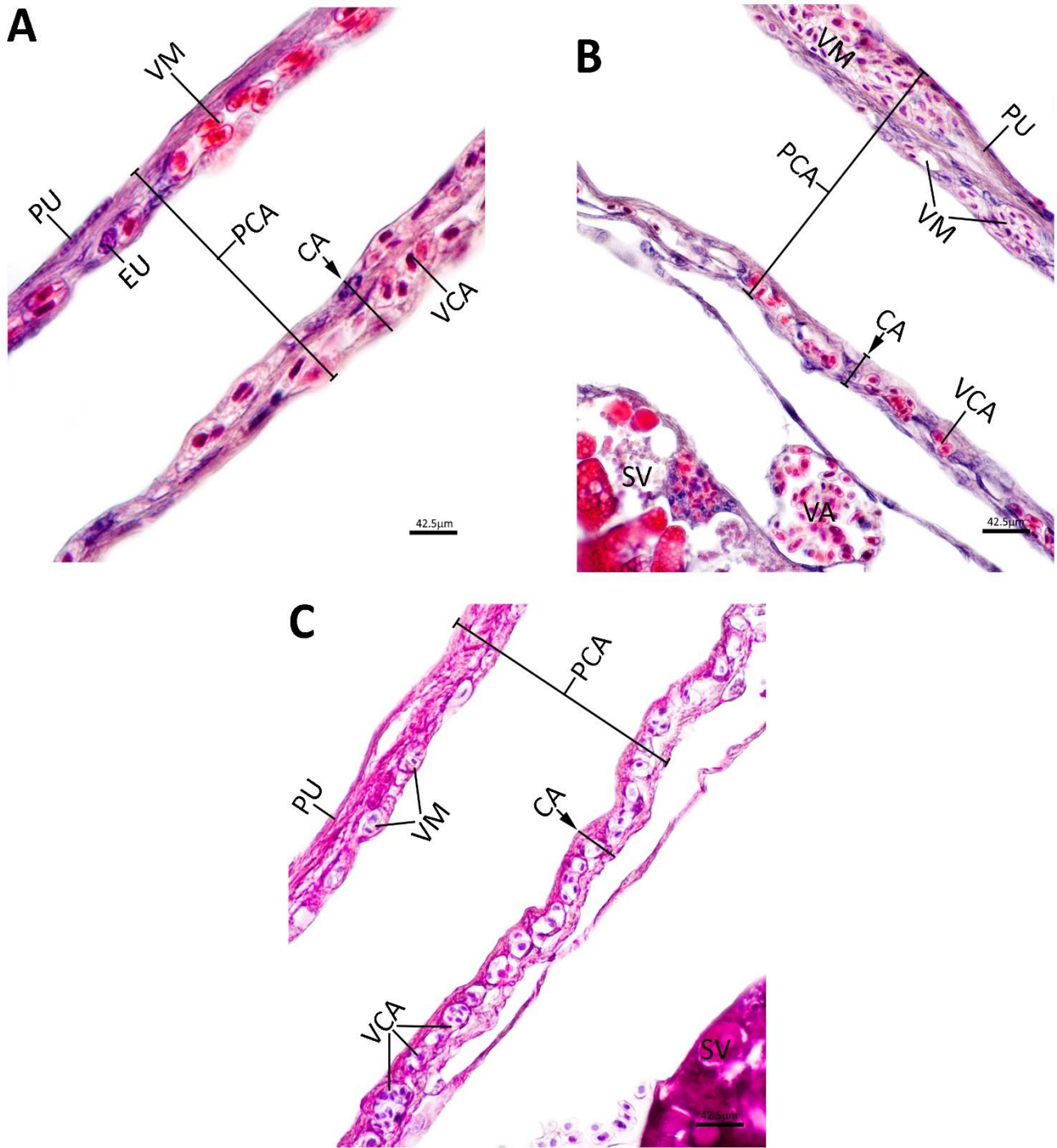


Fig. 17.- Placentación en el sincido *Plestiodon brevirostris* en el estadio 40. Placenta Corioalantoidea. A. Placenta corioalantoidea en el polo embrionario sobre la región dorsal de la cría, es evidente el incremento en la vascularización y la cercanía de los vasos sanguíneos, note el delgado epitelio uterino de tipo escamoso sobre los vasos sanguíneos. B y C Placenta corioalantoidea en contacto con el saco vitelino en la zona desplazada hacia el polo abembrionario, por debajo del ecuador, aun en esta zona es evidente la rica vascularización y la estrecha cercanía de los vasos sanguíneos. CA- Corioalantoides, EU- Epitelio Uterino, PCA- Placenta Corioalantoidea, PU- Pared Uterina, VCA- Vaso sanguíneo corioalantoideo, VM- Vaso sanguíneo mterno, SV- Saco Vitelino. A y B. Tinción Hematoxilina-Eosina. C. PAS

