

Declaración de originalidad

El (La) que suscribe Gilberto Antonio Barona Castañeda, alumno (a) del posgrado Maestría en biología de la reproducción animal, de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa y autor(a) de la tesis o idónea comunicación de resultados titulada: “Desarrollo gonadal y conductas reproductoras del lagarto enchaquirado, Heloderma horridum (Wiegmann, 1829) bajo cuidado humano”,

Declaro que:

1. La tesis o idónea comunicación de resultados que presento ante Los suscritos miembros del jurado designados por la comisión del posgrado para lo obtención del grado de Maestro en Biología de la Reproducción Animal es de mi autoría y original creación, producto del resultado de mi trabajo de investigación personal e individual; el cual cuenta con las correspondientes citas textuales del material bibliográfico utilizado y con el debido otorgamiento de los créditos autorales.
2. En la tesis o idónea comunicación de resultados no he reproducido párrafos completos; ilustraciones, fotografías, diagramas, cuadros y tablas, sin otorgamiento del crédito autoral y fuente correspondiente.
3. En consecuencia, relevo de toda responsabilidad a la Universidad Autónoma Metropolitana de cualquier demanda o reclamación que llegara a formular alguna persona física o moral que se considere con derecho sobre la tesis o idónea comunicación de resultados, respondiendo por la autoría y originalidad de la misma, asumiendo todas las consecuencias económicas y jurídicas si ésta no fuese de mi creación.

La presente declaración de originalidad se firma en la Ciudad de México el 14 de febrero del 2021.

Atentamente



Barona Castañeda Gilberto Antonio

Nombre y firma del alumno

Este documento debe ser firmado con tinta azul y debe anexarse copia en la tesis o idónea comunicación de resultados (tesina, reporte, etc.), el documento original será conservado por el Coordinador del Posgrado.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

“División de Ciencias Biológicas y de la Salud”

“Maestría en Biología de la Reproducción Animal”

T E S I S para obtener el grado de Maestro(a) en Biología de la
Reproducción Animal

“Desarrollo gonadal y conductas reproductoras del lagarto enchaquirado,
Heloderma horridum (Wiegmann, 1829) bajo cuidado humano.”

que presenta: “Barona Castañeda Gilberto Antonio”

Comité tutorial:

Codirector

Dr. Fausto Roberto Méndez de la Cruz
Departamento de Zoología del IBUNAM

Codirectora

Dra. María del Rosario Tarragó Castellanos
Departamento de Biología de la Reproducción UAM-I

Asesor:

M. en C. Fernando Gual Sill
Departamento de Producción Agrícola y Animal UAM-X

México, Ciudad de México

fecha

Comité de tutores

Codirector externo

Dr. Fausto Roberto Méndez de la Cruz

Departamento de Zoología del IBUNAM (faustor@ib.unam.mx)

Codirectora interna

Dra. María del Rosario Tarragó Castellanos

Departamento de Biología de la Reproducción UAM-I (mrta@xanum.uam.mx)

Asesor

M. en C. Fernando Gual Sill

Departamento de Producción Agrícola y Animal UAM-X (fguals@correo.xoc.uam.mx)

Dirección General de Zoológicos

Miembros del jurado

M en C. Fernando Gual Sill

Departamento de Producción Agrícola y Animal Universidad Autónoma
Metropolitana-Xochimilco / Dirección General de Zoológicos y Conservación de la
Fauna Silvestre

Dr. Gerardo Figueroa Lucero

Departamento de Hidrobiología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa

Dr. Miguel Ángel León Galván

Departamento de Biología, Universidad Autónoma Metropolitana.

M. en C. Matías Martínez Coronel.

Departamento de Biología, Universidad Autónoma Metropolitana.

Agradecimientos

A la Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa, UAMI

A CONACYT por los apoyos obtenidos (beca del alumno; registro de la MBRA ante CONACYT 003797).

Índice general

Resumen	6
Introducción.....	7
Antecedentes	9
Justificación.....	14
Objetivos	15
Objetivos específicos	15
Hipótesis	15
Material y métodos	16
Resultados	23
Biológicos-Nutricionales	23
Conductas sociales y reproductoras	30
Desarrollo de las estructuras sexuales	44
Discusión.....	53
Las medidas somáticas en la reproducción	53
Consumo de alimento y su relación con la temperatura	53
Periodo de inactividad y su relación con los eventos reproductores	55
Cambios conductuales y la relación con los eventos reproductores	57
Patrón de reproducción en <i>H. horridum</i>	57
Desarrollo gonadal y eventos reproductores	60
Conclusiones	62
Bibliografía	60

Resumen

En el presente estudio se analizó la conducta sexual y la maduración gonádica a lo largo del ciclo reproductor en ejemplares adultos de *Heloderma horridum* (Wiegmann, 1829), conocido como lagarto enchaquirado. Por métodos no invasivos como lo es el uso de ultrasonido, se determinó que la mayor actividad reproductora ocurrió de abril a junio por la presencia de folículos previtelogénicos y vitelogénicos. En el caso de los machos, por medio del volumen testicular calculado a partir de los diámetros, se determinó un pico de actividad reproductora durante los meses de mayo ($8.50 \pm 1.74 \text{ cm}^3$) a julio ($6.68 \pm 2.62 \text{ cm}^3$), se registró una correlación positiva entre el volumen testicular y conductas sexuales como el combate macho-macho ($r= 0.647$, $p=0.031$, $r^2=41.8\%$), así como el olfateo recíproco entre hembras y machos (macho a la hembra $r= 0.792$, $p=0.003$, $r^2=62.7\%$; hembra al macho $r= 0.877$, $p=0.0003$, $r^2=76.9\%$), y con el arrastre del macho por parte de la hembra ($r= 0.768$, $p=0.005$, $r^2=58.9\%$). Así mismo, las conductas sexuales se presentaron diferencialmente en el tiempo, las hembras iniciaron con el olfateo a partir del mes de mayo y los machos desde abril mostraban olfateo y combate macho-macho. En ambos sexos se observaron todas las conductas sexuales registradas en vida silvestre y se cuantificaron factores ambientales como humedad y temperatura que se relacionaron con de algunos eventos reproductivos. Además la alimentación fue importante para lograr satisfacer la demanda de nutrientes (con una dieta que incluyó diversas presas) y energía necesaria para una reproducción exitosa bajo cuidado humano.

Introducción

La reproducción de los organismos es parte fundamental de la persistencia de las especies (Manlik, 2019). Algunos rasgos determinan la estrategia que utilizan las especies tales como la edad y tamaño en que alcanzan la madurez sexual, el tamaño de nidada, frecuencia de nidadas y la fenología reproductiva, entre otras. Cada especie tiene estrategias reproductivas particulares, incluso entre la misma especie pueden existir diferencias ya que varían de acuerdo con las condiciones anuales y el sitio donde habitan (Benabib, 1994; Recknagel y Elmer, 2019). Las estrategias reproductivas conllevan a que los momentos de los eventos del ciclo de reproducción también varíen al depender de las condiciones ambientales, historia filogenética y salud de los individuos. Los tiempos en que ocurren los eventos de reproducción del ciclo pueden indicar un patrón de reproducción ya sea continuo o estacional (Aldridge y Server, 2011; Rheubert *et al.*, 2015).

Las especies que presentan una reproducción continua a lo largo del año generalmente se encuentran en las regiones tropicales, mientras que las especies que presentan temporalidad en sus ciclos de reproducción se encuentran en regiones con oscilaciones térmicas a lo largo del año ya que los eventos reproductivos se sincronizan con la época de mayor productividad, determinada por la temperatura, lluvias y el fotoperiodo. En las partes más secas de los trópicos, las temporadas de reproducción tienden a limitarse a la época del año en que hay una precipitación máxima. Aunque también se llegan a observar especies con reproducción continua (Fitch, 1970).

El lagarto enchaquirado (*Heloderma horridum*), es miembro de la Familia Helodermatidae que cuenta con 5 especies (una de ellas con una sub especie) (Douglas *et al.*, 2010; Reiserer, *et al.*, 2013). *H. horridum* se encuentra dentro de la categoría de “amenazado” en la NOM-059-SEMARNAT-2010 (Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2019). Habita en los bosques secos tropicales (también llamados bosque tropical caducifolio o selva baja caducifolia) que se distribuyen en zonas centrales de México a lo largo de la costa del Pacífico (Beck *et.*

al., 2009; Rzedowski, 2006; Beck y Lowe, 1991; Beck y Jennings, 2003; Ariano-Sánchez y Salazar, 2015). Actualmente persisten factores adversos que ponen en riesgo las poblaciones silvestres (Koleff *et al.*, 2012; Meave *et al.*, 2012) y la información científica sobre su reproducción es limitada (Beck, 2009).

La reproducción de algunas especies del género *Heloderma* se han estudiado mediante análisis histológicos de testículo y ovario (Goldberg y Lowe, 1997; Goldberg y Beck, 2001), análisis de hormonas en plasma sanguíneo (Carruth, 2015), y mediante observaciones de algunas conductas relacionadas con la actividad sexual como el cortejo, combates entre machos, cópula, ovoposiciones e incubación de los huevos (Goldberg y Beck, 2001; Ginger *et al.*, 2005; Radovanovic, 2014).

Para el establecimiento de planes de conservación hacia las especies longevas es necesario emplear toda la información posible, ya que los resultados que se obtengan serán a largo plazo, y las modificaciones o correcciones a dichos planes se dificultan. (Condon *et al.*, 1993). En México, un instrumento de conservación que innovó el aprovechamiento de la vida silvestre está constituido por las Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMA) cuyo propósito es integrar las características ambientales, económicas, sociales y legales en estrategias enfocadas a la conservación de la vida silvestre, promover la participación social, ampliar y crear incentivos económicos que redunden en un correcto manejo. Sin embargo, en algunas ocasiones, los supuestos fundamentales del establecimiento de UMAs no siempre son atendidos en su totalidad y los resultados de operación son poco convincentes; la problemática multicausal hace necesario retomar los objetivos principales de conservación y aprovechamiento sustentable de la vida silvestre. En ese sentido y con el fin de incrementar el conocimiento del ciclo reproductivo del lagarto enchaquirado se analizó bajo cuidado humano la maduración gonadal y las conductas reproductoras de ejemplares sexualmente maduros durante su actividad reproductora, con la finalidad de obtener información que pueda incluirse en planes de conservación.

Antecedentes

Para que se presente la reproducción se requiere un balance energético positivo, la cantidad de energía requerida depende de la especie, hábitat y del sexo; en algunas especies el mantener la reproducción a lo largo del año implica un alto costo de energía y nutrientes los cuales no se encuentran disponibles en todas las épocas por las condiciones ambientales. Por este motivo la mayoría de las especies se reproducen cuando los recursos alimentarios son más abundantes y se puede cubrir la demanda energética para el mantenimiento de las funciones básicas, el crecimiento y la reproducción (Lovern, 2011). Tanto en especies ovíparas como vivíparas el ciclo de reproducción es determinado por el ambiente y la filogenia, en general podemos encontrar especies con reproducción continua o estacional (Aldridge y Server, 2011; Rheubert *et al.*, 2015).

