



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

POSGRADO EN CIENCIAS

**Estrategia reproductora y estimación de edad en machos
de *Sceloporus variabilis***

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

BIÓL. ERIC PEÑA HERRERA

COMITÉ TUTORAL

DRA. GISELA GRANADOS GONZÁLEZ

DR. OSWALDO HERNÁNDEZ GALLEGOS

DRA. MARICELA VILLAGRÁN SANTA CRUZ



TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO 2018



PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS (BIOLOGÍA)

DRA. PETRA SÁNCHEZ NAVA
COORDINADORA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS AVANZADOS

PRESENTE

Nos permitimos informarle que hemos revisado la tesis tradicional titulado: "Estrategia reproductora y estimación de edad en machos de *Sceloporus variabilis*", que presenta el Biol. Eric Peña Herrera. Dicho trabajo cuenta con nuestro Voto Aprobatorio.

ATENTAMENTE

DRA. GISELA GRANADOS GONZÁLEZ

DR. OSWALDO HERNÁNDEZ GALLEGOS

DRA. MARICELA VILLAGRÁN SANTA CRUZ

DRA. MÓNICA VANESSA GARDUÑO PAZ

DR. JOSÉ FERNANDO MÉNDEZ SÁNCHEZ

DRA. PETRA SÁNCHEZ NAVA

DR. JOSELE RICARDO FLORES SANTÍN

Acta 109 Acuerdo 335/MC
c.c.p. Archivo
PSN/bfvc

Agradecimientos

A mi familia, mi padre José, mi madre Sandra y mi hermana Sharim, quienes han estado conmigo en todo momento, dándome su apoyo y cariño. Este trabajo también es de ustedes y para ustedes.

A mi comité tutoral, la Dra. Gisela, el Dr. Oswaldo y la Dra. Maricela, por guiar este proyecto, brindándome consejos y parte de su experiencia, demostrando ser excelentes investigadores y aun mejores personas.

A mis revisores de tesis, el Dr. Fernando, la Dra. Mónica, la Dra. Petra y el Dr. Josele, por sus acertados comentarios, haciendo de este escrito un mejor trabajo.

A la comunidad del Ejido Adolfo López Mateos, Los Tuxtla, Veracruz, por su apoyo durante las colectas: Miyo, Adrian y Yeyo. Asimismo, a las mujeres de la comunidad: Benita, Margarita, Jessica, Irma y al resto que estuvieron involucradas en la preparación de mis alimentos y que ahora escapan de mi memoria. Finalmente, un agradecimiento especial a Don Angel Mena, Santiago "Chago" Mena, Rosalía y al equipo de fútbol femenino, por hacerme sentir parte de esa maravillosa comunidad durante mi estadía. Prometo volver.

Al Laboratorio de Morfofisiología de La Reproducción, UAEMex y al Laboratorio de Biología Tisular y Reproductora, UNAM, así como a su personal, por todas las facilidades brindadas para la realización de la parte experimental de este proyecto.

A mis amigos, Isidoro (Isi) y Alejandro (Jando), por estar siempre conmigo, aguantando mi genio en mis momentos de estrés, haciéndome reír y alentándome a seguir adelante y no tirar la toalla, sin importar la distancia que nos separa.

A CONACyT, por darme la oportunidad de pertenecer a ese grupo de alumnos de posgrado con beca, para poder realizar mis estudios.

“Sin importar el tamaño de la ciudad o pueblo en donde nacen los hombres o mujeres, ellos son finalmente del tamaño de su obra, del tamaño de su voluntad de engrandecer y enriquecer a sus hermanos”

Ignacio Allende

“Poder trabajar tan duro es el mejor talento de todos”

Hiroshi Kido

ÍNDICE

RESUMEN	7
INTRODUCCIÓN	8
ANTECEDENTES	10
Aparato reproductor en Squamata	10
Actividad reproductora en reptiles	11
Regulación de la actividad reproductora de reptiles	13
Edad en reptiles	15
Esqueletocronología	16
Descripción de la especie	17
JUSTIFICACIÓN	19
OBJETIVOS	20
MATERIAL Y MÉTODO	21
Área de estudio	21
Colecta de organismos	21
Técnica histológica	22
Esqueletocronología	23
Análisis estadístico	24
RESULTADOS	26
Actividad reproductora	26
Edad	31
DISCUSIÓN	33
Actividad reproductora	33
Edad	35
Análisis del ciclo reproductor de <i>Sceloporus variabilis</i>	37
CONCLUSIONES	43
BIBLIOGRAFÍA	44
ARTICULO DE INVESTIGACIÓN.....	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa sobre la ubicación del área de estudio.	21
Figura 2. Variación quincenal en el valor medio de diferentes características reproductivas en machos de <i>Sceloporus variabilis</i>	27
Figura 3. Histología de los túbulos seminíferos y epidídimo en machos de <i>Sceloporus variabilis</i>	28
Figura 4. Representación sobre el número de machos adultos de <i>Sceloporus variabilis</i> y la fase espermatogénica que presentaban.	30
Figura 5. Sección transversal del fémur de un macho de 66 mm de LHC de <i>Sceloporus variabilis</i> con una LAG.	31
Figura 6. Sección transversal del fémur de un macho de 64.6 mm de LHC de <i>Sceloporus variabilis</i> con dos LAGs.	32
Figura 7. Sección transversal del fémur de un macho de 65 mm de LHC de <i>Sceloporus variabilis</i> con tres LAGs.....	32

RESUMEN

Conocer el ciclo reproductor de las especies y los factores que lo regulan, son aspectos que nos permiten saber y comprender como el medio externo (factores bióticos y abióticos) afecta a los organismos, reflejándose por ejemplo en su grado de aclimatación y adaptación. La lagartija *Sceloporus variabilis* presenta un ciclo reproductor estacional, el cual es completamente atípico, debido a que, el estudio más reciente registró únicamente dos de las cuatro fases (recrudescencia y máxima actividad) propias de un ciclo espermatogénico estacional, donde se argumentó que las fases restantes (regresión y quiescencia) podrían ocurrir en un periodo muy breve. Además, parece ser que la actividad reproductora no está influenciada por los factores ambientales. El objetivo de este trabajo fue evaluar a intervalos más cortos (semanalmente) si existían las otras dos fases no registradas en el ciclo espermatogénico de *S. variabilis*. Adicionalmente, se estimó la edad de los machos adultos para determinar si esta influye sobre el ciclo reproductor. Los resultados sobre reproducción ($n=18$) mostraron un ciclo espermatogénico conformado por tres fases: recrudescencia, máxima actividad y regresión. En cuanto a la edad ($n=54$), se tuvieron individuos adultos sin cumplir un año (alcanzaron la madurez en la misma temporada que eclosionaron), con edades de uno, dos y tres años y se obtuvo una edad promedio de 1.6 años para los machos de esta especie. A partir de los datos sobre edad (promedio y máxima) y el número de individuos agrupados en las diferentes edades, se infirió una alta tasa de mortalidad y un ciclo de vida corto en esta especie, aspectos que parecen influenciar la duración del ciclo reproductor de *S. variabilis*.

Se concluyó que el ciclo espermatogénico de *S. variabilis* está integrado por las fases de recrudescencia, máxima actividad testicular y regresión. También, una longevidad de tres años para los machos de esta especie y que no existe relación alguna entre el tamaño corporal y la edad.

INTRODUCCIÓN

La reproducción, es una de las características más importantes que permite la continuidad de las especies. Históricamente, los ciclos reproductores de los reptiles han sido evaluados de manera mensual (Lance, 1989; Cree *et al.*, 1992; Gribbins *et al.*, 2008; Méndez-de la Cruz *et al.*, 2013; Granados-González *et al.*, 2015), muestreo que parece ser adecuado ya que, en el caso de los machos, no se han registrado cambios en la actividad gametogénica tan rápidos; es decir, la transición de una fase espermatogénica a otra toma como mínimo un mes (Goldberg y Parker, 1975; Rheubert *et al.*, 2009; Hernández-Gallegos *et al.*, 2014). Sin embargo, un estudio reciente en la lagartija *Sceloporus variabilis*, describió un ciclo reproductor completamente atípico, en el que existe la posibilidad de que cambios en la actividad espermatogénica ocurran en un tiempo menor a un mes (Granados-González *et al.*, 2017). Este hecho, plantea la opción de realizar estudios con muestreos a intervalos de tiempo más cortos, en aquellas especies que presenten “anormalidades” en su proceso gametogénico.

El ciclo reproductor es un proceso fisiológico que al igual que otros, suele ser afectado con el incremento de edad, dicho de otra forma, hay un declive en el proceso reproductor provocado por la senescencia (Lemaître y Gaillard, 2017). Sin embargo, en reptiles es un tema que aún genera controversia (Patnaik, 1994; Congdon *et al.*, 2003). Pese a ello, conocer la edad de los organismos también nos aporta otro tipo de datos como la longevidad, lo cual se puede traducir en saber si las especies tienen un ciclo de vida corto o largo (Castanet, 1994; Arakelyan, 2002; Rodríguez-Romero *et al.*, 2011). Esto a su vez, nos ayuda a comprender ciertas características y procesos en los organismos, como la edad a la madurez, la tasa de crecimiento, la fecundidad y el ciclo reproductor. Por ejemplo en los reptiles, las especies con un ciclo de vida corto tienden a madurar y comenzar la gametogénesis en etapas más tempranas, así como presentar periodos de

actividad reproductora muy prolongados (Tinkle, 1969; Tinkle *et al.*, 1970; Ballinger y Congdon, 1981).

Por ello, a pesar de que la temperatura, el fotoperiodo y la precipitación pluvial, son importantes en la regulación de los ciclos reproductores (Licht, 1984; Van Dyke, 2015), la edad, la longevidad y el ciclo de vida (corto o largo) son características que podrían aportar información adicional o reforzar el entendimiento acerca de los ciclos reproductores y su duración.

ANTECEDENTES

Aparato reproductor en Squamata

El aparato reproductor de los machos está compuesto por un par de gónadas, los conductos eferentes, el epidídimo, los conductos deferentes y el sistema sexual renal (Withers y O'shea, 1993; Rheubert *et al.*, 2015). Las gónadas están cubiertas por una capa de tejido conectivo con fibras colágenas llamada túnica albugínea. Esta capa penetra dentro de las gónadas mediante ramificaciones formando tejido intersticial (Sanz-Ochotorena *et al.*, 2013; Rheubert *et al.*, 2015). Además, se ha registrado una intensa pigmentación en la túnica albugínea, que puede ser unilateral o en ambas gónadas, no obstante, la información sobre este tema es escasa para reptiles y se cree que sirve como protección ante la radiación UV o en la fisiología térmica de los testículos (Crisp, 1964; Neaves, 1976; Guillette *et al.*, 1983; Sanz-Ochotorena *et al.*, 2013), de forma similar que en otros grupos de vertebrados (Zieri *et al.*, 2007; Mehlis *et al.*, 2012; Delmore *et al.*, 2018). Internamente, las gónadas están conformadas por células de Leydig y los túbulos seminíferos, estos últimos contienen en su interior a las células de la línea germinal (espermatogonia, espermatozoides primario y secundario y espermátida) y células de Sertoli (Gribbins, 2011; Antonio-Rubio *et al.*, 2015).

Los conductos eferentes sirven como un conducto de paso para los espermatozoides, siendo dirigidos de los túbulos seminíferos hacia el epidídimo (Gribbins y Rheubert, 2015). También, se ha observado la presencia de espermatozoides almacenados en esta región y de espermiófagia (Akbarsha *et al.*, 2007; Sever *et al.*, 2012).

En el epidídimo se da el proceso de maduración, donde los espermatozoides adquieren la movilidad, ya que durante su almacenamiento en los túbulos seminíferos son inmóviles (Depeiges y Dacheux, 1985). Los conductos deferentes transportan a los espermatozoides hacia la cloaca, a través de un sistema conductos deferentes-uréter (Withers y O'shea, 1993; Rheubert *et al.*, 2015). Asimismo, dentro de los conductos

deferentes se mezclan sustancias secretadas por el segmento sexual renal, que ayudan a mantener a los espermatozoides antes de la eyaculación (Norris y Carr, 2013).

El segmento sexual renal tiene su origen en las nefronas y es una estructura exclusiva de machos adultos (Sanyal y Prasad, 1966; Rheubert *et al.*, 2011; Sever *et al.*, 2012). Algunas de sus funciones son la secreción de sustancias, ricas en fosfolípidos y proteínas, que funcionan como un medio nutriente para los espermatozoides (Bishop, 1959; Prasad y Reddy, 1972; Sever *et al.*, 2012) y la formación de un tapón copulatorio (Devine, 1975). Se cree que esta estructura es homóloga a las vesículas seminales en mamíferos (Prasad y Reddy, 1972).

Actividad reproductora en reptiles

Los reptiles presentan una gran variedad de patrones reproductores, que, en el caso de los machos, van desde diferencias en la duración del ciclo reproductor (Huang, 1997; Lozano *et al.*, 2015), la época (primavera y/o verano, época de lluvias y/o sequía) en que se lleva a cabo (Vitt y Goldberg, 1983; Ramírez-Pinilla, 1991; Ferreira *et al.*, 2002; Goldberg, 2008) o si la actividad es continua o estacional (Méndez-de la Cruz *et al.*, 2015).

La actividad reproductora continua, es aquella donde la producción de espermatozoides es constante durante todo el año y aunque suele ser asociada a especies tropicales (Sherbrooke, 1975; Vial y Stewart, 1985; Van Sluys, 1993), se ha registrado en especies de clima templado (Hernández-Gallegos *et al.*, 2002; Lozano *et al.*, 2015). En contraste, la actividad reproductora estacional es aquella donde los machos llevan a cabo la gametogénesis en periodos específicos del año, generalmente en primavera o verano/otoño, y está típicamente asociada a especies de clima templado (Abu-Zinadah, 2008; Goldberg, 2011; Rheubert *et al.*, 2014). De igual modo, la actividad reproductora estacional también ha sido registrada en especies tropicales (Ochotorena *et al.*, 2005; Granados-González *et al.*, 2017).

Espermatogénesis

Una vez que los reptiles machos alcanzan la madurez sexual, suelen entrar a un periodo de actividad testicular denominado espermatogénesis, cuyo objetivo es la producción de espermatozoides (Gribbins, 2011). La espermatogénesis se divide en 3 fases sucesivas: recrudescencia, máxima actividad testicular y regresión (Al-Amri *et al.*, 2013; Méndez-de la Cruz *et al.*, 2013; Hernández-Gallegos *et al.*, 2014).

La recrudescencia está definida por una proliferación de las espermatogonias y consecuentes divisiones meióticas que dan como resultado la presencia de espermatoцитos primarios, secundarios y espermatidas en una etapa temprana. Esto a su vez, se refleja en un incremento en el tamaño testicular (Licht, 1984; Al-Amri *et al.*, 2013).

La máxima actividad testicular se caracteriza por la presencia de espermatogonias, aunque en una cantidad menor, espermatoцитos primarios y secundarios, principalmente espermatidas en diferenciación (espermiogénesis) y espermatozoides. Estos últimos pueden estar o no liberados en el lumen de los túbulos seminíferos, a través del proceso de espermiación. Al mismo tiempo, se observan espermatozoides almacenados en los conductos del epidídimo. Esta fase se caracteriza macroscópicamente por las gónadas alcanzando su volumen máximo y un epidídimo altamente contorneado (Licht, 1984; Gribbins, 2011; Méndez-de la Cruz *et al.*, 2013).

Durante la fase de regresión, no hay proliferación de nuevas células germinales, reflejándose en un epitelio germinal reducido y menor tamaño de los túbulos seminíferos, así como una reducción en la cantidad de espermatozoides presentes en el lumen tubular y en los conductos del epidídimo. En esta fase, las gónadas se caracterizan por presentar un menor volumen comparado al que suelen presentar durante la máxima actividad testicular (Hernández-Gallegos *et al.*, 2014; Lozano *et al.*, 2015).

Posterior al proceso de espermatogénesis, las gónadas suelen entrar a un periodo de inactividad conocido como quiescencia. En esta fase, la actividad gonadal se ralentiza

o cesa por completo y únicamente espermatogonias se encuentran presentes dentro de los túbulos seminíferos. Además, las gónadas suelen presentar un volumen disminuido (Gribbins, 2011; Villagrán-Santa Cruz *et al.*, 2009; Méndez-de la Cruz *et al.*, 2013).

Aunado al ciclo espermatogénico, se debe considerar la presencia de las células de Leydig y de Sertoli. Si bien, estas células no son parte de la línea germinal, están altamente involucradas en el proceso de espermatogénesis. En el caso de las células de Leydig, participan en la síntesis de andrógenos, como la testosterona, que son requeridos para completar la espermatogénesis y la espermiogénesis (Tsui, 1976; Withers y O'shea, 1993; Gribbins y Rheubert, 2015). Por su parte, las células de Sertoli tienen un papel en la nutrición de las células de la línea germinal durante su desarrollo (Withers y O'shea, 1993; Gribbins y Rheubert, 2015). Por ejemplo, en el gecko *Hemidactylus flaviviridis* se observó que las células de Sertoli producen lactato, el cual es utilizado por las células germinales como sustrato de energía (Khan y Rai, 2004). También, este tipo celular sintetiza y almacena lípidos (Lofts, 1969; Gribbins y Rheubert, 2015).

Regulación de la actividad reproductora de reptiles

Factores abióticos

Debido a su naturaleza ectotérmica, la reproducción en los reptiles es altamente influenciada por las características ambientales de su entorno (Licht, 1972; Lofts, 1977; Licht, 1984). Se ha identificado a la temperatura como el principal regulador de la actividad reproductora (Licht, 1972; Marion, 1982). Por ejemplo, el incremento en la temperatura promueve la reactivación testicular y el inicio de la máxima actividad en *Anolis carolinensis* (Licht, 1971). Mientras en *Sceloporus undulatus*, las altas temperaturas aceleran el comienzo de la regresión testicular (Marion, 1982).

A diferencia de la temperatura, que suele ser un factor determinante, el fotoperiodo puede estar o no involucrado en la regulación de los ciclos reproductores. Este es el caso de *Lacerta sicula* y *Lacerta muralis*, donde el fotoperiodo no tiene

influencia sobre el ciclo testicular (Licht *et al.*, 1969). Por el contrario, el fotoperiodo estimula el proceso de regresión en *Anolis carolinensis* (Licht, 1971).

La precipitación pluvial es otro factor a considerar durante la regulación de la actividad reproductora de los reptiles. Esto fue observado en machos y hembras de *Ameiva ameiva*, que presentaron periodos de actividad reproductora fuertemente correlacionados con la época de lluvias (Colli, 1991). Este factor parece estar mayoritariamente involucrado en la actividad reproductora de las hembras. Esto tiene sentido si consideramos que las hembras, en especies ovíparas, son quienes ovopositan y el grado de humedad en el suelo, es un factor a considerar durante la incubación de los huevos (Galdino *et al.*, 2003, Brown y Shine, 2006). Un ejemplo de la importancia que tiene la precipitación pluvial para las hembras, se observa en las lagartijas *Anolis limifrons*, *Anolis tropidogaster* y *Anolis teauratus*. En estas especies, las hembras son reproductivamente activas y ovopositan únicamente en la época de lluvias. En contraste, los machos producen espermatozoides tanto en época de lluvias como de sequía (Sexton *et al.*, 1971).