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

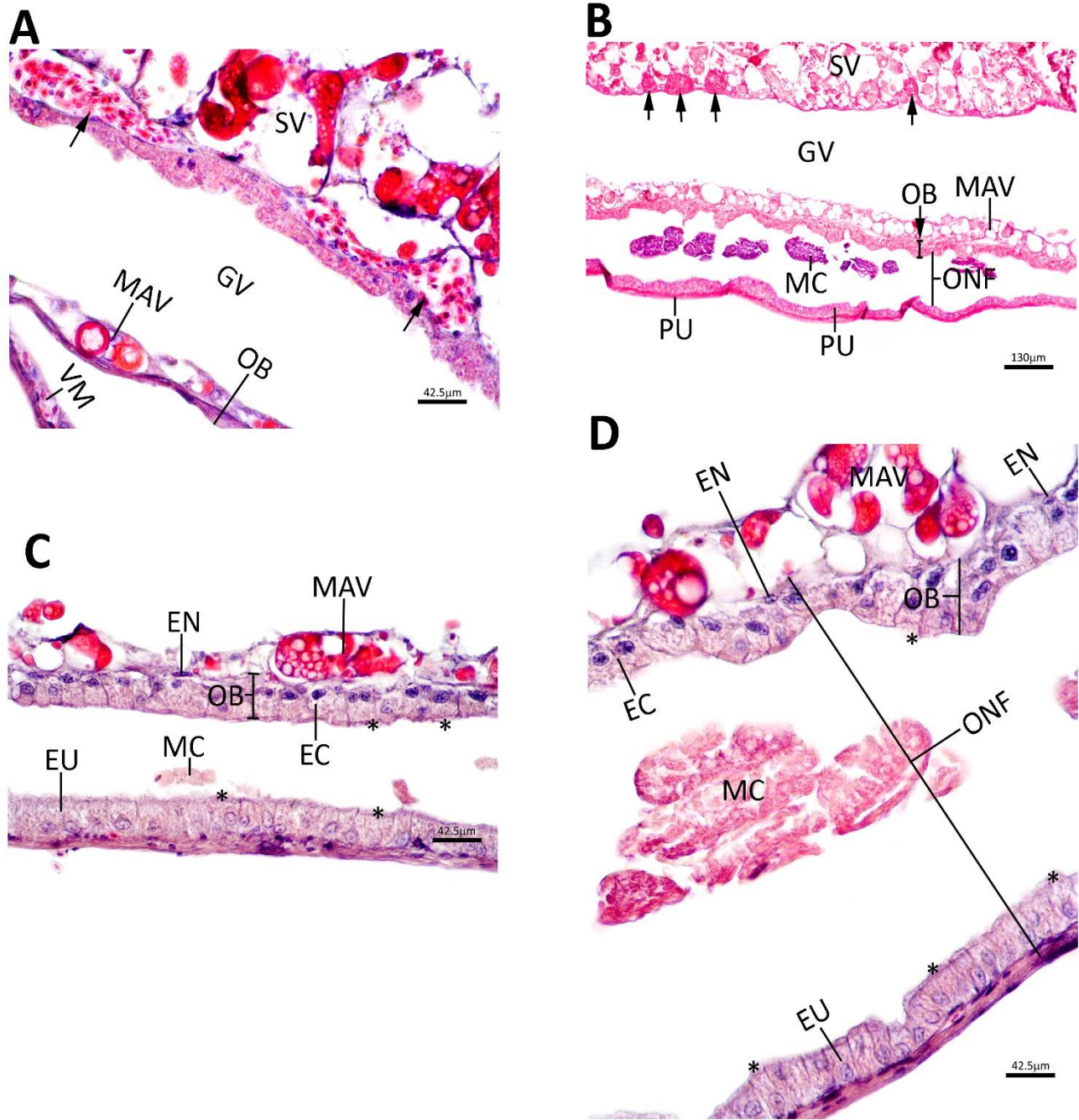


Fig.18.- Placentación del scincido *Plestiodon brevirostris*. Estadio 40. Onfaloplacenta. A. Reducción de la masa aislada de vitelo. Note el epitelio coriónico aplanado y la esplancopleura que rodea el saco vitelino sumamente vascularizado. B. Zona central de la onfaloplacenta que muestra el cambio a un epitelio cúbico alto. Las flechas muestran la vascularización del saco vitelino. C, D. Note las células endodérmicas pertenecientes a la onfalopleura bilaminar aplanadas o cubicas, además del cambio del epitelio cubico a cubico alto en esta zona central de la onfaloplacenta. Los asteriscos muestran el epitelio uterino y los bordes de cepillo que se forman en la parte central de la onfaloplacenta. EC- Ectodermo coriónico, EU- Epitelio uterino, GV- Grieta vitelina, MAV- Masa aislada de vitelo, MC- Membrana de la cascara, OB- Onfalopleura bilaminar, ONF- Onfaloplacenta, PU- Pared uterina, SV- Saco vitelino, VM- Vaso sanguíneo materno. A. B. C. D. Tinción Hematoxilina-Eosina

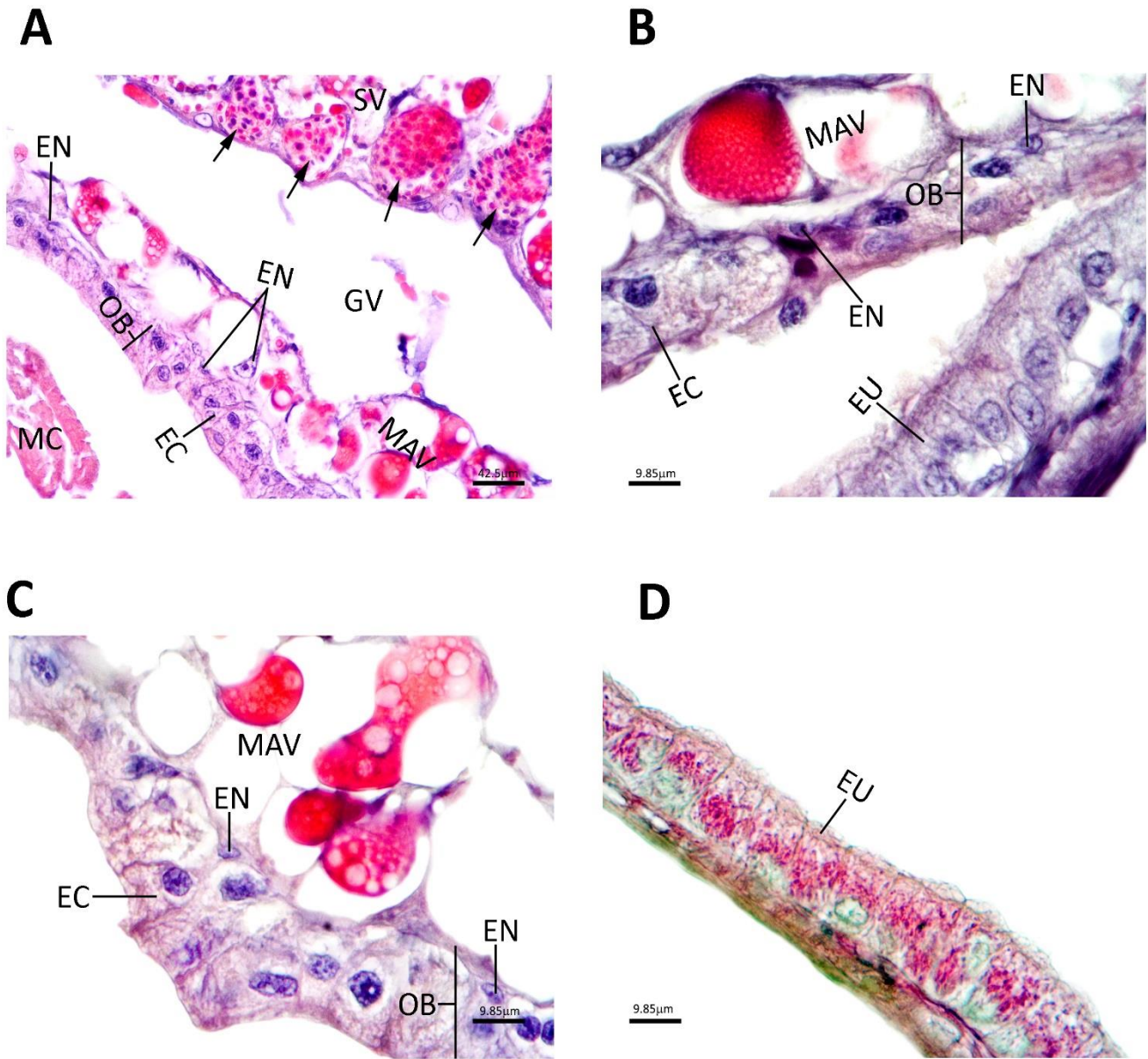


Fig. 19.- Placentación en el scincido *Plestiodon brevirostris*. Estadio 40. Onfaloplacenta. A. Nótese el cambio en las células ectodérmicas y endodérmicas de la onfalopleura bilaminar. Las flechas muestran la vascularización del saco vitelino. B. Muestra el tipo celular de la onfalopleura bilaminar, los núcleos del epitelio uterino y el borde de cepillo que este tiene. C. Las células endodérmicas que contactan la masa aislada de vitelo son muy aplanadas. D. Muestra las células del epitelio uterino que en su interior presentan gránulos de una coloración similar a los restos de la membrana de la cascara. EC- Ectodermo coriónico, EN- Endodermo, EU- Epitelio uterino, GV- Grieta vitelina, MAV- Masa aislada de vitelo, MC- Membrana de la cascara, OB- Onfalopleura bilaminar, SV- Saco vitelino. Tinción A. B. C. Hematoxilina-Eosina, D. PAS- Azul de Alciano

DISCUSIÓN

La evolución de la viviparidad reptiliana requiere de una relación funcional entre el embrión y el útero (Stewart, 1992) ya que de esta manera el embrión podrá obtener los nutrientes necesarios durante la gestación. La placentotrofia es un fenómeno relativamente raro entre los escamados vivíparos (Blackburn y Flemming, 2009) ya que muchas especies ovulan huevos con una cantidad grande de vitelo y son pocas las que ovulan huevos con cantidades mínimas de vitelo.