Muchas especies con patrones de reproducción continua se distribuyen en zonas tropicales, ya que las condiciones ambientales son menos variables a lo largo del año, o las especies no dependen estrictamente de las condiciones del ambiente, esta reproducción continua puede ocurrir a nivel poblacional: donde los ciclos continuos en los machos (espermatogénesis-espermiogénesis) se han asociado con la presencia de hembras en vitelogénesis, o individual: es decir la población no se reproduce durante todo el año, pero en cualquier momento durante el año se puede encontrar un individuo reproductivo (Rheubert *et al.*, 2015). Por otra parte, en algunas poblaciones, la reproducción continua no se aplica necesariamente por igual en los sexos, esto se debe a que en los machos pueden responder a un estímulo diferente a las hembras, y aunque el tiempo del ciclo de reproducción sea similar, no es igual. Del mismo modo la proporción de individuos reproductores de un sexo puede cambiar a lo largo del año (Lovern, 2011). Algo común en las especies que se reproducen continuamente que optan por varias nidadas de camadas pequeñas a lo largo del año (Mezquita y Colli, 2010; Rheubert, *et al.*, 2015). Algunas especies con este patrón son las lagartijas *Anolis lineatopus* (Gribbins *et al.*, 2009), *A. tolimensis* (Ardila-Marín, 2008), *Cnemidophorus lemniscatus* (Mojica *et al.*, 2003), *Sceloporus aeneus* (García-Collazo

et al., 1993; García-Collazo *et al.*, 2012), *Phymaturus palluma* (Cabezas *et al.*, 2010) y el gecko *Gonatodes albogularis* (Serrano-Cardozo *et al.*, 2007).

Las especies que tienen un patrón de reproducción estacional se encuentran principalmente en las zonas cálidas y frías. Es frecuente que se presente gametogénesis, cortejo y apareamiento durante la primavera, con la ovoposición a principios del verano y las crías o el nacimiento a mediados del verano aunque la sincronización de estos eventos puede variar (Rheubert *et al.*, 2015), algunos ejemplos de especies que presentan este patrón son las tortugas *Caretta caretta* (Kakizoe *et al.*, 2010), *Graptemys gibbonsi* (Graham *et al.*, 2015), el aligátor *Alligator mississippiensis* (Hamlin *et al.*, 2011), las lagartijas *Sceloporus orcutti* (Mayhew, 1963), *S. espinosus* (Méndez-de la Cruz *et al.*, 2013), la serpiente *Crotalus oreganus* (Lind *et al.*, 2010). Esto se asocia con el incremento de las oportunidades de sobrevivencia y reproducción para la descendencia (Lovern, 2011). La reproducción estacional no es necesariamente anual, ya que en algunas especies eventos reproductivos como podría ser la gestación o la formación del huevo requieren de periodos prolongados y saltan un periodo de reproducción (Lovern, 2011), como en el gecko *Homonota darwini* (Ibargüengoytía y Casalins, 2007) y las lagartijas *Phymaturus patagonicus* (Ibargüengoytía, 2004) y la lagartija *P. punae* (Boretto *et al.*, 2007; Boretto *et al.*, 2014). Así mismo, en algunas especies, la reproducción puede suceder en una época de pocos recursos como al final del verano como las tortuga *Gopherus flavomarginatus* (González, 2000), *Terrapene carolina* (Currylow *et al.*, 2013), la tuatara *Sphenodon punctatus* (Girons y Newman, 1987), las lagartijas *Crotaphytus collaris* (Trauth, 1978; 1979), *Sceloporus torquatus torquatus* (Feria-Ortiz, *et al.*, 2001), *Sceloporus melanorhinus* (Ramírez-Bautista *et al.*, 2006), *Sceloporus mucronatus* (Villagrán-Santa Cruz *et al.*, 2009).

Se han realizado algunos estudios para categorizar sistemáticamente los patrones de los ciclos reproductivos del Orden Squamata, en uno de los primeros realizados, se relacionan el comportamiento de apareamiento con la producción de hormonas esteroides sexuales y la gametogénesis, basados en esta relación determinan dos

tipos de ciclo reproductivo: los ciclos prenupcial y posnupcial. Los ciclos reproductivos prenupciales son aquellos en los que el recrudescimiento gonadal, la producción de esteroides sexuales y la gametogénesis ocurren antes del apareamiento, mientras que en los ciclos posnupciales ocurren después del apareamiento. (Licht, 1984). Aunque se reconoció que no todas las especies son categorizadas perfectamente en estos patrones, por lo que también surge otro modelo donde se generalizan en ciclos asociados y disociados conforme a las posibles relaciones entre el comportamiento de apareamiento, los esteroides sexuales y la producción de gametos. Los patrones reproductivos asociados se definieron como aquellos para los cuales la secreción máxima de esteroides sexuales y la gametogénesis precedieron o coincidieron inmediatamente con el comportamiento de apareamiento y por el contrario, los patrones reproductivos disociados se definieron como aquellos en los que el comportamiento de apareamiento se desacopla de la secreción máxima de esteroides sexuales y la producción de gametos (Crews, 1984; Norris y Lopez, 2011; Rheubert *et. al.*, 2015)

Para comprender los ciclos reproductores en reptiles, se han realizado estudios enfocados en el comportamiento, cambios fisiológicos y morfológicos de las estructuras sexuales y ciclo de hormonas esteroideas, y los eventos que ocurren dentro del ciclo se han relacionado con los factores ambientales (Vitt y Caldwell, 2014).

Existe muy poca información científica sobre la reproducción del lagarto enchaquirado (*H. horridum*), por lo que se analizaron las publicaciones más representativas del Género *Heloderma* los cuales analizan las conductas de reproducción, la relación de las variaciones de las concentraciones hormonales y características histológicas a lo largo de su ciclo reproductivo que permite estimar e identificar el patrón de reproducción.

En un estudio realizado con *H. suspectum* en Arizona E.U.A. en el cual, a través del análisis histológico de los órganos sexuales y el diámetro testicular (orientación hocico-cloaca) se realizó la caracterización del ciclo reproductor e identificaron 4 etapas: espermiogénesis; regresión temprana, regresión tardía y recrudescencia. La

recrudescencia se presentó posterior a la hibernación en el mes de marzo, se caracterizó esta etapa por la ausencia de espermatozoides tanto en testículo como en epidídimo. La etapa de apareamiento coincide con el tamaño mayor tamaño testicular, a nivel histológico se observa espermiogénesis así como presencia de espermatozoides en epidídimo, esta etapa la cual termina en junio. A inicio de junio se presenta la etapa de regresión, se identifica por una disminución en el volumen testicular, y presencia de espermatozoides en epidídimo. Para julio y agosto todos los ejemplares presentan etapa de regresión tardía y el epidídimo se observa sin presencia de espermatozoides. Por último, la recrudescencia testicular se observó de septiembre a noviembre caracterizada por los menores diámetros testiculares y observando a nivel histológico presencia de espermatogonias y algunos espermatozoides primarios. Las etapas correspondientes en el ovario incluyen la ovogénesis, vitelogénesis (deposición de la yema), foliculogénesis lo cual culmina con la ovulación y prosigue la formación de huevo en el oviducto. La deposición de la yema aparentemente se lleva a cabo desde la hibernación, ya que en marzo se observaron algunos folículos, la foliculogénesis se observó durante marzo hasta junio, y la presencia de huevos en el oviducto fue de junio hasta agosto (Goldberg y Lowe, 1997). En ejemplares bajo cuidado humano se ha estimado que el tiempo de incubación oscila de 114 a 152 días (Seward, 1998).

Se han realizado estudios en diferentes épocas del año y latitudes, es así que en ejemplares de *H. horridum* colectados en Sonora se observaron testículos en regresión en los cuales predominaba la presencia de espermatogonias, a nivel epididimario se observó la presencia de espermatozoides, esto durante el mes de agosto, también en agosto pero en el estado de Colima en diferente año observaron testículos en recrudescencia. En Sinaloa se detectó espermiogénesis durante septiembre con presencia de espermatozoides en el epidídimo y túbulos seminíferos. En el estado de Jalisco durante el mes de octubre se reporta espermiogénesis (Goldberg y Beck, 2001).

A principios de verano en Jalisco se han observado crías emergiendo de las madrigueras. Dentro del zoológico Miguel Álvarez del Toro (ZOOMAT) en Tuxtla Gutiérrez, Chiapas se registraron observaciones de combate macho-macho en otoño y una reproducción exitosa de esta especie con posturas de huevos y avistamientos de crías (Ginger *et. al.*, 2005, Beck *et. al.*, 2009). Bajo cuidado humano en la Ciudad de México se han observado algunas conductas reproductoras como el cortejo y cópula en meses de abril y agosto, con ovoposiciones en julio (González-Ruiz *et al.*, 1996).

En ejemplares de *H. charlesbogerti* del Zoológico de San Diego se observaron nacimientos en mayo, con una incubación de 163-164 días. (Owens, 2006). Así mismo se ha observado que las hormonas sexuales presentan altas concentraciones de testosterona (T) durante julio y agosto en machos; mientras que las hembras presentaron valores altos de estradiol (E₂) de agosto a diciembre (Carruth, 2015).

En *H. exasperatum* se ha tenido éxito en la reproducción bajo condiciones de cuidado humano, y con ovoposición, incubación y nacimiento de crías (Radovanovic, 2014).

Si bien se dispone de cierta información sobre la reproducción de las distintas especies de Heloderma, es muy limitada para cada una en específico, además de que los lagartos muestran un patrón reproductivo considerablemente diferente.

Es común que los científicos se contrapongan al estudio las poblaciones silvestres con especies bajo alguna categoría de riesgo porque en los estudios de reproducción usualmente significa sacrificar al animal para evaluar histológicamente las gónadas y determinar así sus patrones reproductivos. En la actualidad se han propuesto análisis menos invasivos como son la determinación de concentraciones de hormonas en excreta para animales donde el manejo provoca mucho estrés y se dificulta por lo tanto medir las concentraciones de hormonas esteroideas en plasma sanguíneo, por ejemplo, en reptiles se han determinado corticosteroides de muestras fecales en la tortuga *Terrapene carolina triunguis* (Rittenhouse *et al.*, 2005), y T, E₂ y P₄ en excretas

de *Chamaeleo calyptratus* (Kummrow, Gilman, *et al.*, 2010; Kummrow, Mastronaco, *et al.*, 2010; Kummrow, Smith, *et al.*, 2010).

Se propone el uso de técnicas no invasivas para el estudio de los ciclos reproductores, un ejemplo son los estudios de imagenología para determinar el desarrollo gonadal mediante monitoreo folicular y la determinación de la ovulación en algunos reptiles, como lagartijas (Martínez-Torres *et al.*, 2006), serpientes (Bertocchi *et al.*, 2018) y aligátos (Lance *et al.*, 2009).

Justificación

El Género *Heloderma* en el territorio mexicano, se distribuye a lo largo de la costa del Pacífico, encontrando la especie *H. horridum* en las zonas centrales del país, en un ecosistema de selva baja caducifolia. Estos sistemas biológicos son reconocidos como el ecosistema más amenazado a nivel mundial. Además de la pérdida del hábitat, factores como el comercio ilegal, una alta mortalidad ocasionada por las personas y sus mascotas como perros y gatos han sido la causa de la disminución del tamaño de sus poblaciones al grado de situarlo la categoría de amenazada por la autoridad federal (NOM-058-SEMARNAT-2010).