Factores bióticos

Dentro de los factores bióticos, la disponibilidad de alimento es uno de los aspectos más importantes para la reproducción, ya que a través de éste, es como las hembras y los machos obtienen energía que es almacenada en estructuras internas denominadas cuerpos grasos, y posteriormente utilizada para el proceso reproductor (Guillette y Sullivan, 1985; Ribeiro *et al.*, 2012). La obtención de energía es sumamente importante para llevar a cabo y mantener la reproducción que, por ejemplo, hembras de *Urosaurus ornatus* bajo situaciones de escasez de alimento, se ven obligadas a suprimir la inversión energética en la producción de folículos vitelogénicos, a través del sistema inmune (French *et al.*, 2007). También, un estudio en *Plestiodon chinensis* registró que individuos sometidos a una alta ingesta de alimento presentaron un crecimiento más rápido, mayores niveles de

testosterona, estimulando la recrudescencia, y una mayor cantidad de espermatozoides viables, a diferencia de organismos sometidos a una baja ingesta de alimento (Sun *et al.*, 2011).

La mortalidad es un factor que rara vez es considerado entre los factores reguladores de la actividad reproductora. A pesar de ello, la mortalidad tiene sus implicaciones sobre la reproducción, ya que invertir recursos en la reproducción compromete la sobrevivencia (Shine, 1980; Ballinger y Congdon, 1981; Cox y Calsbeek, 2010). La tasa de mortalidad puede ser traducida en una baja o alta esperanza de vida, lo cual afecta características de los reptiles como el tiempo para alcanzar la madurez sexual, la tasa de crecimiento, la longitud del ciclo reproductor y el grado de fecundidad (Tinkle, 1969; Tinkle y Ballinger, 1972; Ballinger y Congdon, 1981; Rojas-González *et al.*, 2008; Méndez-de la Cruz *et al.*, 2015).

La disponibilidad de hembras receptivas parece ser un aspecto importante para que los machos respondan llevando a cabo su ciclo reproductor, y a pesar de que los factores ambientales tienen influencia sobre los reptiles, esta parece ser mayor sobre las hembras (Sexton *et al.*, 1971; Wiederhecker *et al.*, 2002; Santos *et al.*, 2015). De esta forma, generándose una cadena de eventos “factores ambientales – ciclo reproductor de hembras – ciclo reproductor de machos” (Ibargüengoytía y Cussac, 1999), y siendo las hembras quienes influyan sobre el momento en que los machos lleven a cabo su ciclo reproductor, así como la duración del mismo (Ibargüengoytía y Cussac, 1999; Hernández-Gallegos *et al.*, 2002; Wiederhecker *et al.*, 2002; Fernández *et al.*, 2017).

Edad en reptiles

La edad es una característica que nos permite conocer diferentes aspectos sobre los reptiles, como la longevidad, la tasa de crecimiento y el grado de mortalidad en las diferentes edades (Castanet y Baez, 1988; Ortega-Rubio *et al.*, 1999). Aunado a esto, se ha documentado que la edad suele tener repercusiones sobre la reproducción, a través de

la senescencia reproductiva y/o inversión terminal (Clutton-Brock, 1984; Shine y Schwarzkopf, 1992). La senescencia reproductiva se define como un declive del éxito reproductor de un organismo con el aumento de edad (Lemaître y Gaillard, 2017). Este proceso ha sido ampliamente documentado y validado en mamíferos (Sharp y Clutton-Brock, 2010; Lemaître *et al.*, 2014; Croft *et al.*, 2015; Gaillard *et al.*, 2017; Karniski *et al.*, 2018); sin embargo, en reptiles es un tema aún debatido. Por ejemplo, en *Lacerta vivipara*, los machos más longevos tienen un menor éxito reproductor. En contraste, las hembras de esta especie y de *Thamnophis elegans*, presentan un mayor éxito reproductor con el aumento de edad (Richard *et al.*, 2005; Sparkman *et al.*, 2007).

Por su parte, la teoría de la inversión terminal establece que el esfuerzo reproductor de un organismo debe aumentar a medida que su valor reproductivo disminuye con el incremento de edad (Clutton-Brock, 1984). Este es el caso de *Lacerta vivipara*, donde las hembras más longevas presentan un patrón de inversión terminal, produciendo crías más corpulentas y de mayor tamaño (Massot *et al.*, 2011). También, hembras longevas de *Sceloporus graciosus* suelen ser más fecundas (Tinkle y Hadley, 1975).

Esqueletocronología

Diversos métodos han sido identificados para estimar la edad en reptiles, de los cuales, la esqueletocronología resalta por ser la técnica de laboratorio más confiable y precisa (Halliday y Verrell, 1988). Este método permite determinar la edad a través del conteo de anillos denominados “líneas de detención de crecimiento” (LAG, por sus siglas en inglés), que se forman en el tejido óseo de huesos largos como el húmero y fémur, y donde cada LAG representa un ciclo de crecimiento anual; es decir, un año de edad (Castanet y Smirina, 1990; Castanet, 1994). Estos anillos son el resultado de una disminución o cese del crecimiento en los organismos, que suele estar asociado con periodos desfavorables, por ejemplo, cuando se presentan bajas temperaturas (Adolph y Porter, 1996; McCreary

et al., 2008). Asimismo, los reptiles suelen mostrar una correlación positiva entre la edad y el tamaño corporal; es decir, organismos más grandes de tamaño corporal, son también los más longevos y viceversa (Yakin *et al.*, 2012; Kumaş y Ayaz, 2014). Por ello, la longitud-hocico-cloaca (LHC) ha sido utilizada para estimar la edad (Gvozdík, 2000; Castoe, 2002); sin embargo, esta relación suele ser débil o con errores en la determinación exacta de los años (Halliday y Verrell, 1988; Valdecantos *et al.*, 2007; Borczyk y Pasko, 2011), debido a que suele existir una imprecisión provocada por diferencias individuales en la tasa de crecimiento de los organismos o por diferencias en las distintas características de cada hábitat (Valdecantos *et al.*, 2007; Borczyk y Pasko, 2011), ya que es ampliamente conocido que los factores abióticos juegan un papel fundamental en la actividad diaria y crecimiento de los reptiles (Sinervo y Adolph, 1989; Lorenzon *et al.*, 1999). Así que estimar la edad mediante la LHC, no es un método preciso y debe ser evaluada cuidadosamente.

Descripción de la especie

Sceloporus variabilis

Es una especie con una amplia distribución que va desde el sur de Texas, pasando por México, en estados como Hidalgo, Puebla, San Luis Potosí, Oaxaca, Veracruz, Chiapas, Tabasco y Tamaulipas, llegando hasta Costa Rica (Mather y Sites, 1985; Flores-Villela, 1993; Laurencio, 2009). Además, se encuentra en ambientes templados y tropicales, así como en altitudes entre los 0 msnm y superiores a los 1800 msnm (García-Collazo *et al.*, 1993; Cruz-Elizalde y Ramírez-Bautista, 2016).

Esta especie presenta un dimorfismo sexual en su coloración. Ambos sexos poseen un par de líneas dorso laterales que inician detrás de los ojos y terminan en la base de la cola; sin embargo, estas líneas son más intensas y contrastantes en los machos. Asimismo, los machos se caracterizan por dos parches en la región ventral con una tonalidad rosa y bordeados en color azul-oscuro. En el caso de las hembras, suelen

presentar los labios y regiones laterales de la cabeza con una coloración roja brillante (Mather y Sites, 1985).

Además de las características ya mencionadas, *S. variabilis* es una especie ovípara, que alcanza la madurez sexual entre 4 y 7 meses posteriores a su eclosión y a tallas promedio de 46.35 mm y 45 mm de LHC para machos y hembras, respectivamente (García-Collazo *et al.*, 1993; Benabib, 1994; Ramírez-Bautista *et al.*, 2006). En cuanto a características reproductoras, tanto hembras como machos presentan ciclos reproductores estacionales sincrónicos (Benabib, 1994; Granados-González *et al.*, 2017) y las hembras producen múltiples camadas por época reproductora (Benabib, 1994).

JUSTIFICACIÓN

Debido a su alto grado de distribución, *S. variabilis* se ha vuelto un excelente modelo para el estudio de características como la reproducción y la demografía (Fitch, 1973; Benabib, 1994; García-Collazo, 1996; Serna-Lagunes, 2005; Cruz-Elizalde y Ramírez-Bautista, 2016; Granados-González *et al.*, 2017). El estudio más reciente que describió mensualmente el ciclo reproductor de los machos durante un año (Granados-González *et al.*, 2017), registró actividad espermatogénica estacional con únicamente dos fases, recrudescencia y máxima actividad testicular, mientras que la regresión y quiescencia no fueron observadas. Además, parece ser que la actividad reproductora en esta especie no está influenciada por los factores abióticos, como la elevación, la temperatura y la precipitación pluvial. Los autores sugieren que la quiescencia y regresión pueden ocurrir en un periodo corto (menor a un mes), entre los meses de julio y agosto.

Se vuelve entonces importante la necesidad de comprobar o rechazar la hipótesis sobre si la quiescencia y regresión ocurren en un breve periodo. Asimismo, al no encontrar una explicación en los factores abióticos sobre el ciclo reproductor de esta especie, es necesario determinar si factores bióticos, como la edad (longevidad), están involucrados en su regulación, ya que se ha documentado que éstos suelen influenciar la actividad reproductora (Tinkle, 1969; Promislow y Harvey, 1990). Desafortunadamente, no existe información concreta sobre esta característica (Fitch, 1973; Serna-Lagunes, 2005).

OBJETIVOS

Generales

- Comprobar si la regresión y quiescencia ocurren en el ciclo espermatogénico de *Sceloporus variabilis* de La Selva del Marinero, Catemaco, Veracruz, con muestreos semanales.
- Estimar la edad de los machos adultos de *Sceloporus variabilis* de La Selva del Marinero, Catemaco, Veracruz.

Particulares

- Identificar semanalmente las fases espermatogénicas durante los meses de julio y agosto en una población de *Sceloporus variabilis* de La Selva del Marinero, Catemaco, Veracruz.
- Determinar si existe una relación entre la edad y tamaño corporal en machos adultos de *Sceloporus variabilis* de La Selva del Marinero, Catemaco, Veracruz.

MATERIAL Y MÉTODO

Área de estudio

El área de estudio se encuentra en La Selva del Marinero perteneciente al Ejido Adolfo López Mateos, dentro del municipio de Catemaco, en el estado de Veracruz (18.44100°N, 94.96440°W; \pm 170 msnm; Figura 1). El sitio presenta vegetación correspondiente al bosque tropical lluvioso (González-Soriano *et al.*, 1997), un periodo de lluvias de junio a febrero (septiembre como el mes más lluvioso, 418 mm) y un periodo de sequía de marzo a mayo (marzo como el mes más seco, 34 mm). Asimismo, enero (21.8 °C) y mayo (28.8 °C) destacan como el mes más frío y caluroso, respectivamente (de acuerdo con la categoría A tropical húmedo de Köppen).

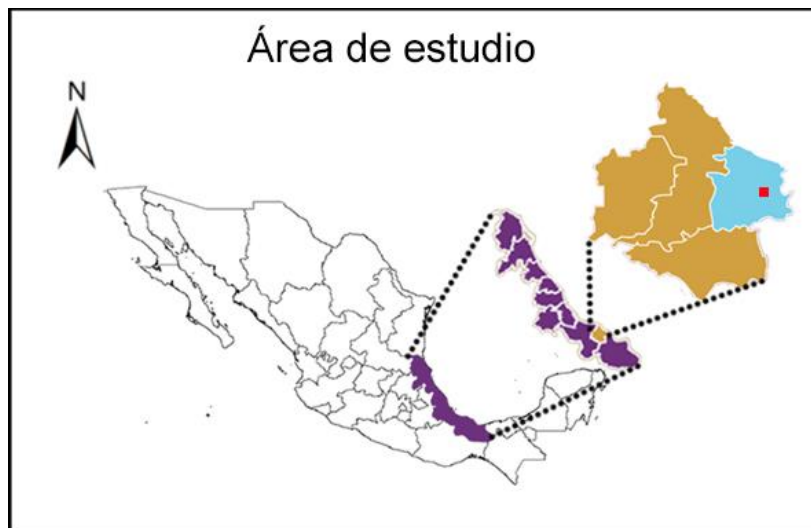


Figura 1. Mapa con la ubicación del área de estudio. Morado: estado de Veracruz; café: región de Los Tuxtlas; azul: municipio de Catemaco; rojo: área de estudio.

Colecta de organismos

Se realizaron muestreos semanales de tres machos adultos de *S. variabilis* (Permiso de Colector Científico SEMARNAT FAUT 0186) entre el 11 de julio y el 15 agosto del 2016 (seis semanas, $n=18$), meses donde la actividad espermatogénica pasa de máxima actividad a recrudescencia (Granados-González *et al.*, 2017), respectivamente. Los organismos fueron sacrificados con una inyección intraperitoneal de pentobarbital sódico (1 mL/Kg, 10%; Close *et al.*, 1996; Savage, 2002). Se registró la LHC, peso corporal y

peso testicular (PT) para cada macho. Los especímenes fueron fijados en formol (CH₂O, 10%), preservados en alcohol (C₂H₆O, 70%) y depositados en el Laboratorio de Herpetología, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México.

Técnica histológica

La gónada derecha de cada individuo ($n=18$) fue seleccionada para el tratamiento. Se procedió de acuerdo con la técnica histológica convencional (deshidratación en alcoholes graduales, aclarado en xilol e inclusión en paraplast). Las muestras fueron seccionadas a 5 μm de grosor con un microtomo de rotación (Leica RM2245) y posteriormente, teñidas con Hematoxilina-Eosina. Las fases espermatogénicas fueron asignadas de acuerdo con las diferentes células germinales presentes en los túbulos seminíferos (Tabla 1; Villagrán-Santa Cruz *et al.*, 1994; Hernández-Gallegos *et al.*, 2014; Rheubert *et al.*, 2014) y se evaluó cuantitativamente la presencia de espermatozoides (+ = baja, ++ = media, +++ = alta) dentro del lumen de los túbulos seminíferos y conductos del epidídimo, de acuerdo con los criterios de clasificación de estudios previos (Hernández-Gallegos *et al.*, 2014; Granados-González *et al.*, 2015; Granados-González *et al.*, 2017). Adicionalmente, se realizó un conteo, con un ocular micrométrico a 40x, para medir el diámetro de los túbulos seminíferos (DTS), altura del epitelio germinal de los túbulos seminíferos (AET), diámetro de los conductos del epidídimo (DCE) y altura del epitelio de los conductos del epidídimo (AEE), en 25 campos microscópicos por macho.

Fase	Tubulos seminíferos	Epidídimo
Quiescencia	Epitelio germinal reducido con espermatogonias y células de Sertoli	Atrofiado y sin espermatozoides
Recrudescencia	Proliferación de espermatogonias y presencia de espermatoцитos I y II	Atrofiado y sin espermatozoides
Máxima actividad	Espermátidas dominando el epitelio germinal y espermatozoides en el lumen	Hipertrofiado y lleno de espermatozoides
Regresión	Sin nuevas generaciones de células germinales, el número de espermatoцитos I, II y espermátidas disminuye y restos de espermatozoides en el lumen	Hipertrofiado con espermatozoides en cantidad moderada

Tabla 1. Etapas del ciclo espermatogénico de acuerdo a Villagrán-Santa Cruz *et al.*, 1994; Hernández-Gallegos *et al.*, 2014; y Rheubert *et al.*, 2014.

Esqueletocronología

Para éste análisis exclusivamente, se contó con una $n=54$ individuos, ya que se utilizaron los ejemplares colectados en los meses de julio y agosto ($n=18$) descritos previamente y los de una colección de machos adultos ($n=36$) provenientes de la misma población de este estudio, colectados mensualmente de noviembre del 2012 a octubre del 2013. Esta colección se encontraba en el Laboratorio de Herpetología de la Facultad de Ciencias de esta misma universidad, y fue originalmente empleada en el estudio de Granados-González *et al.* (2017).

El fémur derecho de cada organismo fue seleccionado y removido. Se descalcificó en ácido nítrico (HNO_3) al 5% durante una hora y cuarenta minutos, fue lavado en agua corriente por una hora, deshidratado en alcoholes graduales, aclarado en xilol e incluido en paraplast. Las muestras fueron cortadas en la sección media de la diáfisis a 7 μm de grosor con un microtomo de rotación (Leica RM2245) y teñidas con hematoxilina de Ehrlich. Posteriormente, se contabilizaron las líneas de crecimiento (LAG) en cada una de las muestras con la ayuda de un microscopio óptico (Leica DM1000) a 40x para determinar las edades (1 LAG = un año; Castanet y Smirina, 1990; Castanet, 1994) de los machos adultos y agruparlos de acuerdo al número de LAGs que presentaban.

Análisis estadístico

Para la parte de reproducción, se evaluó la normalidad y homocedasticidad de LHC, PT, DTS, AET, DCE y AEE con la prueba de Kolmogorov-Smirnov y la prueba de Levene, respectivamente. A pesar de que los muestreos fueron realizados semanalmente (seis semanas con tres machos adultos cada una), los análisis estadísticos se realizaron de manera quincenal (tres grupos quincenales con seis machos adultos cada uno). Esto fue a causa de una no correspondencia entre los datos métricos e histológicos, identificándose un probable error tipo II. Por lo tanto, se decidió agrupar los datos de esta forma para todas las variables, debido que al incrementar el tamaño de muestra se reduce la probabilidad de un error tipo II (Quinn y Keough, 2002).

Se realizó un análisis de covarianza (ANCOVA) para PT y cada una de las variables histológicas con el fin de determinar si existían diferencias significativas entre los grupos quincenales y se utilizó la LHC en todas las pruebas como covariable para eliminar el efecto del tamaño corporal sobre las variables. Posteriormente, se realizó una prueba de intervalos múltiples con el fin de identificar en qué quincenas se presentaban las diferencias.

Para la estimación de edades, se aplicó una correlación de Spearman entre las edades registradas y la LHC con el fin de determinar si existía una relación entre estas variables. Los análisis fueron realizados en Statgraphics Centurion XVI y con una alfa establecida a $p < 0.05$.

RESULTADOS

Actividad reproductora

Variación en peso testicular y características histológicas

Se cumplió con los supuestos de normalidad y homocedasticidad ($p > 0.05$ en todos los modelos) para todas las variables. La LHC promedio fue de 65.2 mm (intervalo 54.3-70.8 mm). Los análisis estadísticos mostraron diferencias significativas entre quincenas para todas las variables ($p < 0.05$ en todos los modelos; Tabla 2) y la LHC tuvo un efecto sobre PT y DCE ($p < 0.05$, para ambas variables; Tabla 2).

Los cambios observados en los valores de PT, DTS, AET, DCE y AEE fueron paralelos entre todas las variables, registrando un patrón descendente de la primera a la última quincena de estudio (Figura 2). Razón por la cual los valores más altos de todas las variables se encuentran en la primera quincena y los valores más bajos durante la última quincena. Este patrón descendente fue resultado de cambios en la actividad espermatogénica.

Variable	Quincena			LHC		
	<i>F</i>	<i>gl</i>	valor- <i>p</i>	<i>F</i>	<i>gl</i>	valor- <i>p</i>
PT	9.41	2, 14	0.0026	6.96	1, 14	0.0195
DTS	10.28	2, 14	0.0018	1.93	1, 14	0.1863
AET	8.07	2, 14	0.0047	2.35	1, 14	0.1477
DCE	5.47	2, 14	0.0176	5.17	1, 14	0.0393
AEE	4.67	2, 14	0.0279	2.28	1, 14	0.1530

Tabla 2. Estadísticos de la prueba de ANCOVA para diferentes características reproductivas en machos de *Sceloporus variabilis* de La Selva del Marinero, Catemaco, Veracruz.

