



Facultad de Estudios Superiores
IZTACALA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

COMPARACIÓN DE LA TINCIÓN CON ROJO DE ALIZARINA "S" Y CON
AMARILLO DE ALIZARINA "R" EN LA DESCRIPCIÓN DEL AUTOPODIO DE LAS
ESPECIES *Barisia imbricata*, *Sceloporus grammicus* y *S. torquatus* (Squamata;
Lacertilia)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A

NAHOMI ROJAS CRUZ

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Jorge Ricardo Gersenowies Rodriguez

Los Reyes Iztacala, Tlanepantla, Estado de México, 2022



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.

La vida no es fácil, para ninguno de nosotros. Pero... ¡Qué importa! Hay que perseverar y, sobre todo, tener confianza en uno mismo. Hay que sentirse dotado para realizar alguna cosa y que esa cosa hay que alcanzarla, cueste lo que cueste.

Marie Curie

DEDICADA A:

Mi muy querida familia;

Noemí Cruz, Miguel Rojas, Angie, Eli y Pau.

Mis amigos y todos aquellos que me motivaron y apoyaron a lo largo de esta etapa.

Con amor, Nahomi

AGRADECIMIENTOS:

A mis padres Noemi Cruz y Francisco Rojas por su apoyo y amor incondicional durante todos estos años. Esto es por y para ustedes, gracias por creer siempre en mi potencial, los amo.

A mis hermanas Angie, Eli y Pau por motivarme a ser un buen ejemplo y siempre estar a mi lado.

A mi tutor de tesis el Dr. Jorge Ricardo Gersenowies por su tiempo, consejos y enseñanzas, por mostrarme el maravilloso mundo de la morfología y la diafanización, apoyarme y creer en mí a lo largo de este proceso.

A mis sinodales el Mtro. José Samuel Meraz Martínez, el Mtro. Romeo Eduardo Loya Zurita, el Mtro. José Ariel Olvera Ramos y el Mtro. Jorge Ricardo Gersenowies Rosas por su tiempo y el apoyo durante la realización de mi trabajo de tesis.

A los profes Eduardo Loya, Ariel Olvera, Francisco Cuellar y Shari Bautista por su compañía y consejos en el laboratorio de anatomía animal.

A mis entrañables amigos de la SPD; Anai, Emmanuel, Armando, Antonio y Carlos por las risas, consejos, experiencias vividas y el apoyo durante la carrera. Los quiero mucho, tienen un lugar especial en mi corazón.

A mi axoloamiga Anai por ser incondicional, jalarme en el mar y motivarme cuando me sentía estancada, durante la carrera y hasta el término de este trabajo.

A Eli y Andy, entrañables amigas, gracias por las risas, los consejos y su cariño.

A mi tía Ceci, porque ha creído en mí desde que era bebé. Te quiero mucho.

A mi prima Karen, quien ha estado siempre conmigo en los momentos importantes.

A mis amigos de la MancoSquad porque me preguntaban por la tesis, lo que me motivaba a continuarla, por los momentos de risas. Los quiero mucho.

A mi amigo Dario por siempre escucharme en mis momentos de duda y ser un gran apoyo.

A mi gran amigo Francisco Guerrero por el apoyo técnico sin importar la hora y el día.

A la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM por facilitarme las herramientas y espacios para mi desarrollo y crecimiento profesional y personal.

ÍNDICE

CONTENIDO	PÁGINA
1. Resumen.....	6
2. Introducción.....	7
2.2 Antecedentes.....	12
2.3 Justificación.....	26
2.4 Hipótesis.....	26
3. Objetivo.....	26
4. Método.....	27
5. Resultados.....	32
6. Discusión.....	43
7. Conclusiones.....	45
8. Referencias.....	46
9. Apéndice.....	52

1. RESUMEN

El presente trabajo tuvo como propósito comparar la tinción de los colorantes rojo de alizarina “S” con amarillo de alizarina “R” en el quiridio de tres especies de lagartijas; *Barisia imbricata*, *Sceloporus grammicus* y *S. torquatus*. Se aplicaron colorantes diferentes en la doble tinción de 12 especímenes *Barisia imbricata*, 12 de *Sceloporus torquatus* y 12 de *Sceloporus grammicus*, por lo tanto, cada especie fue dividida en 2 grupos experimentales.

Los resultados obtenidos muestran que el amarillo de alizarina “R” nos proporciona una tinción mucho más clara, hecho que permite visualizar de manera individualizada cada elemento del carpo, pudiéndose observar con claridad las zonas articulares.

2. INTRODUCCIÓN

La transparentación es una técnica de conservación anatómica donde se digieren parcialmente los tejidos blandos y se tiñe los tejidos esqueléticos para visualizar los componentes óseos y cartilagosos. El fundamento de la técnica se basa en: la digestión alcalina incompleta de los tejidos blandos para que adquieran un índice de refracción igual a la glicerina y una tinción de contraste del tejido esquelético (Tamayo, et al. 2012) esta técnica fue aplicada por primera vez por Dawson en 1926.

Debido a que el rojo de alizarina “S” es un tinte específico para la detección histoquímica de calcio, la osificación se deduce cuando se observa la coloración positiva del rojo (Fabrezi, et al., 2007) ofreciendo un método selectivo y progresivo para la tinción de tejidos óseos (Lypman, 1935).

La utilización de material esquelético resulta de suma utilidad para el estudio morfológico, sistemático y filogenético de vertebrados, siendo necesarios diferentes estudios anatómicos para conocer en detalle las distintas estructuras esqueléticas (Scanferla, 2010).

La variación interespecífica del esqueleto de las extremidades en lagartijas ha sido explorada por diferentes autores con distintos énfasis (Fabrezi, et al., 2007). Los patrones de osificación en el esqueleto de los reptiles son muy poco conocidos (Rieppel, 1992). Los estudios de la formación del esqueleto en reptiles se han centrado en los patrones y las secuencias ontogénicas de osificación en representantes seleccionados de los tres órdenes principales de reptiles existentes, entre ellos Squamata (Rieppel, 1993).

El Orden Squamata corresponde a un grupo de reptiles pequeños y grandes (entre 3 cm a varios metros de longitud hocico cloaca) que incluye a todas las lagartijas, anfibenas y serpientes vivientes como así también a diversos taxa extintos. Hasta agosto del 2020, (Peter Uetz, <http://www.reptile-database.org>) registra 10954 especies de Squamata, con una tasa de descripción de nuevas especies que ronda las 268 por año. El clado se habría originado en el Jurásico temprano hace entre 194 a 179 millones de años (Jones et al., 2013), junto con los Rhynchocephalia (tuataras) conforman el clado Lepidosauria (Vitt y Caldwell, 2014).

Squamata conforma un grupo monofilético, muy bien sustentado por más de 50 características morfológicas derivadas compartidas y por numerosos caracteres moleculares (Pianka y Vitt, 2003; Conrad, 2008; Gauthier et al., 2012).

Algunas sinapomorfías de Squamata son:

- Cinésis craneal estreptostflica: Movimiento del cuadrado respecto al neurocráneo.
- Hemipenes u órganos copuladores masculinos pares.
- Ausencia de diente vomeriano.

- Glándulas femorales y pre-anales.
- Quinto metatarsiano en forma de gancho (Vitt y Caldwell, 2014).

Si bien Squamata es un grupo claramente monofilético, las relaciones filogenéticas dentro del clado han variado mucho en los últimos años y no están claramente resueltas (Conrad, 2008; Gauthier et al., 2012; Vitt y Caldwell, 2014). Las incongruencias ocurren incluso a nivel de los grupos jerárquicamente inclusivos, los cuales difieren según datos morfológicos o datos moleculares (Pyron et al., 2013; Vitt y Caldwell, 2014; Reeder et al., 2015).

Históricamente se clasificaba a Squamata en dos grandes linajes: Iguania (iguanas, anoles, camaleones, agámidos y taxa asociados) y Scleroglossa (scincomorfos, anguimorfos, varánidos y anfisbenas) con base en información paleontológica, ecológica, morfológica y comportamental (Pianka y Vitt, 2003). En tal hipótesis Iguania se ubica en la base de Squamata. Sin embargo, estudios recientes (Pyron et al., 2013) basados en ADN nuclear indican que Iguania se ubicaría en un clado llamado Toxicofera junto con las serpientes y anguimorfos (incluyendo lagartos monitores, monstruos de Gila y taxa asociados) (Vitt y Caldwell 2014; Reeder et al., 2015). Esta segunda hipótesis fue apoyada recientemente por análisis de evidencia total (Reeder et al., 2015). Estas nuevas perspectivas modifican la interpretación de la evolución ecológica, morfológica, comportamental y fisiológica que se formulara considerando a Iguania y Scleroglossa como grupos hermanos (Vitt y Caldwell, 2014).

Dado que los Squamata no son capaces de regular fisiológicamente su temperatura corporal, el paisaje térmico determina el tiempo y lugar de sus actividades (regulación etológica). La disponibilidad de agua es otra restricción. Sin embargo, sus características comportamentales, ecológicas y fisiológicas les permitieron la permanencia a través de climas extremadamente calientes a fríos, de extremadamente secos a ambientes acuáticos de agua dulce y marina, y desde tierras bajas a regiones elevadas. Esto se refleja en una distribución en todos los continentes (excepto la Antártida) y en la mayoría de las islas oceánicas tropicales y subtropicales (Vitt y Caldwell, 2014).

Sus requisitos hídricos y térmicos hacen que este grupo sea particularmente sensible al cambio global, que impacta negativamente en sus territorios naturales volviéndolos más extremos. Consecuentemente muchas especies se están extinguiendo y otras desplazaron considerablemente sus distribuciones históricas (Sinervo et al., 2010).

Los lacertilios constituyen un grupo de reptiles muy diverso con 6,905 especies descritas hasta agosto de 2020 (Peter Uetz, <http://www.reptile-database.org>). Entre ellas se han desarrollado diversas estrategias de locomoción que les permiten explorar ambientes con estructuras físicas variables: desde acuáticos, de la interfaz agua-aire, terrestres, fosoriales, arenícolas, rupícolas hasta distintos micro-hábitats arborícolas. Asociado a esto, se observan especializaciones que comprometen varios aspectos anatómicos tales como tamaño corporal,

forma del cuerpo, proporción de sus miembros y dedos, así como ganchos, garras, almohadillas adhesivas, etc. (Feduccia, 1993; Vitt y Pianka, 1994; Russel, 2002; Tulli et al., 2009; Vitt y Caldwell, 2014).

La forma general de las lagartijas es variable. Muchas son de cuerpo alargado con largas colas, otras son robustas y con colas cortas. Sus miembros pélvicos son típicamente más largos que los pectorales y, en consecuencia, mucha de la fuerza propulsora proviene de los miembros pélvicos. Algunas, como los camaleones, poseen una cola prensil usada para trepar. La gran mayoría de las lagartijas posee cuatro miembros y pueden moverse rápidamente por superficies horizontales y a veces verticales (Vitt y Caldwell, 2014). Los miembros son muy variables en longitud. Unos pocos grupos, los gecónidos de los géneros *Ptychozoon* y *Luperosaurus*, poseen patas lobuladas con membranas tegumentarias usadas como paracaídas luego de saltos entre ramas de árboles. Muchas de las especies, de los clados *Dactyloidae* (*Anolis* spp., *Dactyloa* spp., *Norops* spp.), *Scincidae* (*Prasinohaema* sp.) y *Gekkota* (diversos géneros y especies) han desarrollado almohadillas adhesivas en sus dedos habilitándolos a escalar sobre superficies verticales lisas (Irschick et al., 1996, Russell, 2002; Higham., 2015). La vasta mayoría de las lagartijas usan una locomoción con las piernas posicionadas a los lados del cuerpo en vez de hacerlo debajo de este (Kardong, 2007).



Figura 1. *Barisia imbricata*

Dentro del Orden Squamata se encuentra la familia Anguidae a la cual pertenece la especie *Barisia imbricata* (Wiegmann, 1828) (Fig. 1). Esta lagartija alcanza una longitud hocico-cloaca máxima de 120 mm, la longitud de la cola es un poco mayor al resto del cuerpo. El

cuerpo es robusto y con extremidades cortas; la cabeza es triangular; las escamas dorsales son cuadrangulares y quilladas, lateralmente son lisas, aunque en algunas ocasiones se pueden observar quillas; presenta un total de 34 a 42 escamas longitudinales y 14 transversales en la región dorsal; las escamas ventrales son lisas, siendo un total de 49 a 59 escamas longitudinales y 12 transversales. Un pliegue granular ventrolateral es evidente y bien desarrollado (Canseco y Gutiérrez, 2010).

Es una especie endémica de México que se distribuye en las montañas de la Faja Volcánica Transmexicana, en los estados de México, Ciudad de México, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Veracruz y Tlaxcala (Canseco y Gutiérrez, 2010).



Figura 2. *Sceloporus grammicus*

Sceloporus grammicus (Wiegmann, 1828) (Figura 2) y *S. torquatus* (Wiegmann, 1828) son pertenecientes a la familia Phrynosomatidae, cuya distribución va desde el sur de Canadá hasta Panamá. *S. grammicus* es una lagartija de tamaño medio, que alcanza una longitud hocico-cloaca máxima de 64 mm, la longitud de la cola es 1 a 1.4 veces mayor que la longitud del cuerpo. Las escamas del cuerpo son pequeñas, quilladas y mucronadas, las ventrales son lisas casi del mismo tamaño que las dorsales. El número de escamas dorsales es de 66 a 84 y 50 a 60 ventrales. La cola es poco robusta con escamas quilladas, ventralmente se encuentran lisas cerca de la base de la cola, posteriormente son quilladas. El número de poros femorales varía de 14 a 18 separados en la parte media por 11-12 escamas (Canseco y Gutiérrez, 2010).



Figura 3. *Sceloporus torquatus*

Así mismo *S. torquatus* (Wiegmann, 1828) (Figura 3), es mediana y de cuerpo robusto. Mide de 18 a 20 cm de longitud total. Las escamas del cuerpo están poco quilladas y mucronadas (muescas alrededor). El color del dorso es verde grisáceo con manchas triangulares y claras. En el cuello tiene un collar oscuro con un margen de color claro. Habita en climas templados como bosques de pino y pino-encino sobre las rocas. Es de hábitos diurnos. Vivípara, tiene de 3 a 12 crías. Se encuentran el centro y sur del país, Ciudad de México, Hidalgo, Guanajuato, Puebla, Michoacán, Estado de México, Morelos, Veracruz y al norte en Tamaulipas (Canseco y Gutiérrez, 2010).

2.2 ANTECEDENTES

Quiridio

Generalidades

En los reptiles típicos, como en los tetrápodos en general, el método de propulsión por ondulación corporal ha sido reemplazado casi por completo por el uso de los miembros pares, pectorales y pélvicos (Romer, 1956).

La mayoría de las especies de lagartijas con miembros bien desarrollados muestran extremidades anteriores similares (Fabrezi, et al., 2007). Las principales características estructurales de los miembros pares son comparables (Figura 4), las semejanzas se deben a procesos morfológicos similares; esto se asocia presumiblemente a un proceso de selección que trabaja para satisfacer necesidades locomotoras básicamente similares (Romer, 1956).

Los quiridios son estructuras complejas que surgieron a finales del Devónico (hace aproximadamente 385–359 millones de años) dando origen al clado Tetrapoda (Ahlberg y Clack, 2006). Los quiridios representan un componente esencial del sistema locomotor en la mayoría de los vertebrados terrestres (Wolff, 1991). Clásicamente se consideraron como una adaptación a la locomoción aéreo-terrestre (Romer, 1966), sin embargo, en la actualidad se considera que la aparición del quiridio no fue parte del proceso de invasión del ambiente terrestre, pero sí habría sido un pre-requisito para la locomoción terrestre de los tetrapodos. En este sentido se considera al quiridio como una exaptación (Coates, 1994).