A pesar de ser un organismo con características muy particulares dentro de la cadena trófica y con potencial biotecnológico, en México el conocimiento del lagarto enchaquirado sigue siendo insuficiente. Debido a los cambios taxonómicos recientes, actualmente se sabe que existe poca información sobre la reproducción de *H. horridum*, recabar la mayor cantidad de información de la biología de la especie es importante para adecuar los planes de conservación. El monitoreo de los eventos reproductivos que se presentan a lo largo del ciclo de reproducción de ejemplares sexualmente maduros mediante métodos no invasivos ofrece la posibilidad de ajustarlos a algún patrón de reproducción, y establecer la relación que existe entre las conductas reproductivas, el desarrollo gonadal y las variables ambientales y generar información que permitirá el desarrollo de un protocolo para su reproducción bajo

cuidado humano y la posibilidad de predecir las consecuencias que tiene la modificación de las condiciones ambientales sobre las poblaciones de vida silvestre.

Ya que las UMAs son un modelo de conservación de especies silvestres y posibilita la investigación de diferentes aspectos de su biología, constituyen fuentes directas para la generación del conocimiento de aspectos reproductores de las especies. Para ello es importante realizar un aprovechamiento optimizado y sustentable mediante actividades de investigación con el objeto de contar con la información necesaria para mejorar los planes de conservación de las especies que lo requieran.

Objetivos

Determinar el patrón de reproducción que presenta el lagarto *H. horridum* bajo cuidado humano.

Objetivos específicos

Reconocer los eventos reproductores de machos y hembras de *H. horridum* bajo cuidado humano

Analizar las variables ambientales y sociales involucradas en los eventos reproductores de machos y hembras de *H. horridum*.

Hipótesis

La fenología de los eventos reproductores de *H. horridum* es similar a los patrones estacionales de las especies de zonas tropicales con una temporada muy marcada de lluvias.

Material y métodos

Características del confinamiento

Este trabajo se llevó a cabo de septiembre del 2017 a septiembre del 2019 en la UMA intensiva “Herpetario de la Facultad de Ciencia UNAM con la clave DVS-CR-IN-HERP-0006-D,/04 ubicada dentro de la Ciudad de México.

Los animales se colocaron en terrarios de 1.5 m de ancho por 3.5 m de largo, con un gradiente de temperatura y humedad. La zona fría se caracteriza por tener una temperatura de entre 20 y 26 °C y humedad relativa mayor a 70%; la zona cálida presenta temperaturas de entre 27 y 30°C con humedad relativa menor a 50%; y su recipiente de agua tiene temperatura de entre 15 y 19 °C. Además, tuvieron zonas de transición sin embargo no son distinguibles.

Durante los periodos de poca actividad de noviembre a marzo (Beck, 2009), se colocaron a todos los individuos en un solo terrario, posteriormente se mantuvo una relación de 2 hembras y 2 machos, rotando una hembra semanalmente a un terrario individual de 1.5 m por 3 m. Si durante el estudio de ultrasonido se identificaba alguna formación calcárea que pudiese representar un huevo en el oviducto, se separaba esta hembra a un terrario individual.

El fotoperiodo fue natural al de la Ciudad de México.

Material biológico

El estudio se realizó con cinco hembras y cuatro machos de *Heloderma horridum* de más de cuatro años de edad y longitud hocico-cloaca de machos > 22.0 cm; hembras > 23.9 cm asegurando un estadio adulto y reproductivamente activo (Bogert y Martín del Campo, 1956; Goldberg y Lowe, 1997; Beck *et al.*, 2009) (Tabla 1).

A lo largo del estudio se realizó una evaluación de la condición corporal y la observación de las conductas habituales para determinar que los individuos contaban con buenas condiciones de salud (Barten y Simpson, 2019). Se realizó un examen de

hemograma cada 3 meses para descartar enfermedades que pudieran representar una amenaza a la salud y calidad de vida de los individuos.

Medidas somáticas

Las medidas somáticas fueron obtenidas cada mes. Para registrar el peso, los ejemplares, se colocaron en un saco de manta, y pesados en una báscula digital (± 1 g) previamente calibrada, a este resultado se le restaba el peso del costal registrando la diferencia como el peso real de cada individuo.

La longitud corporal se cuantificó con una cinta métrica (± 1 mm) tomando en cuenta la longitud total (LT), longitud hocico-cloaca a (LH-C), longitud cola (LC), ancho de la base la cola (ABC), ancho de la cabeza (AC).

Con las medidas somáticas registradas se obtuvo la tasa de crecimiento mensual, por temporada y por periodo de estudio, para cada individuo.

Tabla de las medidas somáticas iniciales por sexo.						
Sexo	LT (cm)	LH-C (cm)	LC (cm)	ABC (cm)	AC (cm)	Peso (g)
Hembras n=5	64.26 \pm 1.54	37.06 \pm 2.16	27.2 \pm 1.89	2.4 \pm 0.39	5.54 \pm 0.87	982.4 \pm 280.5
Machos n=4	62.5 \pm 10	35.25 \pm 5.12	27.25 \pm 5.07	2.1 \pm 1.4	5.30 \pm 0.38	1000.5 \pm 393.26

Tabla 1 Medidas somáticas iniciales por sexo. La tabla muestra el promedio de las medidas somáticas de la población de Heloderma bajo cuidado humano. Se recomienda que los machos deben tener longitud hocico-cloaca igual o mayor a 22 cm y las hembras mayores a 23.9 para considerarse sexualmente maduros (Bogert y Martín del Campo, 1956; Goldberg y Lowe, 1997 y Beck et al., 2009).

Factores biológicos-nutricionales:

Dieta.- Durante los dos periodos de investigación, a los individuos se les ofreció alimento una vez a la semana en general los días lunes, en ocasiones por las actividades del proyecto como la toma de medidas corporales y la realización de los estudios con ultrasonido, la alimentación se pospuso hasta los días jueves con el fin de dejar un periodo de tiempo posterior al del estrés del manejo, en estas situación se procuró dejar tres días como mínimo.

El alimento siempre se ofreció al inicio de la actividad diaria de los individuos, alrededor de las 18:00 horas. Cada ración de alimento de entre 100 y 150 g consistió de una mezcla de roedores previamente sacrificados y huevos a los que se les removió cualquier resto de materia orgánica del cascaron con jabón libre de fosfatos. Y una vez al mes se les ofreció una ración de 10 g de invertebrados como enriquecimiento. Dentro de la dieta se incluyó huevo de gallina (*Gallus gallus*), codorniz (*Corturnix corturnix*), perdiz (*Perdix perdix*), iguana (*Iguana iguana*), paloma (*Columba livia*), y guajolote (*Meleagris gallopavo*), roedores como ratón (*Mus musculus*) y rata (*Rattus norveicus*), también como algunos invertebrados como grillos (*Acheta domesticus*), zoophobas (*Zophobas morio*) y cucarachas (*Periplaneta americana*, *Gromphadorhina portentosa* y *Blattella germánica*). El alimento se les brindó en recipientes individuales con la finalidad de que todos los individuos tuvieran porciones similares del nuevo régimen (anterior al proyecto los ejemplares se alimentaban únicamente con huevo de gallina). Se registró la cantidad de alimento que consumen y las veces que rechazaron el alimento.

Agua.- Se mantuvo un régimen de disponibilidad de 3 días a la semana durante los meses de diciembre a mayo simulando las condiciones de la selva baja caducifolia en época de secas. Los meses restantes tuvieron disponibilidad ilimitada representando época de lluvias.

Conductas reproductoras y sociales

Uso del terrario. Se realizó un registro del uso de las zonas de los habitáculos disponibles durante las horas de actividad de los individuos 4 veces por semana. Se registró la frecuencia con que se encontraban en cada una de ellas para determinar la preferencia de los organismos a lo largo del año.

Además, se registró la presencia de conductas naturales, como estivación, consumo de alimento y rechazo del mismo.

Para la evaluación de las conductas reproductoras se realizaron observaciones de 4 horas durante las primeras horas del día y 4 horas en horarios crepusculares durante 5 días a la semana, también se registraron las conductas observadas fuera de estos horarios fijos. Para determinar las conductas a estudiar se tomaron como referencia las descritas para *H. horridum* (Beck *et al.*, 2009).

Conductas en machos

Conducta de olfateo: Se observó si el macho detectó a la hembra por medio del olfateo y mostraba interés en ella al permanecer olfateándola durante más de 30 segundos.

Combate macho-macho: conducta de agresión entre machos para demostrar dominancia y acceder a la hembra, se caracteriza por la presencia de diferentes posturas, primero el entrelazado del cuerpo y culmina con postura de puentes.

Conducta de cortejo: es característica en esta conducta que el macho frote la barbilla en diferentes partes del cuerpo de la hembra y pueden llegar a morderle el cuerpo. El macho se postra sobre el cuerpo de la hembra y la sujeta.

Conducta de cópula: Durante la cópula, el macho introdujo alguno de los hemipenes en la cloaca de la hembra, el macho se postró sobre el dorso de la hembra y entrelazó su cola con la de la hembra.

Conductas en hembras

Conducta de olfateo: es similar a la que presentan los machos

Conducta de arrastre del macho: Cuando el macho sube al dorso de la hembra y lo arrastró hacia su refugio.

Cópula: Si la hembra aceptó la cópula, entrelaza la cola con la del macho y presenta un ligero arqueamiento.

Preparación para la puesta: dejaron de consumir alimento, parte de su conducta es buscar lugares estrechos y alejados

Ovoposición: Expulsión de los huevos del oviducto.

Factores físicos y químicos

Se midió la temperatura ($\pm 1^\circ\text{C}$) y humedad relativa ($\pm 1\%$) ambiental con un termohigrómetro digital: cuatro días a la semana, cada día se midieron dos veces, una a las 12:00 am y la otra a las 9:00 pm, este registro de la temperatura y humedad se hizo en lugar donde se encontraba cada uno de los ejemplares en el momento. También se registraron estas variables en un lugar constante dentro de cada zona (zona fría, cálida y agua) del habitáculo. Las horas luz se obtuvieron del registro por la estación biológica de la UNAM.

Evaluación del desarrollo gonadal

Contención física: Siendo el lagarto enchaquirado un animal venenoso, el manejo se realizó cuidando la integridad del personal y de los lagartos. Para realizar este procedimiento fue indispensable contar con un mínimo de dos personas previamente capacitadas, una enfocada a la sujeción de la cabeza y cuerpo (guantes de cuero opcional) mientras la otra tomó la muestra (Guillén *et al.*, 2004; Fowler, 2008). Con el propósito de facilitar la localización de testículos y ovarios se recomienda colocar al animal con el vientre hacia arriba (Fowler, 2008), sin embargo para este estudio se

implementó una mesa con un agujero de tal manera que se colocó al ejemplar sobre su vientre quedando expuesta zona abdominal.

Ultrasonido: Con la finalidad de obtener información de las estructuras reproductoras de manera no invasiva (Rostal *et al.*, 1998; Portelinha *et al.*, 2015), se utilizó un ultrasonido portátil (ALOKA, modelo SSD-500) con un transductor microconvexo (ALOKA, modelo UST-9125-7.5.). En las hembras se registró la presencia, cantidad y tamaño de los folículos o huevos; se utilizaron 4 categorías diferentes para la determinación del desarrollo folicular y formación del huevo de acuerdo a lo registrado para algunas especies de *Heloderma* (Carruth, 2015; Meza-Oviedo *et al.*, 2020).