Los trabajos realizados en cuanto al desarrollo de membranas extraembrionarias en escamados son extensos, algunos realizados en serpientes, pero en su mayoría estos trabajos se centran en dos familias, la familia Phrynosomatidae y la familia Scincidae. En la familia Scincidae está bien documentada la variedad de tipos placentarios en especies del viejo mundo y para el continente Americano solo se tienen algunos reportes de especies del género *Mabuya*.

La presente investigación abordó la ontogenia de la placenta en el scincido mexicano *P. brevirostris*, en donde fue posible determinar las características del embrión en desarrollo desde el estadio 4 y seguir la secuencia de desarrollo de la relación materno fetal hasta estadios avanzados 29, 34, 36 y 40.

La placentación en este scincido comprende cuatro tipos placentarios, la corioplacenta y la placenta coriovitelina que son transitorias a lo largo del desarrollo y la placenta corioalantoidea y onfaloplacenta que a partir de que se forman se mantienen hasta el fin de la gestación.

Segmentación

Los tejidos maternos y fetales generalmente están separados por un remanente de la membrana de la cascara, lo que lleva a los primeros investigadores a concluir que los escamosos vivíparos no son verdaderamente placentados o vivíparos (Giacomini, 1906; Kasturirangan, 1951; Bellairs, 1970). La investigación contemporánea ha resuelto esa cuestión al mostrar que la asociación estructural-funcional de los tejidos maternos y fetales

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

en los escamosos vivíparos, cumple los criterios de placentación, independientemente de la cantidad de suministro de nutrientes que estén involucrados (Blackburn, 1992; 2006).

En *Plestiodon brevirostris* el estadio de desarrollo más temprano determinado fue el de segmentación, y se observa como un pequeño disco de blastómeros sobre la gran masa de vitelo determinando así la regionalización de los polos embrionario y abembrionario en el huevo. La región más gruesa del disco embrionario está estructurado de 6 a 7 capas de células y en la periferia podemos encontrar que está formada por una capa que va de una o dos células. Esto coincide con el scincido *Trachylepis ivensi* en esta misma etapa de desarrollo (Blackburn y Fleming, 2012).

El vitelo está formado por pequeñas gotas que no son totalmente continuas. En *T. ivensi* se menciona que se puede observar una capa acelular que forma la membrana vitelina, la cual es muy visible en el polo abembrionario. En *P. brevirostris*, la membrana vitelina solo se observa en una pequeña parte del polo embrionario, justo en el límite del disco embrionario, en el resto del huevo no se distingue claramente, ya que el útero, membrana de la cascara y vitelo se encuentran estrechamente unidas. En ambas especies esta membrana vitelina no se encuentra por encima del disco embrionario. La membrana de la cáscara formada por una capa hialina afín al reactivo de Shiff (se tiñe con la técnica de PAS), en ambos casos esta membrana de la cáscara forma un límite ininterrumpido alrededor de todo el huevo, lo que coincide con *T. ivensi* (Blackburn y Fleming, 2012).

En *P. brevirostris* el epitelio del útero no es muy visible (tal vez formado por células escamosas), los núcleos solo son fácilmente observables en algunas regiones. Los vasos sanguíneos son evidentes en toda la periferia de la pared uterina que contacta con el embrión en desarrollo, aunque estos son de un diámetro muy pequeño en comparación con los que se encontró en estadios más avanzados. En *T. ivensi* el revestimiento del epitelio uterino, está formado por una capa de células cúbicas y columnares, con regiones donde se observa una organización pseudoestratificada. Sus núcleos son muy grandes, debajo del epitelio los vasos sanguíneos son raramente observables, por lo tanto difiere de la estructura que presenta *P. brevirostris* en el epitelio y pared uterina.

Corioplacenta

Consideramos que en *Plestiodon brevirostris* la corioplacenta es el primer tipo placentario, que se forma por el contacto del corion con la pared uterina. Como en otros escamosos de esta familia esta placenta es transitoria. En el estadio de desarrollo embrionario 29 la corioplacenta se localiza en la región dorsal del embrión, a la periferia de la placenta corioalantoidea y contigua a la placenta coriovitelina. El ectodermo coriónico está constituido de células cúbicas, mientras que el epitelio simple que corresponde al útero es de tipo cubico bajo a escamoso. En otras especies de scincidos como los pertenecientes al género *Niveoscincus* este tipo de placenta se ha encontrado en estadios de desarrollo muy cercanos o similares. En la especie *Niveoscincus coventryi* en el estadio 30, el epitelio coriónico simple de la corioplacenta está compuesto de células cúbicas, mientras que el epitelio uterino difiere de *P. brevirostris* ya que está formado por células escamosas (Stewart y Thompson, 1998).

Para otra especie, *Niveoscincus ocellatus* (Stewart y Thompson, 2004) en el estadio 29 el ectodermo coriónico de esta placenta, está compuesta por células cúbicas bajas, mientras que el epitelio uterino está formado al igual que en *P. brevirostris* por células cúbicas simples. Cabe resaltar que otra similitud que existe entre especies del género *Niveoscincus* y *P. brevirostris*, es que en ninguna se registra la existencia de la membrana de la cáscara entre la membrana coriónica y el útero, en lo que corresponde al polo embrionario (Stewart y Thompson, 1998; Stewart y Thompson, 2004; Stewart y Thompson, 2009). Lo contrario sucede con dos especies en las que también se tiene el registro de la corioplacenta, en *Chalcides chalcides* en el estadio de faringula (Blackburn y Callard, 1997) y *Mabuya mabouya* en el estadio de neurula temprana (Jerez y Ramírez-Pinilla, 2003), los epitelios que corresponden al ectodermo coriónico y al útero se encuentran separados por la membrana de la cascara. Otra gran diferencia con estas últimas dos especies es que en *P. brevirostris* no se forman las siguientes estructuras de absorción o transporte histotrófico que si presenta *M. mabouya*, las cuales son, la placa de absorción en el polo embrionario, las placas laterales de absorción, las concavidades coriónicas y las bolsas o sacos coriónicos en el polo abembrionario. Esto se puede deber a que *P. brevirostris* es una especie que

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

contiene una gran cantidad de vitelo, por lo que gran parte del aporte de nutrientes proviene de este (lecitotrofia), mientras que los huevos de *M. mabouya* son de un tamaño muy pequeño y casi no contienen vitelo, de modo que el embrión debe de aprovechar de una manera más eficiente los nutrientes que puede aportar la madre (matrotrofia).