El estudio de peces y tetrápodos fósiles involucrados en la transición, tanto como organismos actuales, revelan cómo las evoluciones del desarrollo ontogenético de las aletas de peces ancestrales dieron origen a los miembros tetrápodos (Coates, 1994, 1995; Daeschler et al., 2006; Coates y Ruta, 2007). Su región proximal encuentra homólogos en el esqueleto de los miembros pares de los sarcopterígos. El origen de los dedos, que junto a la muñeca y el tobillo representan una de las características más notables de los tetrápodos (Shubin et al., 2006; Boisvert et al., 2008), es actualmente muy debatido. Estos han sido considerados tanto como novedades evolutivas (Tabin, 1992; Shubin et al., 1997) carentes de equivalentes directos en las aletas de los sarcopterígos o como un derivado de los elementos radiales distales que sí habrían estado presentes en todos los sarcopterígos (Boisvert et al., 2008). El surgimiento del quiridio se incluye en un conjunto de transformaciones en la evolución biológica e implicó un conjunto de adaptaciones estructurales y funcionales a la locomoción en los márgenes de ecosistemas acuáticos y ambientes terrestres; como así también implicó cambios en la respiración y audición (Ahlberg y Clack, 2006; Shubin et al., 2006). El patrón primitivo a partir del cual el quiridio derivó se interpretó principalmente en base a *Tiktaalik roseae*, un pez sarcopterígo del devónico tardío considerado muy cercano a los primeros tetrápodos (Shubin et al., 2006). La estructura ósea del quiridio se encuentra regionalizada y comprende, desde la zona proximal a la distal, el stylopodium (estilopodio) con un elemento

óseo (húmero o fémur), el zeugopodium (zeugopodio) con dos elementos óseos (radio y ulna o, tibia y fíbula), y el autopodium (autopodio) formado por un gran número de elementos óseos (manos y pies) (figura 4).

El autopodio es una porción articulada del quiridio que está ubicado en la porción distal. Se la puede considerar como un sistema físico, es decir un conjunto de entidades materiales entre cuyas partes existe una vinculación o interacción de tipo causal. Así en este caso una serie de piezas -los huesos-, por disponerse un modo particular, permiten un determinado resultado funcional. En este sentido se puede conceptualizarla como un núcleo central rígido con apéndices adosados móviles (Ranney, 1995). Bajo esta idea es posible realizar un estudio morfológico de las estructuras que componen el autopodio en relación a sus capacidades de movimiento, es decir su función. La morfología del autopodio tiene un significado funcional y se espera que esté asociado con la variación en los elementos osteológicos (Rothier, et al., 2017).

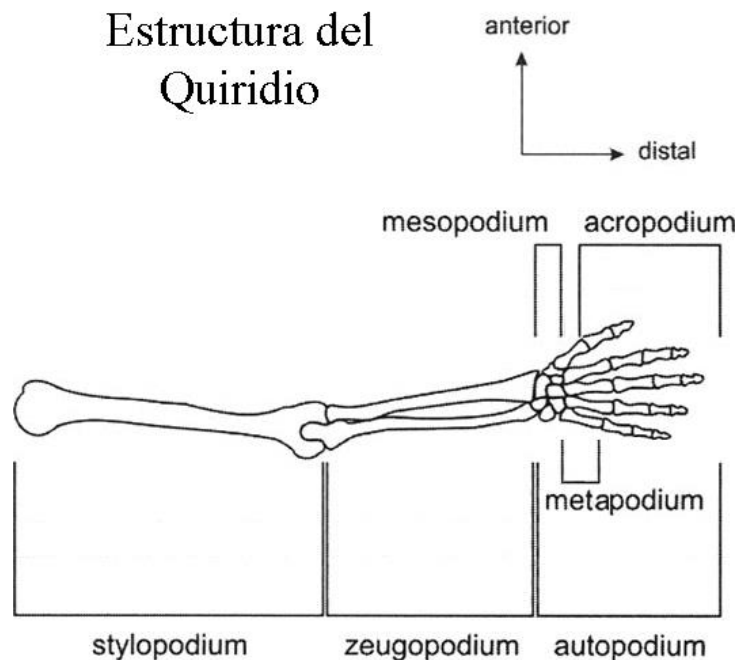


Figura 4.- Estructura del quiridio. Los nombres se encuentran en latín, pero corresponden a los términos en español: stylopodium = estilopodio; zeugopodium = zeugopodio; autopodium = autopodio; mesopodium = mesopodio (también puede ser referido como basipodium = basipodio); acropodium = acropodio; metapodium = metapodio; falanges (modificado de Winther, 2011)

Como extensión del quiridio, el autopodio, provee mecanismos para interactuar de manera compleja con el ambiente (Iberall et al., 1986). Al representar una vinculación directa con diferentes superficies durante la locomoción, la dimensión ecológica del autopodio se ve acentuada respecto al resto del quiridio (Irschick et al., 1996, Zaaf y Van Damme, 2001;

Rothier et al., 2017). La diversificación morfológica del autopodio y procesos de colonización de ambientes estructuralmente diversos están íntimamente asociados. Ejemplos clásicos de esto son la colonización del medio terrestre, del eco-espacio arbóreo, el uso del aire como sustentación del vuelo tanto en pterodáctilos como en aves y murciélagos; y la recolonización del ambiente acuático por plesiosaurios, ictiosaucios y cetáceos, todos los cuales dan cuenta de la relevancia ecológica del autopodio en la historia evolutiva de los tetrápodos (Kardong, 2007; Carroll y Holmes, 2007; Shapiro et al., 2007; Polly y Hall, 2007; Gates y Middleton, 2007, Shubin et al., 2009; Sustaita et al., 2013; Rothier et al., 2017). Dado que en estos contextos el autopodio es usado en numerosas actividades de manipulación y locomoción, es posible encontrar en ella muchos rasgos interpretados como adaptaciones funcionales (Pouydebat et al., 2009).

Anatómicamente, representa una estructura dorso-ventralmente aplanada, con raras excepciones como sucede en los Camaleones (Díaz y Trainor, 2015). La estructura ósea del autopodio se encuentra regionalizada y comprende, desde la zona proximal a la distal, el mesopodio constituidos por los carpianos o tarsianos (9), el metapodio constituidos por los metacarpianos o metatarsianos (5) y el acropodio que está constituido por la serie de falanges que integran cada dedo. El autopodio además posee diversos huesos sesamoideos asociados (Romer, 1956; Kardong, 2007, Jerez et al., 2009, Ponssa et al., 2010, Winther, 2011).

El mesopodio (carpianos o tarsianos) constituyen la “muñeca” o “tobillos” y representan la región más compleja de la mano por sus múltiples piezas y el arreglo espacial de las mismas. El registro más antiguo de esta región anatómica corresponde a la mano de *Tiktaalik roseae* (Daeschler et al., 2006). Los metapodiales, como así también los dedos son designados numéricamente del 1 al 5 comenzando desde la región radial de la mano. Los cinco metapodiales son anatómicamente semejantes entre sí. Los dedos son las porciones más distales del quiridio de los tetrápodos. Se encuentran individualizados y están sostenidos esqueléticamente por las falanges. En los primeros Tetrapoda, las manos poseían entre seis y ocho dedos (polidactilia) (Coates y Clack, 1991). Posteriormente se estableció la condición pentadáctila, que se conserva en la mayoría de los grupos y parece estar sujeta a fuertes restricciones de desarrollo (Tabin, 1992). En el autopodio típico de tetrápodos, los cinco dedos están separados entre sí por las hendiduras interdigitales, lo que les permite cierta independencia de movimiento. En la gran mayoría de los tetrápodos el desarrollo del autopodio sigue patrones similares que implican la segmentación, bifurcación y el surgimiento *de novo* en el primordio del autopodio en la vida embrionaria. El desarrollo del miembro basado en la morfogénesis de los cartílagos pudo ser esquematizado para reptiles (Shubin y Alberch, 1986) y más particularmente para lagartijas (Fabrezi et al., 2007). El esquema se basa en las conexiones espaciales entre las condensaciones cartilaginosas durante estadios tempranos de la ontogenia del miembro. El desarrollo del miembro reptiliano es caracterizado por la diferenciación de condensación *de novo* que constituirá el estilopodio, que se bifurca dando lugar zeugopodio. A través de condensación, bifurcación y

segmentación del zeugopodio se produce la formación de los cartílagos del llamado eje primario en una secuencia próximo-distal. A partir del eje primario se forman el arco digital, el intermedio y los centrales (Shubin y Alberch, 1986). El miembro de las lagartijas muestra un patrón de desarrollo temprano común a reptiles con un arco primario y arco digital claros. Este patrón luego se vuelve específico de lagartijas con especializaciones que involucran algunas reducciones de elementos precondrogénicos (Fabrezi et al.,2007).

En la región distal del autopodio embrionario las células mesenquimáticas se configuran en una estructura en forma de paleta. La expresión diferencial de genes Hox dividen al esbozo en cinco sectores que darán origen a cada dedo (Tabin, 1992). De esta manera se define dos destinos celulares posibles de la mesénquima que conforma al esbozo: la muerte celular programada genéticamente (apoptosis) o el desarrollo de tejidos que darán origen a los cartílagos (condrogénesis) y a otros tejidos del miembro. Los dígitos se separan entre sí como un resultado de la apoptosis que remueve las células entre los primordios de los dedos dando lugar a las hendiduras interdigitales (Hall, 2003). Estos procesos del desarrollo determinarán el arreglo espacial de los dedos o dactilia en el adulto. Las hendiduras interdigitales pueden ser completas, como en casi todas las lagartijas, incompletas como en las patas palmeadas de los patos o incluso estar completamente ausentes como ocurre en murciélagos (Hall, 2003). Por ejemplo, en camaleones el autopodio presenta una única hendidura interdigital que separa dos paquetes oponible de dedos entre los cuales persiste tejido interdigital (Díaz y Trainor, 2015).

Un autopodio pectoral típico de Squamata incluye alrededor de 31 a 32 huesos especializados cuyo arreglo espacial establece distintos tipos de articulaciones (Fig. 5).

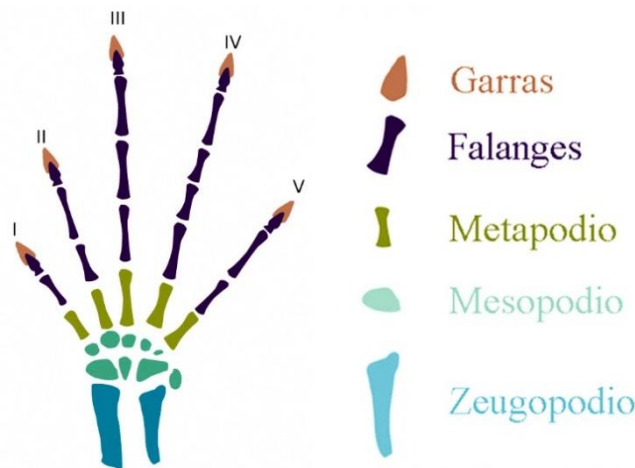


Figura 5.- Estructura general del autopodio pectoral típico de Squamata

La diversidad morfológica del autopodio se identifica a menudo en asociación con la colonización de entornos estructuralmente diversos por linajes vertebrados, un patrón

particularmente bien descrito para los squamata. Sin embargo, la gran mayoría de la información disponible se concentra en las asociaciones entre un entorno ecológico determinado y los parámetros de la morfología externa, mientras que los rasgos osteológicos permanecen en gran parte inexplorados (Rothier, et al., 2017).

El autopodio pectoral de una lagartija típica es pentadáctila. Su fórmula falangeal típica se mantiene como la fórmula ancestral amniota: 2-3-4-5-3(4). Posee 17 a 19 articulaciones sin tener en cuenta las articulaciones carpales y metacarpales en la base de la palma que resultan en más de 20 grados de libertad (Romer, 1956; Renous-Lécuru, 1973). Todas las lagartijas excepto algunos gecónidos poseen garras, que asisten a funciones locomotoras principalmente (Vitt y Caldwell, 2014). Es importante señalar que las lagartijas son plantígradas, condición que implica que durante la marcha el peso del cuerpo recae en la palma y planta de manos y pies. Este hecho supone un compromiso particular del mesopodio en la locomoción ((Romer, 1956).

La pérdida de miembros pares ha ocurrido múltiples veces en los Squamata (Gans, 1975; Edwards, 1985; Greer, 1989; Wiens y Slingluff, 2001; Whiting et al., 2003; Shapiro et al., 2007). Contando serpientes, anfisbenas, dibámidos, y miembros de la mayoría de los grandes grupos de lagartijas, 30 de 66 familias se caracterizan por la ausencia total de miembros (Vitt y Caldwell, 2014). Una familia monogénica de anfisbenas, Bipedidae, tiene la particularidad de tener especies (Género *Bipes* sp.) dotadas de miembros anteriores con diversos grados de desarrollo. Esto es particularmente interesante, no solo por ser los únicos representantes con miembros dentro de un linaje (*Amphisbaenia*) caracterizado por la ausencia de los mismos, sino por ser la única familia de Squamata en que los miembros posteriores se redujeron antes y persisten los anteriores (Gans, 1975; Gauthier et al., 2012).

La diversidad en morfología, biogeografía y ecología, junto a un registro fósil relativamente importante y numerosos taxa existentes, hace de Squamata un grupo sumamente atractivo para realizar estudios evolutivos. Consecuentemente, los Squamata han sido un grupo modelo en estudios sobre ecología y biología evolutiva (Losos, 2009; Tulli et al., 2009, 2011; Bergmann et al., 2009; Reeder et al., 2015).

Osteología del quiridio

Los huesos son estructuras esqueléticas conformadas mayoritariamente por tejido óseo. Es un tipo de tejido conectivo caracterizado por tener su matriz extracelular calcificada, lo que le otorga gran dureza. Generalmente los huesos contienen tejido óseo compacto y tejido óseo esponjoso. Adicionalmente suelen tener tejido cartilaginoso, tejido conectivo denso y tejido hematopoyético. Según su morfología, los huesos pueden ser largos, cortos o planos. Los huesos largos poseen un cuerpo alargado y cilíndrico llamado diáfisis y dos extremos ensanchados conocidos como epífisis. Los huesos cortos son cúbicos o poliédricos regulares.

Se cubren de cartílago en las caras articulares. Los huesos planos poseen predominancia de dos de sus tres dimensiones (Haines, 1950).

Según los criterios geométricos e histológicos, los huesos del autopodio de Squamata son largos (metapodiales y falanges), cortos (mesopodiales) y planos (algunos sesamoideos). Los componentes óseos del autopodios de Squamata comprenden nueve huesos del carpo, tres del tarso, el o los sesamoides palmares, cinco metapodiales que constituyen el esqueleto de la palma del mesopodio y metapodio, y las series de falanges que conforman cada dedo (Romer, 1956; Russell y Bauer, 2008). La nomenclatura anatómica del autopodio de Squamata se aborda tradicionalmente bajo dos propuestas alternativas de homologías (Russell y Bauer, 2008). Los conflictos entre ambas alternativas se centran en la identidad de la pieza más pequeña que se sitúa entre el zygotipodio y el primer metapodial del miembro pectoral. Algunos autores (Carroll, 1977; Leal et al., 2010) consideran que esta pieza corresponde al central medial de los amniotas. Según esta postura, el mesopodial distal I estaría ausente en Squamata en tanto elemento individualizado, pudiendo haberse fusionado al metapodial I. Alternativamente, autores como Romer (1956) y Fabrezi et al. (2007) consideran que esta pieza corresponde al mesopodial distal I. Fabrezi et al. (2007) se basan en evidencia embriológica para apoyar esta idea. Siguiendo a Romer (1956) y Fabrezi et al. (2007) aquí se considera a esta pieza como el mesopodial distal I.

Artrología del quirididio

Una articulación se define la unión entre dos o más huesos, un hueso y cartílago o un hueso y los dientes. Las articulaciones permiten que los elementos esqueléticos se muevan en relación a otros.

El movimiento es típicamente producido por la contracción de músculos insertados a alguna de las piezas esqueléticas que intervienen en la articulación (Vizcaíno et al., 2016).

Según las características de la articulación, ésta permitirá el movimiento relativo de los huesos según uno o más grados de libertad. Los grados de libertad (GL) de una articulación son definidos como las coordenadas independientes requeridas para caracterizar completamente al sistema (Neumann, 2010). Un grado de libertad (GL) puede entenderse como la forma independiente en que un cuerpo se mueve. Una articulación puede alcanzar un número máximo de tres grados de libertad axiales en correspondencia de las tres dimensiones espaciales. Para cada GL se considera un máximo de dos movimientos posibles, de manera que con tres GDL se puede ejercer un máximo de seis movimientos teóricos. Desde una perspectiva ingenieril, los movimientos traslacionales no axiales pueden incluirse como grados de libertad. Estos implican deslizamientos de las piezas entre sí (Neumann, 2010). Según las posibilidades de movimiento, las articulaciones se clasifican en dos tipos básicos. Por un lado, las sinartrosis, que son uniones entre huesos que no permiten movimientos significativos relativos entre las piezas involucradas. Las diartrosis (sinoviales),

en cambio, permiten un rango variable de movimientos relativos entre las piezas involucradas y pueden permitir uno, dos o tres GL o movimientos traslacionales (Neumann, 2010; Vizcaíno et al., 2016).

Según los grados de libertad que son permitidos por su morfología, las diartrosis se pueden clasificar a su vez en cuatro tipos básicos: uni-axiales, bi-axiales, tri-axiales y no-axiales (Neumann, 2010; Vizcaíno et al., 2016).