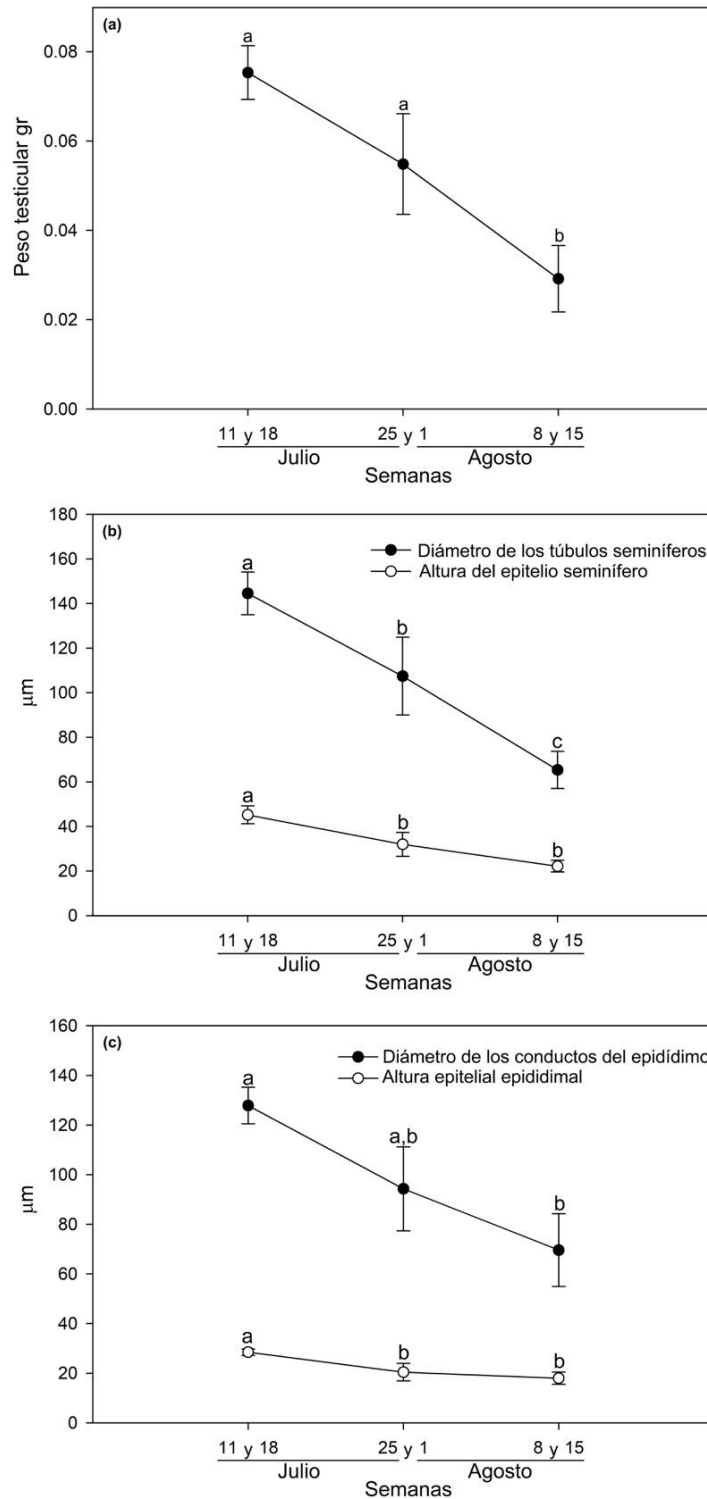


Figura 2. Variación quincenal en el valor medio de diferentes características reproductivas en machos de *Sceloporus variabilis* de La Selva del Marinero, Catemaco, Veracruz. (a) peso testicular; (b) diámetro de los túbulos seminíferos y altura del epitelio seminífero; (c) diámetro de los conductos del epidídimo y altura del epitelio epididimal. Cambios en las letras corresponden a diferencias significativas ($p < 0.05$). Las líneas verticales indican el error estándar. El tamaño de muestra por nivel de factor corresponde a seis individuos.

Ciclo espermatogénico

La actividad espermatogénica fue evaluada semanalmente (tres machos por semana), a diferencia de los análisis estadísticos que fueron en grupos quincenales (con seis machos por cada uno), y se observaron tres fases espermatogénicas: máxima actividad, regresión y recrudescencia (Figura 3).

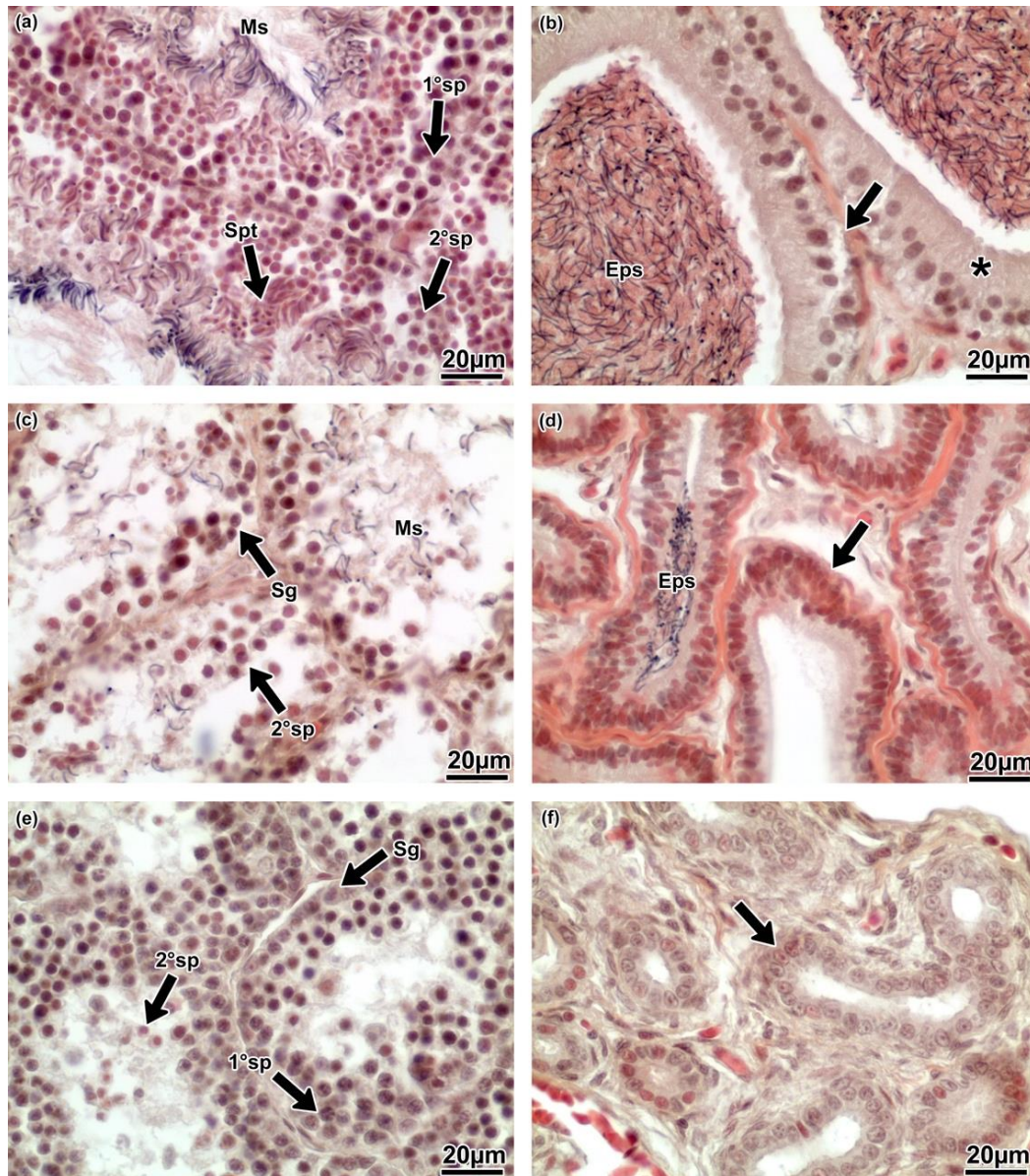


Figura 3. Histología de los túbulos seminíferos y epidídimo en machos de *Sceloporus variabilis* de La Selva del Marinero, Catemaco, Veracruz, representando en el orden que fueron registradas las tres fases espermatogénicas. a y b, máxima actividad testicular; c y d, regresión; e y f, recrudescencia. Sg, espermatogonia; 1°sp, espermatozocito primario; 2°sp, espermatozocito secundario; Spt, espermátida; Ms, espermatozoides maduros; Eps, espermatozoides epididimales; *, epitelio epididimal lleno con material secretor; flecha, epitelio epididimal.

La máxima actividad espermatogénica estuvo presente durante cinco semanas (11 de julio – 8 de agosto) (Figura 4) y registró los valores más altos para PT (0.075 g), DTS (144.4 μm), AET (45.1 μm), DCE (127.6 μm) y AEE (28.4 μm) en las dos semanas iniciales (siendo la primera quincena en los análisis estadísticos). En esta fase, el epitelio de los túbulos seminíferos estuvo dominado por espermatidas, seguido de espermátocitos primarios y secundarios (Figura 3a, 1^osp, 2^osp, Spt). Adicionalmente, se observó la presencia de espermatozoides en el lumen de los túbulos seminíferos y en los conductos del epidídimo (+++, Figura 3a y 3b, Ms, Eps). Durante esta fase, el número de individuos en espermiogénesis fue disminuyendo gradualmente a través de las diferentes semanas; es decir, en las dos semanas iniciales (11 y 18 de julio), el 100 % de los machos presentó máxima actividad, en la tercera y cuarta semana (25 de julio y 1 de agosto), el porcentaje de individuos se redujo al 66% y en la quinta (8 de agosto) solo el 33%. Mientras que, en la sexta semana (15 de agosto), ningún individuo fue registrado con máxima actividad (Figura 4).

La fase de regresión fue registrada durante dos semanas (1 y 8 de agosto) (Figura 4). En esta fase se observó un epitelio tubular desgastado; es decir, sin la proliferación de nuevas células germinales y únicamente con espermatogonias y espermátocitos secundarios (Figura 3c, Sg, 2^osp). Restos de espermatozoides se encontraron en el lumen de los túbulos seminíferos y conductos del epidídimo (+, Figura 3c y d, Ms, Eps). Cabe mencionar, que únicamente dos machos (uno por semana) de la muestra total utilizada para evaluar el ciclo reproductor ($n=18$), fueron encontrados en esta fase espermatogénica, resaltando el macho en regresión de la cuarta semana (1 de agosto), el cual presentó características de una regresión muy tardía como remanentes de espermatozoides, sin espermiogénesis, citoplasma residual en el lumen de los túbulos seminíferos, sin proliferación celular y espermatogonias en reposo.

Por último, la fase de recrudescencia se registró durante tres semanas (25 de julio, 8 y 15 de agosto) (Figura 4). Esta fase se caracterizó por una marcada proliferación celular, un epitelio tubular dominado por espermatoцитos primarios, conteniendo también espermatogonias y espermatoцитos secundarios, aunque en menor número (Figura 3e, Sg, 1°sp, 2°sp). Espermatozoides no fueron registrados dentro del lumen de los túbulos seminíferos y conductos del epidídimo. Además, el diámetro tubular (66.8 μm) y conductos del epidídimo (71.9 μm) permanecieron reducidos (Figura 3e y f). Esta fase presentó un patrón ascendente en cuanto al número de machos en recrudescencia debido a que en la tercera y quinta semana (25 de julio y 8 de agosto), solo el 33% de los individuos estuvieron en recrudescencia, mientras que, en la sexta semana (15 de agosto), el 100% de individuos presentó esta fase (Figura 4). Este patrón ascendente contrasta con el patrón descendente registrado para la máxima actividad testicular.

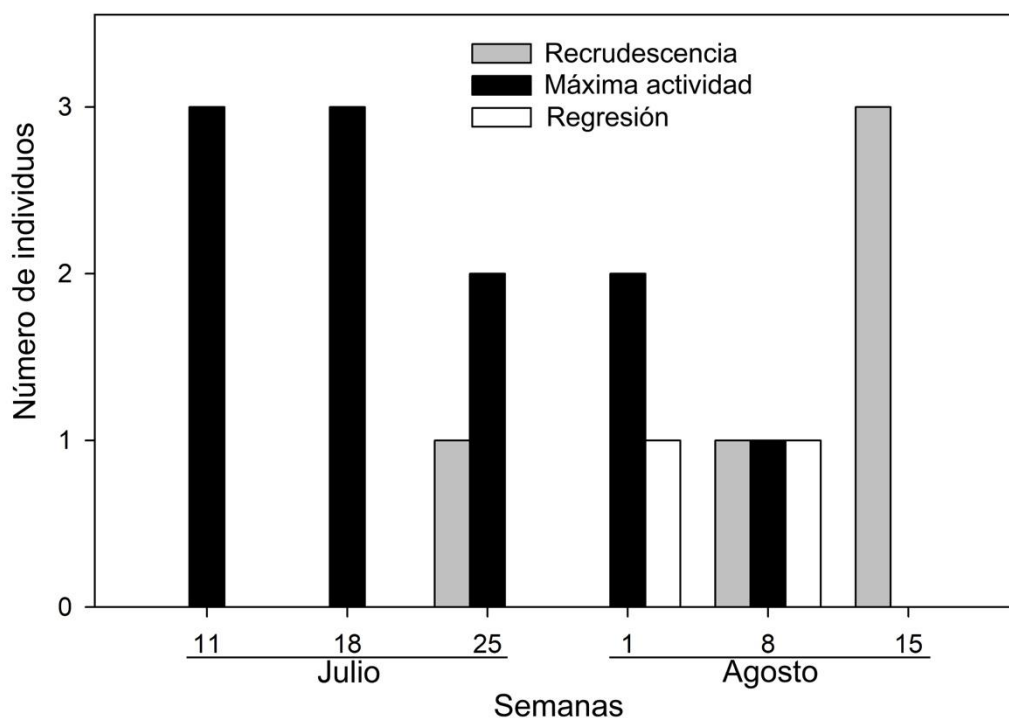


Figura 4. Representación sobre el número de machos adultos de *Sceloporus variabilis* colectados por semana en La Selva del Marinero, Catemaco, Veracruz, y la fase espermatogénica que presentaban.

Edad

Dentro de la muestra total empleada para evaluar la edad ($n=54$), se identificaron organismos sin la presencia de LAGs (<1) y tres diferentes patrones de anillos, teniendo individuos con 1, 2 y 3 LAGs (Figura 5-7). Dicho de otra forma, se observaron machos adultos de <1 , 1, 2 y 3 años. El porcentajes de individuos para cada clase de edad (<1 , 1, 2 y 3) son 5.6 % , 37 % , 46.3 % y 11.1 % , respectivamente, destacando que la mayoría de organismos se concentran en 1 y 2 LAGs. La edad promedio para los machos adultos de *S. variabilis* fue de 1.6 años. Por su parte, la correlación de Spearman no mostró una relación significativa entre LHC y LAGs ($r= 0.09, p > 0.05$).



Figura 5. Sección transversal del fémur de un macho de 66 mm de LHC de *Sceloporus variabilis* de La Selva del Marinero, Catemaco, Veracruz. La flecha indica la existencia de una LAG.



Figura 6. Sección transversal del fémur de un macho de 64.6 mm de LHC de *Sceloporus variabilis* de La Selva del Marinero, Catemaco, Veracruz. Las flechas indican la existencia de dos LAGs.



Figura 7. Sección transversal del fémur de un macho de 65mm de LHC de *Sceloporus variabilis* de La Selva del Marinero, Catemaco, Veracruz. Las flechas indican la existencia de tres LAGs.

DISCUSIÓN

Actividad reproductora

En una primera revisión, podemos observar que la actividad reproductora registrada en este estudio no difiere en su inicio (julio) y final (agosto) con la registrada por Granados-González *et al.* (2017) para los mismos meses, máxima actividad testicular y recrudescencia, respectivamente, sin embargo, en este estudio se registró una tercera fase espermatogénica, regresión. Aunque tampoco se registró la quiescencia durante este trabajo, no se puede asegurar que esta fase no ocurra en *S. variabilis*. Estos resultados nos conducen a dos hipótesis: i) la quiescencia ocurre en un breve periodo (días u horas, entre el 8 y 15 de agosto) no observado en los muestreos semanales o ii) no ocurre en esta especie. Evidencia que puede apoyar la existencia de esta fase, es el macho en regresión muy tardía de la cuarta semana (1 de agosto). Las características de este macho pueden ser asignadas tanto a una fase de regresión como de quiescencia, sugiriendo que era un macho que se encontraba en una etapa final de la regresión, a punto de entrar a la quiescencia. Otra posibilidad es que la quiescencia (si existe) y regresión no ocurran a nivel poblacional debido a la rapidez en que suceden (dos semanas o menos). Por ejemplo, machos de *Homalopsis buccata* (Berry y Lim, 1967; Licht, 1984) y hembras de *Sceloporus bicanthalis* (Manríquez-Morán, 1998; Ambríz-Rosales, 2010) presentan actividad reproductora continua a nivel poblacional pero individualmente no, debido a que los organismos de estas especies presentan un ciclo reproductor pronunciado.

El que exista o no la quiescencia en el ciclo espermatogénico de *S. variabilis*, aportaría nueva información a lo que conocemos hasta la actualidad sobre los ciclos reproductores en reptiles. En el primero de los casos, de existir esta fase, *S. variabilis* sería la especie del género *Sceloporus* con la quiescencia más rápida (menos de siete días o cuestión de horas), ya que el tiempo mínimo reportado para el reposo gonádico en este género es de un mes (Goldberg, 1974; Villagrán-Santa Cruz *et al.*, 1994; Rheubert *et al.*,

2014). Por otra parte, de no existir esta fase espermatogénica en *S. variabilis*, sería un hecho sin precedentes, debido a que no se tienen reportados datos de un ciclo espermatogénico estacional, llevado a cabo por un reptil, sin la quiescencia (Gribbins, 2011; Méndez-de la Cruz *et al.*, 2015).

La variación en actividad espermatogénica estuvo presente en tres de las seis semanas de estudio, y es una característica que no había sido registrada para esta especie (García-Collazo, 1996; Granados-González *et al.*, 2017). Esta particularidad ha sido documentada en otras especies de lagartijas (*Sceloporus consobrinus*; Rheubert *et al.*, 2014), culebras (*Homalopsis buccata*; Berry y Lim, 1967), tortugas (*Kinosternon scorpioides*; Sousa *et al.*, 2014) y macacos (*Macaca fascicularis*; Dreef *et al.*, 2007). Una posible explicación a la variación espermatogénica en *S. variabilis* puede ser debido al hecho de que algunas hembras aún se encuentran en la etapa de vitelogénesis en el mes de agosto (Benabib, 1994; Cruz-Elizalde y Ramírez-Bautista, 2016), mismo mes donde los últimos machos reproductivamente activos son encontrados. De esta forma, es posible que exista una plasticidad en el ciclo espermatogénico, estimulada por las hembras vitelogénicas, permitiendo a los machos extender la producción de espermatozoides unas semanas más, para copular con las últimas hembras en ovulación.