Placenta Coriovitelina

Dentro de las placentas derivadas del saco vitelino esta la placenta coriovitelina, esta es una estructura transitoria y solo ha sido observada en algunas especies de lacertilios (*Chalcides chalcides*, Blackburn y Callard, 1997; *Niveoscincus coventryi* y *Pseudemoia spenceri*, Stewart y Thompson, 1998; *Mabuya sp.*, Jerez y Ramírez Pinilla, 2003; *Lacerta vivipara*, Stewart et al, 2004; *Niveoscincus ocellatus*, Stewart et al, 2004; *Elgaria coerulea* [*Gerrhonotus coeruleus*], Stewart, 1985 *Liolaemus gravenhorsti*, Lemus y Badinez, 1967; *Sceloporus bicanthalis*, Guillette y Jones, 1985; *Sceloporus mucronatus*, Villagrán- Santa Cruz et al, 2005). La placenta coriovitelina en *P. brevirostris* se ubica contigua a la corioplacenta en la región dorsolateral del huevo en el polo embrionario, está estructurada por la onfalopleura trilaminar vascularizada y la pared uterina. El epitelio coriónico simple que la conforma muestra pliegues en algunas zonas y células cúbicas y escamosas en otras regiones, el epitelio uterino cúbico bajo simple cambia a escamoso en algunas regiones. Esto difiere con respecto a lo reportado para la especie *N. ocellatus* en el estadio 29, en la cual el epitelio embrionario de la placenta coriovitelina es estratificado (Stewart y Thompson, 2004), mientras que el epitelio que corresponde al útero contiene células cúbicas bajas. En *N. greeni* el útero cuenta con una gran red vascular que contiene células epiteliales con extensiones citoplasmáticas, mientras que el corion es una estructura muy delgada, la parte interna de la membrana coriovitelina está formada por una capa de grandes células endodérmicas (Stewart y Thompson, 2009). Para el scincido *N. microlepidotus* en el estadio 29 el epitelio de la membrana coriovitelina es variable pasando de células de forma irregular a células escamosas que quedan por encima del “sinus terminalis” (Stewart y Thompson, 2009).

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

Esta estructura al igual que la corioplacenta es reemplazada por la placenta corioalantoidea conforme avanza el desarrollo. Mientras el corioalantoides se desarrolla, la placenta coriovitelina representa el único tejido extraembrionario vascularizado, disponible para el intercambio gaseoso con el útero, por lo que es importante en el desarrollo temprano (Blackburn y Callard, 1997), este tipo placentario solo fue observado para *P. brevirostris* en el estadio de desarrollo 29, donde la corioalantoplacenta apenas se está expandiendo, por lo que posiblemente puede funcionar para el intercambio gaseoso.

Placenta Corioalantoidea

La placenta corioalantoidea o corioalantoplacenta en *P. brevirostris* en el estadio de desarrollo embrionario 29 ocupa aproximadamente una tercera parte del polo embrionario y se encuentra justo encima de la parte media del embrión en desarrollo. La placenta corioalantoidea es de estructura muy simple del Tipo I de acuerdo a la clasificación de Weekes, 1935 y de Blackburn, 1993a, implica una cercana aposición del corioalantoides y del epitelio uterino de manera que los vasos sanguíneos están en estrecho contacto, ya que la membrana de la cáscara desaparece en el polo embrionario. Conforme se desarrolla este tipo placentario sustituye a la corioplacenta y a la placenta coriovitelina e invade el espacio que ocupa el celoma extraembrionario. A partir de que se forma no es sustituida por alguna otra estructura y persiste hasta el final de la gestación, pero si es evidente el incremento en la vascularización de los tejidos maternos y embrionarios. La estructura y el tiempo de formación de este tipo placentario coincide con otras especies de scincidos del género *Niveoscincus*, por ejemplo, en el estadio 29 en *N. ocellatus* (Stewart y Thompson, 2004), en el estadio 30 en *N. coventryi* (Stewart y Thompson, 1998), en el 31 en *N. greeni* y *N. microlepidotus* (Stewart y Thompson, 2009), en la especie *Elamprus tympanum* (Adams et al, 2007) describen a este tipo de placenta en el estadio 29 como una cresta epitelial; Stewart y Thompson (1996) describen la placenta corioalantoidea en *Pseudemoia entrecasteauxii* a partir del estadio 30. Finalmente Flemming y Branch (2001) mencionan que observaron este tipo placentario en la especie *Eumecia anchietae* propiamente formada en el estadio 35 y consiste de una estructura muy simple. En ninguna de estas especies se

reporta la existencia de la membrana de la cascara entre la membrana corioalantoidea y el útero. La misma condición se observa en otras especies de lacertilios de la familia Phrynosomatidae como en *Sceloporus bicanthalis* (Guillette y Jones, 1985), *S. grammicus* (Villagrán, 1989); *S. mucronatus* (Villagrán- Santa Cruz *et al*, 2005) y *S. jarrovi* (Guillette *et al*, 1981)

El intercambio fisiológico de este tipo placentario que delinea la superficie del huevo puede incluir intercambio de oxígeno, bióxido de carbono y agua, ya que se sugiere que el corioalantoides es posiblemente el responsable del intercambio de gas tanto en la condición ovípara como vivípara (Blackburn, 1993).

Cabe resaltar que en comparación con otros Scincidos estudiados y clasificados como altamente matrotrofos, particularmente del Continente Americano, como es el caso de *Mabuya mabouya* (Jerez y Ramirez-Pinilla, 2003) la alantoplacenta se especializa para formar otras estructuras a partir del estadio 35-40 que no se observan en *P. brevirostris*, estas estructuras son: 1) una completa extensión de la vesícula alantóica en el exoceloma de la cámara embrionaria, 2) un epitelio coriónico biestratificado y regionalizado para la transferencia de nutrientes y el intercambio de gas, 3) un placentoma muy desarrollado en la etapa del parto, 4) un parapacentoma en el polo mesometrial, 5) aereolas coriónicas y 6) una alantoplacenta mixta en el polo abembrionico especializada en la transferencia de nutrientes y excreción de gas.

Onfaloplacenta

La onfaloplacenta es otra estructura derivada del saco vitelino, este tipo placentario está conformado por la interacción funcional entre la onfalopleura bilaminar de la masa aislada de vitelo y el epitelio uterino (Ramírez- Pinilla, 2010). Al igual que la placenta corioalantoidea, esta estructura también es definitiva, es decir, en *P. brevirostris* se observa a partir del estadio 29 y se continúa hasta la etapa final del desarrollo en el estadio 40.

La estructura de las células que conforman la onfaloplacenta en *P. brevirostris* cambian a lo largo de la gestación de tal manera que en el estadio 29 la onfalopleura

bilaminar cuenta con un endodermo compuesto por células escamosas, y un ectodermo con células columnares que forma pliegues en las regiones en donde aún se puede observar la membrana de la cascara, el epitelio uterino es columnar y la masa aislada de vitelo se observa fácilmente. Conforme se avanza en el desarrollo las células de la onfalopleura bilaminar principalmente las correspondientes al ectodermo coriónico cambian a columnares con células binucleadas, cúbicas altas y cúbicas bajas, en ocasiones llegando a formar pequeñas prolongaciones hacia el epitelio uterino. De acuerdo a lo observado, este epitelio nunca es continuo, sino que se encuentran distintos tipos de células a lo largo de la estructura. Algo similar ocurre con las células del endodermo que de ser cúbicas pasan a ser escamosas y el epitelio uterino cambia de tener células columnares a cúbicas, cúbicas hipertrofiadas, cubico bajo y en regiones células escamosas, de igual manera la vascularización cambia a lo largo de la gestación. Otro cambio evidente durante el desarrollo se da en la vascularización del saco vitelino, que en la etapa más temprana (estadio 29) no es muy notoria, pero conforme se observaron los estadios de desarrollo más avanzados, esta vascularización es más evidente, ya que los vasos sanguíneos son más abundantes y aumentaron su tamaño.