- ❖ **Articulación uni-axial.** Permiten movimientos axiales según un único eje, es decir presentan un único grado de libertad (axial). Según un criterio morfológico las articulaciones uni-axiales incluyen:
 - **Articulación en bisagra.** A este tipo de articulaciones se la comparara con una bisagra como mecanismo análogo. Está formada por un eje central rodeado por un cilindro hueco. Por ejemplo, permiten flexión y extensión (Neumann, 2010; Vizcaíno et al., 2016).
 - **Articulación en pivote.** Esta articulación implica un eje central rodeado por un gran cilindro. Se diferencia de la articulación en bisagra en que el miembro móvil se orienta de manera paralela al eje de rotación. La orientación mecánica produce el movimiento de giro. Se lo compara con el movimiento de un picaporte de una puerta (Neumann, 2010).
 - **Articulación en rodillo.** Implica que una de las estructuras involucradas tiene forma de rodillo en correspondencia con una oquedad en la otra pieza involucrada (Kümmell y Frey, 2012).
- ❖ **Articulación Bi-axial.** Permite la rotación según de dos ejes y dos ángulos, es decir posee dos grados de libertad de movimiento. Según un criterio morfológico, este tipo de articulación incluye:
 - **Articulación elipsoide.** En este tipo de articulación uno de los miembros involucrados presenta una superficie elongada convexa en una dimensión que encaja en una superficie similar cóncava presente en la otra pieza involucrada. Este tipo de articulación restringe fuertemente la rotación entre las dos piezas, pero permite movimientos planos como la flexión-extensión y aducción-abducción (Neumann, 2010).
 - **Articulación en silla de montar.** Este tipo de articulación implica que la superficie de una de las piezas posea una concavidad en una de las dimensiones y una convexidad en otra (como una silla de montar). La otra pieza involucrada tiene a su vez una superficie con una convexidad y concavidad. Esta morfología genera un bloqueo recíproco que permite movimientos amplios según dos ejes, mientras limita la rotación.
 - **Articulación condilar.** Este tipo de articulación se asemeja a una articulación de tipo esférica (ver abajo), en la cual la pieza cóncava presenta una concavidad relativamente poco profunda o poco pronunciada. A diferencia de la articulación

elipsoide la superficie cóncava no es elipsoide si no circular. Permiten flexión-extensión y aducción-abducción o bien flexión-extensión y rotación axial.

- ❖ Articulación tri-axial. Permite la rotación alrededor de cualquier eje que pase por el centro de una esfera. Se define con tres grados de libertad porque cualquier rotación que se produzca puede ser descripta como una combinación de rotaciones alrededor de tres ejes. Según un criterio morfológico, se las conoce como articulaciones esféricas. Este tipo de articulación implica que una de las piezas involucradas posea una convexidad esférica que encaja en una concavidad en forma de copa.
- ❖ Articulación no-axial. Éstas solo permiten pequeños movimientos de deslizamiento. Según un criterio morfológico, las articulaciones no-axiales se conocen como articulaciones planas. Implican la vinculación entre dos superficies articulares planas o relativamente planas. Los movimientos permitidos por estas articulaciones implican deslizamientos y algún grado de rotación relativa entre las piezas. Por ejemplo, la articulación formada entre los huesos carpianos.

Articulaciones del quirididio. Según un criterio topológico, las piezas de la mano están involucradas en cinco tipos básicos de articulaciones teniendo en cuenta la identidad de los elementos que las componen: 1) Articulación zeugopodio-mesopodial, 2) Articulaciones inter-mesopodiales, 3) Articulaciones mesopodio-metapodiales, 4) Articulaciones metapodio-falangeales y 5) Articulaciones inter-falangeales que, a su vez, se clasifican según la identidad de las piezas involucradas:

Mesopodiano-metapodianos: articulación entre el extremo proximal de los metapodianos y la fila distal de huesos mesopodianos.

Metapodio-falangeal: articulación entre huesos metapodianos y las falanges proximales (=basales) de cada dedo.

Interfalangeales: articulación de dos falanges consecutivas en un dedo (Romer, 1956; Renous-Lécuru, 1973, Kümmell y Frey, 2012).

Producto de la morfología de las piezas y sus articulaciones, se generan las configuraciones espaciales de las regiones del autopodio.

Los elementos sesamoideos

Los elementos sesamoideos son elementos esqueléticos típicamente pequeños, caracterizados por desarrollarse dentro de una banda continua de tejido conectivo denso, especialmente el que constituye las cápsulas articulares en zonas donde un tendón cruza una articulación o en las inmediaciones de la prominencia de un hueso (Hall, 2005; Vickaryous y Olson, 2007; Regnault et al., 2016a, b). Estos elementos pueden ser mineralizaciones, osificaciones de cartílago hialino o nódulos de cartílago sin osificación (Regnault et al., 2016a, b). La mayoría de los huesos del esqueleto de un tetrápodo están conectados entre sí

mediante articulaciones. Los elementos sesamoideos en cambio no intervienen en articulaciones, aunque siempre están relacionados con ellas de un modo u otro. Por estar típicamente no conectados con otros huesos, se ha pensado que actuarían como poleas proveyendo una superficie suave sobre la que el tendón en que se insertan se desliza, incrementando de esta manera la habilidad del tendón para transmitir fuerzas musculares (Abdala et al., 2017). Se ha hipotetizado también que los elementos sesamoideos protegen a los tendones de daños mecánicos (Sarin et al., 1999).

Los elementos sesamoideos se encuentran embebidos en tejidos fibrosos del tendón correspondiente, excepto en la región donde estos contactan con las superficies sobre las cuales deslizan (Jerez et al., 2010). Algunos elementos sesamoideos se han reportado como variables respecto a su presencia, número y disposición entre individuos (Regnault et al., 2016a). La frecuencia de los elementos sesamoideos es variable entre especies e incluso entre individuos dentro del clado Squamata (Jerez et al., 2010). Debido a esta variabilidad, tradicionalmente se pensó que los elementos sesamoideos surgen a partir de la interacción entre factores mecánicos ambientales y los factores biológicos como una respuesta plástica al estrés mecánico (Haines, 1969; Vickaryous y Olson, 2007; Sarin et al., 1999). Sin embargo, muchos elementos sesamoideos, como la patella (=rótula) son tan invariables como cualquier otra pieza del esqueleto (Vickaryous and Olson, 2007; Regnault et al., 2016a; Abdala et al., 2017). Los elementos sesamoideos están determinados genéticamente y están presentes en la mayoría de los vertebrados extintos y actuales (Vickaryous y Olson, 2007; Abdala et al., 2009; Jerez et al., 2010; Ponssa et al. 2010; Regnault et al., 2016a; Abdala et al., 2017). Adicionalmente muchos de los elementos sesamoideos son sensibles a bloqueos de genes Hox (Hall, 2005). Los elementos sesamoideos, históricamente poco estudiados en vertebrados (Ponssa et al, 2010; Regnault et al., 2016a), están recibiendo notable atención en la última década (Ponssa et al., 2010; Regnault et al., 2016a, b; Abdala et al., 2017). Dado que se los ha asociado frecuentemente con aspectos funcionales (Hildebrand, 1985; Sarin et al., 1999), su conocimiento constituye un aporte a la comprensión del autopodio como un sistema mecánico.

Según su conexión con otros tejidos, los elementos sesamoideos se pueden clasificar en:

- Embebidos: aquellos elementos sesamoideos incluidos dentro de tendones.
- Inter-óseos: aquellos que se localizan entre huesos y se relacionan directamente con ligamentos, pero no con tendones.
- De deslizamiento: aquellos que proveen una superficie de deslizamiento para tendones flexores en el autopodio. Si bien este tipo de elemento sesamoideo mantiene una relación íntima con los tendones, esta relación difiere respecto a la de otras categorías en que los elementos sesamoideos actúan como una superficie en la que deslizan los tendones que discurren por encima o por debajo.

- De soporte: aquellos que actúan como puntos de anclaje para músculos (Vickaryous y Olson, 2007; Jerez et al., 2010).

Jerez y sus colaboradores (2010) identificaron 13 tipos diferentes de elementos sesamoideos en el autopodio pectoral de Squamata. Adicionalmente, Otero y Hoyos (2013) consideraron elementos sesamoideos a los elementos parafalangeales (Russell y Bauer, 1988) y al sesamoide axial (Fontanarroza y Abdala, 2014), que ellos homologan con el hueso intermedio.

Entre los elementos sesamoideos podemos señalar: el (o los) sesamoide(s) palmar(es), el sesamoide axial, los elementos parafalangeales, sesamoides dorsales-distales de los dígitos (SDD, = SDM Sesamoidea digitorum manus), sesamoides ventro-distales de los metapodios (SMC: Sesamoidea metapodiales) y el pisiforme.

El sesamoide palmar es una estructura plana presente en la región palmar de diversos tetrápodos (Hildebrand, 1985; Jerez et al., 2010; Ponssa et al, 2010; Regnault, 2016a). Esta pieza está embebida en el tendón del músculo flexor digitorum longus que se dirige desde el zeugopodio a los dedos. El tendón y su sesamoide embebido forman una estructura denominada placa flexora (Haines, 1950). El sesamoide axial es un pequeño hueso presente entre las epífisis distales del zeugopodio. Los elementos parafalangeales son estructuras esqueléticas pares situadas en las caras medial y lateral respecto a algunas articulaciones metapodiales-falangeales e inter- falangeales (Russell y Bauer, 1988; Rothier et al., 2017), de geckos de las familias Gekkonidae y Phyllodactylidae (Russell y Bauer, 1988; Russell, 2002, Gamble, et al., 2012; Otero y Hoyos, 2013). Los sesamoides dorso-distales de los dígitos se encuentran ubicados dorsalmente respecto de la falange ungueal de los dedos I a V (Jerez et al., 2010; Otero y Hoyos, 2013). Los sesamoides ventro-distales de los metacarpales se encuentran ventralmente al extremo distal de los metapodiales I a V. El pisiforme es una pieza ubicada latero-ventralmente respecto a los mesopodiales proximales. La clasificación de esta estructura ósea como sesamoide es discutida desde hace, al menos, unos 100 años (Fabrezi et al., 2007; Russell y Bauer 2008; Diaz y Trainor, 2015).

Estudios sobre el quiridio

Rieppel (1993) presentó detalles sobre la secuencia y el patrón de osificación a lo largo del esqueleto de *Chelydra serpentina*, y complementó estos datos con observaciones sobre la osificación obtenida de las etapas de desarrollo de las tortugas marinas. Realizó una comparación con los patrones de osificación en el esqueleto de los diápsidos que utilizó en un análisis de las relaciones filogenéticas de los testudines. Se procesó un total de 42 embriones para la limpieza y la tinción, que van desde las etapas de desarrollo 19 a 26. Los patrones de osificación postembrionica en la parte delantera y posterior se estudiaron en una muestra de *Dermochelys coriacea* Linnaeus juvenil, para teñir los cartílagos se usó azul de alciano y para los huesos rojo de alizarina “S”. *Chelydra* mostró un gradiente de

predominancia de dígito en osificación que es similar a la de los reptiles diápsidos, siendo el dígito 111 el más predominante, mientras que el dígito V se retrasa gravemente. El dígito II1 también es predominante en la osificación de las extremidades de las tortugas marinas, pero se pueden notar las siguientes diferencias. En las tortugas marinas disponibles para el estudio, la pata delantera precede claramente a la extremidad posterior en la osificación de los elementos autopodiales, bastante en contraste con *Chelydra* y los diápsidos (*Alligator*, *Lacerta*). El metacarpiano 5 (pero no metatarsiano 5) es claramente acelerado en osificación y apoya el margen posterior de la aleta. El pisiforme es el elemento más grande del carpo de *Chelydra*, *Alligator* y *Lacerta*. Este elemento osifica comparativamente antes en las tortugas marinas, donde siempre está un poco agrandado ya que apoya la base de la aleta. En *Dermochelys*, sin embargo, el elemento es desproporcionadamente agrandado, y apoya una extensión medial posterior distinta del ala, ampliando así su base. El hecho de que este sea el primer elemento carpiano en osificar parece ser una consecuencia de su posición estratégica en el carpo de la extremidad frontal altamente modificada de *Dermochelys*. Este es, quizás, el ejemplo más distintivo que surge de este estudio de una modificación de la secuencia de osificación que puede estar relacionada con la modificación adaptativa del esqueleto de las extremidades.

Fabrezi y colaboradores (2007) se basaron en el esquema de Shubin-Alberch (1986) para realizar la descripción del desarrollo del cartílago primario en las series embrionarias; el estudio del patrón de osificación en la serie ontogenética; y el examen de la variación interespecífica de carpos y tarsos en una muestra de 41 especies pertenecientes a 12 familias lagartijas. Realizaron las observaciones con doble tinción con azul de alciano y rojo de alizarina siguiendo el procedimiento descrito por Wassersug. Encontraron que los adultos de algunos taxones presentan un elemento osificado colocado entre la ulna y el radio que puede interpretarse como el intermedio. Las lagartijas comparten con otros reptiles la presencia de una condensación cartilaginosa de la fíbula y una condensación anterior que representa los centrales. Presentaron evidencia de patrones de conectividad entre el dígito V y el arco digital en las extremidades pectoral y pélvica de la lagartija, sin embargo, se necesitan más estudios embriológicos que soporten que el dígito V forma parte del eje primario. El pisiforme es uno de los numerosos sesamoides que se desarrollan sin conectividades espaciales con los cartílagos primarios de la extremidad, y, por último, la morfogénesis del cartílago y la osificación fueron diferentes. El patrón de morfogénesis de cartílagos define los primordios cartilaginosos que se osifican, pero las secuencias de osificación parecen tener patrones variables.

AbouEgla y colaboradores (2008) estudiaron la adaptabilidad del aparato locomotor en algunas especies de lagartijas de *Agamidae*, *Gekkonidae*, *Scincidae* y *Chamaeleontidae*. Se formularon la hipótesis de que las especies de reptiles que ocupan hábitats abiertos poseerían extremidades relativamente más largas que las de hábitats cerrados. Se cuantificaron varias características osteológicas relevantes para la locomoción, incluyendo el tamaño del cuerpo

y la longitud ósea de las extremidades delanteras y traseras. Para ello se tiñeron las extremidades esqueléticas, los especímenes fueron teñidos con azul de alciano y rojo de alizarina según Whitaker y Kathleen. Tomaron las siguientes adaptaciones como una correlación entre las extremidades y el estilo de vida; 1) los habitantes del suelo tienen extremidades traseras largas y la pata delantera corta. 2) Los escaladores verticales tienen longitud hocico-ventral corta, patas delanteras y extremidades traseras del mismo tamaño. 3) Las especies arborícolas tienen patas delanteras y posteriores más largas que los escaladores verticales. 4) Las especies arborícolas tienen más largas las patas delanteras que las extremidades posteriores.

Tschopp y colaboradores (2015) describieron detalladamente la morfología de los huesos autopodiales del saurópodo *Camarasaurus* SMA 0002 y las impresiones integumentarias, y dibujaron comparaciones con los datos publicados sobre manos y pies de este y de otros saurópodos. Las manos y los pies de este espécimen muestran además anomalías morfológicas en varios elementos, la región abdominal, la pata trasera derecha, y la mano derecha. Los términos direccionales que utilizaron se basan en el estado articulado de las manos y los pies, seguimiento de la terminología propuesta de Upchurch y Bonann. Proximal y distal corresponden a las partes de cada elemento que están más cerca o más lejos de la columna vertebral, respectivamente. Las manos y pies de *Camarasaurus* SMA 0002 representan el primer conjunto completo de autopodio articulado conocido de un saurópodo individual. Esto permitió revisar la evolución de la forma manual y del pedal con más detalle, y producir una reconstrucción precisa de las manos y pies del *Camarasaurus* en 3D. Esta reconstrucción indicó que la relación de la altura de la cadera con la longitud de la huella varía entre los taxa de saurópodos, y que las ecuaciones propuestas en el pasado tienen que ser utilizadas con cuidado. Actualmente los ichnogéneros aceptados no encajan con la forma de huella esperada de *Camarasaurus*.

Khannoon y colaboradores (2015) proporcionaron una visión de cómo se puede generar la variación durante la evolución, lo que permite la adaptación a las funciones especializadas. Para las observaciones morfológicas, histológicas e inmunohistoquímicas, se utilizaron ejemplares adultos, juveniles y embriones de *Tarentola annularis*.