El macho en recrudescencia de la tercera semana de estudio (25 de julio) resalta por ser el más pequeño (54.3 mm de LHC). Es posible que este macho tuviera la capacidad de detener prematuramente la máxima actividad espermatogénica (terminando así el ciclo espermatogénico de la temporada con anticipación y comenzando uno nuevo) para favorecer el crecimiento corporal y competir por el acceso a las hembras, como se sugiere en machos de *Liolaemus sarmientoi* (Fernández *et al.*, 2017).

Los análisis estadísticos mostraron que la LHC tiene un efecto sobre PT y DCE. Esto ha sido registrado en la lagartija *Podarcis vaucheri*, donde existe una influencia del tamaño corporal sobre el peso testicular (Mamou *et al.*, 2017). Una posible explicación

al efecto de la LHC sobre el peso testicular y diámetro de los conductos del epidídimo en *S. variabilis*, puede ser debido a los niveles de testosterona, los cuales se han registrado son proporcionales al tamaño corporal de algunas especies del género *Sceloporus* (Cox y John-Alder, 2005; Halliday *et al.*, 2014). De esta forma, al existir potencialmente un mayor nivel de testosterona en individuos de mayor tamaño corporal, la producción de espermatozoides sería a una tasa más elevada, reflejándose en un aumento del peso testicular y tamaño (diámetro) de los conductos del epidídimo, a causa de una mayor cantidad de espermatozoides.

Edad

Con base en los resultados obtenidos a través del método de esqueletocronología, la longevidad mínima para los machos de *S. variabilis* en esta muestra es de tres años. Especies dentro del género han sido registradas con una longevidad similar, como es el caso de *Sceloporus grammicus* y *Sceloporus undulatus*, con tres y cuatro años, respectivamente (Tinkle y Ballinger, 1972; Ortega-Rubio *et al.*, 1993). Asimismo, se puede argumentar que *S. variabilis* y otras especies del género, con una longevidad similar o menor, son lagartijas con una baja esperanza de vida y, por ende, con un ciclo de vida corto. Esto si consideramos que la máxima edad registrada para una especie del género *Sceloporus* es de ocho años (Stebbins, 1948).

Cabe resaltar que la mayoría de organismos presentó edad de uno y dos años y pocos individuos alcanzaron los tres años. Si se considera esta muestra ($n=54$) como una muestra representativa de la población de machos adultos de *S. variabilis* en La Selva del Marinero, Catemaco, Veracruz, se puede decir que esta población se encuentra conformada en su mayoría por individuos de edad intermedia (uno y dos años). Una situación similar se registró en diferentes poblaciones de *Sceloporus undulatus*, donde los individuos más longevos aportan pocos miembros a la composición de la población, que

en su mayoría está conformada por miembros de uno y dos años (Tinkle y Ballinger, 1972).

El que pocos individuos (11.1%) de la muestra presentaran la edad máxima (tres años), puede sugerir la existencia de una alta tasa de mortalidad en los machos adultos de esta población, o al menos en las edades más avanzadas. Esto último ha sido registrado en *Lacerta vivipara* y *Podarcis bocagei*, donde los machos presentan una menor tasa de sobrevivencia a medida que la edad aumenta (Galán, 1999; Massot *et al.*, 2011). Existe evidencia que apoya el argumento de una alta tasa de mortalidad en esta especie: en primer lugar, este factor ya ha sido registrado en una población de *S. variabilis* en Costa Rica (Fitch, 1973). En ambos estudios (Fitch, 1973; este estudio), *S. variabilis* provenía de una región tropical y se ha documentado que la mortalidad es mayor en estas regiones, debido a que suelen tener condiciones ambientales más estables y favorables, que permiten a las especies un mayor tiempo de actividad y exposición en su medio (Tinkle *et al.*, 1970; Ballinger y Congdon, 1981; Rojas-González *et al.*, 2008). Aunado a lo anterior, al ser *S. variabilis* una especie tropical con periodos de actividad prácticamente todo el año (como la actividad testicular y vitelogénesis; Benabib, 1994; Granados-González, *et al.*, 2017), debe presentar una demanda energética importante y se ha documentado que la esperanza de vida disminuye con elevadas y constantes tasas de actividad metabólica (Sacher, 1978, Scharf *et al.*, 2015). Ejemplo de lo anterior es el colúbrido *Thamnophis elegans*, donde se reportó que organismos con una menor esperanza de vida presentan tasas metabólicas más elevadas, a causa de un crecimiento rápido, reproducción temprana y un alto esfuerzo reproductor (Bronikowski y Vleck, 2010).

El encontrar machos adultos sin ninguna LAG; es decir, sin cumplir aún el año de edad, fue debido a que *S. variabilis* es una especie que crece rápidamente y alcanza la

madurez antes de cumplir un año de edad, esta característica se ha registrado en diferentes poblaciones de esta especie (Benabib, 1994; Serna-Lagunes, 2005).

Al observar la distancia que hay del endostio (capa interna que delimita a la cavidad medular) a la primera LAG y la distancia que hay entre dos LAGs, se puede inferir que la tasa de crecimiento en *S. variabilis* es muy alta a edades tempranas y posteriormente, sufre un declive. Esto concuerda con el argumento sobre el crecimiento disminuyendo con la edad (Patnaik, 1994), lo cual ha sido observado en *Podarcis bocagei*, donde los individuos jóvenes presentan la tasa de crecimiento más alta y ésta decae gradualmente con la edad (Galán, 1999).

La correlación de Spearman determinó que no existe una correlación entre la LHC y edad en *S. variabilis*, esto quiere decir que los machos más grandes en tamaño corporal no necesariamente son los machos más longevos y viceversa, así que tratar de estimar la edad en esta especie mediante las tallas corporales, no debe ser tomado en cuenta. Algunas de las posibles explicaciones a esto pueden ser las diferencias individuales en la tasa de crecimiento o que exista una alta competencia por las hembras, de esta forma los machos más jóvenes necesitarían alcanzar un mayor tamaño corporal para ser favorecidos por la selección sexual (Valdecantos, *et al.*, 2007).

Análisis del ciclo reproductor de *Sceloporus variabilis*

Conjuntando la información de ambos estudios (Granados-González *et al.*, 2017; este estudio), *S. variabilis* presenta un ciclo reproductor con un periodo de recrudescencia de un mes y tres semanas, un periodo transicional de recrudescencia a máxima actividad por un mes, un periodo de máxima actividad espermatogénica ocurriendo en nueve meses y dos semanas, y un periodo de regresión de dos semanas. Destacando que hay un traslape entre estas tres fases; es decir, variación espermatogénica entre individuos a inicios del mes de agosto.

El breve periodo de regresión y una posible quiescencia ocurriendo en cuestión de días u horas, son evidencia de la importancia que tiene la histología en el análisis de los ciclos reproductores, ya que, sin la ayuda de esta técnica, hubiera sido imposible identificar estos cambios en la actividad espermatogénica únicamente con el uso de datos macroscópicos (como el peso testicular). De igual modo, el ciclo reproductor de *S. variabilis* propone la opción de evaluar la actividad espermatogénica a intervalos menores de un mes, cuando fases espermatogénicas no son detectadas o se requiere de su longitud precisa. Por ejemplo, debido a que la quiescencia no fue observada en esta lagartija a través de muestreos mensuales (García-Collazo, 1996; Granados-González *et al.*, 2017) y semanales (este trabajo), sería necesaria una evaluación histológica a intervalos aún más cortos; es decir, muestreos diarios (entre el 8 y 15 de agosto), para poder confirmar o descartar contundentemente la presencia de esta fase.

A pesar de que un solo individuo (1 de agosto) fue registrado con la posibilidad de entrar a la quiescencia, es de esperarse que esta fase existe por muy breve que sea. Evidencia que puede apoyar el anterior argumento son las hembras de *S. variabilis*, las cuales durante al menos dos meses cesan la producción de folículos vitelogénicos (Benabib, 1994; Cruz-Elizalde y Ramírez-Bautista, 2016), debido a esto, mantener el proceso de espermiogénesis no tendría sentido e implicaría un gasto energético innecesario para los machos. Cualquiera que sea el caso, la existencia (menos de siete días u horas) o no de la quiescencia, se puede argumentar que *S. variabilis* potencialmente puede presentar actividad gonadal durante todo el daño.

Para poder dar una explicación al porqué del ciclo espermatogénico estacional prolongado (nueves meses y dos semanas) de *S. variabilis*, que es el de mayor duración en su género (Goldberg, 1974; Estrada-Flores *et al.*, 1990; Méndez-de la Cruz *et al.*, 2013; Hernández-Gallegos *et al.*, 2014; Lozano *et al.*, 2015), se requiere considerar la parte ancestral. Méndez-de la Cruz *et al.* (2015) mencionaron que el ciclo reproductor ancestral

del género *Sceloporus* es estacional y Savage (1966) que *S. variabilis* proviene de un ancestro tropical. La suma de estos factores resultaría en *S. variabilis* heredando de su ancestro un ciclo espermatogénico prolongado, ya que especies tropicales con ciclos reproductores estacionales tienden a presentar periodos de actividad reproductora muy largos (Licht, 1984, Vitt, 2015). Datos que apoyan este argumento, son las similitudes en cuanto a la duración de la actividad reproductora en diferentes poblaciones de esta especie. Por ejemplo, la máxima actividad espermatogénica en una población de Los Tuxtlas, Veracruz (nueve meses y dos semanas, 170 msnm; Granados-González *et al.*, 2017; este estudio) y en Metztitlán, Hidalgo (nueve meses, 1236 msnm; García-Collazo, 1996) y la vitelogénesis en una población de Montepío (10 meses, 45 msnm) y Bastonal (ocho meses, 1000 msnm) en el estado de Veracruz (Benabib, 1994), y en Atlapexco (10 meses, 140 msnm) y San Pablo (nueve meses, 1045 msnm) en el estado de Hidalgo (Cruz-Elizalde y Ramírez-Bautista, 2016). Esta similitud del periodo reproductor en diferentes poblaciones, puede ser el reflejo de un ciclo reproductor que no es influenciado por los factores abióticos específicos de cada región y que es más una característica particular de esta especie que se ha mantenido intacta con el paso del tiempo, como lo sugieren Granados-González *et al.* (2017).

A diferencia de los factores abióticos, un factor biótico que puede dar una explicación al ciclo espermatogénico tan extenso de *S. variabilis*, es la presencia de hembras para copular durante la mayor parte del año. Debido que al tener hembras en vitelogénesis durante ocho o diez meses (Benabib, 1994; Cruz-Elizalde y Ramírez-Bautista, 2016), esto obligaría a los machos a ser activos durante un periodo similar, lo cual se ve reflejado en periodos de actividad espermiogénica de nueve meses (García-Collazo, 1996) y nueve meses y dos semanas (Granados-González *et al.*, 2017; este estudio), para aprovechar la disponibilidad de hembras receptivas. Este parece ser un factor importante en la regulación del ciclo reproductor de los machos; ya que ha sido

registrado en diferentes especies como *Sceloporus bicanthalis*, donde la presencia de hembras disponibles para copular durante la mayor parte del año promovió la espermatogénesis continua en esta especie (Hernández-Gallegos *et al.*, 2002; Gribbins *et al.*, 2011). En *Tropidurus torquatus*, el pico de actividad reproductora de los machos coincide con el periodo reproductor de las hembras y fuera de este periodo, el número de machos activos se reduce considerablemente (Wiederhecker *et al.*, 2002). En el caso de *Liolaemus sarmientoi* y *Liolaemus magellanicus*, las hembras de ambas especies pueden reproducirse anual o bianualmente (Fernández *et al.*, 2015), por lo que suele existir una escasez de hembras receptivas en la época reproductora, así que los machos se ven obligados a producir espermatozoides durante toda la época de reproducción, con el fin de aprovechar cualquier hembra que se encuentre ovulando (Fernández *et al.*, 2017).

Un aspecto que no suele ser tomado en cuenta durante la explicación de los ciclos reproductores, es la mortalidad. A través de la esqueletocronología, en este estudio se registró una edad promedio de 1.6 años y longevidad de tres años para los machos adultos de *S. variabilis*, sugiriendo la presencia de una alta mortalidad en esta especie. Se hace referencia a este factor porque se ha registrado que especies con ciclos y esperanza de vida cortos son el resultado de una alta mortalidad, y en consecuencia características como el ciclo reproductor se ven influenciados (Promislow y Harvey, 1990; Tinkle, 1969). Por ejemplo, un estudio comparativo en dos poblaciones con distinto grado de mortalidad de la lagartija *Xenosaurus platyceps*, reveló que la población con alto índice de mortalidad presenta características de especies con un ciclo de vida rápido como una mayor tasa de crecimiento, maduración sexual temprana y crías con menor tamaño, a diferencia de la población con baja mortalidad (Rojas-González *et al.*, 2008). De este modo, la alta mortalidad sugerida en *S. variabilis* podría conducirla a poseer un ciclo espermatogénico muy prolongado, ya que una baja esperanza de vida es propia de especies tropicales con reproducción continua y de especies templadas con reproducción estacional muy

prolongada (Tinkle, 1969). Este es el caso de *S. bicanthalis*, una especie de clima templado y que se encuentra a una gran elevación (≥ 3200 msnm) pero con actividad espermatogénica continua (Hernández-Gallegos *et al.*, 2002; Gribbins *et al.*, 2011). Esta especie presenta una baja esperanza de vida (1.3 años, Rodríguez-Romero *et al.*, 2011), debido a esto necesita crecer y alcanzar la madurez sexual rápidamente, con la finalidad de comenzar la reproducción lo antes posible y mantenerla el mayor tiempo (Méndez-de la Cruz *et al.*, 2015).

La suma de estos factores: un ancestro de ambiente tropical, un ciclo reproductor estacional con una duración que es mantenida en cualquier ambiente, la disponibilidad de hembras durante casi todo el año y una alta tasa de mortalidad, parecen ser los mecanismos que están moldeando y dirigiendo el ciclo reproductor de *S. variabilis* hacia uno más prolongado. Así, estas presiones filogenéticas y bióticas podrían estar involucradas en la transición de un ciclo reproductor estacional a uno continuo en un futuro para esta especie. Considerando esto último y entendiendo que los procesos evolutivos se llevan a cabo gradualmente a través de generaciones, lo primero en la búsqueda de llegar hacia un ciclo reproductor continuo, sería la reducción y posterior eliminación de la fase menos “ventajosa” hacia ese objetivo, la quiescencia, fase que no ha sido registrada en esta especie (García-Collazo, 1996; Granados-González *et al.*, 2017; este estudio). Posteriormente, se necesitaría una reducción de aquella fase que conduce hacia el reposo gonádico, regresión, la cual se registró durante este estudio con un periodo de dos semanas. Por último, *S. variabilis* tendría que reducir el tiempo de recrudescencia e incrementar el de actividad espermiogénica, fases con una duración de dos meses, y nueve meses y dos semanas, respectivamente (Granados-González *et al.*, 2017; este trabajo). Cabe mencionar que no se puede asegurar que *S. variabilis* esté encaminada hacia la reproducción continua, pero los datos aportados y que a la fecha se tienen, así lo sugieren.

Finalmente, es necesario realizar estudios más profundos con la finalidad de determinar los mecanismos a cargo de regular la actividad reproductora; ya que se ha mencionado que los factores ambientales no son la única fuerza encargada de regular la actividad reproductora en los machos (Rheubert *et al.*, 2014).

CONCLUSIONES

- La fase de regresión fue registrada con una duración de dos semanas. Sin embargo, a pesar de que la quiescencia no fue observada, no se puede descartar su existencia.
- Con base en la información que se tiene hasta el momento, así como la generada por este trabajo, el ciclo espermatogénico de *Sceloporus variabilis* está compuesto por tres fases: recrudescencia, máxima actividad testicular y regresión.
- Las edades registradas en los machos adultos de *Sceloporus variabilis* van desde individuos sin cumplir un año (<1) hasta los tres años, sugiriendo que es una especie con un ciclo de vida corto.
- No existe una correlación entre la LHC y edad, por lo que no se recomienda estimar la edad en esta especie a través del tamaño corporal.

BIBLIOGRAFÍA

- Abu-Zinadah, O. A. 2008. Variation in testicular histology of the spiny tailed lizard *Uromastyx aegyptius microlepis* during hibernation and active periods. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 11, 1615–1619.
- Adolph, S. C., y Porter, W. P. 1996. Growth, seasonality, and lizard life histories: Age and size at maturity. *Oikos*. 77, 267–78.
- Akbarsha, M. A., Kadalmani, B., y Tamilarasan, V. 2007. Efferent ductules of the fan-throated lizard *Sitana ponticeriana* Cuvier: light and transmission electron microscopy study. *Acta Zoologica*. 88, 265–274.
- Al-Amri, I. S., Mahmoud, I. Y., Waring, C. P., Alkindi, A. Y., Khan, T., Bakheit, C., y Al-Mawali, K. M. 2013. The reproductive cycle of the male house gecko, *Hemidactylus flaviviridis*, in relation to plasma steroid concentrations, progesterone receptors, and steroidogenic ultrastructural features, in Oman. *General and Comparative Endocrinology*. 187, 23–31.
- Ambríz-Rosales I. A. 2010. *Actividad reproductora de Sceloporus bicanthalis (Squamata: Phrynosomatidae) en el Volcán Nevado de Toluca, Estado de México* (Tesis de Licenciatura), Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México.
- Antonio-Rubio, N. R., Villagrán-Santa Cruz, M., Santos-Vázquez, A., y Moreno-Mendoza, N. 2015. Gonadal morphogenesis and sex differentiation in the oviparous lizard, *Sceloporus aeneus* (Squamata: Phrynosomatidae). *Zoomorphology*. 134, 279–289.
- Arakelyan, M. S. 2002. The study of age, growth and longevity in the triploid hybrids of rock lizards of the genus *Darevskia* in Armenia. *Russian Journal of Herpetology*. 9, 63–68.

- Ballinger, R. E., y Congdon, J. D. 1981. Population ecology and life history strategy of a montane lizard (*Sceloporus scalaris*) in southeastern Arizona. *Journal of Natural History*. 15, 213–222.
- Benabib, M. 1994. Reproduction and lipid utilization of tropical populations of *Sceloporus variabilis*. *Herpetological Monographs*. 8, 160–180.
- Berry, P. Y., y Lim, G. S. 1967. The breeding pattern of the puff-faced water snake, *Homalopsis buccata* Boulenger. *Copeia*. 1967, 307–313.
- Bishop, J. E. 1959. A histological and histochemical study of the kidney tubule of the common garter snake, *Thamnophis sirtalis*, with special reference to the sexual segment in the male. *Journal of Morphology*. 104, 307–357.
- Borczyk, B., y Pasko, L. 2011. How precise are size-based age estimations in the sand lizard (*Lacerta agilis*)? *Zoologica Poloniae*. 54(1-4), 11–17.
- Bronikowski, A., y Vleck, D. 2010. Metabolism, body size and life span: A case study in evolutionarily divergent populations of the garter snake (*Thamnophis elegans*). *Integrative and Comparative Biology*. 50, 880–887.
- Brown, G. P., y Shine, R. 2006. Why do most tropical animals reproduce seasonally? Testing hypotheses on an Australian snake. *Ecology*. 1, 133–143.
- Castanet, J. 1994. Age estimation and longevity in reptiles. *Gerontology*. 40, 174–192.
- Castanet, J., y Baez, M. 1988. Date on age and longevity of *Gallotia galloti* (Sauria, Lacertidae) assessed by skeletochronology. *Herpetological Journal*. 1, 218–222.
- Castanet, J., y Smirina, E. M. 1990. Introduction to the skeletochronological method in amphibians and reptiles. *Annales des Sciences Naturelles*. 11, 191–196.
- Castoe, T. A. 2002. Microhabitat selection in *Porthidium nasutum* (Serpentes: Viperidae) in Costa Rica, with comments on ontogenetic variation. *Herpetological Review*. 33, 174–175.