En el caso de los machos se midieron los diámetros de los testículos, calcular el volumen mediante la fórmula de volumen testicular modificada para testículos pequeños: $L \times W^2 \times 0.59$ (Lin *et al.*, 2009).

Todo el procedimiento se realizó en el menor tiempo posible (menos de 3 minutos) para evitar estresar al individuo (Schuett *et al.*, 2004; Romero y Reed, 2005).

Manejo de datos

Se integró una base de datos con el registro de 45 variables agrupadas en:

VARIABLES SOMÁTICAS: promedio de la LT, promedio de la LH-C, promedio del LC, promedio del ABC, promedio del AC y el promedio del peso en machos y hembras.

VARIABLES ALIMENTARIAS: promedio de consumo de alimento, número de veces de rechazo de alimento, porcentajes de rechazo de alimento en machos y hembras.

VARIABLES AMBIENTALES: humedad ambiental, temperatura ambiental, promedio humedad preferida por machos y hembras, promedio temperatura preferida por machos y hembras.

VARIABLES DE PREFERENCIA DEL HABITÁCULO: zona cálida, zona fría, zona de agua.

VARIABLES DE CONDUCTA SEXUAL: combate, olfateo, cortejo, cópula, arrastre de macho, postura de cópula, preparación para puesta, ovoposición.

VARIABLES DE ACTIVIDAD GONADAL Y OVIDUCTAL: promedio de volumen testicular, número de folículos previtelogénicos, número de folículos vitelogénicos, número de folículos atrésicos, número de huevos.

Análisis estadístico

Para cada variable se calculó un promedio mensual y posteriormente con el programa NCSS y GESS 2006 (Hintze, 2007) una matriz de correlación por medio de correlación de Pearson; todas las variables registradas tuvieron una $n=11$ y las correlaciones que se consideraron fueron únicamente las que cumplían con valores de significancia $p \leq 0.05$ ($r > r_{\text{tablas } \alpha 5\%} = 0.602$).

La variación de consumo de alimento por periodo, sexo y temporada de actividad; uso de las zonas del terrario de machos y hembras y la variación estacional se evaluaron mediante un análisis de varianza y la prueba *post hoc* no paramétrica de Kruskal-Wallis.

La variación entre las variables somáticas entre sexos y el crecimiento entre periodos se evaluó mediante una prueba de T dos colas.

La diferencia por periodos de estudio del uso de las zonas del terrario se analizó mediante una Chi-cuadrada.

La variación mensual del volumen testicular se analizó con un análisis de varianza y la prueba *post hoc* de Tukey-Kramer.

Se registró la frecuencia mensual de conductas reproductoras.

Resultados

Los resultados se describen en dos periodos de observación, en el primero se consideran los meses de octubre 2017 a septiembre 2018 y en el segundo periodo de octubre 2018 hasta septiembre 2019. El primer periodo se caracterizó por la movilización de los lagartos hacia los nuevos terrarios, ya que se tuvieron que restablecer los hábitaculos, este periodo de transición fue de un año, en el cual se permitió que los animales tuvieran un tiempo de aclimatación prolongado. Mientras tanto durante segundo periodo, se observaron los cambios generados por múltiples factores ambientales y alimentarios en los organismos; durante este periodo de estudio a su vez también se presentaron periodos tanto de actividad como de inactividad.

Factores biológico-nutricionales

Crecimiento

Al comparar machos y hembras se observó que no mostraban diferencias significativas entre las variables somáticas de acuerdo a la prueba de T (LT $t=0.344$, $p= 0.75$; LC $t=0.01$, $p=0.98$; ABC $t=1.58$, $p= 0.17$; AC $t=0.54$ $p= 0.6$; peso $t=0.07$, $p= 0.94$). Las medidas somáticas con mayor variabilidad fueron el peso tanto en hembras como machos (coeficiente de variación de peso para hembras 28.5%; coeficiente de variación de peso para machos 39.3%) y el ABC con mayor variabilidad en machos (coeficiente de variación en hembras 16.2%; coeficiente de variación en machos 66.6%); mientras que en otras medidas somáticas tuvieron valores menores al 18.6%.

Durante el primer periodo los individuos incrementaron en talla y peso, de acuerdo con la longitud total, tanto machos como hembras crecieron entre 5 y 7 % de su longitud total inicial, en el parámetro de ancho de la base de cola tuvieron un crecimiento de entre 13 y 17% y en peso de 6 a 9%, el parámetro con menos crecimiento relativo registrado fue el ancho de la cabeza, menor al 2 % (tabla 2).

En el segundo periodo los machos y las hembras crecieron entre 8 y 9 % de su longitud total inicial, al analizar el ancho de la base de cola se observó que tuvieron un

crecimiento de entre 25 y 45% y en peso de 8 a 19%, además se registró un crecimiento relativo de entre 8 y 10% en el ancho de la cabeza (tabla 2). Es durante este periodo que se observaron oscilaciones en el peso y el ancho de la base de la cola a lo largo de los meses, aumentando su peso y ancho de la cola durante los meses de septiembre a noviembre y disminuyendo de diciembre hasta febrero, en los meses posteriores volvieron a incrementar estos parámetros. Únicamente se encontraron diferencias significativas entre periodos en el crecimiento de LH-C y ABC de los machos (tabla 2).

Periodo	Sexo	Crecimiento LT (cm)	Crecimiento LH-C (cm)	Crecimiento LC (cm)	Crecimiento ABC (cm)	Crecimiento AC (cm)	Peso (g)
1°	Hembra n=5	3.5 ± 0.73	0.92 ± 0.18	2.58 ± 0.87	0.38 ± 0.08	0.02 ± 0.06	63.20 ± 33.31
2°	Hembra n=5	5.58 ± 1.53	2.72 ± 1.97	2.96 ± 2.24	1.24 ± 1.44	0.52 ± 0.58	255.2 ± 292.3
Valor de T test		t=2.41 p=0.072	t=1.98 p=0.117	t=0.30 p=0.773	t=1.34 p=0.249	t=1.95 p=0.121	t=1.42 p=0.226
1°	Macho n=4	3.8 ± 0.79	0.85 ± 0.33	2.95 ± 0.6	0.28 ± 0.05	0.1 ± 0.1	75.75 ± 33.63
2°	Macho n=4	5.88 ± 3.85	3.68 ± 1.34	2.20 ± 2.74	1.66 ± 0.72	0.62 ± 0.58	100.75 ± 226.63
Valor de T test		t=1.13 p=0.331	t=3.9 p=0.029*	t=0.58 p=0.374	t=3.91 p=0.005*	t=2.44 p=0.092	t=0.24 p=0.824

Tabla 2. Crecimiento corporal de Heloderma horridum por periodo de investigación y por sexo. Se incluyen las medidas somáticas de longitud total (LT), longitud hocico-cloaca (LH-C), longitud cola (LC), ancho de la base la cola (ABC), ancho de la cabeza (AC). El primer periodo muestra el crecimiento con respecto al inicio del experimento y el crecimiento del segundo periodo con respecto al final del primer periodo. Los valores de significancia de la prueba de T test de dos colas muestran la diferencia del crecimiento de las variables somáticas entre los dos periodos de investigación, los asteriscos () muestran los valores con diferencias significativas a $p \leq 0.05$.*

Consumo de alimento

Durante el primer periodo los animales ingirieron alimento todos los meses, a diferencia del segundo periodo en cual tuvieron unos meses donde no ingirieron alimento. En promedio durante el primer periodo cada individuo consumió entre 3600.8 ± 338.8 g en hembras y 3934.2 ± 244 g en machos, y durante el segundo periodo la ingesta disminuyó a 3184.2 ± 809 en hembras y 3386 ± 311.7 g en machos. Sin embargo, el análisis de varianza y una prueba *post hoc* de Kruskal-Wallis ($H=6.121$; $p=0.105$) no mostró diferencias significativas (Fig. 1).

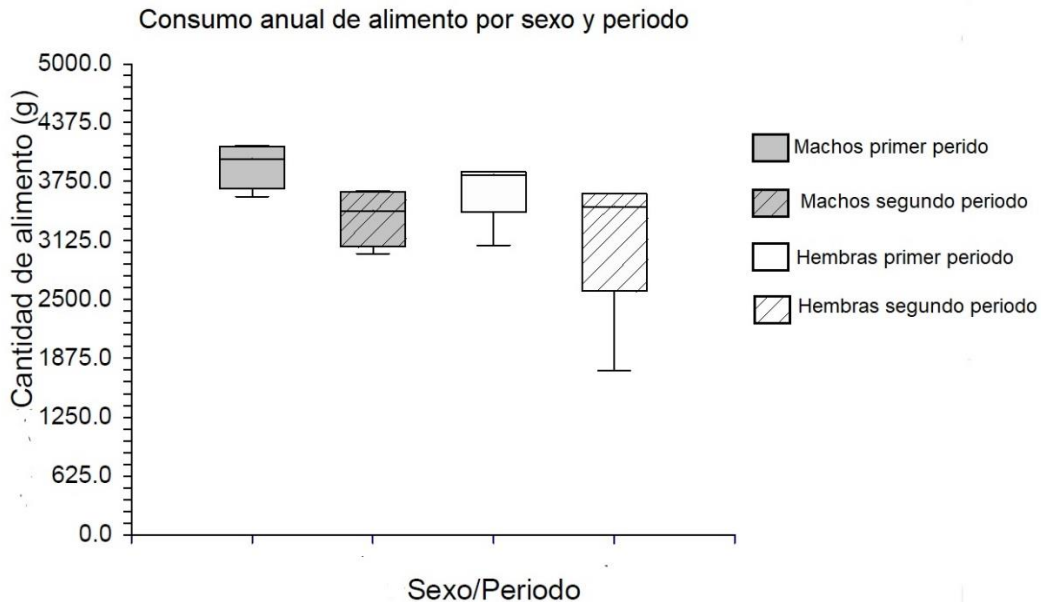


Figura 1 Se muestra la mediana del consumo de alimento anual por individuo durante los diferentes periodos de estudio, separado por sexos.

El consumo de alimento también se analizó por temporada de actividad, mostrando diferencias significativas respecto al momento de inactividad durante el segundo periodo (Fig. 2).