Rothier y colaboradores (2017) investigaron cómo la osteología autopodial se relaciona con la ecología comparando los geckos que difieren en el uso de microhábitat. En primer lugar, probaron las asociaciones evolutivas entre proporciones morfológicas externas y osteología de las manos y pies de geckos neotropicales. Utilizaron un amplio enfoque taxonómico y análisis filogenéticos para probar dos hipótesis 1) La osteología autopodial y morfología externa han coevolucionado durante los procesos de divergencia ecológica en este tipo de lagartijas; 2) las asociaciones ecológicas de la osteología en los geckos tienen una base funcional, por lo que los huesos distales del autopodio son más propensos a ser los asociados con un tipo determinado de locomoción.

Kruzhkova (2019) habla de la variabilidad del acro y basipodio en Amphibia y Reptilia en particular. Aplicó el análisis de variabilidad por "método de espectros" de Kovalenko sobre especies existentes y extintas entre ellas 60 de anfibios, 160 de reptiles, 154 de aves y 153 de mamíferos. Las descripciones se realizaron en las colecciones osteológicas del Departamento de Zoología de los vertebrados, en la Universidad Estatal de San Petersburgo y en el Instituto Zoológico de la Academia rusa de Ciencias. El objetivo de su investigación fue averiguar si existe alguna correlación entre la variación del acropodio y el basipodio en los miembros de tetrápodos y comparar los rangos de variación de estas estructuras en anfibios y reptiles. El análisis comparativo de las tendencias de variabilidad de las estructuras mencionadas en anfibios y reptiles le permitió revelar los criterios cualitativos y cuantitativos de sus dedos reales de variabilidad acro y basipodial, discriminando a estos grupos entre sí. Además de las distinciones demostraron tener regularidades comunes, que difieren de las aves y los mamíferos. Descubrió que el número de elementos en el basipodio varía de 0 a 15, mientras que el número de elementos en el acropodio, de 0 a 11.

Amarillo de Alizarina R (Figura 6)

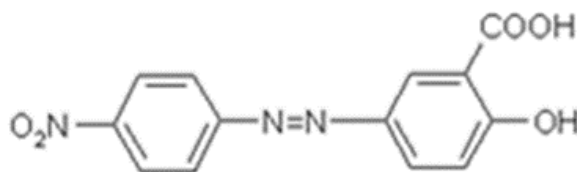


Figura 6.- Formula del amarillo de alizarina R (Mohran, 2005)

El amarillo de alizarina R es un tipo de compuesto azoico que se utilizan ampliamente en las industrias textil, de impresión, de medicamentos, de procesamiento de alimentos y de cosmética. Algunos compuestos azoicos también se utilizan ampliamente en laboratorios como indicadores de pH (rojo de alizarina y amarillo de alizarina) o colorantes biológicos (rojo de alizarina). Los colorantes azoicos se encuentran entre los indicadores apropiados para los iones Ca^{2+} y Mg^{2+} en experimentos biológicos, los cuales han sido cuidadosamente estudiados (Durham y Walton, 1983). Se han estudiado las propiedades fotovoltaicas y de rectificación de las células solares de colorante amarillo de alizarina R sensibilizadas con CdS y AgBr (Mohran, 2005). Así, el quelato de manganeso con amarillo de alizarina R adsorbido en un electrodo de mercurio de gota colgante [HMDE] y la posterior corriente de reducción del quelato acumulado se midió mediante voltamperometría a mostrado una gran afinidad por el ion Mg^{2+} mayor que la que posee con el Ca^{2+} (Wang y Mahmoud, 1986). Se encontró que el amarillo de alizarina entre diferentes colorantes catiónicos y aniónicos era capaz en flujo de inyección de manganeso en el suero sanguíneo, basada en el pico de corriente de reducción por adsorción, de formar el complejo amarillo de alizarina-manganeso (Goldik, et al.,1990). Esto ha llevado a considerar al amarillo de alizarina R como una

solución alcalina apropiada para todo procedimiento que implique la determinación de manganeso (Mohran, 2005).

Así, la unión de cationes Ca^{2+} y Mg^{2+} a indicadores metalocrómicos disponibles comercialmente como el amarillo de alizarina se pueden utilizar a pH neutro y temperatura ambiente (Durham, y Walton, 1983), de ahí que resulte raro que no se haya utilizado el amarillo de alizarina R en el estudio del esqueleto, hecho que se pretende explorar en el presente trabajo.

2.3 JUSTIFICACIÓN

Actualmente no existe ningún estudio sobre la tinción con amarillo de alizarina “R” en la transparentación de pequeños vertebrados por lo que es necesario evaluar la eficacia de la tinción en comparación con la tinción original con rojo de alizarina “S”. En el presente trabajo se pretende realizar dicha evaluación usando como modelo el estudio del quiridido de los reptiles *Barisia imbricata*, *Sceloporus grammicus* y *Sceloporus torquatus*.

2.4 HIPÓTESIS

La tinción del esqueleto de reptiles con amarillo de alizarina “R” dará resultados semejantes a los obtenidos con la tinción con rojo de alizarina “S”.

3. OBJETIVO

Comparar la tinción con amarillo de alizarina “R” respecto a la tinción con rojo de alizarina “S” usando como modelo los miembros pectorales y pélvicos de *B. imbricata*, *S. grammicus* y *S. torquatus*

4. MÉTODO

1.-En el presente estudio se utilizaron 12 especímenes *Barisia imbricata*, 12 de *Sceloporus torquatus* y 12 de *Sceloporus grammicus* los cuales fueron proporcionados por el laboratorio de Anatomía Animal Comparada de la Unidad de Morfología y Función.

2.-Se tomaron las siguientes medidas de la morfología externa utilizadas en morfometría (figura 7 y 8). Las medidas fueron tomadas con un vernier digital y se concentraron en una hoja de cálculo utilizando el programa Excel ©.

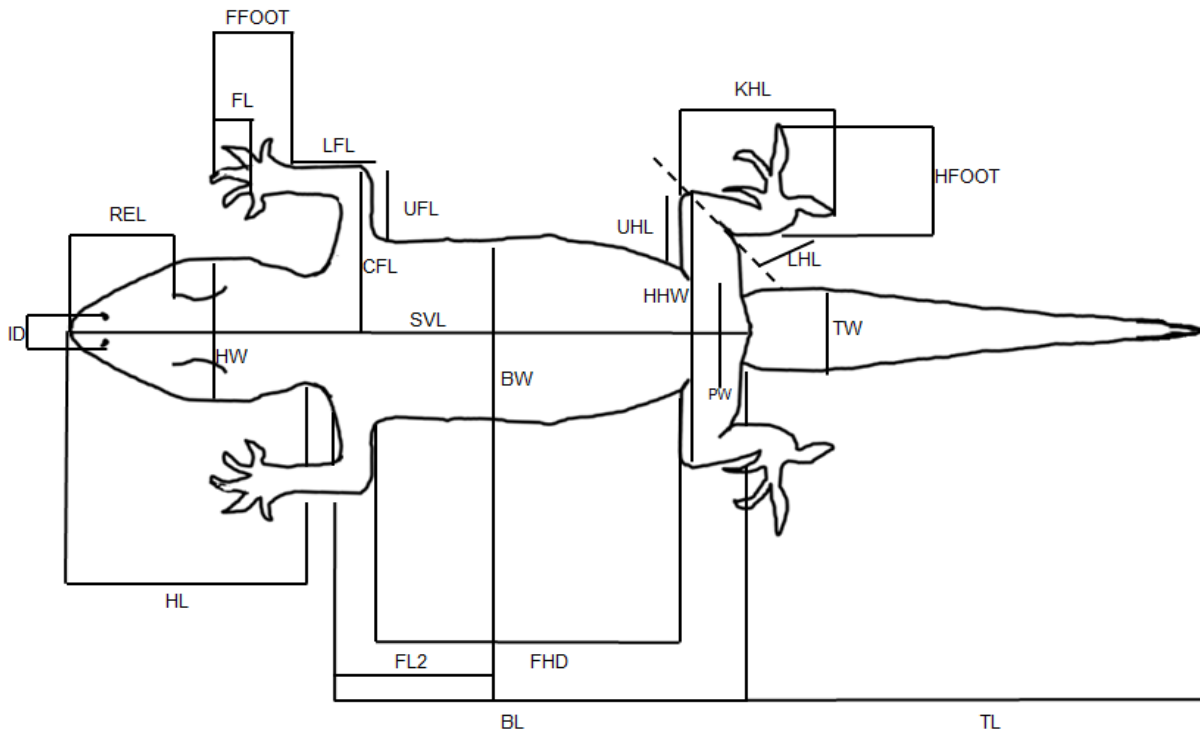


Figura 7. Distancia entre las fosas nasales (ID); Ancho de la cabeza (HW); Longitud de la cabeza (HL); (CFL);(UFL);(LFL); Longitud del antepiè (FFOOT)Longitud del dedo (FL); Longitud hocico-cloaca (SVL); Ancho del cuerpo (BW); Distancia de la extremidad delantera-trasera (FHD); La porción más ancha de la mitad del cuerpo (BL); Ancho de la parte posterior de la cadera (HHW); Ancho pélvico (PW); Parte superior de la pierna trasera (UHL); Parte inferior de la pierna trasera (LHL); Longitud del retropiè (HFOOT); Longitud de la rodilla al talón (KHL);Ancho de la cola (TW); Longitud de la cola (TL).



Figura 8. Altura del cuerpo (PH); Longitud de la boca (ML); Longitud del ojo (EL); Longitud hocico-tímpano (ST); Distancia entre las fosas nasales al borde anterior del ojo (DBNE); Distancia entre el borde posterior del ojo al borde anterior del tímpano (DBNET); Longitud del hocico al borde posterior del ojo (SL2); Longitud del hocico al borde anterior del ojo (SL3)

3.- Análisis morfométrico.

Con estas medidas se llevó a cabo el análisis morfométrico siguiendo los siguientes pasos:

3.1.- En la hoja de cálculo Excel se llevó a cabo el análisis morfométrico, para ello se calcularon los índices morfométricos para eliminar el efecto del tamaño utilizando la fórmula:

$$y = \text{índice de la medida "x"} = \frac{\text{longitud de la medida "x"}}{\text{longitud total}}$$

3.2.- De cada uno de los índices se obtuvieron el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación. Se considero el siguiente criterio para interpretar los resultados:

C.V. <10% el carácter vario poco, se supone que está bajo fuerte presión de selección

10% < C.V. < 20% el carácter vario ligeramente, se supone que está bajo presión de selección

C.V. > 20% el carácter vario mucho, se supone que no hay presión de selección

4.- A cada organismo se etiquetó para una fácil identificación, fueron colocados en recipientes separados por especie y estos también se etiquetaron.

5.- Posteriormente los especímenes se sometieron a la técnica de transparentación con doble tinción, para ello se dividieron en dos grupos iguales, uno para la tinción con rojo de alizarina "S" y otro con amarillo de alizarina "R" siguiendo el siguiente procedimiento:

-Los especímenes fueron desollados y se eliminaron los ojos con ayuda de instrumental de disección básico.

-Se deshidrataron utilizando un tren de alcohol etílico (40, 60, 80, 90 y 100%) 24 hrs en cada solución.

-Fueron sumergidos en una solución de azul de alciano (0.1%) por 24 hrs.

-Se rehidrataron en un tren de alcohol (100, 90, 80, 60 y 40%), 24 hrs en cada solución.

-Se lavaron por 24 hrs en agua corriente.

-El primer lote fue sumergidos en una solución de rojo de alizarina “S” (0.1%) por 24 hrs, mientras que el segundo lote se sumergió en una solución de amarillo de alizarina “R” también por 24 hrs.

-Se trasladaron a una solución de NaOH al 4% hasta que los organismos fueron translucidos cuando se observan en el negatoscopio.

-Los especímenes se diafanizarán pasando por un tren de glicerina (40, 60, 80, 90 y 100%), 24 hrs en cada solución.

-Se almacenaron en glicerina 100% para su conservación.

6.- Con la ayuda de unas tijeras finas y unas pinzas de disección se retiró la piel de cada uno de los organismos de las siguientes zonas (figura 9):

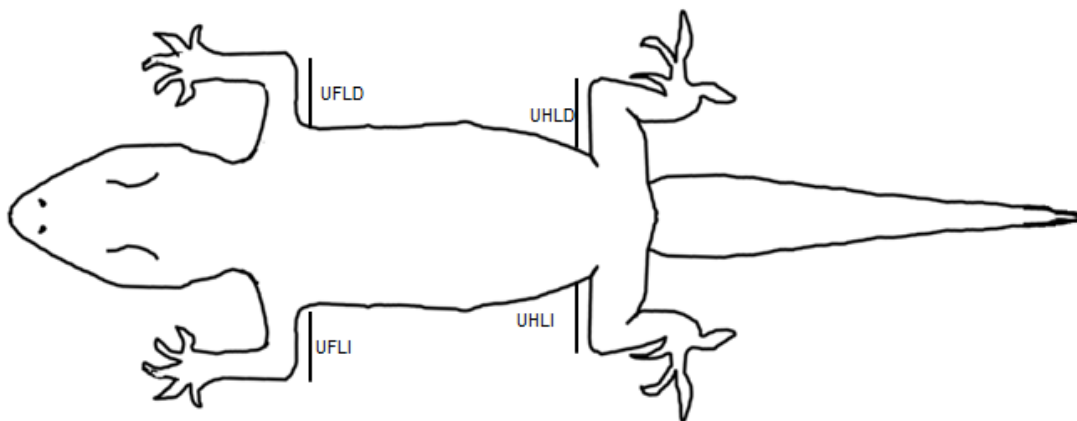


Figura 9. Brazo derecho (UFLD); Brazo izquierdo (UFLI); Fémur derecho (UHLD); Fémur izquierdo (UHLI).

7.- Cada porción de piel fue colocado en un pequeño frasco con glicerina al 100% y etiquetado con el nombre de donde fue retirado y el número de ejemplar al que corresponde.

8.- Se retiró por completo la piel de las extremidades de cada organismo.

9.- Se tomaron las fotografías utilizando una cámara digital SONY α6000 con un macro E de 30 mm F3.5. Estas fotos fueron procesadas utilizando el programa Photoshop CC ver. 2015 incrementando el contraste para una identificación más precisa de los elementos del carpo del autopodio de cada especie estudiada.

10.- Se identificaron los elementos del carpo del autopodio utilizando el patrón y la nomenclatura descrita por Fontanarrosa y Abdala (2016) (figura 10)

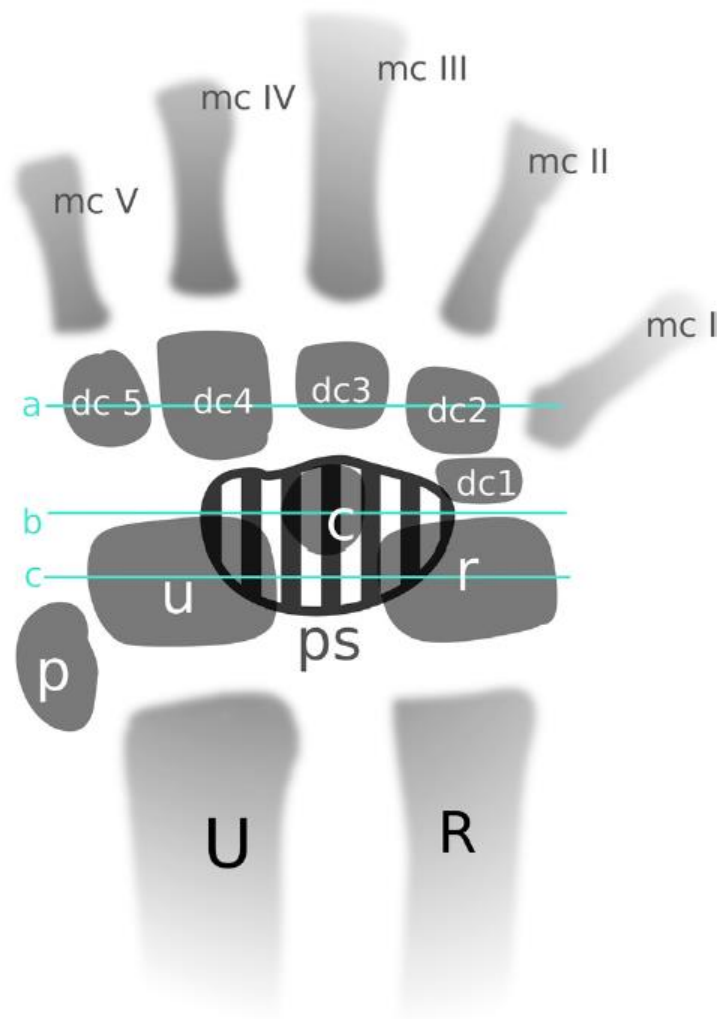


Figura 10.- Esquema general del autopodio de lagartija en vista ventral. R, radio; U, ulna; r, radial; u, cubital; c, central; dc 1-5, carpianos distales 1-5; mc I-V, metacarpianos I-V; p, psciforme; ps, sesamoideo palmar. Líneas de referencia: a: línea proximal, b: línea central, c: línea distal.