- Close, B., Banister, K., Baumans, V., Bernoth, E. M., Bromage, N., Bunyan, J., Erhardt, W., Flecknell, P., Gregory, N., Hackbarth, H., Morton, D., y Warwick, C. 1996. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1. *Laboratory Animals*. 30, 293–316.
- Clutton-Brock, T. H. 1984. Reproductive effort and terminal investment in iteroparous animal. *The American Naturalist*. 123, 212–229.
- Colli, G. R. 1991. Reproductive ecology of *Ameiva ameiva* (Sauria, Teiidae) in the Cerrado of Central Brazil. *Copeia*. 1991, 1002–1012.
- Congdon, J. D., Nagle, R. D., Kinney, O. M., y Sels, R. C. V. 2003. Testing hypothesis of aging long-lived painted turtles (*Chrysemys picta*). *Experimental Gerontology*. 38, 765–772.
- Cox, R. M., y Calsbeek, R. 2010. Severe costs of reproduction persist in *Anolis* lizards despite the evolution of a single-egg clutch. *Evolution*. 64, 1321–1330.
- Cox, R. M., y John-Alder, H. B. 2005. Testosterone has opposite effects on male growth in lizards (*Sceloporus* spp.) with opposite patterns of sexual size dimorphism. *Journal of Experimental Biology*. 208, 4679–4687.
- Cree, A., Cockrem, J. F., y Guillette, L. J. Jr. 1992. Reproductive cycles of male and female tuatara (*Sphenodon punctatus*) on Stephens Island, New Zealand. *Journal of Zoology*. 226, 199–217.
- Crisp, T. M. 1964. *Studies of reproduction in the blue spiny lizard, Sceloporus cyanogenys Cope* (Tesis de Maestría), Rice University, Houston, Texas.
- Croft, D. P., Brent, L. J. N., Franks, D. W., y Cant, M. A. 2015. The evolution of prolonged life after reproduction. *Trends in Ecology & Evolution*. 30, 407–416.
- Cruz-Elizalde, R., y Ramírez-Bautista, A. 2016. Reproductive cycles and reproductive strategies among populations of the rose-bellied lizard *Sceloporus variabilis*

- (Squamata: Phrynosomatidae) from central Mexico. *Ecology and Evolution*. 6, 1753–1768.
- Delmore, J. L., Brennan, P. L. R., y Orr, T. J. 2018. Reproductive melanization may protect sperm from harmful solar radiation. *Evolutionary Ecology*. 32, 127–139.
- Depeiges, A., y Dacheux, J. L. 1985. Acquisition of sperm motility and its maintenance during storage in the lizard, *Lacerta vivipara*. *Journal of Reproduction and Fertility*. 74, 23–27.
- Devine, M. C. 1975. Copulatory plugs in snakes: Enforced chastity. *Science*. 187, 844–845.
- Dreef, H. C., Van Esch, E., y De Rijk, E. P. C. T. 2007. Spermatogenesis in the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*): A practical guide for routine morphological staging. *Toxicologic Pathology*. 35, 395–404.
- Estrada-Flores, E., Villagrán-Santa Cruz, M., Méndez-de la Cruz, F. R., y Casas-Andreu, G. 1990. Gonadal changes throughout the reproductive cycle of viviparous lizard *Sceloporus mucronatus* (Sauria: Iguanidae). *Herpetologica*. 46, 43–50.
- Fernández, J. B., Medina, M., Kubisch, E. L., Manero, A., Scolaro, J. A., e Ibarngoytía, N. R. 2015. Female reproductive biology of the lizards *Liolaemus sarmientoi* and *L. magellanicus* from the southern end of the world. *Herpetological Journal*. 25, 101–108.
- Fernández, J. B., Medina, M., Kubisch, E. L., Scolaro, J. A., e Ibarngoytía, N. R. 2017. Reproductive strategies in males of the world's southernmost lizards. *Integrative Zoology*. 12, 132–147.
- Ferreira, A., Laura, I. A., y Dolder, H. 2002. Reproductive cycle of male green iguanas, *Iguana iguana* (Reptilia: Sauria: Iguanidae), in the Pantanal region of Brazil. *Journal of Morphological Science*. 19, 23–28.

- Fitch, H. S. 1973. A field study of Costa Rican lizards. *The University of Kansas science bulletin*. 50, 39–126.
- Flores-Villela, O. 1993. Herpetofauna Mexicana. Lista anotada de las especies de anfibios y reptiles de México. Cambios taxonómicos recientes y nuevas especies. *Carnegie Museum of Natural History Special Publication*. 17(29), 1–73.
- French, S. S., Johnston, G. I. H., y Moore, M. C. 2007. Immune activity suppresses reproduction in food-limited female tree lizards *Urosaurus ornatus*. *Functional Ecology*. 21, 1115–1122.
- Gaillard, J. M., Garratt, M., y Lemaître, J. F. 2017. Senescence in mammalian life history traits. En R. P. Shefferson, O. R. Jones, y R. Salguero-Gómez (Eds.), *The evolution of senescence in the tree of life* (pp. 126–155). Cambridge: Cambridge University Press.
- Galán, P. 1999. Demography and population dynamics of the lacertid lizard *Podarcis bocagei* in north-west Spain. *Journal of Zoology (London)*. 249, 203–218.
- Galdino, C. A. B., Assis, V. B., Kiefer, M. C., y Van Sluys, M. 2003. Reproduction and fat body cycle of *Eurolophosaurus nanuzae* (Sauria; Tropicuridae) from a seasonal montane habitat of southeastern Brazil. *Journal of Herpetology*. 37, 687–694.
- García-Collazo, R. 1996. *Espermatogénesis en dos poblaciones (semidesértica y subtropical) de Sceloporus variabilis variabilis* (Tesis de Maestría), Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- García-Collazo, R., Altamirano-Álvarez, T., y Gómez-Soto, M. 1993. Reproducción continua en *Sceloporus variabilis variabilis* (Sauria: Phrynosomatidae) en Alvarado, Veracruz, México. *Boletín de la Sociedad Herpetológica Mexicana*. 5(2), 51–59.

- Goldberg, S. R. 1974. Reproduction in mountain and lowland populations of the lizard *Sceloporus occidentalis*. *Copeia*. 1, 176–182.
- Goldberg, S. R. 2008. Reproductive cycle of the common rough-scaled lizard, *Ichnotropis squamulosa* (Squamata: Lacertidae) from southern Africa. *Texas Journal of Science*. 60, 163–170.
- Goldberg, S. R. 2011. Reproduction in banded rock lizards, *Petrosaurus mearnsi* (Squamata: Phrynosomatidae). *Bulletin of Chicago Herpetological Society*. 46, 141–142.
- Goldberg, S. R., y Parker, W. S. 1975. Seasonal testicular histology of the colubrid snakes, *Masticophis taeniatus* and *Pituophis melanoleucus*. *Herpetologica*. 31, 317–322.
- González-Soriano, E., Dirzo, R., y Vogt, R. C. 1997. *Historia natural de Los Tuxtlas*. México, DF.: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Granados-González, G., Rheubert, J. L., Villagrán-Santa Cruz, M., González-Herrera, M. E., Dávila-Cedillo, J. V., Gribbins, K. M., y Hernández-Gallegos, O. 2015. Male reproductive cycle in *Aspidoscelis costata costata* (Squamata: Teiidae) from Tonicaco, Estado de México, México. *Acta Zoologica*. 96, 108–116.
- Granados-González, G., Villagrán-Santa Cruz, M., Peña-Herrera, E., Rheubert, J. L., Gribbins, K. y Hernández-Gallegos, O. 2017. Spermatogenesis in *Sceloporus variabilis* (Squamata, Phrynosomatidae): a non-quiescent pattern. *Acta Zoologica*. 00, 1–10.
- Gribbins, K. M. 2011. Reptilian spermatogenesis: A histological and ultrastructural perspective. *Spermatogenesis*. 1, 250–269.
- Gribbins, K. M., Rheubert, J. L., Collier, M. H., Siegel, D. S., y Sever, D. M. 2008. Histological analysis of spermatogenesis and the germ cell development strategy within the testis of the male western cottonmouth snake, *Agkistrodon piscivorus leucostoma*. *Annals of Anatomy*. 190, 461–476.

- Gribbins, K. M., y Rheubert, J. L. 2015. The architecture of the testis, spermatogenesis, and mature spermatozoa. En J. L. Rheubert, D. S. Siegel, y S. E. Trauth (Eds.), *Reproductive biology and phylogeny of lizards and tuatara* (pp. 340–424). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Gribbins, K., Anzalone, M., Collier, M., Granados-González, G., Villagrán-Santa Cruz, M., y Hernández-Gallegos, O. 2011. Temporal germ cell development strategy during continuous spermatogenesis within the montane lizard, *Sceloporus bicanthalis* (Squamata; Phrynosomatidae). *Theriogenology*. 76, 1090–1099.
- Guillette, L. J. Jr., Weigel, J., y Flater, G. 1983. Unilateral testicular pigmentation in the Mexican lizard *Sceloporus variabilis*. *Copeia*. 1983, 155–161.
- Guillette, L. J. Jr., y Sullivan, W. P. 1985. The reproductive and fat body cycles of the lizard, *Sceloporus formosus*. *Journal of Herpetology*. 19, 474–480.
- Gvozdík, L. 2000. Seasonal activity, sex ratio, and abundance in a population of *Lacerta agilis* LINNAEUS, 1758 from the Czech Republic. *Herpetozoa*. 13, 165–169.
- Halliday, T. R., y Verrell, P. A. 1988. Body size and age in amphibians and reptiles. *Journal of Herpetology*. 22, 253–265.
- Halliday, W. D., Paterson, J. E., Patterson, L. D., Cooke, S. J., y Blouin-Demers, G. 2014. Testosterone, body size, and sexual signals predict parasite load in Yarrow's spiny lizards (*Sceloporus jarrovi*). *Canadian Journal of Zoology*. 92, 1075–1082.
- Hernández-Gallegos, O., Méndez-de la Cruz, F. R., Villagrán-Santa Cruz, M., Rheubert, J. L., Granados-González, G., y Gribbins, K. M. 2014. Seasonal spermatogenesis in the Mexican endemic oviparous lizard, *Sceloporus aeneus* (Squamata: Phrynosomatidae). *Spermatogenesis*. 4, e988585.
- Hernández-Gallegos, O., Méndez-de la Cruz, F.R., Villagrán-Santa Cruz, M., y Andrews, R. M. 2002. Continuous spermatogenesis in the lizard *Sceloporus bicanthalis*

- (Sauria: Phrynosomatidae) from high elevation habitat of central Mexico. *Herpetologica*. 58, 415–421.
- Huang, W. S. 1997. Reproductive cycle of the oviparous lizard *Japalura brevipes* (Agamidae: Reptilia) in Taiwan, Republic of China. *Journal of Herpetology*. 31, 22–29.
- Ibargüengoytía, N. R., y Cussac, V. E. 1999. Male response to low frequency of female reproduction in the viviparous lizard *Liolaemus* (Tropiduridae). *Herpetological Journal*. 9, 111–117.
- Karniski, C., Krzyszczyk, E., y Mann, J. 2018. Senescence impacts reproduction and maternal investment in bottlenose dolphins. *Proceedings of The Royal Society B*. 285, 20181123.
- Khan, U. W., y Rai, U. 2004. In vitro effect of FSH and testosterone on Sertoli cell nursing function in wall lizard *Hemidactylus flaviviridis* (Rüppell). *General and Comparative Endocrinology*. 136, 225–231.
- Kumaş, M., y Ayaz, D. 2014. Age determination and long bone histology in *Stellagama stellio* (Linnaeus, 1758) (Squamata: Sauria: Agamidae) populations in Turkey. *Vertebrate Zoology*. 64, 113–126.
- Lance, V. A. 1989. Reproductive cycle of the American alligator. *American Zoologist*. 29, 999–1018.
- Laurencio, D. 2009. Amphibians and reptiles from Reserva Natural Absoluta Cabo Blanco, province of Puntarenas, Costa Rica. *Check list*. 5, 446–459.
- Lemaître, J. F., Gaillard, J. M., Pemberton, J. M., Clutton-Brock, T. H., y Nussey, D. H. 2014. Early life expenditure in sexual competition is associated with increased reproductive senescence in male red deer. *Proceedings of The Royal Society B*. 281, 2014792.

- Lemaître, J. F., y Gaillard, J. M. 2017. Reproductive senescence: new perspectives in the wild. *Biological Reviews*. 92, 2182–2199.
- Licht, P. 1971. Regulation of the annual testis cycle by photoperiod and temperature in the lizard *Anolis carolinensis*. *Ecology*. 52, 240–252.
- Licht, P. 1972. Environmental physiology of reptilian breeding cycles: role of temperature. *General and Comparative Endocrinology*. 3, 477–488.
- Licht, P. 1984. Reptiles. En G. E. Lamming (Ed.), *Marshall's physiology of reproduction, reproductive cycle of vertebrates* (pp. 206–282). New York, NY: Churchill Livingstone.
- Licht, P., Hoyer, H. E., y Van Oordt, P. G. W. J. 1969. Influence of photoperiod and temperature on testicular recrudescence and body growth in the lizards, *Lacerta sicula* and *Lacerta muralis*. *Journal of Zoology*. 157, 469–501.
- Lofts, B. 1969. Seasonal cycles of reptilian testes. *General and Comparative Endocrinology*. 2, 147–155.
- Lofts, B. 1977. Reptilian reproductive cycles and environmental regulators. En I. Assemacher, y D. S. Farner (Eds.), *Environmental Endocrinology* (pp. 37–43). Berlin, Alemania: Springer.
- Lorenzon, P., Clobert, J., Oppliger, A., y John-Alder, H. 1999. Effect of water constraint on growth rate, activity and body temperature of yearling common lizard (*Lacerta vivipara*). *Oecologia*. 118, 423–430.
- Lozano, A., Uribe, M. C., y Ramírez-Bautista, A. 2015. Seasonal and continuous spermatogenesis in the viviparous lizard *Sceloporus grammicus*, a study of two populations in contrasting environments from Central Mexican Plateau. *Zoologischer Anzeiger*. 254, 72–85.

- Mamou, R., Moudilou, E., Amroun, M., y Exbrayat, J. M. 2017. Reproductive cycle of male wall lizard *Podarcis vaucheri* (Reptilia: Sauria: Lacertidae) in Djurdjura, Northern Algeria. *Basic and Applied Herpetology*. 31, 77–89.
- Manríquez-Morán, N. L. 1998. Estrategias reproductoras en las hembras de dos especies hermanas de lacertilios: *Sceloporus aeneus* y *S. bicanthalis*. *Boletín de la Sociedad Herpetológica Mexicana*. 8(1), 19–20.
- Marion, K. R. 1982. Reproductive cues for gonadal development in temperate reptiles: temperature and photoperiod effects on the testicular cycle of the lizard *Sceloporus undulatus*. *Herpetologica*. 8, 26–39.
- Massot, M., Clobert, J., Montes-Poloni, L., Haussy, C., Cubo, J., y Sandrine, M. 2011. An integrative study of ageing in a wild population of common lizards. *Functional Ecology*. 25, 848–858.
- Mather, C. M., y Sites, J. W. Jr. 1985. *Sceloporus variabilis* Wiegmann. Rose-bellied lizard. *Catalogue of American Amphibians and Reptiles*. 373, 1–3.
- McCreary, B., Pearl, C. A., y Adams, M. J. 2008. *A protocol for aging anurans using skeletochronology*. Virginia, US: Geological Survey.
- Mehlis, M., Frommen, J. G., Rahn, A. K., y Bakker, T. C. M. 2012. Inbreeding in three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus* L.): effects on testis and sperm traits. *Biological Journal of the Linnean Society*. 107, 510–520.
- Méndez-de la Cruz, F. R., Manríquez-Morán, N. L., Arenas-Ríos, E., e Ibarguengoytía, N. 2015. Male reproductive cycles in lizards. En J. L. Rheubert, D. S. Siegel, y S. E. Trauth (Eds.), *Reproductive biology and phylogeny of lizards and tuatara* (pp. 302–339). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Méndez-de la Cruz, F. R., Villagrán-Santa Cruz, M., López-Ortíz, M. L., y Hernández-Gallegos, O. 2013. Reproductive cycle of a high-elevation, oviparous lizard

- (*Sceloporus spinosus*: Reptilia: Phrynosomatidae). *The Southwestern Naturalist*. 58, 54–63.
- Neaves, W. B. 1976. Structural characterization and rapid manual isolation of a reptilian testicular tunic rich in Leydig cells. *The Anatomical Record*. 186, 553–564.
- Norris, D. O., y Carr, J. A. 2013. *Vertebrate Endocrinology* (5th ed). Estados Unidos: Elsevier.
- Ochotorena, A. S., Uribe-Aranzábal, M. C., y Guillette, L. J. Jr. 2005. Seasonal gametogenic cycles in a Cuban tropical lizard, *Anolis porcatus*. *Journal of Herpetology*. 39, 443–454.
- Ortega-Rubio, A., Barbault, R., y Halfter, G. 1999. Population dynamics of *Sceloporus grammicus* (Sauria: Phrynosomatidae) at Durango, Mexico. *The Southwestern Naturalist*. 44, 64–72.
- Ortega-Rubio, A., Khodaddost, M., y Servín, R. 1993. Skeletochronology in the mezquite lizard, *Sceloporus grammicus*. *Proceedings of the Oklahoma Academy of Science*. 73, 31–34.
- Patnaik, B. K. 1994. Ageing in reptiles. *Gerontology*. 40, 200–220.
- Prasad, M. R. N., y Reddy, P. R. K. 1972. Physiology of the sexual segment of the Kidney in reptiles. *General and Comparative Endocrinology Supplement*. 3, 649–662.
- Promislow, D. E. L., y Harvey, P. H. 1990. Living fast and dying young: A comparative analysis of life-history variation among mammals. *Journal of Zoology*. 220, 417–437.
- Quinn, G. P., y Keough, M. J. 2002. *Experimental design and data analysis for biologists*. New York: Cambridge University Press.
- Ramírez-Bautista, A., García-Collazo, R., y Guillette, L. J. Jr. 2006. Reproductive, fat, and liver cycles of male and female rose-bellied lizards, *Sceloporus variabilis*,

- from coastal areas of Southern Veracruz, Mexico. *The Southwestern Naturalist*. 51, 163–171.
- Ramírez-Pinilla, M. P. 1991. Reproductive and fat body cycle of the lizard *Liolaemus wiegmanni*. *Amphibia-Reptilia*. 12, 195–202.
- Rheubert, J. L., Murray, C. M., Siegel, D. S., Babin, J., y Sever, D. M. 2011. The sexual segment of *Hemidactylus turcicus* and the evolution of sexual segment location in Squamata. *Journal of Morphology*. 272, 802–813.
- Rheubert, J. L., Poldemann, E. H., Eckstut, M. E., Collier, M. H., Sever, D. M., y Gribbins, K. M. 2009. Temporal germ cell development strategy during mixed spermatogenesis within the male Mediterranean gecko, *Hemidactylus turcicus* (Reptilia: Gekkonidae). *Copeia*. 2009, 793–800.
- Rheubert, J. L., Sever, D. M., Siegel, D. S., y Trauth, S. E. 2015. Male reproductive anatomy: The gonadoducts, sexual segment of the kidney, and cloaca. En J. L. Rheubert, D. S. Siegel, y S. E. Trauth (Eds.), *Reproductive biology and phylogeny of lizards and tuatara* (pp. 253–301). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Rheubert, J. L., Touzinsky, K., Sever, D. M., Aldridge, R. D., Wilmes, A. J., Siegel, D. S., y Gribbins, K. M. 2014. Reproductive biology of *Sceloporus consobrinus* (Phrynosomatidae): male germ cell development and reproductive cycle comparisons within spiny lizards. *Journal of Herpetology*. 48, 162–171.
- Ribeiro, L. B., Silva, N. B., y Freire, E. M. 2012. Reproductive and fat body cycles of *Tropidurus hispidus* and *Tropidurus semitaeniatus* (Squamata, Tropiduridae) in a caatinga area of northeastern Brazil. *Revista Chilena de Historia Natural*. 85, 307–320.
- Richard, M., Lecomte, J., De Fraipont, M., y Clobert, J. 2005. Age-specific mating strategies and reproductive senescence. *Molecular Ecology*. 14, 3147–3155.