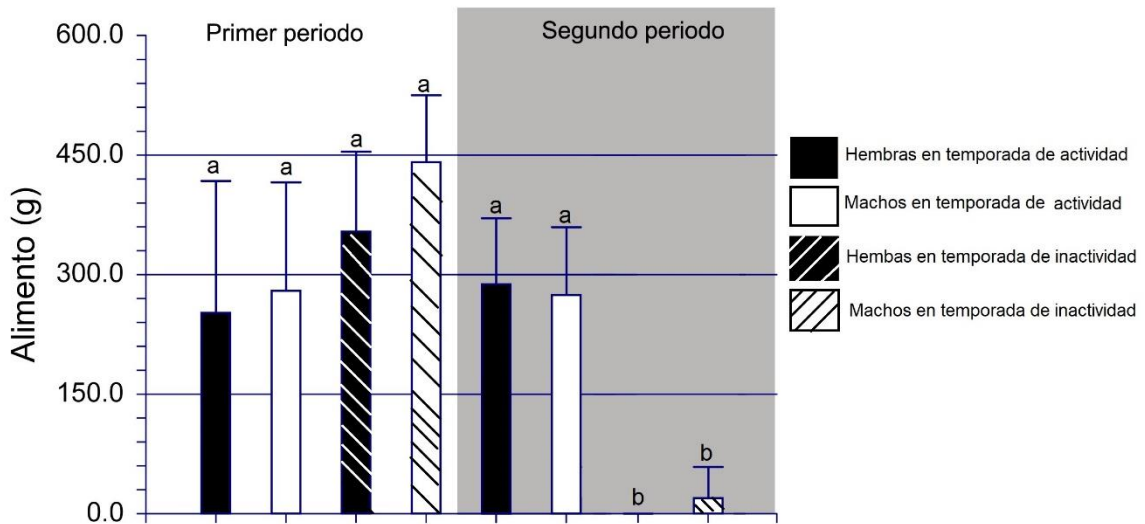


Figura 2 Consumo de alimento por periodo de investigación, sexo y temporada de actividad. Representa el promedio y error estándar del consumo para machos y hembras. Las letras diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) con análisis de varianza y una prueba *post hoc* de Kruskal-Wallis $H= 24.596$; $p=0.0008$.

Durante el segundo periodo tanto las hembras como los machos tuvieron temporada de ayuno durante los meses de diciembre a febrero y con mayor ingesta de alimentos durante los meses posteriores. Después del ayuno los machos iniciaron la ingesta de alimento durante el mes de marzo, a diferencia de las hembras que comenzaron su ingesta a partir de abril. En ambos sexos, el mes de mayo fue el periodo con mayor cantidad de alimento ingerido (Figs. 3 y 4).

El porcentaje de rechazo indica el número de veces en que el animal no ingirió alimento o lo regurgitó, esto también indica los periodos durante los cuales los individuos no mostraban motivación para buscar el alimento, por lo general los ejemplares respondían al estímulo del alimento entre las 17:00 y 20:00, y se les retiraba antes de que sobrepasaran las 24 horas. El mayor porcentaje de rechazo de alimento se presentó en ambos sexos en el periodo de diciembre a marzo y el menor rechazo lo presentaron en mayo (Figs. 3 y 4).

En las hembras se encontró una correlación positiva entre el promedio de alimento y las variables de humedad ambiental ($r= 0.671$, $p=0.023$, $r^2=45\%$) y el promedio de humedad preferida por las hembras ($r= 0.732$, $p=0.01$, $r^2=53.5\%$); sin embargo, también se observaron tendencias con el aumento de temperatura ambiental ($r= 0.595$, $p=0.05$, $r^2=35.4\%$) y temperatura preferida ($r= 0.504$, $p=0.113$, $r^2=25.4\%$).

En el caso del alimento consumido por los machos se encontró correlación con la humedad ambiental ($r= 0.6870$., $p=0.0192$, $r^2=47\%$), temperatura ambiental ($r= 0.622$, $p=0.040$, $r^2=39\%$), humedad preferida por los machos ($r= 0.710$, $p=0.014$, $r^2=50\%$), y tendencia con la variable de temperatura preferida por los machos ($r=0.532$, $p=0.092$, $r^2=28\%$).

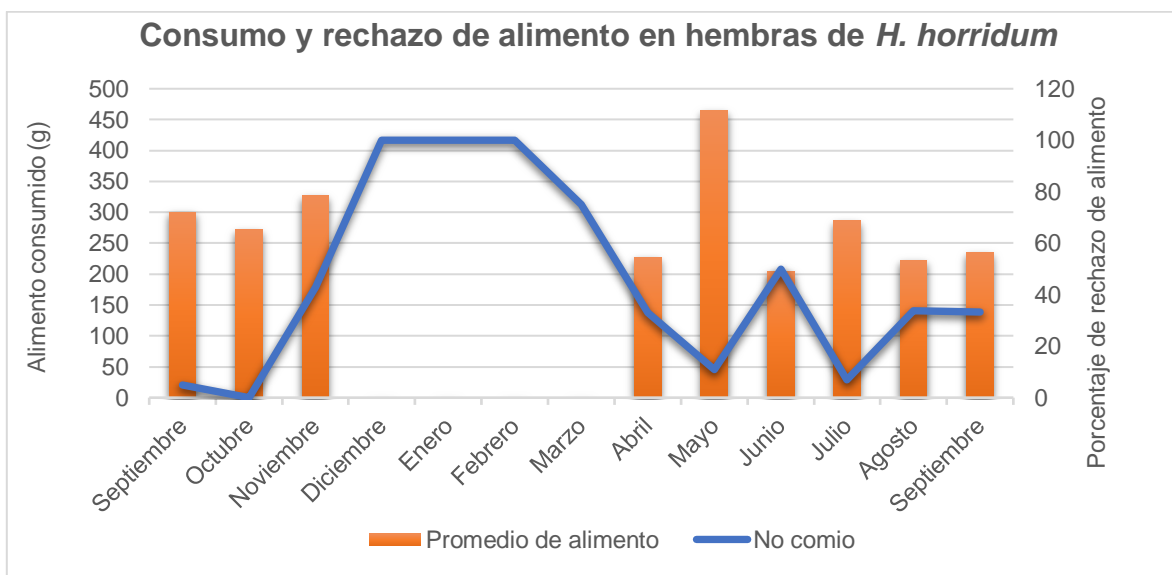


Figura 3 Consumo y rechazo de alimento en hembras de H. horridum. A lo largo del segundo periodo se midió la cantidad de alimento que ingerían las hembras representado el promedio en las barras, y el porcentaje de las veces que no aceptaron o rechazaron el alimento representado con la línea.

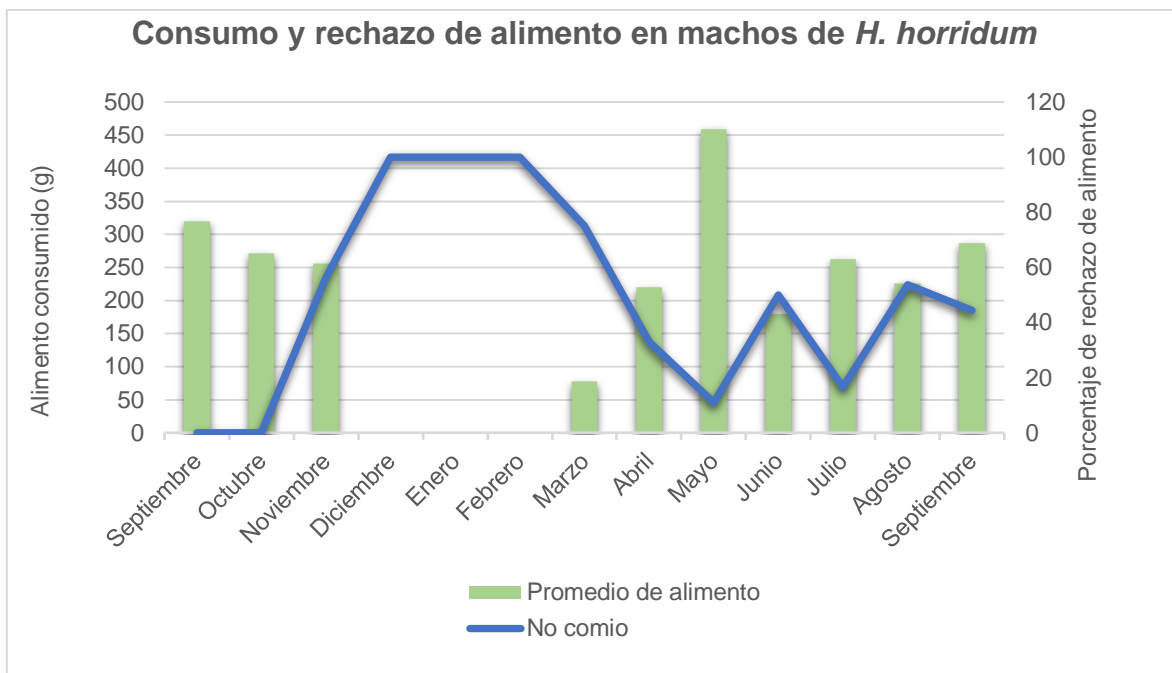


Figura 4 Consumo y rechazo de alimento en machos de *H. horridum*. A lo largo del segundo periodo se midió la cantidad de alimento que ingerían los machos representado el promedio en las barras, y el porcentaje de las veces que no aceptaron o rechazaron el alimento representado con la línea.

Conductas sociales y reproductoras

Hábitos sociales

Exploración de terrario: Durante el primer periodo de la investigación se observaron tendencias de uso del habitáculo inusuales, es decir hembras (DF=33, MSE=6.136, valor crítico= 3.4) y machos (DF=33, MSE=2.078, valor crítico: 3.47) mostraron una preferencia marcada hacia una sola zona del habitáculo (zona cálida) durante casi todo un año (octubre 2017- septiembre 2018), sin embargo, en el siguiente periodo (octubre 2018-septiembre 2019) las hembras mostraron una preferencia hacia la zona fría (DF=36, MSE=4.11, valor crítico=3.45) los machos frecuentaron las diferentes zonas térmicas del habitáculo sin mostrar una preferencia en particular por alguna de ellas (DF:36, MSE:3.307, valor crítico:3.45) indicando que hubo una mayor exploración por todas las zonas del habitáculo (Fig. 7).

Estivación

A pesar de que los organismos se mostraron aletargados, durante el primer periodo no se observó la presencia de estivación (Fig. 5).



Figura 5. Durante el segundo periodo de estudio se observa la conducta de estivación, durante este periodo los ejemplares permanecieron agrupados sin importar el sexo en la zona fría, poco iluminada y con humedad relativa de entre 40% y 60%.

Fue hasta el segundo periodo de estudio que se presentó la inactividad y agrupación de los ejemplares, esto indicó el periodo de estivación que inició a finales de noviembre y terminó a principios de febrero (Fig. 6).

Figura 6. Se muestra la presencia de la conducta de estivación de todos los individuos durante el segundo periodo del trabajo (octubre 2018-junio 2019).



A lo largo del segundo periodo, machos y hembras frecuentaron más las zonas frías entre noviembre y marzo, posteriormente las hembras volvieron a buscar zonas frías de agosto a octubre. Es notorio que las zonas cálidas no fueron ocupadas durante los meses de noviembre, diciembre y enero; en el periodo de abril a septiembre se observó que ambos sexos pasaban más tiempo en las zonas cálidas del terrario (Fig. 8).