16.- El patrón obtenido se comparó con los patrones descritos por Fontanarrosa y Abdala (2016) (figura 11) los cuales agrupo en 3 tipos, Liolaemide, Polichrotide y Gekkonide

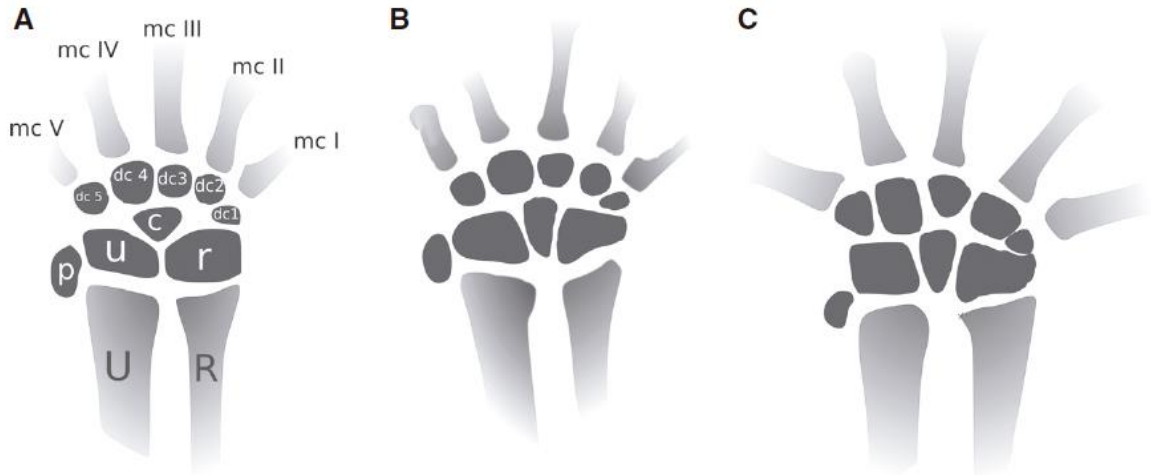


Figura 11.- Patrones anatómicos del carpo del autopodio: - A. Tipo Liolaemide, con los huesos del carpo distribuidos en círculo, cuyo centro es un central triangular; radial y ulnar están en contacto; B. Tipo Polichrotide, con el central desplazado con su vértice proximal entre el radial y el ulnar. C. Tipo Gekkonide, el central se desplazó con su vértice proximal introducido entre el radial y el ulnar. U, ulna; u, ulnar; R, radio; r, radial; c, central; p, pisiforme; dc 1-5, carpianos distales 1-5; mc I-V, metacarpianos I-V.

16.- Se compararon la visibilidad de los elementos del carpo del autopodio entre los especímenes teñidos en rojo de alizarina “S” y amarillo de alizarina “R” señalando los elementos que constituye el patrón anatómico de cada autopodio según la especie.

5. RESULTADOS

1.- Análisis morfométrico: Se obtuvieron 28 especímenes preparados, 11 correspondieron a *Sceloporus torquatus* (figura 12), 9 a *Sceloporus grammicus* (figura 13) y 8 a *Barisia imbricata* (figura 14), los cuales pasan a formar parte de la colección del laboratorio de anatomía animal comparada para futuros estudios.



Figura 12. Ejemplos de especímenes transparentados *Sceloporus torquatus* con amarillo de alizarina (A) y con rojo de alizarina (B).

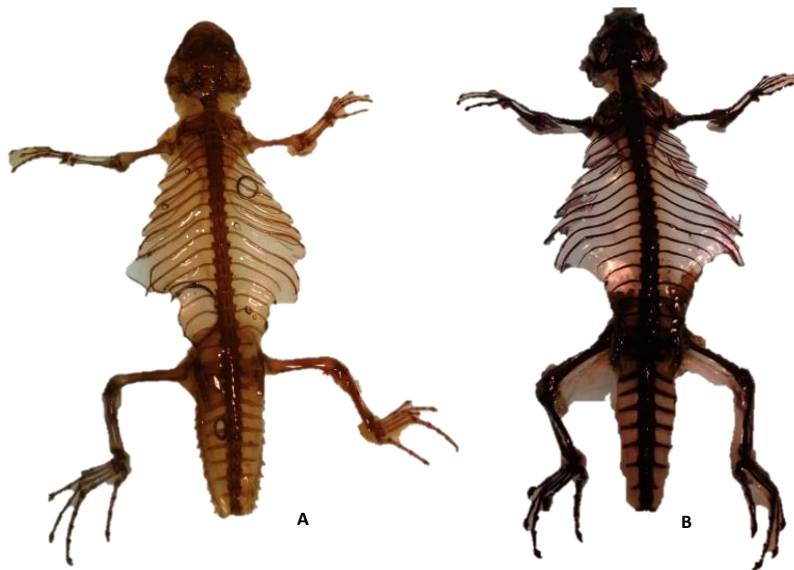


Figura 13. Ejemplos de especímenes transparentados *Sceloporus grammicus* con amarillo de alizarina (A) y con rojo de alizarina (B).



Figura 14. Ejemplos de especímenes transparentados *Barisia imbricata* con amarillo de alizarina (A) y con rojo de alizarina (B).

Del análisis morfométrico se obtuvo las tablas 1,2 y 3 (Apéndice I). En ella se observan diferencias entre las medidas morfométricas de cada una de las especies, encontrando que para *Sceloporus torquatus* 4 medidas están sometidas a una fuerte presión de selección, 13 que están sometidas a una presión de selección débil y 10 que no están sometidas a selección. Para *Sceloporus grammicus*, 14 medidas están sometidas a una fuerte presión de selección, 11 que están sometidas a una presión de selección débil y 2 que no están sometidas a selección. Por último, para *Barisia imbricata* 11 medidas están sometidas a una fuerte presión de selección, 13 que están sometidas a una presión de selección débil y 3 que no están sometidas a selección.

Estos resultados coinciden tomando en cuenta que son típicas especies silvestres.

Tabla 1. Comparación de las condiciones realizada con la prueba de X^2

Especie	Presión de selección fuerte	Presión de selección débil	No están sometidas a selección
<i>Sceloporus torquatus</i>	4	13	10
<i>Sceloporus grammicus</i>	14	11	2
<i>Barisia imbricata</i>	11	13	3

Obteniéndose que $X^2 = 38,7142 > X^2_{0,05} = 9,4877$, lo que implica que la presencia de presión de selección depende de la especie, siendo mayor en el *Sceloporus grammicus*, intermedia en el *Barisia imbricata* y menor en *Sceloporus torquatus*.

2.- Morfología común del autopodio entre las especies estudiadas

Las tres especies de las lagartijas analizadas exhiben un patrón del quiridio con un autopodio formado por tres segmentos (figura 15, 17 y 19) mesopodio (carpo) compuesto por nueve huesos, metapodio formado de cinco elementos y un acropodio de cinco dedos con una fórmula de las falanges I(2), II(3), III(4); IV(5); V(3), siendo en general más largas las falanges en las especies *Sceloporus torquatus* y *Sceloporus grammicus*; y más cortas en *Barisia imbricata*.

De acuerdo con los datos obtenidos y por lo reportado por diferentes autores la estructura del carpo de los Squamata es un complejo esquelético altamente conservado entre diferentes linajes. La mayoría de los autores (Romer 1956; Fabrezi et al. 2007; Russell y Bauer 2008; Leal et al. 2010) consideran que el carpo de lagartija está compuesto por nueve huesos.

Este patrón es el mismo que se observan en el capo de las especies estudiadas (figuras 13, 15 y 17).

En una inspección superficial se observan diferencias en la delimitación de los elementos de los carpos entre las tres especies estudiadas (figuras 16, 18 y 20), por lo cual se procedió a describirlas para cada una de las especies.

2.1.- Morfología del carpo del autopodio de *Sceloporus torquatus*.

Al observar la figura 15, es notorio que los elementos del carpo se observan mejor individualizados en la tinción con amarillo de alizarina “R” que con rojo de alizarina.

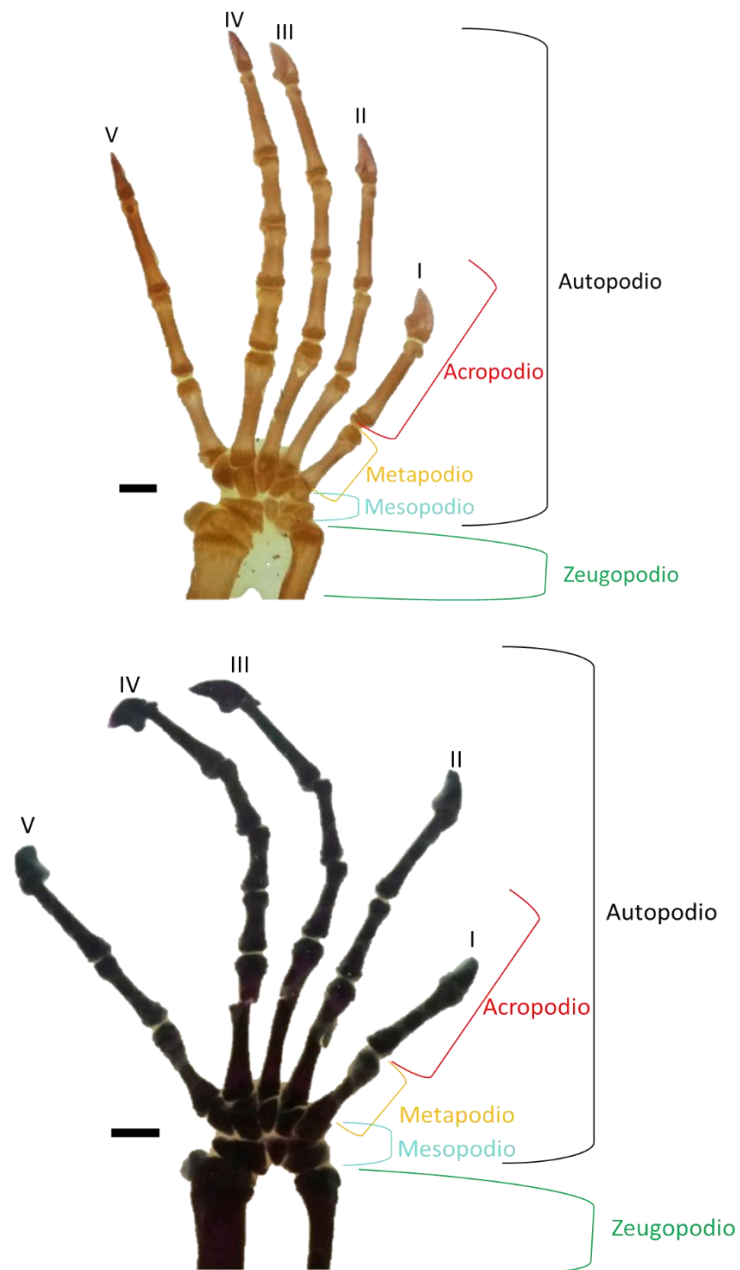


Figura 15.- Estructura del autopodio de la mano de *Sceloporus torquatus*. Superior, tinción con amarillo de alizarina “R”, inferior, tinción con rojo de alizarina “S”. Barra de escala = 1 mm.

El radial es un hueso cuadrangular que se articula por su porción proximal con el radio y cubre la superficie distal de su epífisis (figura 16). El radial exhibe una estructura prominente ubicada en la región preaxial denominada "proceso radial" ubicada en el plano espacial del pisiforme (figura 16). El pisiforme tiene una forma cuadrangular cubriendo una cuarta parte de la superficie distal de su epífisis del ulnar (figura 16).

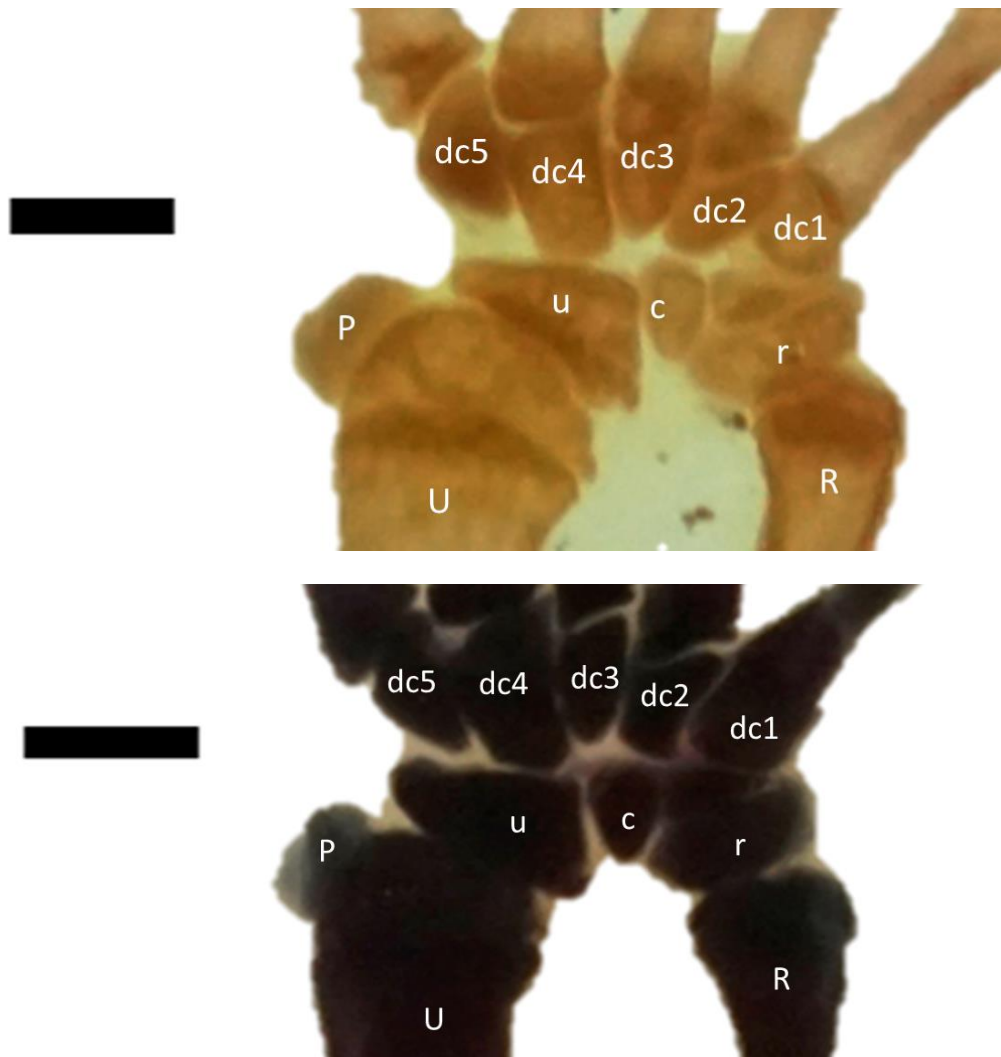


Figura 16.- Estructura del carpo del autopodio de *Sceloporus torquatus*. Superior tinción con amarillo de alizarina “R”, inferior, tinción con rojo de alizarina “S”. Nomenclatura de los elementos identificados: U, ulna; u, ulnar; R, radio; P, pisiforme; r, radial; c, central; dc 1-5, carpianos distales 1-5 Barra de escala = 1 mm.

El ulnar de forma triangular se articula con la ulna, cubriendo la mitad de la superficie distal de su epífisis (figura 16). El central de forma triangular con vértice entre el ulnar y el radial, articula proximalmente con el radial y el ulnar, y distalmente con los carpianos distales 1, 2, 3 y 4 (figura 16): El carpiano 4 posee la mayor superficie de todos los carpianos distales, siendo el carpiano 2 el más pequeño. Nótese que no es posible diferenciar las articulaciones

ulna-ulnar, ulna-pisiforme, y carpiano distal 1-metacarpiano 1, en la tinción con rojo de alizarina “S” (figura 16).