La onfaloplacenta ha sido descrita en otras especies de scincidos en el estadio 30 para *Pseudemoia entrecasteauxii* (Stewart y Thompson, 1996), en *N. coventryi* (Stewart y Thompson, 1998) se menciona como una onfaloplacenta incompleta en el estadio 30, en *N. ocellatus* se observa a partir del estadio 29 (Stewart y Thompson, 2004) en donde el epitelio coriónico es cúbico y el endodermo está formado por células escamosas, también esta descrita para las especies *N. greeni*, *N. microlepidotus* a partir del estadio 31 y en *N. pretiosus* en el estadio 37 (Stewart y Thompson 2009), en *Chalcides chalcides* (Blackburn, 1993b) se menciona que el epitelio de la onfalopleura bilaminar consta de una capa externa de células cúbicas a cilíndricas bajas y una capa interna de células escamosas, este epitelio de la onfalopleura forma papilas que se proyectan dentro del lumen uterino.

En algunas especies de lacertilios del género *Sceloporus* también ha sido descrita esta estructura como en *S. grammicus* (Villagrán-Santa Cruz, 1989) y en *S. mucronatus* (Villagrán-Santa Cruz *et al*, 2005) entre los estadios 10-28 se observa como las células

intravitelinas avanzan en el polo abembrionario a partir del “sinus terminalis”, y para los estadios 29-36 las células intravitelinas ya formaron la grieta vitelina y los límites de la masa aislada de vitelo, de esta manera la onfalopleura bilaminar que limita externamente la masa aislada de vitelo en aposición con la pared uterina constituye la onfaloplacenta. Esta región de la onfaloplacenta es un sitio importante en la transferencia de nutrientes (Stewart y Thompson, 2004).

Importancia de la placenta

Aunque la estructura de la placenta es relativamente bien conocida en scincidos, las diferencias en la función de los diferentes tipos de placenta simplemente se ha deducido a partir de la complejidad morfológica (Thompson et al., 2000). La mayoría de los reptiles vivíparos tienen poca complejidad de la placenta corioalantoidea (Stewart, 1992) y probablemente intercambian pocos nutrientes orgánicos a través de esta placenta.

De acuerdo con Weekes (1935) la principal función de la placenta corioalantoidea es el intercambio gaseoso. Esto se debe a la extrema aposición entre los vasos sanguíneos maternos y fetales (Thompson et al., 2004). Esto solo ocurre para especies con una placenta corioalantoidea simple o morfotipo Tipo I, como lo es en el caso de *P. brevirostris*, ya que para otras especies como *Pseudemoia sp.*, *Mabuya sp.* y *Eumecia sp.*, que presentan una placenta corioalantoidea con una región especializada llamada placentoma, el transporte de nutrientes al embrión es mayor. Esto puede estar bien explicado debido a que *P. brevirostris* es una especie lecitotrófica, mientras que las especies anteriormente mencionadas contienen una cantidad mínima de vitelo y son altamente matrotóxicas.

En contraste la onfaloplacenta en *P. brevirostris* posiblemente puede tener una mayor importancia en cuanto al intercambio de nutrientes entre la madre y el embrión. De igual modo, en especies lecitotróficas esta placenta es muy simple. Pero en algunos linajes como *P. entrecasteauxii*, el epitelio materno consiste de células columnares que cuentan con vesículas secretoras que aparentemente se transfieren al embrión vía histotrófica, y se describe que las células adyacentes a la onfaloplacenta son cúbicas (Thompson et al., 2004). De esta forma podemos decir que en *P. brevirostris* la onfaloplacenta puede jugar un papel

importante en el transporte de nutrientes ya que las células tanto del útero como de la onfalopleura bilaminar en la mayor parte de la estructura y a lo largo del desarrollo, se mantienen en una forma cúbica a columnar, y en ciertos estadios de desarrollo (29, 34 y 40) se pueden observar gránulos bien teñidos dentro de las células, además de que al final de la gestación (estadio 40) las células del epitelio uterino y de la onfalopleura bilaminar muestran en su ápice una estructura con microvellosidades. Por último, hay que mencionar que la probabilidad de que la placenta coriovitelina también tenga un papel temporal en la respiración no se descarta (Blackburn, 1993), aunque tendría que corroborarse con distintos estudios, de igual manera se ha propuesto que la placenta coriovitelina tiene funciones tanto nutritivas como de transporte de agua (Villagrán-Santa Cruz, 1989).

Por su naturaleza la placentotrofia implica muchos cambios, la reducción del suministro de los nutrientes a los huevos en el ovario, a favor del transporte a través de la placenta, lo que implica nuevos procesos (transporte de nutrientes a través del epitelio uterino en donde no se ha producido con anterioridad el transporte), estructuras (órganos de transporte, tales como el placentoma), o la pérdida de las estructuras (la membrana de la cáscara o la masa aislada de vitelo que degenera a la mitad del proceso de desarrollo en *Mabuya* o *Eumecia*, (Flemming y Blackburn, 2003).

Evolución de la placenta

La distribución de la viviparidad y la matrotrofia sobre una amplia gama de taxones ha llevado a investigaciones tempranas a concluir que estos patrones han evolucionado de manera convergente en algunos vertebrados. Estas investigaciones y los trabajos más recientes han documentado la impresionante diversidad con respecto a las especializaciones para la viviparidad y la nutrición fetal. Sin embargo, los intentos de reconstruir secuencias cronológicas y factores selectivos que intervienen en la evolución de tales especializaciones han sido a menudo especulativas y no comprobables, y se basan en supuestos donde las fenoclinas de especies no relacionadas, representan cronoclinas reales (Blackburn, 1992).

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

En toda la historia de los animales, sólo se conocen dos tipos de vertebrados que han evolucionado a un patrón reproductor en el que la placenta corioalantoidea proporciona los nutrientes necesarios para el desarrollo fetal. Un tipo está representado por los mamíferos euterios, y el otro, por unos pocos linajes de la familia Scincidae (Flemming y Blackburn, 2003). La viviparidad ha evolucionado una sola vez en mamíferos y aproximadamente 100 veces en el orden Squamata (lagartijas y serpientes) (Blackburn, 1992). Por más de un siglo los biólogos han considerado que los estudios en escamados pueden proporcionar evidencias en la evolución de la viviparidad. Por muchas décadas las investigaciones y especies de la región Australiana han contribuido fuertemente al entendimiento de la viviparidad (Blackburn, 2000), aunque también se tienen evidencias de especies Africanas, de Nueva Zelanda y de Sudamérica.

Una combinación de la conservada naturaleza de las membranas extraembrionarias de los amniotas y los múltiples orígenes de la viviparidad, hacen de los escamados un modelo particularmente valioso para el estudio de la evolución de la viviparidad (Blackburn, 2000). La viviparidad ocurre en 16 de las 27 familias de escamosos, los scincidos constituyen la familia más grande del orden Squamata, con 1200 especies, más del 30% de las lagartijas del mundo o el 20% de todos los escamosos. Por lo tanto no es sorprendente que la viviparidad haya evolucionado con más frecuencia en los scincidos que en cualquier otra familia de lagartijas (Thompson *et al.*, 2002).

Por múltiples ocasiones en las que la viviparidad y la placentación han evolucionado, la falta de ontogenias completas de las membranas extraembrionarias y de las placentas de las muchas especies existentes actualmente y la gran escasez de información, no es posible realizar comparaciones filogenéticas. La mayor información disponible está basada en estudios histológicos y morfológicos, hace falta llevar a cabo estudios fisiológicos (Stewart y Thompson, 2000). Guillete (1982) propone que la placentación ha evolucionado simultáneamente con la viviparidad, en lugar de como una modificación posterior, mientras que Blackburn (1992) propone en su modelo tradicional que la evolución fue de ovíparos lecitotrófico - vivíparos lecitotróficos - vivíparos con incipiente matrotrofia - vivíparos matrotroáficos.