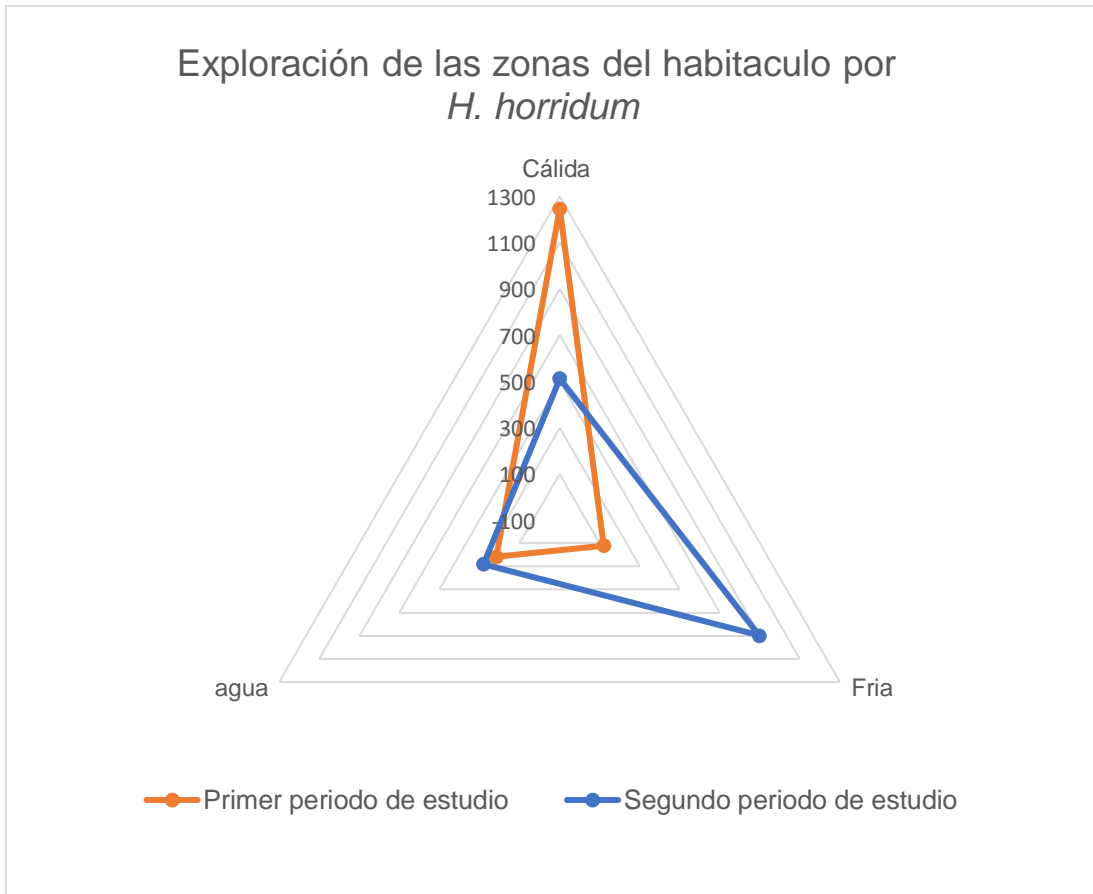


Figura 7. En la figura se puede observar un cambio en la exploración de las zonas del terrario durante los 2 periodos ($\chi^2=934.60$, Gl 2, coeficiente de contingencia= 0.007)

Durante el primer período (línea anaranjada) existe una clara preferencia de los lagartos enchaquirados hacia la zona cálida del habitáculo. Mientras que durante el segundo período (línea azul) la preferencia hacia una zona ya no es tan marcada, sin embargo, frecuencia de los individuos se inclina hacia una zona fría.

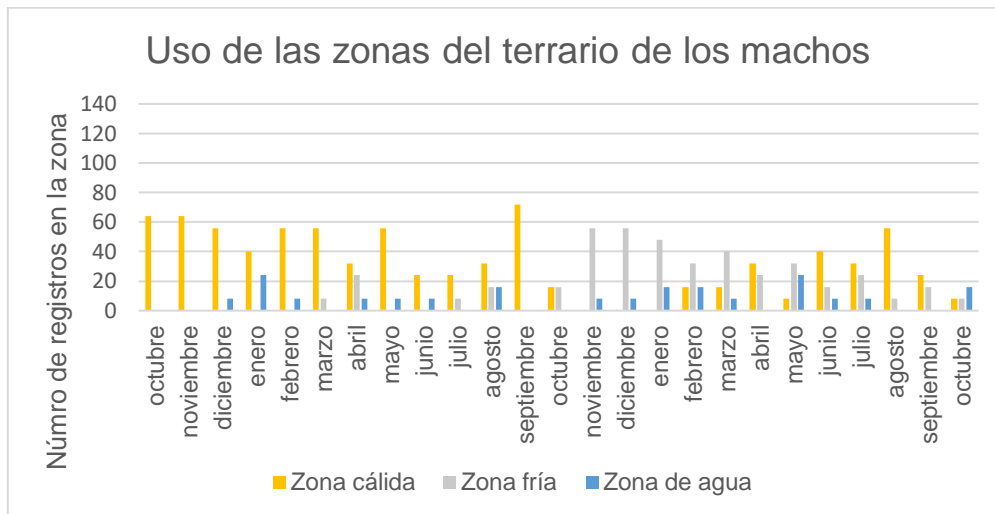
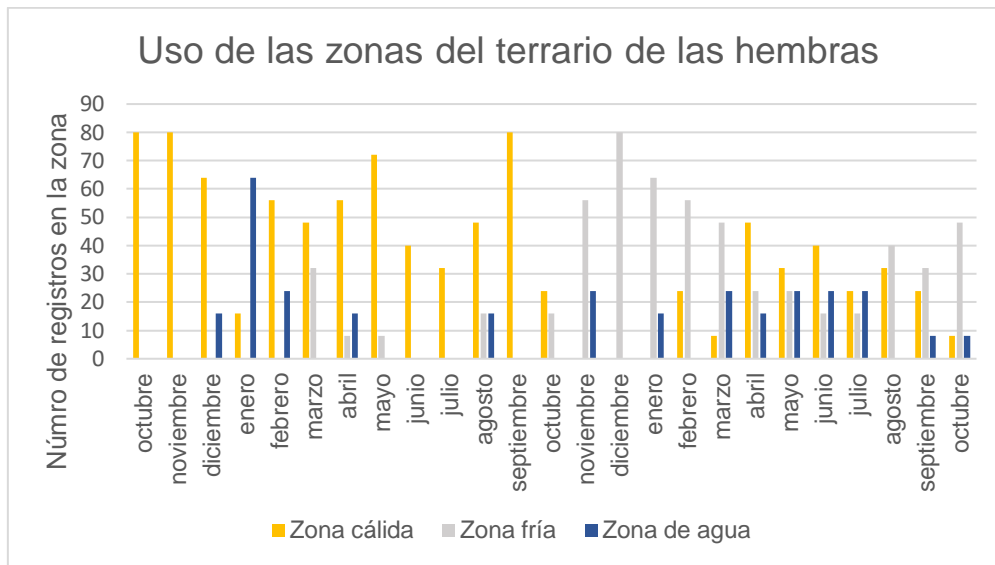


Figura 8 Uso de las zonas del terrario por parte de hembras y machos a lo largo de los dos periodos de estudio que comprende octubre 2017- octubre 2019. En esta figura se puede observar el cambio en la exploración de las zonas del terrario, donde tanto en machos como en hembras hubo una preferencia hacia la zona cálida durante el primer periodo. Durante el segundo periodo existen preferencias divididas hacia las diferentes zonas del terrario en ambos sexos.

Conductas reproductoras

Durante el primer periodo no se presentaron conductas de reproducción en ninguno de los sexos.

La presencia de conductas reproductoras se pudo observar hasta el segundo periodo. A continuación, se describen algunas características de los eventos que ocurrieron durante las conductas reproductoras observadas.

Olfateo con el sexo opuesto: Al colocar un macho en los habitáculos de las hembras en ocasiones mostró interés al olfatear a la hembra con la acción de la lengua, este olfateo tuvo una duración que fue desde unos segundos hasta minutos, no se cronometraron todos los eventos, pero por lo general no fueron superiores a los 15 minutos (Fig. 9).



Figura 9 Conducta de olfateo del macho a la hembra en H. horridum, éste utiliza su lengua para identificar olores mediante el órgano vomeronasal que se encuentra en la parte superior del paladar.

Combate macho-macho: Conducta de agresión entre machos, es un ritual donde se pretende derribar al adversario para mostrar dominancia y tener acceso a la hembra, durante estos eventos se manifestaron conductas de agresión con sonidos similares a resoplidos, en ocasiones se observó que uno de los machos era indiferente a las señales de agresión al no responder a este tipo de conductas. Sin embargo, en otras ocasiones ambos ejemplares respondieron los resoplidos y se acercaban respondiendo a la agresión. Una vez que se encontraban físicamente cercanos, iniciaban el ritual de combate, este consta de diferentes posturas donde se entrelazan con los cuerpos y culmina en una pose similar a un puente donde ambos se arquean apoyándose en sus colas, rostro y extremidades anteriores intentando derribar al adversario, esta conducta puede durar varios minutos, incluso hasta un tiempo mayor a 120 minutos (Figs. 10 y 11).



Figura 10 Conductas de agresión entre machos.

En la imagen superior se muestra una postura inicial donde se presentaron resoplidos de agresión o advertencia, posteriormente se confrontan y culminan en una postura similar a un puente hasta que uno de los dos es derribado como en la imagen inferior (imagen .modificada de Beck y Ramírez Bautista, 1991)

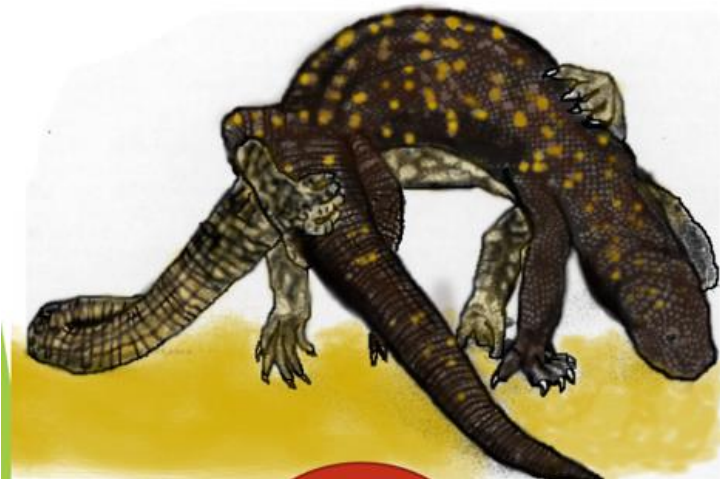




Figura 11 Lesión de piel generada durante el combate macho-macho en la parte frontal junto a la fosa nasal.

Cortejo: Durante este evento, los machos frotaron el cuerpo de las hembras con sus barbillas, llegando en ocasiones a darles mordidas en el cuello, esto lo hacen mientras se postran sobre el cuerpo de las hembras y las sujetan con las 4 extremidades desde la parte dorsal de ésta (Fig. 12).



Figura 12 Se observa como durante el cortejo, el macho sujeta a la hembra por la parte del dorso y frota su barbilla en gran parte del cuerpo de la hembra. En este momento la hembra puede arrastrar al macho hasta su refugio (acarreo del macho).

Cópula: Durante la cópula, el macho introduce alguno de sus hemipenes por la cloaca de la hembra. Esta conducta se prolonga por algunas horas, durante esta conducta el macho se postró sobre el dorso de la hembra y entrelazan sus colas (Fig. 13).



Figura 13 Durante la cópula, el macho sujetó a la hembra con las extremidades superiores e inferiores, a pesar de que en primera instancia se evierten ambos hemipenes durante la cópula solo el hemipene introducido permaneció evertido.