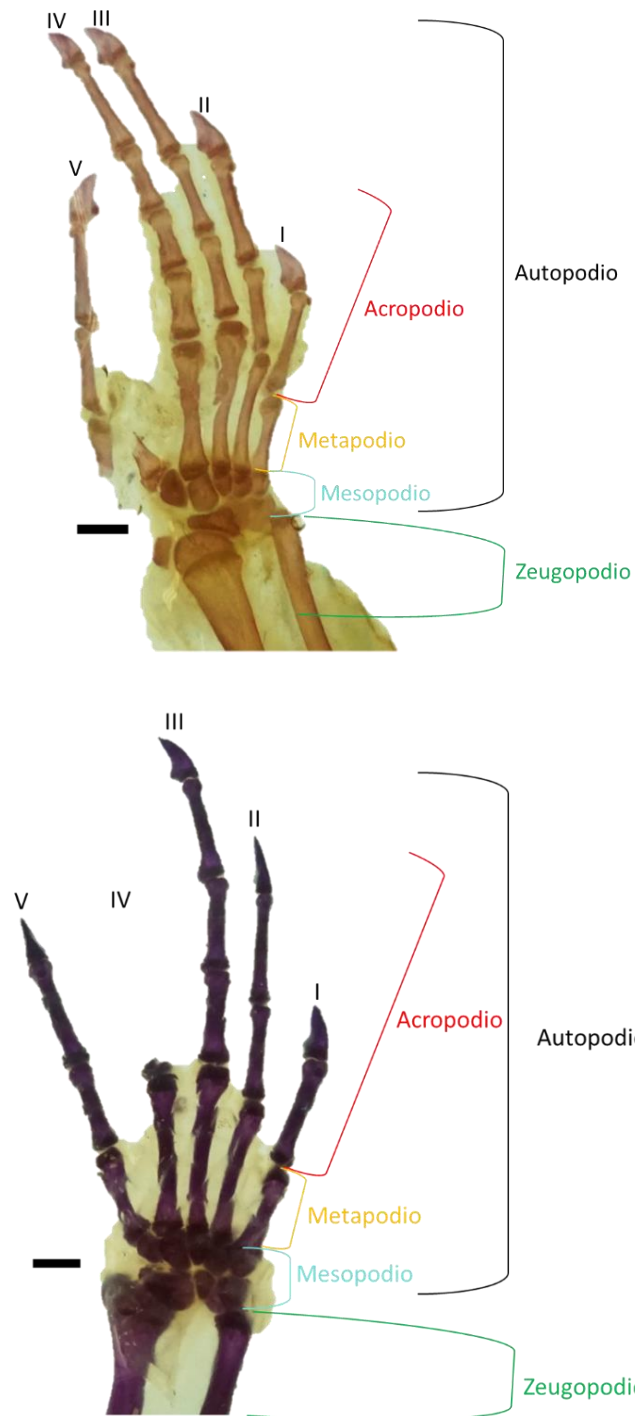


Figura 17.- Estructura del autopodio de la mano de *Sceloporus grammicus*. Superior tinción con amarillo de alizarina “R”, inferior, tinción con rojo de alizarina “S”. Barra de escala = 1 mm.

2.2.- Morfología del carpo del autopodio de *Sceloporus grammicus*.

Al observar la figura 15, es notorio que los elementos del carpo se observan mejor individualizados en la tinción con amarillo de alizarina "R" que con rojo de alizarina.

El radial es un hueso cuadrangular que se articula por su porción proximal con el radio y cubre la superficie distal de su epífisis (figura 18). El radial exhibe una estructura prominente ubicada en la región preaxial denominada "proceso radial" ubicada en el plano espacial del pisiforme (figura 18). El pisiforme tiene una forma cuadrangular cubriendo menos de una cuarta parte de la superficie distal de su epífisis del ulnar (figura 18).

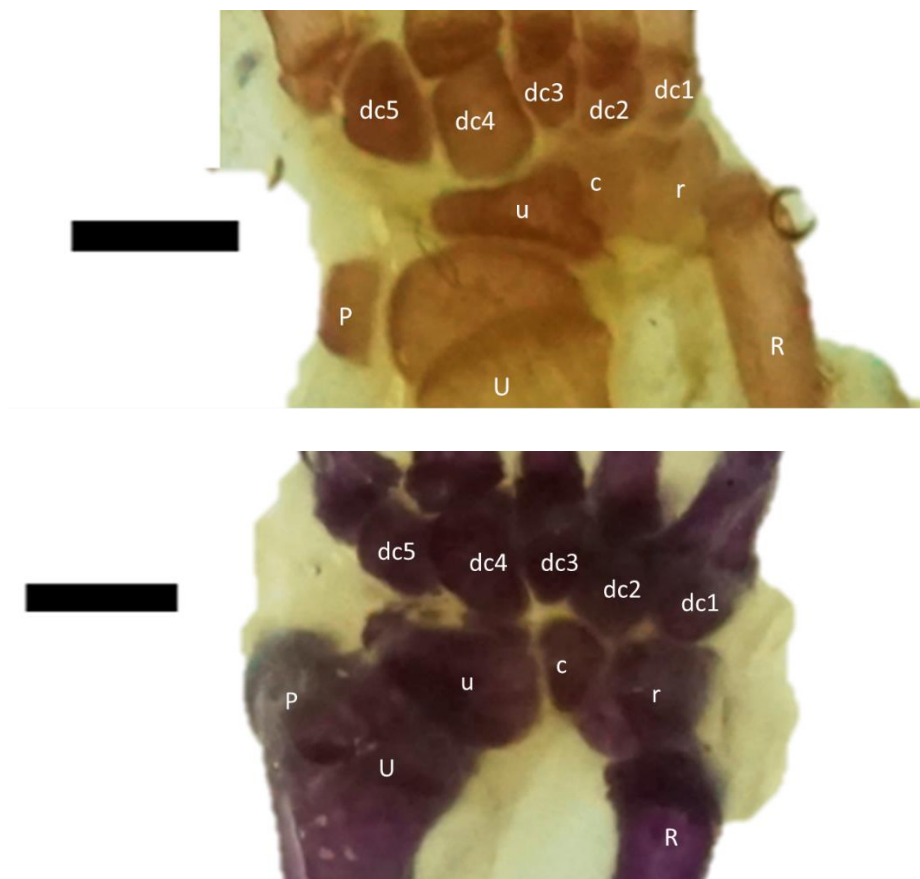


Figura 18.- Estructura del carpo del autopodio de *Sceloporus grammicus*. Superior tinción con amarillo de alizarina "R", inferior, tinción con rojo de alizarina "S". Nomenclatura de los elementos identificados: U, ulna; u, ulnar; R, radio; P, pisiforme; r, radial; c, central; dc 1-5, carpianos distales 1-5 Barra de escala = 1 mm.

El ulnar de forma triangular se articula con la ulna (figura 18), cubriendo la mitad de la superficie distal de su epífisis. El central de forma triangular con vértice entre el ulnar y el radial, articula proximalmente con el radial y el ulnar, y distalmente con los carpianos distales 1, 2, 3 y 4: El carpiano 4 posee la mayor superficie de todos los carpianos distales, siendo el carpiano 2 el más pequeño (figura 18). Nótese que no es posible diferenciar las articulaciones

ulna-ulnar, ulna-pisiforme, y carpianos distales 1 a 4 - metacarpianos 1 a, en la tinción con rojo de alizarina “S” (figura 18).

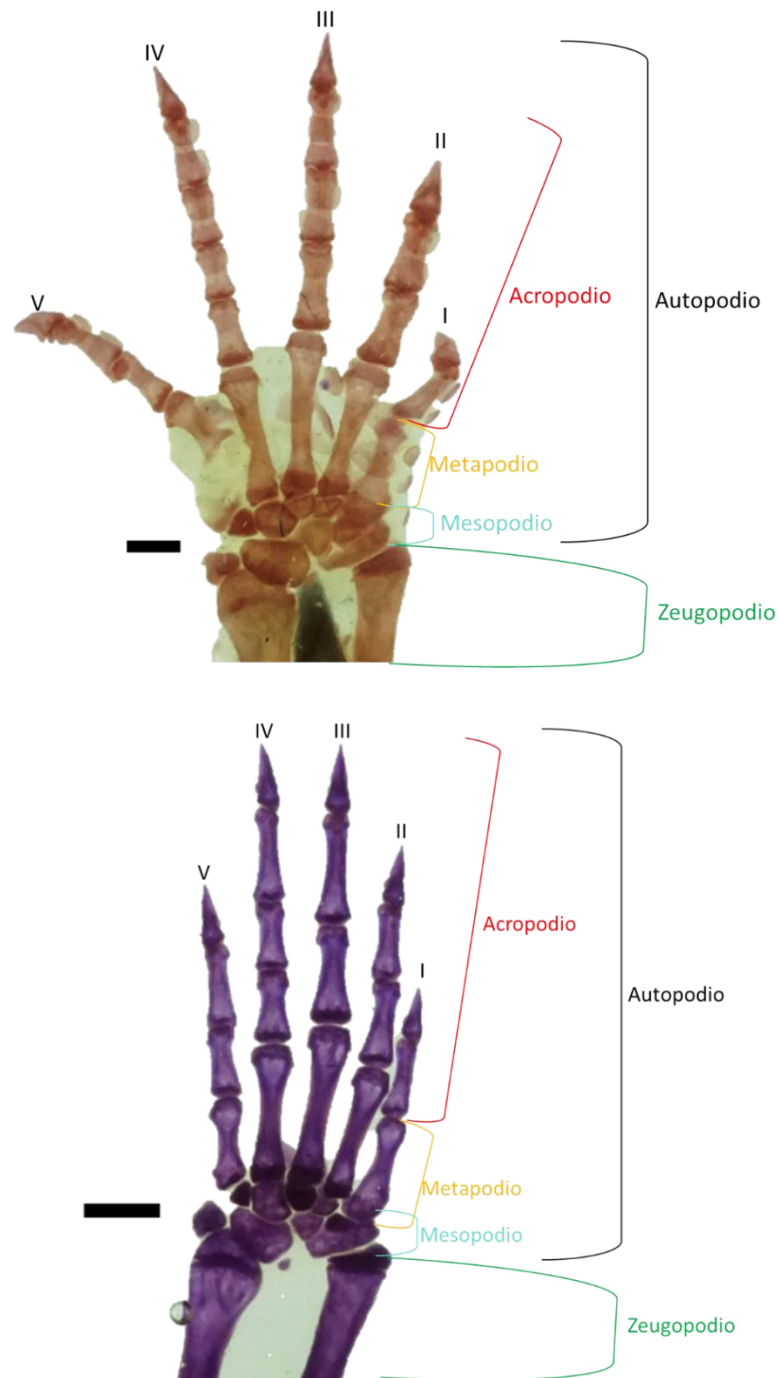


Figura 19.- Estructura del autopodio de la mano de *Barisia imbricata*. Superior tinción con amarillo de alizarina “R”, inferior, tinción con rojo de alizarina “S”. Barra de escala = 1 mm.

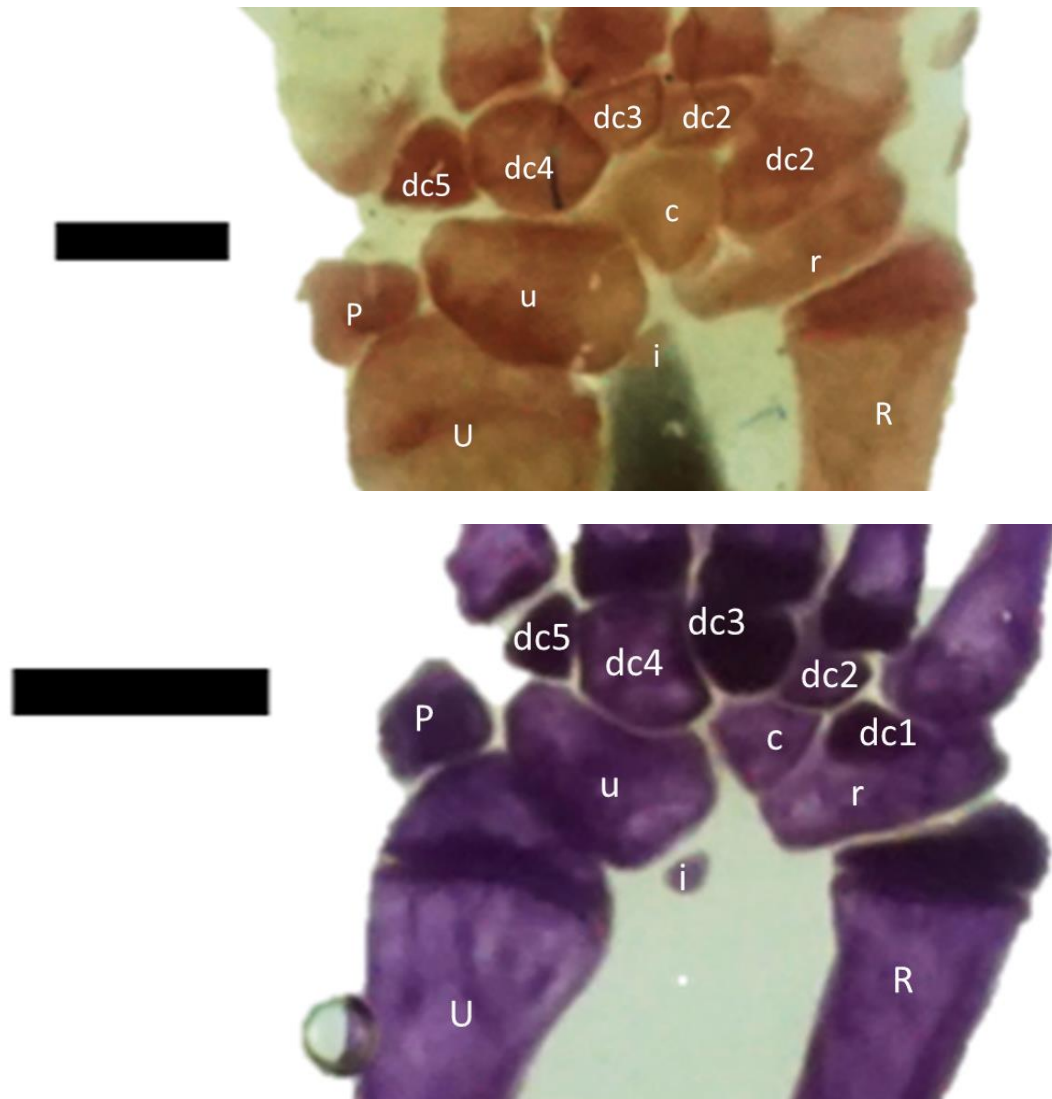


Figura 20.- Estructura del carpo del autopodio de *Barisia imbricata*. Superior tinción con amarillo de alizarina “R”, inferior, tinción con rojo de alizarina “S”. Nomenclatura de los elementos identificados: U, ulna; u, ulnar; R, radio; P, pisiforme; r, radial; c, central; i, intermedio; dc 1-5, carpianos distales 1-5 Barra de escala = 1 mm.

2.3.- Morfología del carpo del autopodio de *Barisia imbricata*.

Al observar la figura 16, es notorio que los elementos del carpo se observan mejor individualizados en la tinción con amarillo de alizarina “R” que con rojo de alizarina.

El radial es un hueso rectangular que se articula por su porción proximal con el radio y cubre la superficie media distal de su epífisis (figura 20). A diferencia de las especies de *Sceloporus* el radial no exhibe la prominencia denominada "proceso radial" (figura 20). El pisiforme tiene una forma cuadrangular cubriendo menos de una quinta parte de la superficie distal de su epífisis del ulnar (figura 20).

El ulnar de forma ovalada articula con la ulna, cubriendo alrededor de dos quintos de la superficie distal de su epífisis (figura 20). El central de forma triangular con vértice articulado en el extremo medial del radial, no separando al radial del ulnar, se articula distalmente con los carpianos distales 1, 2, 3 y 4: El carpiano 1 posee la mayor superficie de todos los carpianos distales, siendo los carpiano 2 y 4 los más pequeños de aproximadamente del mismo tamaño. Nótese que no es posible diferenciar las articulaciones de los carpianos distales 1 a 4 - metacarpianos 1 a, en la tinción con rojo de alizarina “S” (figura 20).

Hay que señalar la presencia de un hueso intermedio, el cual no se observa en las especies de *Sceloporus*, este es muy pequeño y se encuentra desplazado proximalmente ubicándose a la altura de las sinartrosis de las hipófisis, estando más cercano al ulnar que a cualquier otro elemento del carpo.

3.- Comparación cualitativa de las tinciones con rojo y amarillo de alizarina.

Tabla 2. Visualización con mayor precisión de las características de las tinciones con respecto a la observación de elementos individualizados.

Especies	<i>Sceloporus torquatus</i>		<i>Sceloporus grammicus</i>		<i>Barisia imbricata</i>	
	Rojo de alizarina	Amarillo de alizarina	Rojo de alizarina	Amarillo de alizarina	Rojo de alizarina	Amarillo de alizarina
Radial	+	+	+	+	+	+
Central	+	+	+	+	+	+
Intermedio	0	0	0	0	+	+
Ulnar	-	+	-	+	+	+
Pisiforme	-	+	-	+	+	+
Carpiano 1	-	+	-	+	-	+
Carpiano 2	+	+	-	+	-	+
Carpiano 3	+	+	-	+	-	+
Carpiano 4	+	+	-	+	-	+
Carpiano 5	+	+	+	+	+	+

O= ausente; += se observa individualizado; - = no se observa individualizado

Es notorio que la tinción con amarillo de alizarina permite una mejor individualización de los elementos del carpo que la tinción con rojo de alizarina, pero es posible que también sea dependiente de la especie, para probar esto último se realizó una prueba de X^2 .