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

Por esto consideramos que el estudio de la ontogenia de las membranas extraembrionarias y la placentación en especies Mexicanas de la familia Scincidae aporta datos importantes sobre las posibles vías acerca de la evolución de la placentación y la viviparidad.

CONCLUSIÓN

- El Scincido *Plestiodon brevirostris* es una especie vivípara lecitotrófica, esto se evidencia morfológicamente al ver que los huevos presentan una gran cantidad de vitelo, el cual se observa hasta el final de la gestación, y se corrobora con los análisis histológicos.
- La ontogenia de la placenta a lo largo de la gestación en *P. brevirostris* está conformada por la corioplacenta, placenta coriovitelina y la placenta corioalantoidea de tipo I en el polo embrionario y la onfaloplacenta en el polo abembrionario.
- Cada tipo placentario se presenta en tiempos diferentes y con características especiales.
- La corioalantoplacenta es una estructura muy simple, ya que es de Tipo I pero su estructura histológica sugiere la importante función de intercambio gaseoso durante la gestación.
- De acuerdo a la estructura histológica de la onfaloplacenta, esta puede tener una importancia considerable hacia el final de la gestación para el transporte de ciertos iones o algunos nutrientes, además los epitelios que la conforman pueden tener una función en la degradación o absorción de la membrana de la cáscara.

PERSPECTIVAS.

- El trabajo arroja datos importantes a nivel histológico sobre la estructura de los tejidos que conforman la placenta en *P. brevirostris* y nos muestra datos en los cuales sabemos en qué etapa del desarrollo ya está presente cada estructura. Considero

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

que para afirmar que tipo de nutrientes pasa por cada tipo placentario, y si estos cambian a lo largo del desarrollo sería necesario realizar pruebas específicas como algunas técnicas inmunohistoquímicas, además de que posteriormente se podrían realizar trabajos relacionados a determinar la ultraestructura de los tejidos placentarios en ésta especie.

LITERATURA CONSULTADA.

- Adams S.M, Lui S, Jones S.M, Thompson M.B, Murpy CR. 2007. Uterine epithelial changes during placentation in the viviparous skink *Elamprus tympanum*. Journal of Morphology. 268:385-400.
- Angelini F, Ghiara G. 1984. Reproductive modes and strategies in vertebrate evolution, Bolletino di Zoologia. 51:1-2, 121-203.
- Bellaris A. 1970. The life of reptiles Volo. 2 Weidenfeld and Nicolson, London.
- Blackburn D.G. 1985. The evolution of viviparity and matrotrophy in vertebrates with special reference to reptiles. Ph. D. Thesi, Cornell, Univ. USA
- Blackburn D.G. 1988. Late-stage placentation in the matrotrophic viviparous lizard *Chalcides chalcides*. American Zoologist. 28r196A (abstract)
- Blackburn D.G. 1992. Convergent evolution of viviparity, matrotrophy and specializations for fetal nutrition in reptiles and other vertebrates. American Zoologist 32:313-321.
- Blackburn D.G. 1993a. Chorioallantoic placentation in squamate reptiles: structure, function, development and evolution. Journal of Experimental Zoology. 266:414-430.
- Blackburn D.G. 1993b. Histology of the Late-Stage Placentae in the Matrotrophic Skink *Chalcides chalcides* (Lacertilia: Scincidae). Journal of Morphology. 216:179-195.
- Blackburn D.G. 2000. Reptilian viviparity: past research, future directions, and appropriate models. Comparative Biochemistry and Physiology Part A 127:391-409.
- Blackburn D.G. 2006. Squamate reptiles as model organisms for the evolution of viviparity. Herpetological Monographs 20:131-146
- Blackburn D.G, Vitt L. J, y Beauchot C.A. 1984. Euterian-like reproductive specialization in a viviparous reptile. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. 81:4860-4863.
- Blackburn D.G, Callard I.P. 1997. Morphogenesis of placental membranes in the viviparous, placentotrophic lizard *Chalcides chalcides* (Squamata: Scincidae). Journal of Morphology. 232:35-55.

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

- Blackburn D.G, Flemming A.F. 2009. Morphology, development, and evolution of fetal membranes and placentation in squamate reptiles. *Journal of Experimental Zoology. (Mol. Dev. Evol.)* 312B:579–589.
- Blackburn D.G, Flemming A.F. 2012. Invasive implantation and intimate placental associations in a placentotrophic African lizard, *Trachylepis ivensi* (Scincidae). *Journal of Morphology.* 273: 137-159
- Blackburn D.G, Vitt L.J. 2002. Specialization of the chorioallantoic placenta in the Brazilian Scincid lizard *Mabuya heathi* a new placental morphotype for reptiles. *Journal of Morphology.* 254: 121-131
- Canseco-Márquez L, Gutiérrez-Mayén M.G. 2010. Anfibios y reptiles del Valle de Tehuacán Cuicatlán. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Fundación para la Reserva de la Biosfera Cuicatlán A. C., Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. México, D. F.
- CONABIO. 2013. Biodiversidad Mexicana. 15/05/2013.
http://www.biodiversidad.gob.mx/especies/gran_familia/animales/reptiles/reptiles.html
- Cate-Hoedemaker N.J. 1933. Beitrage zur Kenntnis der placentation bei haien and reptillien. *Zuchr. Zellforsch mikr-Anat.* 18:299-345
- Caputo V, Guarino F.M. and Angelini F. 2000. Body elongation and placentome evolution in the scincid lizard genus *Chalcides* (Squamata, Scincidae). *Italian Journal of Zoology.* 67:4, 385-391
- Dufaure J.P. y Hubert J. 1961. Table de développement du lézard vivipare: *Lacera* (*Zootoca*) vivipara Jacquin. *Arch. Nat. Micr. Morphol. Exp.* 50:309-328
- Flemming A.F. y Branch W.R. 2001. Extraordinary case of matrotrophy in the African skink *Eumecia anchietae*. *Journal of Morphology.* 247:264–287
- Flemming A.F. y Blackburn DG. 2003. Evolution of placental specializations in viviparous African and South American lizards. *Journal of Experimental Zoology.* 299A:33–47
- García-Vázquez U.O. y Feria-Ortiz M. 2006. Skinks of México. *Reptilia. The European Herp Magazine* 63:12–19