Conducta de olfateo: En las hembras se registraron conductas de olfateo, la cual es similar a la de los machos.

Arrastre de macho: Se presenta cuando el macho sube al dorso de la hembra, la hembra puede agredir al macho cuando éste presenta esta conducta, si lo acepta la hembra lo arrastra hacia un refugio o hacia la zona de cópula, en muchas ocasiones la hembra terminó huyendo o el macho no logró llegar hasta el refugio de la hembra (Fig. 14).



Figura 14 El macho se postró sobre la hembra y esta lo arrastró unos metros sin embargo se detuvo la conducta de cortejo como consecuencia de un factor externo y no prosiguió a cópula.

Postura de cópula: Durante el cortejo la hembra puede rechazar al macho con agresión o puede mostrarse receptiva para cópula, si es receptiva se postra sobre el sustrato y se entrelaza la cola con la del macho, es característica de esta conducta la presencia de un ligero arqueamiento.

Preparación para la puesta: Cuando las hembras que están listas para ovopositar suelen dejar de alimentarse y buscan lugares estrechos, oscuros y alejados de los estímulos visuales (como la presencia del personal y otros *Heloderma*), esta conducta debe relacionarse con el desarrollo de la gestación dada la preferencia de los lagartos a lugares similares.

Ovoposición: La hembra expulsó los huevos que mantiene en el oviducto, puede ovopositar todos en un solo evento o ser intermitente, se observó que una hembra expulsó un huevo cada dos días en tres puestas (Fig. 15).



Figura 15 Primera ovoposición de una hembra de Heloderma horridum. Del lado izquierdo se observa que uno de los huevos fue puesto en un lugar poco favorable el cual fue aplastado por el mismo cuerpo de la madre. Y del lado derecho uno de los huevos puestos bajo el sustrato de hojarasca.

El peso promedio de los huevos ovopositados fue de 3 ± 1 g.

Las conductas reproductoras en machos, los combates macho-macho o de agresión se pudieron observar a lo largo del periodo de actividad, presentándose un máximo de avistamientos de junio a octubre. En la conducta de olfateo hacia el sexo opuesto también se observaron las frecuencias mayores entre junio y octubre. Se observaron pocos eventos de cortejo y cópula los cuales se presentaron desde mayo hasta agosto (Fig. 16).

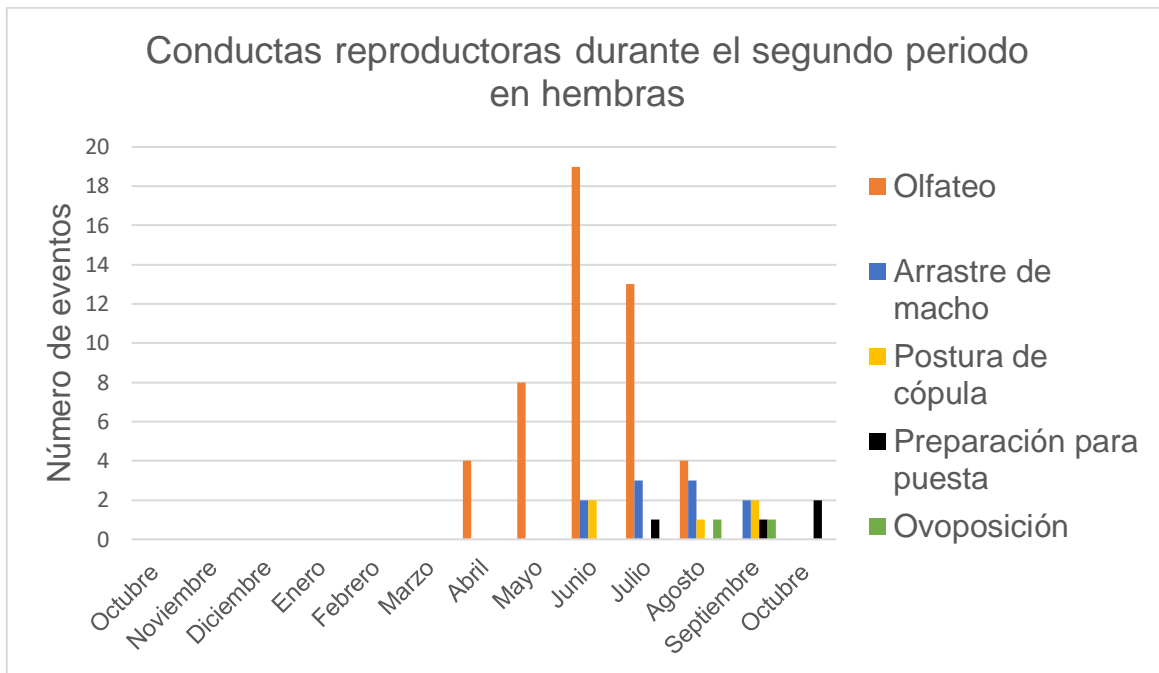


Figura 16 Conductas reproductoras durante el segundo periodo en hembras. Se muestra el número de eventos registrados mensualmente de cada conducta de reproducción durante el periodo de octubre 2018 a octubre del 2019.

Durante el estudio, las conductas sexuales de las hembras se observaron a partir del mes de mayo hasta septiembre. La primera conducta que se presentó fue la del olfateo iniciando en abril la cual mostraron con mayor frecuencia durante junio y julio, la conducta de arrastre se presentó hasta junio, durante julio se pudo observar una conducta de preparación para la ovoposición en un ejemplar, y a finales de septiembre comenzó la postura de los huevos. Algunas hembras presentaron las conductas de preparación de puesta en octubre (Fig. 17).

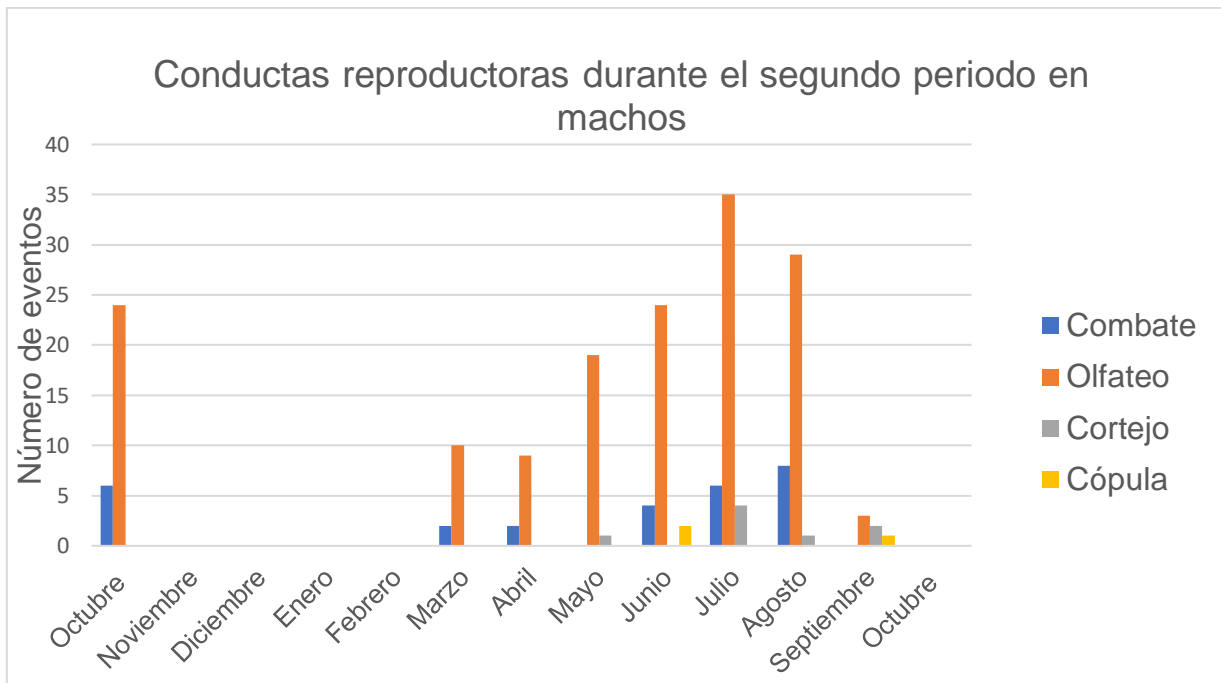


Figura 17 Conductas reproductoras durante el segundo periodo en machos. Se muestra el número de eventos registrados mensualmente de cada conducta de reproducción durante el periodo de octubre 2018 a octubre del 2019.

Desarrollo de las estructuras sexuales

Desarrollo folicular

Folículos previtelogénicos: menores de 1 cm de diámetro y con una apariencia esférica y oscura, ya que las ondas de sonido pasan a través del folículo haciéndolos anecoicos (Fig.18).

Folículos vitelogénicos: mayores de 1 cm de diámetro con una apariencia esférica y ligeramente granular, la presencia del vitelo refleja las ondas sonoras dándole una apariencia luminosa o ecoica (Fig. 19).

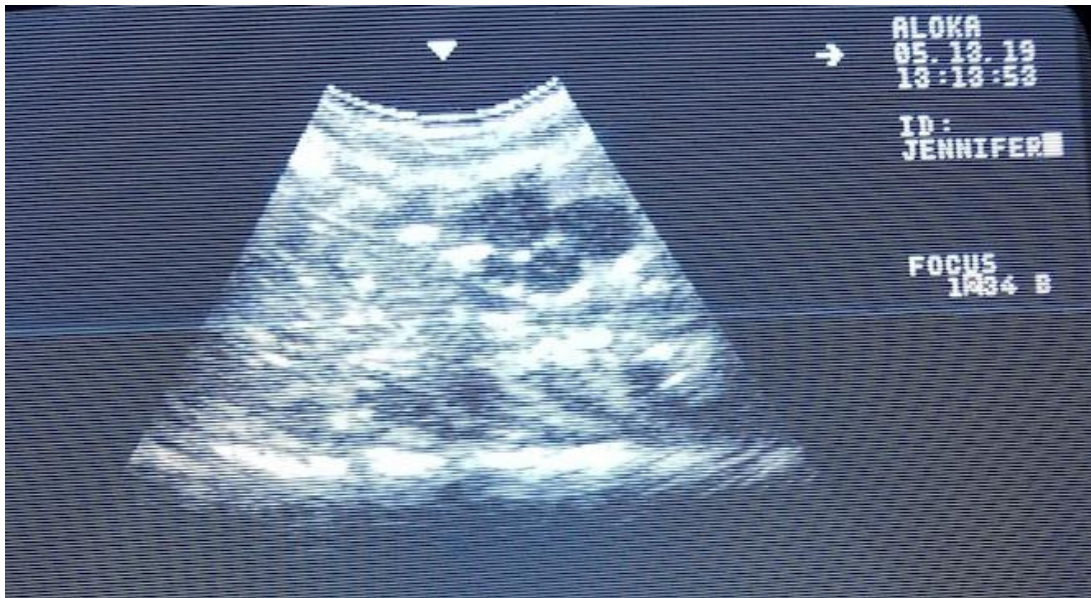


Figura 18 Imagen con ultrasonido de la zona ventral de *H. horridum*. Se muestra una imagen general del ovario derecho con algunos folículos previtelogénicos de apariencia anecoica.