Para comparar los elementos observados por tinción se realizó la prueba de X^2 , para lo cual se elaboró la siguiente tabla:

Especie	Rojo de alizarina	Amarillo de alizarina
<i>Sceloporus torquatus</i>	5	8
<i>Sceloporus grammicus</i>	2	8
<i>Barisia imbricata</i>	5	9

Obteniéndose que $X^2 = 1,79 < X^2_{0,05} = 5,9915$, lo que implica que la calidad de la tinción no depende de la especie estudiada.

De ahí que con amarillo de alizarina “R” se observan individuizados el 100% de los elementos del carpo en las tres especies, mientras que con rojo de alizarina solo el 62.5% en *Sceloporus torquatus*, el 25% en *Sceloporus grammicus*, y el 55,56% en *Barisia imbricata*.

6. DISCUSIÓN

De acuerdo con los datos obtenidos y por lo reportado por diferentes autores la estructura del carpo de los Squamata es un complejo esquelético altamente conservado entre diferentes linajes. La mayoría de los autores (Romer 1956; Fabrezi et al. 2007; Russell y Bauer 2008; Leal et al. 2010) consideran que el carpo de lagartija está compuesto por nueve huesos. Las tres especies de las lagartijas analizadas exhiben un patrón del quiridio con un autopodio formado por tres segmentos; mesopodio (carpo) compuesto por nueve huesos en *Sceloporus torquatus* y *Sceloporus grammicus*, y con diez huesos en *Barisia imbricata*; estando ausente el intermedio en *Sceloporus torquatus* y *Sceloporus grammicus*; el metapodio formado de cinco elementos y un acropodio de cinco dedos con una fórmula de las falanges I(2), II(3), III(4); IV(5); V(3), siendo en general más largas las falanges en las especies *Sceloporus torquatus* y *Sceloporus grammicus*; y más cortas en *Barisia imbricata*.

En la estructura carpal de *Barisia imbricata* se encontró la presencia de un intermedio, a pesar de que esto no es tan común en el carpo de los lacertilios, no es una condición anormal, dado que ha sido reportado para otros grupos de lacertilios por Fabrezi y colaboradores en el 2007. La presencia de dicho elemento puede ser una condición atávica, pero no se revisó a fondo esta característica porque no era el objetivo del presente trabajo.

De acuerdo a Fabrezi, et al. (2007) el rojo de alizarina “S” detecta histoquímicamente al calcio durante la transparentación y por ello la tinción de la estructura ósea es mucho más marcada y posiblemente esa sea la causa de no poder diferenciar los huesos individuales; en cambio, el uso del colorante amarillo de alizarina “R”, dado que no es tan afín al calcio, lo tiñe con menos intensidad (Durham y Walton, 1983; Goldik, et al., 1990; Mohran, 2005), lo cual nos permite observar de manera clara y diferenciada las estructuras óseas de *Sceloporus torquatus* y *Sceloporus grammicus* y *Barisia imbricata* en este estudio. Es por ello que el amarillo de alizarina “R” que puede ser usado para la tinción de distintos organismos vertebrados para así poder llevar a cabo diferentes estudios: descripciones anatómicas, modelos de enseñanza y para divulgación científica.

El patrón obtenido de las especies *Sceloporus torquatus* y *Sceloporus grammicus* corresponde al tipo Polichrotide. La articulación de *Barisia imbricata* es similar al patrón de tipo Gekkonide descrito por Fontanarrosa y Abdala (2016), pero la forma de los carpos varía; ya que la epífisis es triangular y no cuadrangular como esos autores lo menciona, además existe la presencia de un carpo intermedio y un desplazamiento del central hacia la parte palmar, de no presentarlo sería un patrón de tipo Liolaemide. Cuando se ubican en un árbol filogenético, es notorio que *Barisia imbricata* está más cercanamente relacionada a los Liolaemide, de ahí que el intermedio es el que daría una apariencia Gekkonide, mientras que se sostiene que *Sceloporus torquatus* y *Sceloporus grammicus* poseen un tipo Polichrotide (Figura 21).

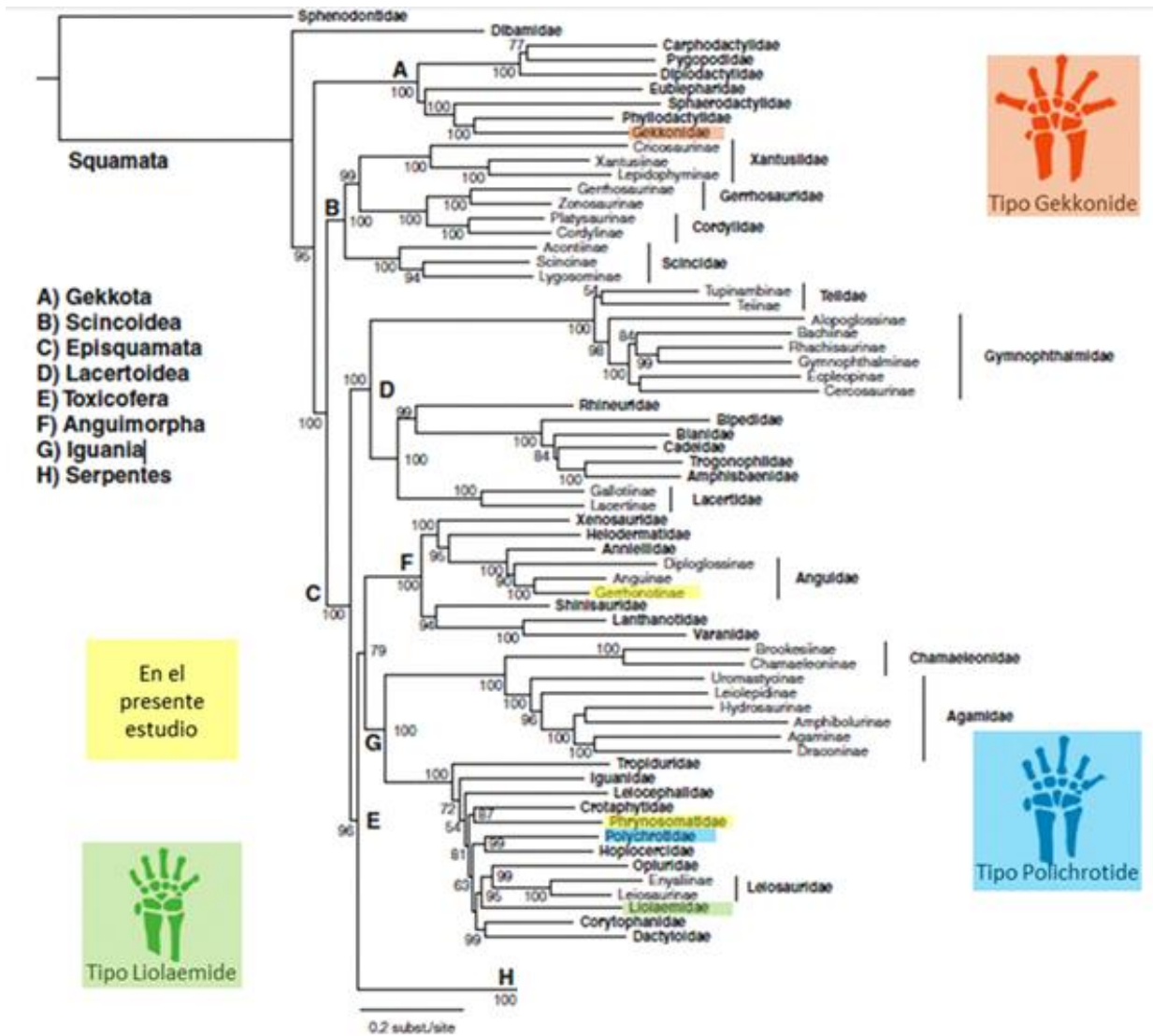


Figura 21.- Ubicación de las especies estudiadas (en amarillo) *Barisia imbricata* (anguidae), y *Sceloporus torquatus* y *Sceloporus grammicus* (Phrynosomatidae), así como los tipos de carpos Gekkonide (naranja), Polichrotide (azul) y Liolaemide (verde) (Basada en Pyron, et al., 2013 y Fontanarrosa y Abdala, 2016)

7. CONCLUSIONES

- Los colorantes tiñeron a la perfección los elementos ósea del carpo de los organismos utilizados, siendo evidente que el rojo de alizarina “S” es más intenso dada su alta afinidad al calcio; por otro lado el amarillo de alizarina “R” al poseer menos afinidad al calcio, pero una mayor afinidad al teñir magnesio, nos proporciona una tinción no tan intensa, siendo mucho más clara, hecho que permite visualizar de manera individualizada cada elemento del carpo, pudiéndose observar con claridad las zonas articulares.
- Las tres especies de las lagartijas analizadas presentan un patrón del quiridio con un autopodio formado el mesopodio (carpo) compuesto por nueve huesos (para *Sceloporus torquatus* y *Sceloporus grammicus*) o diez huesos (*Barisia imbricata*), metapodio formado de cinco elementos y un acropodio de cinco dedos con una fórmula de las falanges I(2), II(3), III(4); IV(5); V(3).
- De acuerdo al patrón descrito por Fontanarrosa y Abdala (2016) el patrón que presentan *Sceloporus tortuquatus* y *Sceloporus grammicus* es de tipo polichrotide mientras que el de *Barisia imbricata* es similar más no igual porque existen variaciones en los carpos y la presencia de un intermedio al tipo liolaemide, concordando con los resultados filogenéticos publicados por Pyron, y sus colaboradores (2013).
- La estructura carpal en *Sceloporus torquatus* y *Sceloporus grammicus* es visiblemente idéntica en forma y tamaño de los carpos y falanges, mientras que *Barisia imbricata* se diferencia por la presencia de un intermedio y falanges más cortas en comparación con las dos especies de *Sceloporus*.
- El uso del colorante amarillo de alizarina “R” no tiene antecedentes previos, por lo tanto, lo descrito en este trabajo es la primera contribución sobre el tema, de ahí que es necesario más investigaciones para determinar con precisión su potencialidad en los estudios osteológicos, tanto de organismos en desarrollo como adultos.

8. REFERENCIAS

- Abdala, V., Vera, M., & Ponssa, L. (2017). On the presence of the patella in frogs. *The Anatomical Record* 300: 1747–1755.
- AbouEgla, M., El-Sayad, F. & Obady, Y. (2008). The relationship between the limb variation and habitat use in lizard families: agamidae, gekkonidae, scincidae, and chamaeleontidae. *Egypt. J. Exp. Biol. (Zool.)*, 4: 243 – 256
- Ahlberg, P.E., & Clack, J.A. (2006). A firm step from water to land. *Nature* 440: 747–749.
- Boisvert, C.A., Mark–Kurik, E., & Ahlberg, P.E. (2008). The pectoral fin of *Panderichthys* and the origin of digits. *Nature* 456, 636–638.
- Canseco-Márquez, L. & Gutiérrez-Mayén G. (2010). Anfibios y reptiles del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Conabio, Fundación para la Reserva de la Biosfera Cuicatlán, A. C, y la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. 302.
- Carroll, R.L. (1997) *Patterns and Processes of Vertebrate Evolution*. Cambridge Paleobiology Series. Cambridge University Press, Cambridge, UK. pp: 448.
- Carroll, R.L., & R. Holmes. (2007). Evolution of the appendicular skeleton of amphibians, 225–244 pp, in B. K. Hall (ed.), *Fins into limbs: evolution, development and transformation*. University of Chicago Press. Chicago.
- Coates, M.I. & Clack, J. (1991). Polydactyly in the earliest known tetrapod limbs. *Nature* 347: 66–69.
- Coates, M.I. (1994). The origin of vertebrate limbs. In Akam, M., Holland, P., Ingham, P., Wray, G. (Eds.), *The evolution of developmental mechanisms*, pp. 169–180. The Company of Biologists Limited Cambridge.
- Coates, M.I. (1995). Limb evolution. Fish fins or tetrapod limbs: a simple twist of fate? *Current Biology* 5: 844–848.
- Coates, M.I., & Ruta, M. (2007). Skeletal changes in the transition from fins to limbs. In Hall, B.K. (Ed.): *Fins into Limbs: Evolution, Development, and Transformation Part I Evolution*. Chapter 2. University of Chicago Press, Chicago.
- Conrad, J.L. (2008). Phylogeny and Systematics of Squamata (Reptilia) Based On Morphology. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 310: 1–182.
- Daeschler, E.B., Shubin, N.H., & Jenkins, F.A. (2006). A Devonian tetrapod–like fish and the evolution of the tetrapod body plan. *Nature* 440: 757–763.
- Dawson A. (1926). A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin red S. *Stain Tech*.
- Diaz, R.E., & Trainor, P. A. (2015). Hand/foot splitting and the “re–evolution” of mesopodial skeletal elements during the evolution and radiation of chameleons. *BMC Evolutionary Biology*, 15(1): 184.
- Durham, A. C., & Walton, J. M. (1983). A survey of the available colorimetric indicators for Ca²⁺ and Mg²⁺ ions in biological experiments. *Cell Calcium*, 4(1), 47-55.

- Edwards, J.L. (1985). Terrestrial locomotion without appendages. In *Functional Vertebrate Morphology*, Hildebrand, M., Bramble, D., Liem, K., Wake, D. (eds), pp. 73–88. Cambridge: Harvard University Press.
- Fabrezi, M., Abdala, V. & Martínez, M. I. (2007). Developmental basis of limb homology in lizards. *The Anatomical Record* 290,900–12
- Feduccia A. (1993). Evidence from claw geometry indicating arboreal habits of Archaeopteryx. *Science* 259: 790–793.
- Fontanarrosa, G. (2018). La evolución de la mano de Squamata: Perspectivas ecológicas y funcionales. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo. Universidad Nacional de Tucumán, Argentina. 320p.
- Fontanarrosa, G., & Abdala, V. (2014). Anatomical analysis of the lizard carpal bones in the terms of skilled manual abilities. *Acta Zoologica (Stokholm)* 95: 249–263.
- Fontanarrosa, G., & Abdala, V. (2016). Bone indicators of grasping hands in lizards. *PeerJ* 4:e1978; DOI 10.7717/peerj.1978.
- Gans, C. (1975). Tetrapod limblessness: evolution and functional corollaries. *American Zoologist* 15: 455–467.
- Gates, S.M., & Middleton, K.M. 2007. Skeletal adaptations for flight, 225–244 pp, in Hall, B.K. (ed.) *Fins into limbs: evolution, development and transformation*. University of Chicago Press. Chicago.
- Gauthier, J.A., Kearney, M., Maisano, J.A., Rieppel, O., & Behike, A.D.B. (2012). Assembling the Squamate Tree of Life: perspectives from the phenotype and the fossil record. *Bulletin of the Peabody Museum of Natural History* 53: 3–308.
- Goldik, R., Yarnitzky, C., & Ariel, M. (1990). Determination of magnesium in blood serum using a flow-injection system with a potential-scanning electrochemical detector equipped with a thin-film deaerator. *Analytica chimica acta*, 234, 161-166.
- Greer, A.E. (1989). *The Biology and Evolution of Australian Lizards*. Chipping Norton, NSW: Surrey Beatty and Sons, 264 p.
- Haines, R.W. (1969). Epiphysis and sesamoids. In: Gans, C., Parsons, T.S. (eds): *Biology of the Reptilia*, Vol.1, pp. 81–115. Academic Press, London.
- Haines, R.W. (1950). The flexor muscles of the forearm and hand in lizards and mammals. *Journal of Anatomy* 84: 13–29.
- Hall, B.K. (2003). Descent with modification: the unity underlying homology and homoplasy as seen through an analysis of development and evolution. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society* 78: 409–433.
- Hall, B.K. (2005). *Bones and Cartilage: Developmental and Evolutionary Skeletal Biology*. Elsevier, Academic Press, London.
- Higham, T.E. (2015). Bolting, bouldering, and burrowing: functional morphology and biomechanics of pedal specialisations in desert-dwelling lizards. *All Animal are interesting!* Gans C. *American Zoologist* Vol. 18, No. 1, pp. 3–9.