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

- Giacomini E. 1891. Meteriaux por l'étude du development du *Seps Chalcides*. Archives Italiennes de Biologie. 16:332-359
- Giacomini E. 1906. Sulla maniera di gestazione e sugle annessi embrionali del *Gogylus ocellatus* Forsk. Men. Accad. Sci. Bologna 3:401-440
- Guarino F.M, Paulesu L, Cardone A, Bellini L, Ghiara G, Angelini F. 1998. Endocrine activity of the corpus luteum and placenta during pregnancy in *Chalcides chalcides* (Reptilia, Squamata). General and Comparative Endocrinology. 111(3):261–270
- Guillette L.J. Speilvogel S. y Moore FL. 1981 Luteal development, placentation and plasma progesterone concentration in the viviparous lizard *Sceloporus jarrovi*. General and Comparative Endocrinology. 43:20-29
- Guillette L.J. y Jones RE. 1985. Ovarian, oviducal and placental morphology of the reproductively bimodal lizard *Sceloporus aeneus*. Journal of Morphology. 184: 85-98
- Guillette J. 1983. Notes concerning reproduction of the montane skink, *Eumeces copei*. Journal of Herpetology. 17:144:148
- Guillette L.J. 1993. The evolution of viviparity in lizards: ecological, anatomical, and physiological correlates lead to new hypotheses. BioScience 43:742-751
- Harrison L. y Weekes HC. 1925. On the occurrence of placentation in the scincid lizard *Ligosoma entrecasteauxi*. Proceedings of the Linnean Society of New South Wales. 50:470-486
- Hoffman L. H. 1970. Placentation in the grater snake, *Thamnophis sirtalis*. Journal of Morphology. 13:57-18
- Jerez A. y Ramírez-Pinilla M.P. 2003, Morphogenesis of extraembryonic membranes and placentation in *Mabuya mabouya* (Squamata, Scincidae). Journal of Morphology. 258: 158–178
- Jones R.E. 1970. Effect of season and gonadotropin on testicular interstitial cells of California quail. Auk 87:729-737
- Leal F, y Ramirez-Pinilla MP. 2008. Morphological variation in the allantoplacenta within the genus *Mabuya* (Squamata: Scincidae). The Anatomical Record. 291: 1124-1139
- Lemus D. y Badinez O. 1967. Placentación en la lagartija vivípara *Liolaemus gravenhorsti*. Biologica 41:55-68

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

- Lugo-Hubp J. 1990. El relieve de la república mexicana. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Geología, Revista 9(1)82-111
- Martínez Torres M. 1997. Placentación y participación del cuerpo lúteo en el mantenimiento de la gestación de *Barisia imbricata imbricata*. Una perspectiva evolutiva. (Reptilia: Anguidae). Tesis para obtener el grado de Maestro en ciencias en el área de Biología de la reproducción. Universidad Nacional Autónoma de México
- Mossman H.W. 1991. In vivo models for studying fetal membrane physiology. Placenta 12(1): 83-84
- Ochoa-Ochoa L, Flores-Villela O, García-Vázquez U, Correa-Cano M. y Canseco-Márquez L. 2006. Áreas potenciales de distribución de la herpetofauna de México. Especie: *Plestiodon brevirostris* (recortes). Extraído del proyecto DS009: Áreas potenciales de distribución y GAP análisis de la herpetofauna de México. Museo de Zoología Alfonso L. Herrera Facultad de Ciencias, UNAM. Financiado por la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). México.
- Padilla-Álvarez F. y Cuesta-Lopez A. 2003. Zoología aplicada. Ediciones Díaz de Santos. Madrid España 341
- Qualls C.P. y Shine R. 1998. *Lerista bougainvillii*, a case study for the evolution of viviparity in reptiles. Journal Evolutionary Biology. 11: 63-78
- Ramírez Bautista A, Guillete Jr, Gutierrez-Mayén G, Uribe Peña Z. 1996. Reproductive biology of the lizard *Eumeces copei* (Lacertilia; Scincidae) from the Eje Neovolcanico, México. Southwest. Nat 41: 103-110
- Ramírez-Pinilla M.P. 2001. The allantoplacenta of *Mabuya mabouya* (Sauria, Scincidae). Journal of Morphology. 249: 132-146
- Ramírez-Pinilla M.P, De Pérez G, y Carreño-Escobar JF. 2006. Allantoplacental ultrastructure of an Andean population of *Mabuya* (Squamata, Scincidae). Journal of Morphology. 267: 1227–1247.
- Ramírez-Pinilla M.P. 2006. Placental transfer of nutrients during gestation in an Andean population of the highly matrotrophic lizard genus *Mabuya* (Squamata: Scincidae). Herpetological Monographs 20: 194–204
- Ramírez-Pinilla M.P, 2010. Matrotrofia e reptiles escamados. En: Reproducción en Reptiles: morfología, ecología y evolución. Hernández Gallegos O, Méndez de la Cruz F, Méndez Sánchez F. Editores. Universidad Autónoma del Estado de México.

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

- Shine R. 1983. Reptilian reproductive modes: the oviparity-viviparity continuum. *Herpetologica* 39:1-8
- Shine R. 1985. The evolution of viviparity in reptiles: An ecological analysis. In C. Gans and F. Billet (eds). *Biology of reptilia*. 15B: 605-694. Jhon Wiley, New York.
- Stewart J.R. 1985. Placentation in the lizard *Gerrhonotus coeruleus* with a comparison to the extraembryonic membranes of the oviparous *Gherrhonotus multicarinatus* (Sauria: Anguidae). *Journal of Morphology*. 185: 101-114
- Stewart J.R. 1990. Development the extraembryonic membranes and histology of the placenta in *Virginia striatula* (Squamata, Serpentes). *Journal of Morphology*. 205: 33-43
- Stewart J.R. 1992. Placental structure and nutritional provision to embryos in predominantly lecithotrophic viviparous reptiles. *American Zoologist*. 32:303-312
- Stewart J.R y Thompson MB. 1993. A novel pattern of embryonic nutrition in a viviparous reptile. *The Journal of Experimental Biology*. 174:97-108
- Stewart J.R y Thompson M.B. 1996. Evolution of Reptilian Placentation: Development of Extraembryonic Membranes of the Australian Scincid Lizards, *Bassiana duperreyi* (Oviparous) and *Pseudemoia entrecasteauxii* (Viviparous). *Journal of Morphology*. 227:349-370
- Stewart J.R y Thompson M.B. 1998. Placental Ontogeny of the Australian Scincid Lizards *Niveoscincus coventryi* and *Pseudemoia spenceri*. *Journal of Experimental Zoology*. 282:535-559
- Stewart J.R and Florian J.D. 2000. Ontogeny of the extraembryonic membranes of the oviparous lizard, *Eumeces fasciatus* (Squamata:Scincidae). *Journal of Morphology*. 244:81-107.
- Stewart J.R. y Thompson M.B. 2000. Evolution of placentation among squamate reptiles: recent research and future directions. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A* 127: 411-431
- Stewart J.R, Heulin B. y Surget-Groba Y. 2004. Extraembryonic membrane development in a reproductively bimodal lizard, *Lacerta (Zootoca) vivipara*. *Zoology*. 107: 289-314
- Stewart J.R. y Thompson M.B. 2004. Placental Ontogeny of the Tasmanian Scincid Lizard, *Niveoscincus ocellatus* (Reptilia: Squamata). *Journal of Morphology*. 259:214-237