- Rodríguez-Romero, F., Smith, G. R., Méndez-Sánchez, F., Hernández-Gallegos, O., Sánchez-Nava, P., y Méndez-de la Cruz, F. R. 2011. Demography of a semelparous, high-elevation population of *Sceloporus bicanthalis* (Lacertilia: Phrynosomatidae) from the Nevado de Toluca Volcano, Mexico. *The Southwestern Naturalist*. 56, 71–77.
- Rojas-González, R. I., Jones, C. P., Zúñiga-Vega, J. J., y Lemos-Espinal, J. A. 2008. Demography of *Xenosaurus platyceps* (Squamata: Xenosauridae): a comparison between tropical and temperate populations. *Amphibia-Reptilia*. 29, 245–256.
- Sacher, G. A. 1978. Longevity and aging in vertebrate evolution. *BioScience*. 8, 497–501.
- Santos, H. S., Santos, J. M. S., Matos, M. H. T., Silva, N. B., Freire, E. M. X., y Ribeiro, L. B. 2015. Ovarian follicular cycle of *Tropidurus hispidus* and *Tropidurus semitaeniatus* (Squamata: Tropiduridae) in a semiarid region of Brazil. *Zoologia*. 32, 86–92.
- Sanyal, M. K., y Prasad, M. R. N. 1966. Sexual segment of the kidney of the Indian house lizard, *Hemidactylus flaviviridis* Rüppell. *Journal of Morphology*. 118, 511–527.
- Sanz-Ochotorena, A. C., Rodríguez-Gómez, Y., Segura-Valdez, M. de L., Lara-Martínez, R., y Jiménez-García, L. F. 2013. Histología y ultraestructura testicular y del epidídimo de *Anolis sagrei* (Sauria: Polychrotidae). *Revista Cubana de Ciencias Biológicas*. 2, 41–49.
- Savage, J. M. 1966. The origins and history of the Central American herpetofauna. *Copeia*. 1966, 719–766.
- Savage, J. M. 2002. *The amphibians and reptiles of Costa Rica: A herpetofauna between two continents, between two seas*. Chicago: The University of Chicago Press.
- Scharf, I., Feldman, A., Novosolov, M., Pincheira-Donoso, D., Das, I., Böhm, M., Uetz, P., Torres-Carvajal, O., Bauer, A., Roll, U., y Meiri, S. 2015. Late bloomers and

- baby boomers: ecological drivers of longevity in squamates and the tuatara. *Global Ecology and Biogeography*. 24, 396–405.
- Serna-Lagunes, R. 2005. *Demografía de una población de la lagartija *Sceloporus variabilis* Wiegmann, 1834 (Sauria: Phrynosomatidae) en la localidad de Omiquila, Municipio de Rafael Delgado, Veracruz* (Tesis de Licenciatura), Universidad Veracruzana, Veracruz, México.
- Sever, D. M., Rheubert, J. L., Gautreaux, J., Hill, T. G., y Freeborn, L. R. 2012. Observations on the sexual segment of kidney of snakes with emphasis on ultrastructure in the yellow-bellied sea snake, *Pelamis platurus*. *The Anatomical Record*. 295, 872–885.
- Sexton, O. J., Ortleb, E. P., Hathaway, L. M., Ballinger, R. E., y Licht, P. 1971. Reproductive cycles of three species of anoline lizards from the Isthmus of Panama. *Ecology*. 52, 201–215.
- Sharp, S. P., y Clutton-Brock, T. H. 2010. Reproductive senescence in a cooperatively breeding mammal. *Journal of Animal Ecology*. 79, 176–183.
- Sherbrooke, W. C. 1975. Reproductive cycle of a tropical teiid lizard, *Neusticurus ecleopus* Cope, in Peru. *Biotropica*. 7, 194–207.
- Shine, R. 1980. "Costs" of reproduction in reptiles. *Oecologia*. 46, 92–100.
- Shine, R., y Schwarzkof, L. 1992. The evolution of reproductive effort in lizards and snakes. *Evolution*. 46, 62–75.
- Sinervo, B., y Adolph, S. C. 1989. Thermal sensitivity of growth rate in hatchling *Sceloporus* lizards: environmental, behavioral and genetic aspects. *Oecologia*. 78, 411–419.
- Sousa, A. L., Campos-Junior, P. H. A., Costa, G. M. J., y De França, L. R. 2014. Spermatogenic cycle length and sperm production in the freshwater turtle *Kinosternon scorpioides*. *Biology of Reproduction*. 90(2), 1–10.

- Sparkman, A. M., Arnold, S. J., y Bronikowski, A. M. 2007. An empirical test of evolutionary theories for reproductive senescence and reproductive effort in the garter snake *Thamnophis elegans*. *Proceedings of The Royal Society*. 274, 943–950.
- Stebbins, R. C. 1948. Additional observations on home ranges and longevity in the lizard *Sceloporus graciosus*. *Copeia*. 1948, 20–22.
- Sun, B. J., Du, W. G., Shu, L., Chen, Y., y Wang, Y. 2011. The influence of thermal environment and food availability on testosterone and gonadal recrudescence in male Chinese skinks [*Plestiodon (Eumeces) chinensis*]. *General and Comparative Endocrinology*. 170, 449–454.
- Tinkle, D. W. 1969. The concept of reproductive effort and its relation to the evolution of life histories of lizards. *The American Naturalist*. 103, 501–516.
- Tinkle, D. W., Wilbur, H. M., y Tilley, S. G. 1970. Evolutionary strategies in lizard reproduction. *Evolution*. 24, 55–74.
- Tinkle, D. W., y Ballinger, R. E. 1972. *Sceloporus undulatus*: a study of the intraspecific comparative demography of a lizard. *Ecology*. 53, 570–584.
- Tinkle, D. W., y Hadley, N. F. 1975. Lizard reproductive effort: Caloric estimates and comments on its evolution. *Ecology*. 56, 427–434.
- Tsui, H. W. 1976. Stimulation of androgen production by the lizard testis: Site of action of Ovine FSH and LH1. *General and Comparative Endocrinology*. 28, 386–394.
- Valdecantos, S., Lobo, F., y Martínez, V. 2007. Estimación de edades, tamaño corporal y adquisición de la madurez sexual en dos especies de *Liolaemus* (Iguania: Liolaemidae). *Cuadernos de Herpetología*. 21(1), 31–44.
- Van Dyke, J. U. 2015. Cues for reproduction in squamata reptiles. En J. L. Rheubert, D. S. Siegel, y S. E. Trauth (Eds.), *Reproductive biology and phylogeny of lizards and tuatara* (pp. 109–143). Boca Raton, FL: CRC Press.

- Van Sluys, M. 1993. The reproductive cycle of *Tropidurus itambere* (Sauria: Tropiduridae) in southeastern Brazil. *Journal of Herpetology*. 27, 28–32.
- Vial, J. L., y Stewart, J. R. 1985. The reproductive cycle of *Barisia monticola*: a unique variation among viviparous lizards. *Herpetologica*. 41, 51–57.
- Villagrán-Santa Cruz, M., Hernández-Gallegos, O., y Méndez-de la Cruz, F. R. 2009. Reproductive cycle of the lizard *Sceloporus mucronatus* with comments on intraspecific geographic variation. *Western North American Naturalist*. 69, 437–446.
- Villagrán-Santa Cruz, M., Méndez-de la Cruz, F. R., y Parra-Gámez, L. 1994. Ciclo espermatogénico del lacertilio *Sceloporus mucronatus* (Reptilia: Phrynosomatidae). *Revista de Biología Tropical*. 42, 289–296.
- Vitt, L. J. 2015. Lizard reproduction: a history of discovery. En J. L. Rheubert, D. S. Siegel, y S. E. Trauth (Eds.), *Reproductive biology and phylogeny of lizards and tuatara* (pp. 1–26). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Vitt, L. J., y Goldberg, S. R. 1983. Reproductive ecology of two tropical iguanid lizards: *Tropidurus torquatus* and *Platynotus semitaeniatus*. *Copeia*. 1983, 131–141.
- Wiederhecker, H. C., Pinto, A. C. S., y Colli, G. R. 2002. Reproductive ecology of *Tropidurus torquatus* (Squamata: Tropiduridae) in the highly seasonal Cerrado Biome of Central Brazil. *Journal of Herpetology*. 36, 82–91.
- Withers, P., y O'shea, J. 1993. Morphology and Physiology of the Squamata. En C. J. Glasby, G. J. B. Ross, y P. L. Beesley (Eds.), *Fauna of Australia* (Vol. 2 Amphibia and Reptilia, pp. 172–196). Canberra: Australian Government Publishing Service.
- Yakin, B. Y., Gürkan, M., Hayregtdağ, S., y Tok, C. V. 2012. Preliminary data on age estimation and body size of the dwarf lizard, *Parvilacerta parva* (Reptilia: Lacertilia) from Akşehir, Konya (Turkey). *Ecologia Balkanica*. 4, 81–85.

Zieri, R., Taboga, S. R., y De Oliveira, C. 2007. Melanocytes in the testes of *Eupemphix natterii* (Anura, Leiuperidae): histological, stereological, and structural aspects. *The Anatomical Record*. 290, 795–800.

ARTICULO DE INVESTIGACIÓN

In Production: Your article accepted in Acta Zoologica



cs-author@wiley.com

lun 27/08/2018 07:36 a.m.

Para: eric_ph91@hotmail.com ↗

↩ Responder | ▼

Dear Eric Peña-Herrera,

Article ID: AZO12275

Article DOI: 10.1111/azo.12275

Internal Article ID: 15940173

Article: Reproductive activity in males of *Sceloporus variabilis*: Little time to rest, long time to breed

Journal: Acta Zoologica

Congratulations on the acceptance of your article for publication in Acta Zoologica.

Your article has been received and the production process is now underway. We look forward to working with you and publishing your article. Using Wiley Author Services, you can track your article's progress.

Reproductive activity in males of *Sceloporus variabilis*: Little time to rest, long time to breed

¹Eric Peña-Herrera, ²Maricela Villagrán-SantaCruz, ³Oswaldo Hernández-Gallegos,

⁴Justin L. Rheubert, ⁵Kevin M. Gribbins, and ¹Gisela Granados-González

¹Laboratorio de Morfofisiología de la Reproducción, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México, Instituto Literario # 100, Colonia Centro, C. P. 50000, Toluca, Estado de México, México, eric_ph91@hotmail.com, ggranadosg@uaemex.mx

²Laboratorio de Biología Tisular y Reproductora, Departamento de Biología Comparada, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, C. P. 04510, Ciudad de México, México, mvsc@ciencias.unam.mx

³Laboratorio de Herpetología, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México, Instituto Literario # 100, Colonia Centro, C. P. 50000, Toluca, Estado de México, México, ohg@uaemex.mx

⁴Department of Biology, University of Findlay, 1000 N. Main St., Findlay, Ohio 45840, USA, rheubert@findlay.edu

⁵Department of Biology, University of Indianapolis, 1400 E. Hanna Ave., Indianapolis, Indiana 46227, USA, kevingribbins@gmail.com

Running Head: Uncommon spermatogenesis in *Sceloporus variabilis*

Abstract

The reproductive activity of reptiles is typically assessed using monthly sampling. The spermatogenic cycle of *Sceloporus variabilis* was recently assessed using the aforementioned methodology and only two spermatogenic phases (recrudescence and maximum activity) were observed. The authors hypothesized that quiescence and regression must occur in a short period (less than a month), which was not visualized by their monthly sampling methods. Thus, the entire spermatogenic cycle displayed by this species may have not been adequately represented. The present study assessed the spermatogenic cycle of *S. variabilis* in those months where the spermatogenic activity passes from maximum activity (July) to recrudescence (August) using weekly sampling to test the hypothesis that quiescence and regression do indeed occur. The results

showed a regression period for two weeks, whereas quiescence was not observed. These results lead us to two hypotheses: i) quiescence occurs in a very short period (days/hours) or ii) does not occur in this species. The data generated in this study suggest that species exhibiting rapid changes in spermatogenic activity need to be assessed at more frequent intervals to accurately depict the spermatogenic stages.

Key Words: Reproduction, lizard, histology, testis

Correspondence: Gisela Granados-González. Laboratorio de Morfofisiología de la Reproducción, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México, Instituto Literario # 100, Colonia Centro, C. P. 50000, Toluca, Estado de México, México. E-mail: ggranadosg@uaemex.mx

Introduction

In reptiles, variations have been observed in reproductive patterns (seasonal or continuous) with differences in length and timing in which the phases that comprise these cycles are carried out (James & Shine, 1985; Méndez-de la Cruz, Manríquez-Morán, Arenas-Ríos, & Ibarguengoytía, 2015; Rheubert et al., 2014; Shanbhag, 2002).

The spermatogenic cycle is typically divided into four phases: i) quiescence is characterized by a reduced germinal epithelium that only contains spermatogonia and Sertoli cells, the epididymis is devoid of sperm (Gribbins, 2011; Méndez-de la Cruz, Villagrán-Santa Cruz, López-Ortíz, & Hernández-Gallegos, 2013; Villagrán-Santa

Cruz, Hernández-Gallegos, & Méndez-de la Cruz, 2009); ii) recrudescence is a period with a proliferation of spermatogonia and presence of spermatocytes I and II, the epididymis remains devoid of sperm (Al-Amri et al., 2013; Licht, 1984); iii) maximum activity involves spermatids dominating the germinal epithelium and sperm in the lumen of the seminiferous tubules, the epididymis is filled with mature sperm (Gribbins, 2011; Méndez-de la Cruz et al., 2013); and iv) regression, where there is no new generations of germ cells, the number of spermatocytes I, II, and spermatids decrease, and sperm debris are present in the lumina of seminiferous tubules, the epididymis is still filled with mature sperm (Hernández-Gallegos et al., 2014; Lozano, Uribe, & Ramírez-Bautista, 2015).

Recent evidence highlights the use of histology as an essential component to accurately describe the reproductive activity, thus it is imperative to use both macroscopic and histologic data (Granados-González et al., 2017; Gribbins et al., 2011; Méndez-de la Cruz et al., 2013; Villagrán-Santa Cruz et al., 2009). Omission of histological data may lead to inaccurate conclusions concerning length and timing of each phase of the spermatogenic cycle (Guillette & Méndez-de la Cruz, 1993; Lee, Clayton, Eisenstein, & Perez, 1989; Ramírez-Bautista, García-Collazo, & Guillette, 2006; Ramírez-Bautista, Vitt, Ramírez-Hernández, Mendoza-Quijano, & Smith, 2008).

With exceptions of a few studies in which collections are made every 15 days (Amat, Llorente, & Carretero, 2000; Krohmer, Grassman, & Crews, 1987; Roig, Carretero, & Llorente, 2000), historically studies concerning reproductive cycles of reptiles have been completed using monthly samples (Cree, Cockrem, & Guillette, 1992; Granados-González et al., 2015; Gribbins, Rheubert, Collier, Siegel, & Sever, 2008; Lance, 1989; Méndez-de la Cruz *et al.* 2013; Rostal, Lance, Grumbles, & Alberts, 1994). This methodology has sufficed thus far, because changes in spermatogenic activity tend to be slow and all stages are observed (i. e., transition from one phase to other usually takes at least one month; Goldberg, 1974; Goldberg & Parker, 1975; Hernández-Gallegos et al., 2014; Rheubert et al., 2009). However, Granados-González et al. (2017) described the spermatogenic cycle of *Sceloporus variabilis* from a population of Los Tuxtlas, Veracruz, Mexico, and described an atypical seasonal reproductive cycle, with a period of recrudescence of two months (August and September), a transitional period from recrudescence to maximum activity for one month (October), and a period of maximum spermatogenic activity for nine months (November to July). Quiescence and regression were not observed within their monthly samples.

Based on their available data, Granados-González et al. (2017) hypothesized that quiescence and regression could occur in a period shorter than time between

samplings. Therefore, the goal of this study is to test the hypothesis that both quiescence and regression do occur in the population of *S. variabilis* from Los Tuxtlas, Veracruz, Mexico, using histological evidence along with weekly sampling. Furthermore, the data provided here assess spermatogenic activity at more frequent intervals and provide insights into the relative timing of these limited stages and how reproductive cycles vary amongst taxa.

Material and Methods

Animal collection

Three adult males of *S. variabilis* were collected weekly between July 11 and August 15, 2016 (Scientific Collector Permit SEMARNAT FAUT 0186) at Catemaco (Los Tuxtlas), Veracruz, Mexico (18.44100°N, 94.96440°W; ± 170 masl; see Granados-González et al., 2017 for description of study site). These months correspond with the ending of maximum activity in July and the beginning of recrudescence in August (Granados-González et al., 2017). The specimens were sacrificed using an intracoelomic injection of sodium pentobarbital (10%). For each male the snout-vent length (SVL) (nearest 1.0 mm), weight (nearest 0.5 g) and testis mass (TM) (nearest 0.0001 g) were recorded. Males were fixed in 10% formaldehyde, preserved in 70% ethanol, and deposited in the Laboratorio de Herpetología, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México.

Histological procedures

The right gonad was selected for the histological treatment and samples were processed according to standard histological techniques (gradual dehydration in ethanol, cleared in xylene, and embedded in Paraplast). Tissues were sectioned at 5 μm with a rotary microtome and stained with hematoxylin-eosin for general cytology. Spermatogenic phases were assigned depending on germinal cells present in seminiferous tubules (Gribbins et al., 2008; Rheubert et al., 2014). Quantitatively the presence of sperm within both seminiferous tubules and epididymis were assessed, according to classification criteria of previous studies (Granados-González et al., 2015; Granados-González et al., 2017; Hernández-Gallegos et al., 2014). Moreover, the diameter of seminiferous tubules (DST), seminiferous epithelial height (SEH), diameter of epididymal ducts (DED), and epididymal epithelial height (EEH) were measured within 25 microscopic fields per male.