- Hildebrand, M. (1985). Digging in quadrupeds, pp. 89–109 in M. Hildebrand, D.M. Bramble, K.F. Liem, Wake, D.B. (eds.), *Functional Vertebrate Morphology*. Belknap Press. Cambridge. 12: 89–109.
- Iberall, T., Bingham, G., & Arbib, M. (1986). Opposition Space as a Structuring Concept for the Analysis of Skilled Hand Movements. *Experimental Brain Research* 15: 158–173.
- Irschick, D.J., Austin, C.C., Petren, K., Fisher, R.N., Losos, J.B., & Ellers, O. (1996). A comparative analysis of clinging ability among pad-bearing lizards. *Biological Journal of the Linnean Society* 59: 21–35.
- Jerez, A., Mangione, S., & Abdala, V. (2010). Occurrence and distribution of sesamoid bones in squamates: a comparative approach. *Acta Zoologica* 91: 295–305.
- Jones, M.E.H., Cajska, L.A., Hipsley, C.A., Müller, J., Evans, S.E., & Schoch, R.R. (2013). Integration of molecules and new fossils supports a Triassic origin for Lepidosauria (lizards, snakes, and tuatara). *BMC Evolutionary Biology* 13: 208.
- Kardong, K.V. (2007). *Vertebrados. Anatomía Comparada, función y evolución*. 4th edition. Madrid: Mc Graw–Hill–Interamericana de España, 782 pp.
- Khannoon, E., Russell, A. & Tucker, A. (2015). Developmental mechanisms underlying differential claw expression in the autopodia of geckos. *EvoDevo* 6:8
- Kruzkova, I. (2019). The distal limb part's variability in amphibia and reptilia. *Herpetologia Metropolitana*, Ananjeva N. & O.Tsinenko, pp. 155 – 159
- Kümmell, S. B., & Frey E. (2012). Digital arcade in the autopodia of Synapsida: standard position of the digits and dorsoventral excursion angle of digital joints in the rays II–V. *Palaeobiodiversity and Palaeoenvironments* 92: 171–196.
- Leal, F., Tarazona, O.A., & Ramírez–Pinilla, M. P. (2010). Limb development in the gekkonid lizard *Gonatodes albogularis*: a reconsideration of homology in the lizard carpus and tarsus. *Journal of Morphology* 271: 1328–1341.
- Losos, J.B., (2009). *Lizards in an Evolutionary Tree: Ecology and Adaptive Radiation of Anoles*. University of California Press, Berkeley, CA.
- Lypman, H. (1935). Staining the skeleton of cleared embryos with alizarin red S. *Departamento de Zoologia. Universidad de Pittsburgh*.
- Mohran, H. (2005). Cyclic Volta Metric Study of Alizarin Yellow R and Some Analogous Arylazo Compounds in DMF and in Aqueous Media. *Am J Appl Sci*, 2, 1610-1614.
- Neumann D.A. (2010). *Kinesiology of the musculoskeletal system: foundations for physical rehabilitation*. 2nd edition. Maryland Heights: Mosby.
- Otero, T., & Hoyos, J.M. 2013. Sesamoid elements in lizards. *Herpetological Journal*, 23: 105–114.
- Pianka, E.R., & Vitt, L.J. (2003). *Lizards: Windows to the Evolution of Diversity*. Berkeley, CA: University of California Press.

- Polly, P.D., & Hall, B. (2007). Limbs in Mammalian Evolution. *Evolution, Development and Transformation: Fins into Limbs*, 245–268.
- Ponssa, M.L., Goldberg, J., & Abdala, V. (2010). Sesamoids in anurans: new data, old issues. *Anatomical Record (Hoboken, N.J.: 2007)* 293: 1646–1668.
- Pouydebat, E., Gorce, P., Coppens, Y., & Bels, V. (2009). Biomechanical study of grasping according to the volume of the object: human versus non-human primates. *Journal of Biomechanics* 42: 266–272.
- Pyron, R. A., Burbrink, F.T. & Wiens, J. J. (2013). A phylogeny and revised classification of Squamata, including 4161 species of lizards and snakes. *BMC Evolutionary Biology* 13, 93.
- Ranney, D. (1995). The hand as a concept: digital differences and their importance. *Clinical Anatomy*. 8: 281–7.
- Reeder, T. W. Townsend, T., Mulcahy, D, Noonan, Brice P. Wood, PL, Sites, Jack W. & Wiens, John. (2015). Integrated Analyses Resolve Conflicts over Squamate Reptile Phylogeny and Reveal Unexpected Placements for Fossil Taxa. *PLoS One* doi: 10, e0118199.
- Regnault, S., Hutchinson, J.R. & Jones, M.E.H. (2016a). Sesamoid bones in tuatara (*Sphenodon punctatus*) investigated with X-ray microtomography, and implications for sesamoid evolution in Lepidosauria. *Journal of Morphology* 278: 62–72.
- Regnault, S., Jones, M. E. H., Pitsillides, A.A., & Hutchinson, J. R. (2016b). Anatomy, morphology and evolution of the patella in squamate lizards and tuatara (*Sphenodon punctatus*). *Journal of Anatomy* 228: 864–876.
- Renous-Lécuru, S. (1973). Morphologie comparée du carpe chez les epidosauriens actuels (Rhynchocéphales, Lacertiliens, Amphisbaéniens). *Gegenbaurs Morphologie Jahrbuch Leipzig* 119: 727–766.
- Rieppel, O. (1992). Studies on skeleton formation in reptiles. III. Partterns of ossification in the skeleton of *Lacerta vivipara* Jacquin (Reptilia, Squamata). *Fieldiana (Zool.)* N.S.68:1-25
- Rieppel, O. (1993). Studies on skeleton formation in reptiles. II. *Chamaeleo hoehnelii* (Squamata:Chamaeleoninae), with comments on the homology of carpal and tarsal bones. *Herpetologica* 49:66-78
- Rieppel, O. (1993). Studies on skeleton formation in reptiles: Patterns of ossification in the skeleton of *Chelydra serpentina* (Reptilia:Testudines). *Journal of Zoology*, 231, 487–509
- Rieppel, O. (1994). Studies on skeleton formation in reptiles. Partterns of ossification in the skeleton of *Lacerta Agilis exigua eichwald* (Reptilia, Squamata). *Journal of herpetology*, Vol. 28, No.2, 145-153
- Romer, A.S. (1966). *Vertebrate Paleontology*. University of Chicago Press, Chicago, 468 p.

- Romer, A.S. 1956. *Osteology of the Reptiles*. The University of Chicago Press, Chicago IL, 772 p.
- Romer.S.A. (1956). *Osteology of reptiles*. Chicago. University of Chicago Press. 756pp
- Rothier, P.S., Brandt, R. & Kohlsdorf, T. (2017). Ecological associations of autopodial osteology in Neotropical geckos. *Journal of morphology* 278:290–299
- Russell, A.P. 2002. Integrative functional morphology of the gekkotan adhesive system (reptilia: gekkota). *Integrative and Comparative Biology*. 42: 1154–1163.
- Russell, A.P., & Bauer, A.M. 2008. The Appendicular Locomotor Apparatus of *Sphenodon* and normal–limbed squamates. In: Gans, C., Gaunt, A.S., Adler, K. (Eds): *Biology of Reptilia*, vol. 21. *The Skull and Appendicular Locomotor Apparatus of Lepidosauria*, pp. 1–465. Society for the Study of Reptiles and Amphibians, *Contributions to Herpetology* 24, Ithaca, New York.
- Sarin, V.K., Erickson, G.M., & Giori, N.J. (1999) Coincident development of sesamoid bones and clues to their evolution. *Anatomical Record (New Anatomist)* 257: 174–180.
- Scanferla, C. (2010) Técnicas para la preparación de esqueletos secos de lepidosaurios. *Revista del Museo de La Plata*, 49: 1-6
- Shapiro, M.D., Shubin, N.H., & Downs, J.P. (2007) Limb diversity and digit reduction in reptilian evolution, pp 225–244 in B. K. Hall (Ed.), *Fins into limbs: evolution, development and transformation*. University of Chicago Press. Chicago.
- Shubin, N., Tabin, C., & Carroll, S. (1997) Fossils, genes and the evolution of animal limbs. *Nature* 338: 639–648.
- Shubin, N., Tabin, C., & Carroll, S. (2009) Deep homology and the origins of evolutionary novelty. *Nature* 457: 818–23.
- Shubin, N.H., & Alberch, P. (1986) A morphogenetic approach to the origin and basic organization of the tetrapod limb. *Evolutionary Biology* 20: 319–387.
- Shubin, N.H., Daeschler, E.B., Jenkins, F.A.Jr. 2006. The pectoral fin of *Tiktaalik roseae* and the origin of the tetrapod limb. *Nature* 440: 764–771.
- Sinervo, B., Mendez de la Cruz, F., Miles, D.B., Heulin, B., Bastiaans, E., Villagran Santa Cruz, M., Lara Resendiz, R., Martinez–Mendez, N., Calderon Espinosa, M.L., Meza Lazaro, R.N., Gadsden, H., Avila, L.J., Morando, M., De la Riva, I.J., Victoriano Sepulveda, P. Rocha CF, Ibarguengoytia, N., Aguilar Puntriano, C., Massot, M., Lepetz, V., Oksanen T.A., Chapple, D.G., Bauer AM, Branch WR, Clobert J, & Sites JW, Jr. (2010) Erosion of lizard diversity by climate change and altered thermal niches. *Science* 328: 894–899.
- Sustaita, D., Pouydebat, E., Manzano, A., Abdala V, Hertel F, & Herrel A. (2013) Getting a grip on tetrapod grasping: form, function, and evolution. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* 88(2): 380–405.
- Tamayo L., Suárez P, Cano A., Cuartas B., Yepes S., Mejía C. & Lenis Y. (2012). Didactic model of the chicken embryo development using modified Dawson`s

diaphanization and staining technique. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 25(4), 62-624.

- Tschopp, E., Oliver, W., Frauenfelder, T. & Brinkmann W. (2015). Articulated bone sets of manus and pedes of *Camarasaurus* (Sauropoda, Dinosauria). *Palaeontologia Electronica*
- Vickaryous, M.K., & Olson, W.M. (2007) Sesamoids and ossicles in the appendicular skeleton. In: Hall, B. K. (Ed.): *Fins and Limbs: Evolution, Development and Transformation*, pp. 323–341. The University of Chicago Press, Chicago, IL.
- Vitt, L.J., & Caldwell, J.P. (2014) *Amphibians and Reptiles Herpetology Fourth Edition*. Academic Press. 776p.
- Vizcaíno, S.F., Bargo, M.S., Cassini, G.H., Toledo, N. 2016. *Forma Y Función En Paleobiología De Vertebrados*. Edulp, 268 p.
- Von den Driesch, A. (1976). *A guide to the measurement of animal bones from archaeological sites: as developed by the Institut für Palaeoanatomie, Domestikationsforschung und Geschichte der Tiermedizin of the University of Munich (Vol. 1)*. Peabody Museum Press.
- Wang, J., & Mahmoud, J. S. (1986). Stripping voltammetry of manganese based on chelate adsorption at the hanging mercury drop electrode. *Analytica chimica acta*, 182, 147-155.
- Whiting, A.S., Bauer, A.M., & Sites, J. (2003) Phylogenetic relationships and limb loss in sub-Saharan African scincine lizards (Squamata: Scincidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 29: 582–598.
- Wiens, J.J. & Slingluff, J.L. (2001) How lizards turn into snakes: a phylogenetic analysis of body-form evolution in anguoid lizards. *Evolution* 55: 2303–2318.
- Winther, R. G. (2011). Part-whole science. *Synthese*, 178(3), 397-427.
- Wolff, R.G. (1991) *Functional chordate anatomy*. D.C. Heath and Company, Lexington, Massachusetts, 1, 752 p.
- Zaaf, A., & Van Damme, R. (2001) Limb proportions in climbing and ground-dwelling geckos (Lepidosauria, Gekkonidae): A phylogenetically informed analysis. *Zoomorphology* 121: 45–53.

Apéndice

APÉNDICE 1. ANÁLISIS MORFOMÉTRICO

Tabla 1.

	<i>Sceloporus torquatus</i>		n=11
Índices	Media	SD	CV
ID	0,02994088	0,00523643	17,4892476
REL	0,08502768	0,01506194	17,7141589
HL	0,26413998	0,05248263	19,8692496
HW	0,19796877	0,01974684	9,97472458
CFW	0,22968225	0,02899129	12,6223489
UFL	0,15834961	0,01707624	10,7838825
LFL	0,13284754	0,01971385	14,8394551
FFOOT	0,14984585	0,01791085	11,9528498
FL (DEDO)	0,1127739	0,0162266	14,3886096
FHD	0,48690903	0,04813102	9,88501299
BW	0,3084044	0,04069711	13,1960224
HHW	0,52624673	0,0463014	8,79842083
PW	0,0837358	0,01498911	17,9004806
UHL	0,19911693	0,02091032	10,50153
LHL	0,13880564	0,03842559	27,6830157
KHL	0,21219448	0,01822295	8,58785541
HFOOT	0,23959857	0,04110548	17,1559785
TW	0,14222669	0,02038509	14,3328132
PH	0,1167125	0,04101567	35,1424849
BL	0,66918618	0,16451573	24,5844487
ML	0,14409878	0,0399729	27,7399298
EL	0,03024423	0,00624636	20,6530555
ST	0,23160975	0,0475463	20,5286277
SL2	0,1660686	0,03690108	22,2203811
SL3	0,07771546	0,02018883	25,9778781
DBET	0,07181904	0,0156905	21,8472716
DBNE	0,05581924	0,02805054	50,2524576

Tabla 2.

	<i>Sceloporus mucrunatus</i>		n=9
Índices	Media	SD	CV
ID	0,0356635	0,00429862	12,0532672
REL	0,0851677	0,00641402	7,53104895
HL	0,26189586	0,02148645	8,20419783
HW	0,18122951	0,02901069	16,0077049
CFW	0,21922637	0,01682869	7,67639633
UFL	0,14504275	0,0218941	15,0949263
LFL	0,13652143	0,0112174	8,21658772
FFOOT	0,15427464	0,01993088	12,9190897
FL (DEDO)	0,10855299	0,00590939	5,44378664
FHD	0,46933448	0,02638779	5,62238407
BW	0,31414632	0,03136122	9,98299864
HHW	0,54687192	0,0225312	4,12001492
PW	0,08143655	0,00971229	11,9262024
UHL	0,2093489	0,02013609	9,61843595
LHL	0,13588142	0,01769665	13,0235993
KHL	0,21651022	0,00875058	4,04164811
HFOOT	0,24916707	0,0269104	10,8001412
TW	0,14255523	0,01300572	9,12328422
PH	0,09334531	0,01162422	12,4529223
BL	0,64440164	0,02547638	3,95349347
ML	0,15178835	0,02107268	13,8829337
EL	0,0329969	0,00732657	22,2038018
ST	0,22845668	0,01139277	4,98684216
SL2	0,1524926	0,0127146	8,33784895
SL3	0,09152238	0,01769538	19,3344878
DBET	0,07445417	0,01261662	16,9454864
DBNE	0,06173494	0,01659129	26,8750327

Sometidos a fuerte presión de selección

Sometidos a presión de selección débil

No están sometidos a selección

Tabla 3.

Índices	<i>Barisia imbricata</i>		n=8
	Media	SD	CV
ID	0,0457966	0,00331499	7,23851742
REL	0,0958073	0,02335307	24,3750407
HL	0,24816303	0,05189076	20,909947
HW	0,16960449	0,0201023	11,8524588
CFW	0,15538899	0,01092453	7,03044254
UFL	0,08912203	0,00786559	8,82564414
LFL	0,09386361	0,00974987	10,3872759
FFOOT	0,08977731	0,00773721	8,61821863
FL (DED0)	0,0616247	0,00760137	12,334946
FHD	0,51765013	0,04552292	8,79414814
BW	0,17008013	0,02725504	16,0248221
HHW	0,27664325	0,02625253	9,48966985
PW	0,09125799	0,01441858	15,7997972
UHL	0,1246309	0,01624962	13,0381918
LHL	0,07402155	0,0049543	6,69305352
KHL	0,11604824	0,00535174	4,61165459
HFOOT	0,12085454	0,0157719	13,0503129
TW	0,0794974	0,01282938	16,1381187
PH	0,09134391	0,00968951	10,6077201
BL	0,63104334	0,02622391	4,15564331
ML	0,19695396	0,03522282	17,8837838
EL	0,03039719	0,01104634	36,340008
ST	0,23532178	0,01773261	7,53547404
SL2	0,13950866	0,0135667	9,72463116
SL3	0,09093902	0,01088838	11,9732752
DBET	0,10965487	0,01770226	16,1436103
DBNE	0,04952661	0,00698398	14,1014808

Sometidos a fuerte presión de selección

Sometidos a presión de selección débil

No están sometidos a selección