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

- Stewart J.R. y Thompson M.B. 2009. Placental ontogeny in Tasmanian Snow Skinks (Genus *Niveoscincus*) (Lacertilia: Scincidae). *Journal of Morphology*. 270:485-516
- Studiati C. 1851. Intorna alle connession dell'uovo coll'ovidutto nel *Seps tridactylus*. *Mem Reale Accsd. Sci. Torino II* 15:101-113
- Thompson J. 1977. Embryo-Maternal Relationships in a Viviparous Lizard, *Sphenomorphus quoyii* (Dumeril and Bibron). Unpublished PhD dissertation.
- Thompson M.B, Stewart J.R. and Speake B.K. 2000. Comparison of nutrient transport across the placenta of lizards differing in placental complexity. *Comparative Biochemistry and Physiology* 127(4): 469–479
- Thompson M.B, Stewart J.R, Speake B.K, Hosie M.J. y Murphy C.R. 2002. Evolution of viviparity: what can Australian lizards tell us?. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 131: 631–643
- Thompson M.B, Adams S.M, Herbert J.F, Biazik J.M, Murphy C.R. 2004 Placental function in lizards. *International Congress Series* 1275: 218–225
- Thompson M.B. y Speake B.K. 2006. A review of the evolution of viviparity in lizards: structure, function and physiology of the placenta. *Journal of Comparative Physiology B*. 176(3):179-189.
- Tinkle D.W. y Gibbons J.W. 1977. The distribution and evolution of viviparity in reptiles. *Museum of zoology, University of Michigan*. 47p.
- Veith W.J. 1974. Reproductive biology of the *Chamaleo pumilis pumilis* with special reference to the role of the corpus luteum and progesterone. *Zoologica Africana* 9:161-183
- Vite–Silva V, Ramírez–Bautista A, Hernández–Salinas U. 2010. Diversidad de anfibios y reptiles de la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán, Hidalgo, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. vol.81 no.2
- Villagran-Santa Cruz M. 1989. Desarrollo Embrionario Placentación y su Relación con el Cuerpo Luteo y la Atresia Folicular en *Sceloporus mucronatus* y *Sceloporus gramicus*, (Sauria Iguanidae). Tesis para obtener el grado de doctora en ciencias (biología). Universidad Nacional Autónoma de México. 158p.

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

- Villagrán-Santa Cruz M, Guillete L.J, y Méndez de la Cruz F.R. 1994. Placentación del Scincido *Mabuya*. Resúmenes de la III Reunión Nacional de Herpetología. San Cristóbal de las Casas Chiapas.
- Villagrán-Santa Cruz M, y Méndez de la Cruz F.R. 1997. Estudio preliminar de la placentación en el xantusido *Lepidophyma pajapanensis*. Curso Simposio de reproducción en vertebrados. Universidad Autónoma de Queretaro 26-28.
- Villagrán-Santa Cruz M, Méndez de la Cruz F.R. y Stewart J.R. 2005. Placentation in the Mexican lizard *Sceloporus mucronatus* (Squamata: Phrynosom. atidae). *Journal of Morphology*. 264: 286-297
- Villagrán-Santa Cruz M. y Méndez de la Cruz F.R., 2009. El huevo amniota y la evolución de los vertebrados. En: *Evolución biológica*. Morrone J.J y Magaña P editores. Universidad nacional autónoma de México, México. D.F. 479-500
- Villagrán-Santa Cruz M, Méndez de la Cruz F.R. y Guillete L.J. 2011. Adaptación a la viviparidad y placentación en lacertilios mexicanos. Simposio sobre viviparidad en Vertebrados dentro del XX Congreso Nacional de Zoología. Cuernavaca Morelos 14 al 18 de noviembre del 2011.
- Weeks H.C. 1927a. A Note on reproductive phenomena in some lizards. *Proc. Linn. Soc. N.S.W.* 52:25-32
- Weeks H.C. 1927b. Placentation and other phenomena in the scincid lizard *Ligosoma (Hinulia) quoyii*. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales*. 52:499-554
- Weeks H.C. 1929. On placentation in reptiles. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales*. 54:34-60
- Weeks H.C. 1934. The corpus luteum in certain oviparous and viviparous reptiles. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales*. 69:380-391
- Weeks H.C. 1935. A review of placentation among reptiles, with particular regard to the function and evolution of the placenta. *Proceedings of the Zoological Society of London*. 2:625-645
- Wooding F.B.P, Ramirez-Pinilla M.P, Forhead A.S. 2010. Functional studies of the placenta of the lizard *Mabuya* sp. (Scincidae) using immunocytochemistry. *Placenta* 31:675-685

ANEXO I.

Técnica Histológica.

- Deshidratación en alcoholes graduales y aclarado en Xilol. Se colocaron por 120 minutos en cada uno de los siguientes:
 - Alcohol 70%
 - Alcohol 80%
 - Alcohol 90%
 - Alcohol absoluto
 - Alcohol-Xilol
 - Xilol.

- Inclusión en paraplást. Se colocaron durante 120 minutos en:
 - Parafina-Xilol
 - Parafina I
 - Parafina II
 - Inclusión en parafina

- Se realizaron cortes histológicos seriados de entre 4-5 μm de grosor con micrótomo de rotación

- Los cortes histológicos se montaron

TINCIÓN

Deshidratación.

- 15 minutos en la estufa
- 10 minutos en xilol absoluto I
- 10 minutos en xilol absoluto II

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

- 5 minutos en alcohol absoluto-xilol
- 5 minutos en alcohol absoluto
- 5 minutos en alcohol 96%
- 5 minutos en alcohol 70%
- 5 minutos en alcohol 50%
- 2 minutos en agua destilada.

Técnica Hematoxilina- Eosina (H-E)

- Se colocan en hematoxilina de 3 a 6 minutos
- Se lavan en agua corriente durante 1 minuto.
- Se colocan en carbonato de litio durante 15 segundos
- Se lavan en agua destilada durante 1 minuto
- Se colocan en alcohol al 50% durante 3 minutos
- Se colocan en alcohol al 70% durante 3 minutos
- Se colocan en eosina alcohólica azulosa o amarillenta de 2 a 5 minutos

Técnica Schiff de PAS

- Se colocan en Ácido peryódico durante 5 minutos
- Se lavan en agua destilada durante 1 minuto
- Se colocan en el colorante de Schiff de Coleman 10 minutos
- Se colocan en agua corriente tibia durante 10 minutos
- Se colocan en hematoxilina de Mayer durante 20 minutos
- Se lavan en agua corriente 1 minuto

Técnica Schiff de PAS contrastada con azul de alciano

- Se colocan en Ácido peryódico durante 5 minutos
- Se lavan en agua destilada durante 1 minuto
- Se colocan en el reactivo de Schiff de Coleman 10 minutos
- Se colocan en agua corriente tibia durante 10 minutos
- Se en hematoxilina de Mayer durante 20 minutos
- Se lavan en agua corriente 1 minuto
- Se coloca el colorante azul de alciano de 20 a 30 minutos
- Se lava en agua destilada durante 5 segundos

Tinción tricrómica de Mallory

- Se coloca en tiosulfito al 2.45% durante 5 minutos
- Se lava en agua corriente durante 15 minutos

Placentación en la lagartija mexicana *Plestiodon brevirostris* (Squamata: Scincidae)

- Se coloca en la fucsina ácida durante 3 minutos
- Se lava en agua destilada durante 5 segundos
- Se coloca ácido fosfomolibdico al 1% durante 5 a 7 minutos
- Se coloca en la solución compuesta 5 a 10 minutos
- Se lava en agua destilada durante 5 segundos

Técnica de tinción Rojo-Azul de alciano

- Se coloca en ácido acético durante 3 minutos
- Se coloca en el colorante de azul de alciano durante 40 minutos
- Se lava en agua corriente durante 5 segundos
- Se lava en agua destilada durante 5 segundos
- Se coloca en el colorante rojo núcleo durante 3 minutos
- Se lava en agua corriente durante 5 segundos

- Hidratación

- 1 minuto en alcohol I al 96%
- 1 minuto en alcohol II al 96%
- 1 minuto en alcohol absoluto
- 1 minuto en alcohol absoluto-xilol
- 1 minuto en Xilol I
- 1 minuto en Xilol II

- Montaje

- Poner 3 gotas de entellan
- Colocar el cubreobjetos
- Dejar secar