Statistical procedures

Assumptions of normality and homoscedasticity for SVL, TM, DST, SEH, DED, and EEH were assessed via the Kolmogorov-Smirnov test and the Levene test, respectively.

Although the lizards were collected weekly (six weeks), statistical analysis were performed with data grouped biweekly (three biweek groups) because incongruence between metrics and histological data identified a highly probable type error II. We used

an ANCOVA on testis mass and histological data with SVL as a covariate, to test if there were differences between biweeks, followed by a multiple comparison test (Duncan test) to identify where the differences exist. Analyses were performed in Statgraphics Centurion XVI and the significance level was set at $p < .05$.

Results

Biweekly variation in testis mass and histological traits

The average SVL was 65.2 mm (range 54.3-70.8 mm, $n = 18$). The normality ($p > .05$) and homoscedasticity ($p > .05$) assumptions were met for TM and the histological values. There were significant differences between biweeks for all variables ($p < .05$ for overall models) and SVL influenced TM and DED ($p < .05$ for both variables). The changes observed in TM, DST, SEH, DED and EEH were parallel, displaying a decreasing pattern from the initial to the last biweekly sample (Fig. 1a-c). Those quantitative changes were the result of changes in spermatogenic activity, as the amount of sperm present in the seminiferous tubules and epididymis gradually decreased (Fig. 2a-f, Ms, Eps). Additionally, there was an absence of mature sperm in the seminiferous tubular lumen, and decrease in overall seminiferous diameter and seminiferous epithelial heights in the last biweek (Fig. 1b).

Spermatogenic activity

Three phases of spermatogenic activity were identified using weekly analysis of testicular/epididymal histology: maximum activity, regression, and recrudescence (Fig. 2a, c, e). Maximum activity was present for five weeks (July 11 to August 8; Fig. 3) and registered the highest values for TM (0.075 g), DST (144.4 μm), SEH (45.1 μm), DED (127.6 μm) and EEH (28.4 μm) in the initial two weeks (the first biweek group). In this phase, primary and secondary spermatocytes and mainly spermatids dominated the seminiferous epithelium (Fig. 2a, 1[°]sp, 2[°]sp, Spt). Additionally, sperm were present in the lumina of seminiferous tubules and epididymides (Fig. 2a-b, Ms, Eps). As the first phase progressed, the number of males showing spermiogenesis as the major phase within the testis were gradually decreased through the latter weeks of this phase, i. e., in the first two weeks (July 11 and 18), 100% of lizards were spermiogenic. Later, during the third and fourth week (July 25 and August 1) the percentage of males decreased to 66% and in the fifth week (August 8), to 33%. In the sixth week (August 15), no males in spermiogenesis were observed (Fig. 3).

Regression was observed during two weeks (August 1 and 8, Fig. 3), affecting the values of TM (0.053 g), DST (106.1 μm), SEH (31.5 μm), DED (92.2 μm) and EEH (20.1 μm) in the second biweek group. This phase was characterized by a seminiferous epithelium reduced only with spermatogonia and secondary spermatocytes (Fig. 2c, Sg, 2[°]sp). Remnant sperm were found in both seminiferous tubules and epididymides and

there was no cell proliferation (Fig. 2c-d, Ms, Eps). Moreover, it is necessary to mention that only two males (one per week) of the total sample were found in regression (Fig. 3), highlighting the male of the fourth week (August 1) that presented very late regression traits such as no spermiogenesis, few remnant sperm, cytoplasmic debris in the lumen, no cell proliferation and only spermatogonia at rest (non-mitotic).

Recrudescence was observed in the third (July 25), fifth (August 8) and sixth week (August 15, Fig. 3), reflecting in the values of TM (0.03 g), DST (66.8 μm), SEH (22.7 μm), DED (71.9 μm) and EEH (18.3 μm) for the last biweek group. During this phase there was a marked increase in cell proliferation as the seminiferous epithelium was dominated by primary spermatocytes, although spermatogonia and secondary spermatocytes were observed in smaller numbers (Fig. 2e, Sg, 1[°]sp, 2[°]sp). Sperm were not observed within the lumina of seminiferous tubules and epididymides at this time. The tubular diameter and epididymal ducts remained reduced (Fig. 2e-f). Unlike the decreasing pattern of maximum activity, recrudescence had an increasing pattern, as in the third week (July 25) and fifth week (August 8), only 33% of males were in recrudescence, whereas in the sixth week (August 15) 100% of males were in recrudescence (Fig. 3). Finally, no males were observed in a quiescent state in which the seminiferous tubules would have only contained spermatogonia and the epididymides devoid of sperm.

Discussion

The reproductive activity observed in this study does not differ in the beginning (July) and the end (August) to that reported by Granados-González et al. (2017). Although, Granados-González et al. (2017) only found two spermatogenic phases (recrudescence and maximum activity), this study observed a third phase, regression, which occurred for two weeks (August 1 and 8). Although a quiescence phase was not observed, this phase could occur within a few days/hours (between August 8 and 15). Evidence that may support the existence of quiescence, is the male in very late regression of the fourth week (August 1). This individual was classified in a very late regression instead of quiescence because despite having seminiferous tubules only with spermatogonia and no cell proliferation (like in quiescence), they still contained cytoplasmic debris (sign of a recent spermiation; Ferreira, Laura, & Dolder, 2002) and a few remnant sperm (which are not observed in quiescence; Licht, 1967) in the lumina, suggesting that this male was in a final step of regression and preparing to enter to quiescence. Another possibility is that quiescence (if present) and regression do not occur at the population level due to the briefness in which they occur (two weeks or less). For example, Licht (1984) stated that *Homalopsis buccata* may exhibit continuous spermatogenesis at the population level but not individually due to the presence of males with a pronounced

spermatogenic cycle (individual males may be at different stages of the spermatogenic cycle during a given time period).

Gathering information from both studies (Granados-González et al., 2017; this study), *S. variabilis* has a reproductive cycle with a recrudescence period for one month and three weeks, a transitional period from recrudescence to maximum activity for one month, a maximum activity period for nine months and two weeks, and a regression period for two weeks, where there is an overlap between these phases, i. e., spermatogenic variation within individuals in three weeks to early August. The length and speed of regression and a small and variable quiescence period in this study are evidence that basic histology provides invaluable information about spermatogenic activity that quantitative data alone would never provide to a basic study on sperm development in vertebrates. Also, it may be necessary to sample in shorter intervals when stages of the spermatogenic cycle are not observed monthly within a taxon of reptile. This was the case of *S. variabilis*, where regression was only observed during weekly samples.

Individual variation in the spermatogenic activity of *S. variabilis* has not been previously documented (García-Collazo, 1996; Granados-González et al., 2017) and it was observed in three of the six weeks of this study. This may be due to the fact that some females are still in the last phases of vitellogenesis in August (Benabib, 1994;

Cruz-Elizalde & Ramírez-Bautista, 2016), the same month where the last reproductively active males are observed (until August 8). Therefore, it is possible that plasticity in the spermatogenic cycle allows males to extend their spermatogenic activity and thus maintain sperm production for possible late ovulating females. A similar pattern was observed in the snake *Homalopsis buccata*, where males in the spermiogenic phase, recrudescence, and regression were all observed in histological samples from the same time within any month of the year, but the spermatogenic variation was highest during the female reproductive peak (Berry & Lim, 1967). Furthermore, intrapopulation spermatogenic variation has been observed in other species of *Sceloporus* (Rheubert et al., 2014).

It is interesting to note that the recrudescence male of the third week (July 25) was the smallest male of the study samples (54.3 mm SVL). A maximum activity period shorter than the other males (finishing before time the spermatogenic cycle of the season and thus it was starting a new spermatogenic cycle before all the other males) may favor other physiological processes such as body growth, which may be necessary to compete against other males. Furthermore, testosterone, which is associated with spermiogenic activity (Chamut, Jahn, Arce, & Manes, 2012), has been reported to conceivably inhibit growth in lizards (Cox & John-Alder, 2005).

According to reconstructions of ancestral states (Méndez de la Cruz et al., 2015; Rheubert et al., 2014), the genus *Sceloporus* has an ancestral spring reproductive cycle where fall reproductive cycles have evolved numerous times. Also, three reproductive patterns have been registered in genus *Sceloporus*: spring spermatogenesis (Goldberg, 1971; Méndez-de la Cruz, Guillette, Villagrán-Santa Cruz, & Casas-Andreu, 1988), fall spermatogenesis (Guillette & Méndez-de la Cruz, 1993; Rheubert et al., 2014) and continuous spermatogenesis (Hernández-Gallegos, Méndez-de la Cruz, Villagrán-Santa Cruz, & Andrews, 2002; Lozano et al., 2015). Based on this classification, and reproductive studies without histological data (Benabib, 1994; Ramírez-Bautista et al., 2006) the spermatogenic cycle of *S. variabilis* was grouped in the fall pattern (Rheubert et al., 2014). Currently we know that it cannot be classified within any pattern since male reproductive period is exceptionally long (9 months and 2 weeks, Granados-González et al., 2017; this study), involving the four seasons but not enough to become a continuous spermatogenesis. Rheubert et al. (2014) stated that spermatogenic cycles evolved to start recrudescence earlier. Thereby, an earlier recrudescence and an extended maximum activity period in *S. variabilis* may result in a shorter regression, which was recorded for 2 weeks in this study. Besides, we cannot discard the possibility concerning a extended spermatogenic cycle and its consequent evolution to a continuous cycle, since it may evolve from either a fall or spring

spermatogenic cycle. For example, the continuous cycle of *Sceloporus bicanthalis* (Hernández-Gallegos et al., 2002) potentially evolved from a fall ancestral cycle, which is similar to the cycle of *Sceloporus scalaris* (Newlin, 1976); whereas, the continuous cycle of *Sceloporus grammicus* (Lozano et al., 2015) most likely evolved from a spring spermatogenic cycle (Rheubert et al., 2014). Either way, more studies involving species with extended spermatogenic cycles are necessary to fully understand the mechanisms involved in the evolution of these extended cycles. Furthermore, variation at the populational levels may provide insights into potential abiotic (such as temperature, altitude, and rainfall; Colli, 1991; Goldberg, 1974; Licht, 1971) and biotic factors (such as presence of receptive females; Fernández, Medina, Kubisch, Scolaro, & Ibarzüengoytía, 2017; Hernández-Gallegos et al., 2002; Wiederhecker, Pinto, & Colli, 2002) affecting spermatogenesis. For example, the extended period spermatogenesis in *S. variabilis* is similar between populations (García-Collazo, 1996; Granados-González et al., 2017) whereas spermatogenesis of *S. grammicus* (Lozano et al., 2015) and *S. mucronatus* (Villagrán-Santa Cruz et al., 2009) differ at the populational level.

Observations concerning similarities and differences of various reproductive strategies are necessary to determine potential underlying causes of variation (or the lack thereof).

One aspect typically not considered during explanation of variation in reproductive cycles is mortality. Peña-Herrera (unpublished data) estimated the age of

adult males of *S. variabilis* from the same population used in this study. The average age was 1.6 years with a maximum age of 3 years, where only 11% of adult males from total sample reached the latter age. These data corroborate findings by Fitch (1973) on a population in Costa Rica, suggesting that *S. variabilis* is a species with a high mortality rate. The high mortality may have led to *S. variabilis* having a very long reproductive cycle (leading to an increase in fecundity), as a low life expectancy is typical of tropical species with continuous reproduction (Tinkle, 1969). Therefore, if we consider the average age (1.6 years) for adult males of *S. variabilis* as life expectancy, it would be expected that lizards with a shorter life expectancy had a longer reproductive period and an earlier maturity (either in age or body size). This is the case of the temperate lizard *S. bicanthalis*, which has a lower life expectancy (1.3 years; Rodríguez-Romero et al., 2011) than *S. variabilis*, reflected in a maturity at a smaller size (34 mm SVL versus 51 mm SVL of *S. variabilis*; Granados-González et al., 2017; Gribbins et al., 2011) and in a longer reproductive period (continuous spermatogenesis, Hernández-Gallegos et al., 2002, Gribbins et al., 2011).

Additionally, when we consider data about maximum (3 years) and average (1.6 years) age, age at sexual maturity (4 months, Benabib, 1994) and a prolonged reproductive cycle (9 months and 2 weeks) for *S. variabilis*, it may be argued that males in this study were at least in their first reproductive season and those which had an age

of 3 years were potentially in their fourth reproductive season, considering that hatchlings born at the beginning of the reproductive season can breed at the end of that same reproductive season (Benabib, 1994). Data concerning mortality and average age for females in this study population is currently not available.

All these factors: phylogenetic effects, a seasonal reproductive cycle with a length that is maintained in any environment, the availability of receptive females almost all year round, and a high mortality rate may be the mechanisms that are causing the reproductive cycle of male *S. variabilis* to be extended. Thus, these types of phylogenetic and biotic selective pressures could be involved in the transition from a seasonal to continuous reproductive cycle in the future of this species. This study supports the claim by Rheubert et al. (2014) that environmental factors are not the only selection pressure regulating the reproductive activity in males.

Acknowledgements

We would like to thank the community of the Ejido Adolfo López Mateos, Selva del Mariner, for aiding in the collection of lizards and to the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) for its financial support to Peña-Herrera E.

References

- Al-Amri, I. S., Mahmoud, I. Y., Waring, C. P., Alkindi, A. Y., Khan, T., Bakheit, C., & Al-Mawali, K. M. (2013). The reproductive cycle of the male house gecko,

Hemidactylus flaviviridis, in relation to plasma steroid concentrations, progesterone receptors, and steroidogenic ultrastructural features, in Oman.

General and Comparative Endocrinology, 187, 23–31.

<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2013.02.04>

Amat, F., Llorente, G. A., & Carretero, M. A. (2000). Reproductive cycle of the sand lizard (*Lacerta agilis*) in its southwestern range. *Amphibia-Reptilia*, 21, 463–476.

<https://doi.org/10.1163/156853800300059340>

Benabib, M. (1994). Reproduction and lipid utilization of tropical populations of *Sceloporus variabilis*. *Herpetological Monographs*, 8, 160–180.

<https://doi.org/10.2307/1467079>

Berry, P. Y., & Lim, G. S. (1967). The breeding pattern of the Puff-Faced Water Snake, *Homalopsis buccata* Boulenger. *Copeia*, 1967, 307–313.

<https://doi.org/10.2307/1442118>

Colli, G. R. (1991). Reproductive ecology of *Ameiva ameiva* (Sauria, Teiidae) in the Cerrado of Central Brazil. *Copeia*, 1991, 1002–1012.

<https://doi.org/10.2307/1446095>

Cox, R. M., & John-Alder, H. B. (2005). Testosterone has opposite effects on male growth in lizards (*Sceloporus* spp.) with opposite patterns of sexual size dimorphism. *Journal of Experimental Biology*, 208, 4679–4687.

<https://doi.org/10.1242/jeb.01948>

- Cree, A., Cockrem, J. F., & Guillette, L. J. Jr. (1992). Reproductive cycles of male and female tuatara (*Sphenodon punctatus*) on Stephens Island, New Zealand. *Journal of Zoology*, 226, 199–217. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1992.tb03834.x>
- Cruz-Elizalde, R., & Ramírez-Bautista, A. (2016). Reproductive cycles and reproductive strategies among populations of the Rose-bellied Lizard *Sceloporus variabilis* (Squamata: Phrynosomatidae) from central Mexico. *Ecology and Evolution*, 6, 1753–1768. <https://doi.org/10.1002/ece3.1998>
- Chamut, S., Jahn, G. A., Arce, O. E. A., & Manes, M. E. (2012). Testosterone and reproductive activity in the male tegu lizard, *Tupinambis meriana*. *Herpetological Conservation and Biology*, 7, 299–305.
- Fernández, J. B., Medina, M., Kubisch, E. L., Scolaro, J. A., & Ibarngüengoytía, N. R. (2017). Reproductive strategies in males of the world's southernmost lizards. *Integrative Zoology*, 12, 132–147. <https://doi.org/10.1111/1749-4877.12224>
- Ferreira, A., Laura, I. A., & Dolder, H. (2002). Reproductive cycle of male green iguanas, *Iguana iguana* (Reptilia: Sauria: Iguanidae), in the Pantanal Region of Brazil. *Journal of Morphological Science*, 19(1), 23–28.
- Fitch, H. S. (1973). *Population structure and survivorship in some Costa Rica Lizards*. Lawrence: Museum of Nature History, University of Kansas.

- García-Collazo, R. (1996). *Espermatogénesis en dos poblaciones (semidesértica y subtropical) de Sceloporus variabilis variabilis* (Unpublished master thesis), Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico.
- Goldberg, S. R. (1971). Reproductive cycle of the ovoviviparous iguanid lizard *Sceloporus jarrovi* Cope. *Herpetologica*, 27, 123–131.
- Goldberg, S. R. (1974). Reproduction in mountain and lowland populations of the lizard *Sceloporus occidentalis*. *Copeia*, 1974, 176–182. <https://doi.org/10.2307/1443021>
- Goldberg, S. R., & Parker, W. S. (1975). Seasonal testicular histology of the colubrid snakes, *Masticophis taeniatus* and *Pituophis melanoleucus*. *Herpetologica*, 31, 317–322.
- Granados-González, G., Rheubert, J. L., Villagrán-Santa Cruz, M., González-Herrera, M. E., Dávila-Cedillo, J. V., Gribbins, K. M., & Hernández-Gallegos, O. (2015). Male reproductive cycle in *Aspidoscelis costata costata* (Squamata: Teiidae) from Tonicato, Estado de México, México. *Acta Zoologica*, 96, 108–116. <https://doi.org/10.1111/azo.12057>
- Granados-González, G., Villagrán-Santa Cruz, M., Peña-Herrera, E., Rheubert, J. L., Gribbins, K. M., & Hernández-Gallegos, O. (2017). Spermatogenesis in *Sceloporus variabilis* (Squamata, Phrynosomatidae): a non-quiescent pattern. *Acta Zoologica*, 00, 1–10. <https://doi.org/10.1111/azo.12229>

Gribbins K. M. (2011). Reptilian spermatogenesis: A histological and ultrastructural perspective. *Spermatogenesis*, *1*, 250–269.

<https://doi.org/10.4161/spmg.1.3.18092>

Gribbins, K. M., Anzalone, M., Collier, M., Granados-González, G., Villagrán-Santa

Cruz, M., Hernández-Gallegos, O. (2011). Temporal germ cell development

strategy during continuous spermatogenesis within the montane lizard, *Sceloporus*

bicanthalis (Squamata; Phrynosomatidae). *Theriogenology*, *76*, 1090–1099.

<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.05.015>

Gribbins, K. M., Rheubert, J. L., Collier, M. H., Siegel, D. S., & Sever, D. M. (2008).

Histological analysis of spermatogenesis and the germ cell development strategy

within the testis of the male Western Cottonmouth Snake, *Agkistrodon piscivorus*

leucostoma. *Annals of Anatomy*, *190*, 461–476.

<https://doi.org/10.1016/j.aanat.2008.07.003>

Guillette, L. J. Jr., & Méndez-de la Cruz, F. R. (1993). The reproductive cycle of the

viviparous Mexican lizard *Sceloporus torquatus*. *Journal of Herpetology*, *27*,

168–174. <https://doi.org/10.2307/1564933>

Hernández-Gallegos, O., Méndez-de la Cruz, F. R., Villagrán-Santa Cruz, M., &

Andrews, R. M. (2002). Continuous spermatogenesis in the lizard *Sceloporus*

bicanthalis (Sauria: Phrynosomatidae) from high elevation habitat of central

Mexico. *Herpetologica*, 58, 415–421.

[https://doi.org/10.1655/00180831\(2002\)058\[0415:CSITLS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1655/00180831(2002)058[0415:CSITLS]2.0.CO;2)

Hernández-Gallegos, O., Méndez-de la Cruz, F. R., Villagrán-Santa Cruz, M.,

Rheubert, J. L., Granados-González, G., & Gribbins, K. M. (2014). Seasonal spermatogenesis in the Mexican endemic oviparous lizard, *Sceloporus aeneus* (Squamata: Phrynosomatidae). *Spermatogenesis*, 4(3), 1–8.

<https://doi.org/10.4161/21565562.2014.988585>

James, C., & Shine, R. (1985). The seasonal timing of reproduction: A tropical-

temperate comparison in Australian lizards. *Oecologia*, 67, 464–474.

<http://doi.org/10.1007/BF00790016>

Krohmer, R. W., Grassman, M., & Crews, D. (1987). Annual reproductive cycle in the

male red-sided garter snake, *Thamnophis sirtalis parietalis*: field and laboratory studies. *General and Comparative Endocrinology*, 68, 64–75.

[https://doi.org/10.1016/0016-6480\(87\)90061-X](https://doi.org/10.1016/0016-6480(87)90061-X)

Lance, V. A. (1989). Reproductive cycle of the American alligator. *American Zoologist*,

29, 999–1018.

Lee, J. C., Clayton, D., Eisenstein, S., & Perez, I. (1989). The reproductive cycle of

Anolis sagrei in Southern Florida. *Copeia*, 1989, 930–937.

<https://doi.org/10.2307/1445979>

Licht, P. (1967). Environmental control of annual testicular cycles in the lizard *Anolis carolinensis*. I. Interaction of light and temperature in the initiation of testicular recrudescence. *Journal of Experimental Zoology*, 165, 505–516.

<https://doi.org/10.1002/jez.1401650317>

Licht, P. (1971). Regulation of the annual testis cycle by photoperiod and temperature in the lizard *Anolis carolinensis*. *Ecology*, 52, 240–252.

<https://doi.org/10.2307/1934582>

Licht, P. (1984). Reptiles. In G. E. Lamming (Ed.), *Marshall's physiology of reproduction: Reproductive cycle of vertebrates* (pp. 206–282). New York, NY:

Churchill Livingstone.

Lozano, A., Uribe, M. C., & Ramírez-Bautista, A. (2015). Seasonal and continuous spermatogenesis in the viviparous lizard *Sceloporus grammicus*, a study of two populations in contrasting environments from Central Mexican Plateau.

Zoologischer Anzeiger, 254, 72–85. <https://doi.org/10.1016/j.jcz.2014.12.001>

Méndez-de la Cruz, F. R., Guillette, L. J. Jr., Villagrán-Santa Cruz, M., & Casas-

Andreu, G. (1988). Reproductive and fat body cycle of the viviparous lizard,

Sceloporus mucronatus (Sauria: Iguanidae). *Journal of Herpetology*, 22(1), 1–12.

<https://doi.org/10.2307/1564351>

- Méndez-de la Cruz, F. R., Manríquez-Morán, N. L., Arenas-Ríos, E., & Ibarngüengoytía, N. (2015). Male reproductive cycles in lizards. In J. L. Rheubert, D. S. Siegel, & S. E. Trauth (Eds.), *Reproductive biology and phylogeny of lizards and tuatara* (pp. 302–339). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Méndez-de la Cruz, F. R., Villagrán-Santa Cruz, M., López-Ortíz, M. L., & Hernández-Gallegos, O. (2013). Reproductive cycle of a high-altitude oviparous lizard, *Sceloporus spinosus* (Reptilia: Phrynosomatidae). *The Southwestern Naturalist*, 58, 54–63. <https://doi.org/10.1894/0038-4909-58.1.54>
- Newlin, M. E. (1976). Reproduction in the bunch grass lizard, *Sceloporus scalaris*. *Herpetologica*, 32, 171–184.
- Ramírez-Bautista, A., García-Collazo, R., & Guillette, L. J. Jr. (2006). Reproductive, fat, and liver cycles of male and female rose-bellied lizards, *Sceloporus variabilis*, from coastal areas of Southern Veracruz, Mexico. *The Southwestern Naturalist*, 51, 163–171. [https://doi.org/10.1894/0038-4909\(2006\)51\[163:RFALCO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1894/0038-4909(2006)51[163:RFALCO]2.0.CO;2)
- Ramírez-Bautista, A., Vitt, L. J., Ramírez-Hernández, A., Mendoza-Quijano, F., & Smith, G. R. (2008). Reproduction and sexual dimorphism of *Lepidophyma sylvaticum* (Squamata: Xantusiidae), a tropical night lizard from Tlanchinol, Hidalgo, Mexico. *Amphibia-Reptilia*, 29, 207–216. <https://doi.org/10.1163/156853808784124938>

- Rheubert, J. L., Poldemann, E. H., Eckstut, M. E., Collier, M. H., Sever, D. M., & Gribbins, K. M. (2009). Temporal germ cell development strategy during mixed spermatogenesis within the male Mediterranean gecko, *Hemidactylus turcicus* (Reptilia: Gekkonidae). *Copeia*, 2009, 793–800. <https://doi.org/10.1643/CG-09-034>
- Rheubert, J. L., Touzinsky, K. T., Sever, D. M., Aldridge, R. D., Wilmes, A. J., Siegel, D. S., & Gribbins, K. M. (2014). Reproductive biology of *Sceloporus consobrinus* (Phrynosomatidae): Male germ cell development and reproductive cycle comparisons within spiny lizards. *Journal of Herpetology*, 48, 162–171. <https://doi.org/10.1670/12-156>
- Rodríguez-Romero, F., Smith, G. R., Méndez-Sánchez, F., Hernández-Gallegos, O., Sánchez-Nava, P., & Méndez-de la Cruz, F. R. (2011). Demography of a Semelparous, High-Elevation Population of *Sceloporus bicanthalis* (Lacertilia: Phrynosomatidae) from the Nevado de Toluca Volcano, Mexico. *The Southwestern Naturalist*, 56, 71–77. <https://doi.org/10.1894/GC-193.1>
- Roig, J. M., Carretero, M. A., & Llorente, G. A. (2000). Reproductive cycle in a Pyrenean oviparous population of the common lizard (*Zootoca vivipara*). *Netherlands Journal of Zoology*, 50, 15–27. <https://doi.org/10.1163/156854200505775>

- Rostal, D. C., Lance, V. A., Grumbles, J. S., & Alberts, A. C. (1994). Seasonal reproductive cycle of the desert tortoise (*Gopherus agassizii*) in the Eastern Mojave Desert. *Herpetological Monographs*, 8, 72–82.
<https://doi.org/10.2307/1467071>
- Shanbhag, B. (2002). Reproductive biology of Indian reptiles. *Proceedings of the Indian National Science Academy*, 68, 497–528.
- Tinkle, D. W. (1969). The concept of reproductive effort and its relation to the evolution of life histories of lizards. *The American Naturalist*, 103, 501–516.
<https://doi.org/10.1086/282617>
- Villagrán-Santa Cruz, M., Hernández-Gallegos, O., & Méndez-de la Cruz, F. R. (2009). Reproductive cycle of the lizard *Sceloporus mucronatus* with comments on intraspecific geographic variation. *Western North American Naturalist*, 69, 437–446. <https://doi.org/10.3398/064.069.0403>
- Wiederhecker, H. C., Pinto, A. C. S., & Colli, G. R. (2002). Reproductive ecology of *Tropidurus torquatus* (Squamata: Tropiduridae) in the Highly Seasonal Cerrado Biome of Central Brazil. *Journal of Herpetology*, 36, 82–91.
[https://doi.org/10.1670/0022-1511\(2002\)036\[0082:REOTTS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1670/0022-1511(2002)036[0082:REOTTS]2.0.CO;2)

Figures

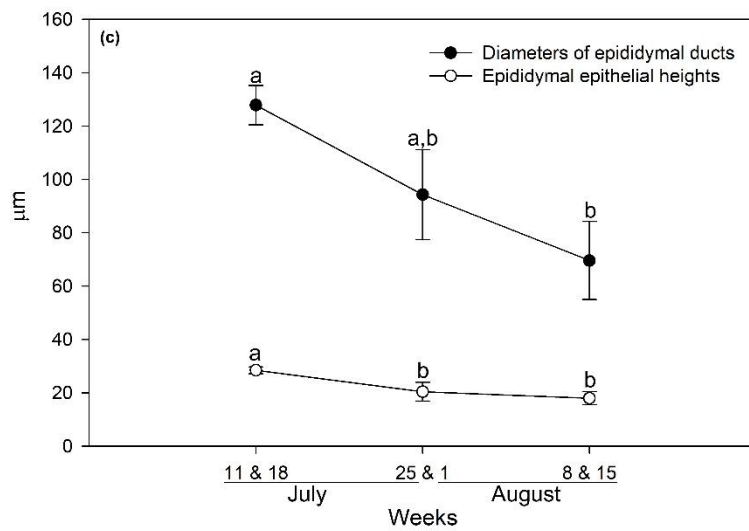
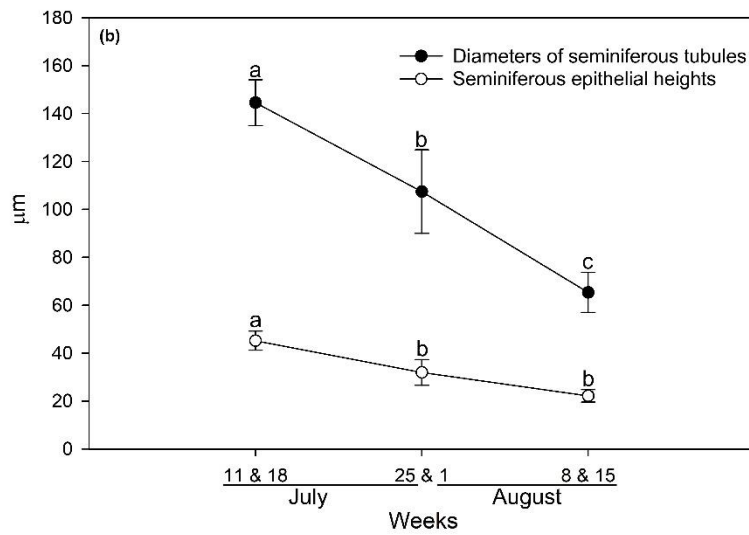
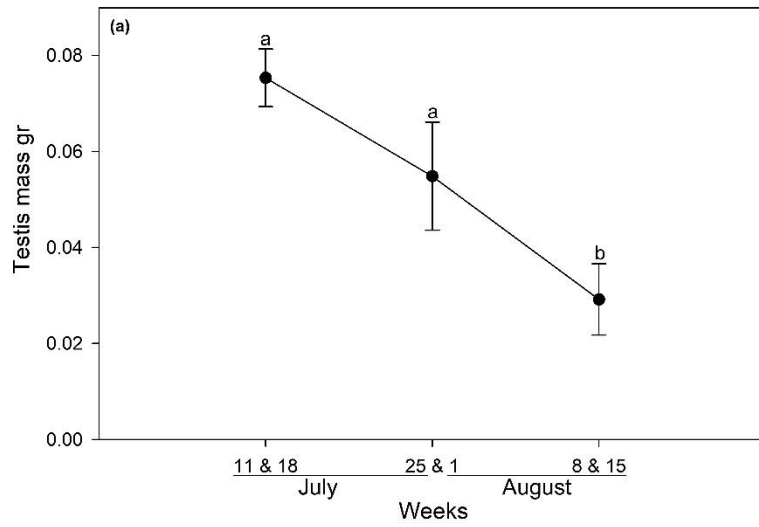


Figure 1. Biweekly variation in means of different reproductive characters of adult males of *Sceloporus variabilis* from Los Tuxtlas, Veracruz. (a) testis mass; (b) diameters of seminiferous tubules and seminiferous epithelial heights; (c) diameters of epididymal ducts and epididymal epithelial heights. Different letters above values indicate significant differences ($p < .05$). Vertical bars indicate standard error.

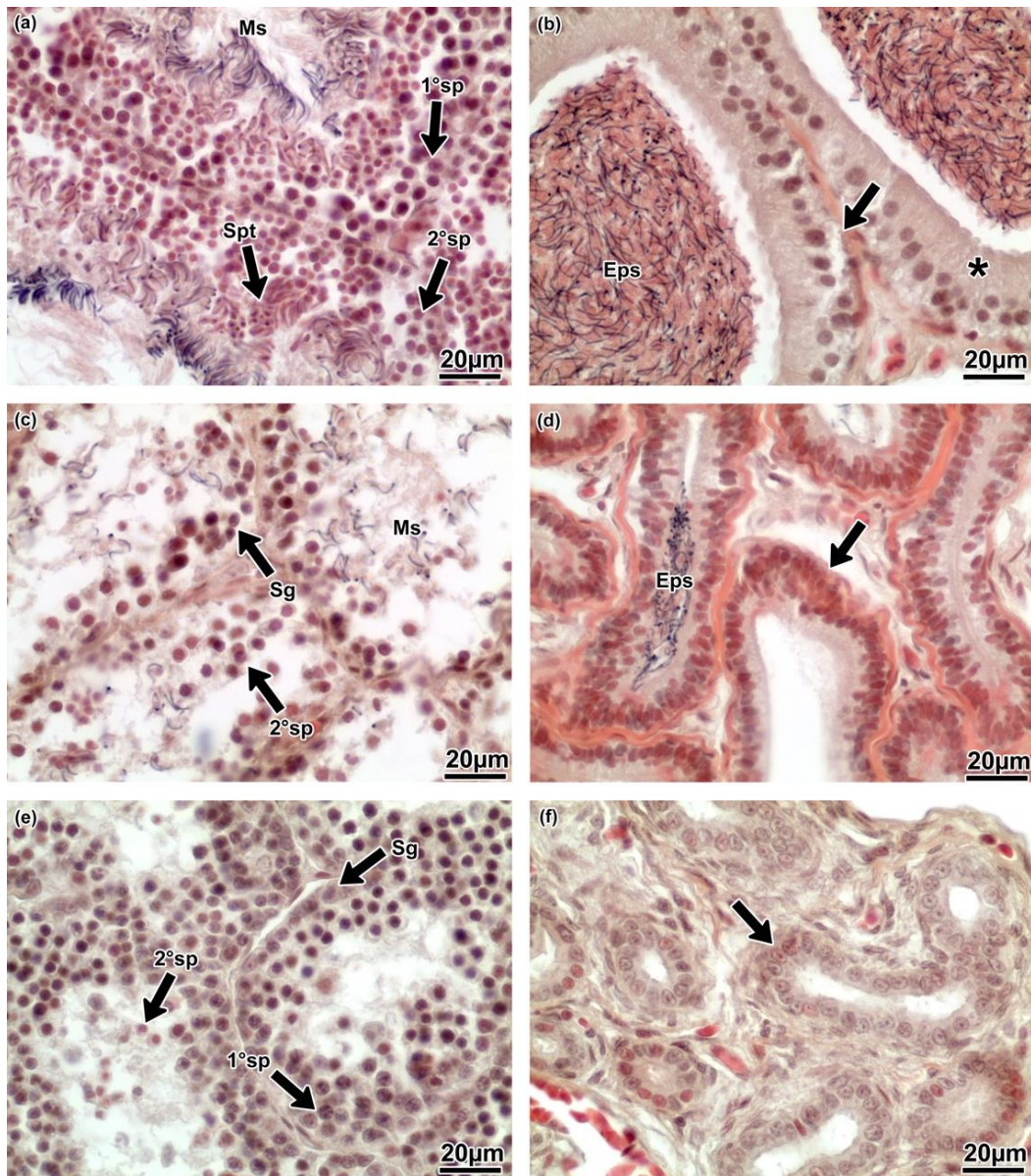


Figure 2. Testicular and epididymal histology of *Sceloporus variabilis* from Los Tuxtlas, Veracruz. The spermatogenic phases are displayed in the order in which were

registered. (a) maximum testicular activity and (b) epididymis filled with mature sperm; (c) regression and (d) epididymis with a few mature sperm; (e) recrudescence and (f) epididymis devoid of sperm. Sg, spermatogonia; 1°sp, primary spermatocyte; 2°sp, secondary spermatocyte; Spt, spermatid; Ms, mature sperm; Eps, epididymal sperm; black arrow, epididymal epithelium; *, epididymal epithelial cells filled with secretory material.

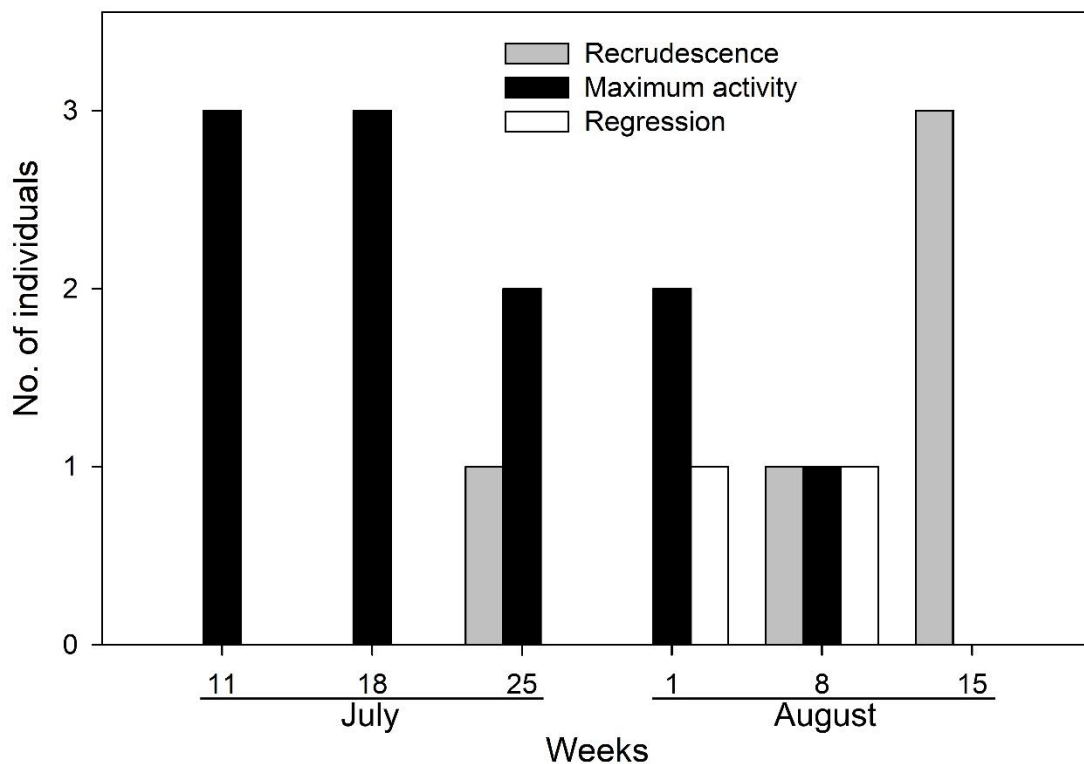


Figure 3. Graphical representation about frequency of adult males of *Sceloporus variabilis* from Los Tuxtlas, Veracruz, collected per week and their spermatogenic phase presented at that moment.