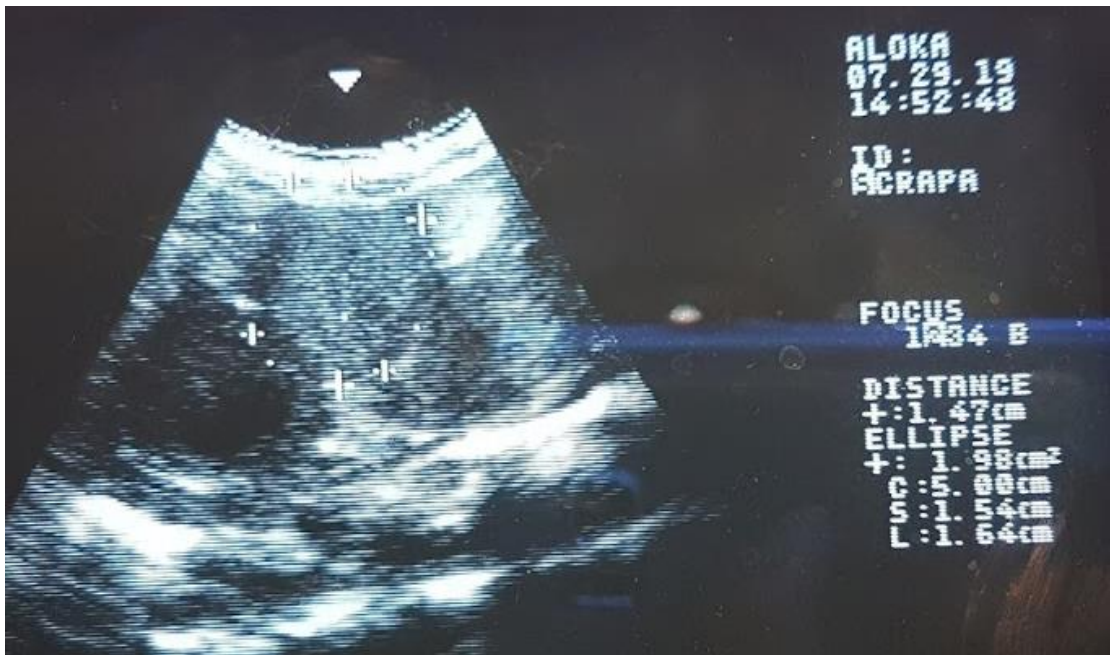


Figura 19 Imagen con ultrasonido de la zona ventral de *H. horridum*. Se muestra una imagen del ovario derecho con algunos folículos vitelogénicos de apariencia ecoica.

Huevos: mayores a 2 cm se pueden observar esféricos o ligeramente ovalados contorneados por una línea brillante o ecoica lo cual corresponde al desarrollo de cascarón y algunos depósitos de líquido, que se caracterizan por ser anecoicos (Fig. 20).

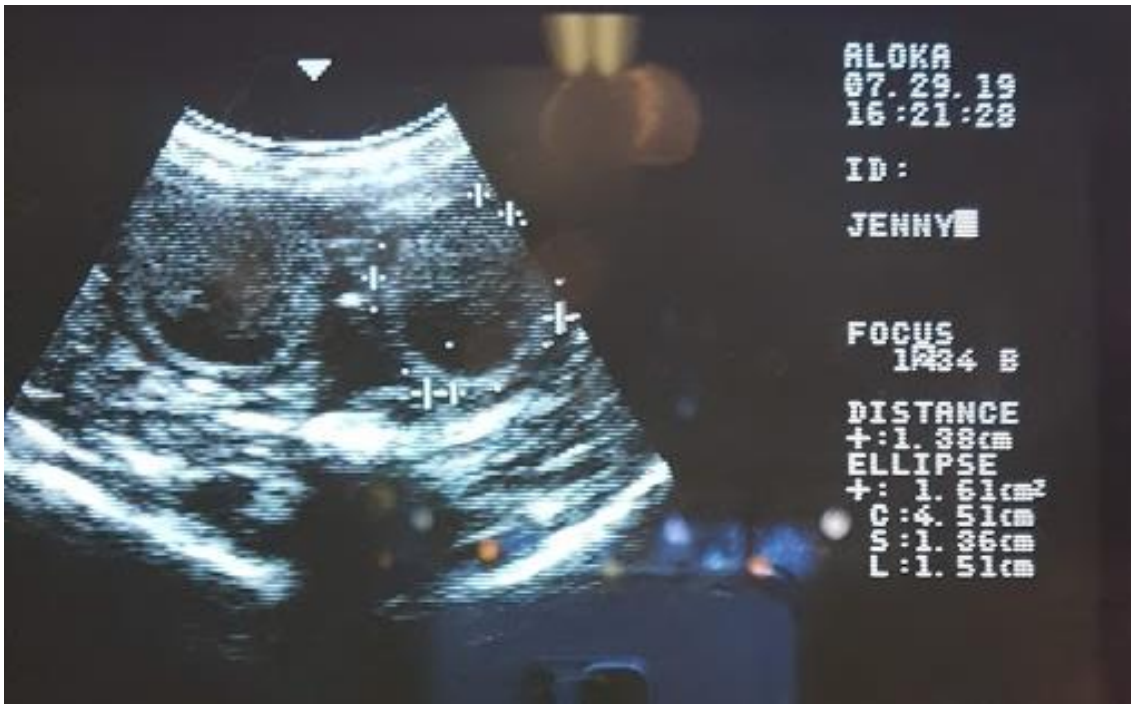


Figura 20 Imagen con ultrasonido de la zona ventral de H. horridum. Se aprecia una estructura ligeramente ovalada con el contorno predominante ecoico indicado una formación calcárea, además de una zona anecoica dentro del perímetro que indica una cavidad con fluido.

Folículos atrésicos: mayores a 2 cm se observan anecoicos y difusos o deformes (Fig. 21).

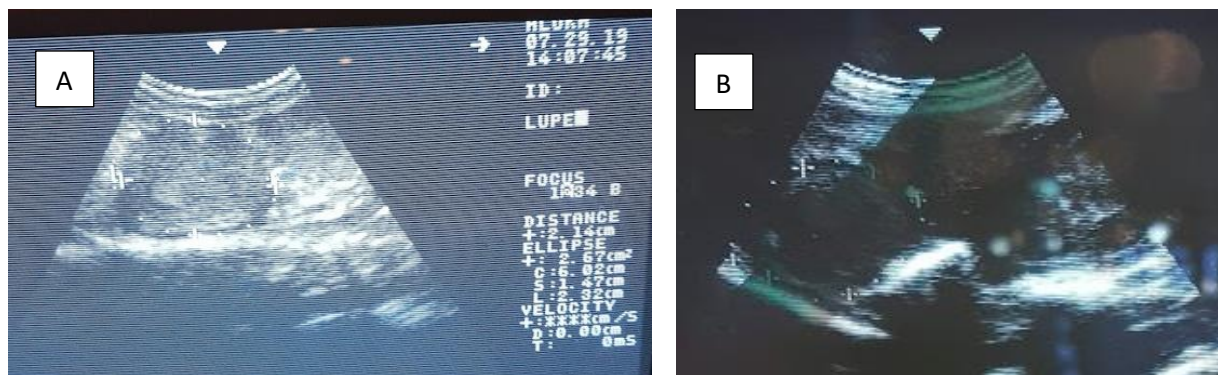


Figura 21 Imagen con ultrasonido de la zona ventral de H. horridum. Se aprecian dos folículos anecoicos con más de 2 cm de diámetro. La imagen A aún presenta zonas ecoicas y un contorno anecoico, en zonas es difuso y amorfo, por lo que puede estar en una etapa temprana de atresia. En la imagen B se nota en casi su totalidad anecoico lo que podría indicar etapa de atresia tardía.

Al realizar el ultrasonido en el 75% de las ocasiones se observó actividad preferentemente en el ovario derecho y 25% en el izquierdo marcando una clara bilateralidad funcional.

La mayor actividad reproductora se presentó en los meses de abril a junio al encontrarse folículos previtelogénicos y vitelogénicos, observándose en mayor cantidad los folículos previtelogénicos; la ovoposición inició en el mes de agosto. Los folículos atrésicos se pudieron observar principalmente en los meses de noviembre diciembre y enero, aunque hubo presencia de éstos en el último mes de muestreo (septiembre 2019). Los huevos se pudieron apreciar a partir de julio, la mayor cantidad de ellos se observó en septiembre del 2019 (Tabla 3). En la puesta de agosto se obtuvieron huevos fértiles y bien formados de una sola hembra; en septiembre se llegó a presentar la puesta de 8 huevos por otra hembra caracterizados por un desarrollo incompleto y uno mal formado el cual se percibía en estado de descomposición por su coloración y olor.

En la matriz de correlaciones se observó una relación positiva entre la cantidad de folículos previtelogénicos y el número de ovoposiciones ($r=0.635$, $p=0.035$, $r^2=40.3\%$).

La cantidad de folículos atrésicos y el rechazo de alimento por parte de las hembras ($r=0.657$, $p=0.027$, $r^2=43.1\%$), con la preferencia a la zona fría ($r=0.759$, $p=0.006$, $r^2=57.6\%$), una correlación negativa con la humedad promedio de preferencia de las hembras ($r=-0.641$, $p=0.033$, $r^2=42.1\%$) así como con el olfateo por parte de los machos ($r=-0.689$, $p=0.019$, $r^2=47.4\%$). La cantidad de huevos se correlacionó con el valor promedio de la LT de las hembras ($r=0.803$, $p=0.747$, $r^2=64.4\%$), el promedio de la LC de las hembras ($r=0.751$, $p=0.317$, $r^2=56.4\%$), el promedio del ABC de las hembras ($r=0.852$, $p=0.751$, $r^2=72.5\%$), una correlación negativa con la preferencia hacia la zona fría ($r=-0.631$, $p=0.971$, $r^2=39.8\%$); y correlación positiva con variables de conducta sexual como la preparación para la puesta ($r=0.651$, $p=0.029$, $r^2=42.3\%$) y con la ovoposición ($r=0.720$, $p=0.012$, $r^2=51.8\%$).

Desarrollo folicular y presencia de huevo en oviducto de <i>H. horridum</i> .					
Mes/ (n)	Cantidad total de folículos	Folículos			Huevos
		Previtelogénicos	Vitelogénicos	Atresia temprana	
Septiembre (5)	16	5	11	0	0
Octubre (5)	19	1	18	0	0
Noviembre (5)	15	3	12	4	0
Diciembre (5)	16	1	7	8	0
Enero (5)	15	2	5	8	0
Abril (5)	25	21	4	0	0
Mayo (5)	22	20	2	0	0
Junio (5)	44	27	17	0	0
Julio (5)	11	5	6	0	2
Agosto (4)	4	3	1	0	7
Septiembre (4)	8	1	5	2	11

Tabla 3 Desarrollo folicular y presencia de huevos en el oviducto de H. horridum durante el último mes del primer periodo (septiembre) y todo el segundo periodo de estudio. Se muestra el número de folículos y sus estadios que se encontraron en los ovarios; además, la presencia de huevos en el oviducto. El número (n) en los meses significa la cantidad de hembras que fueron muestreadas.

Desarrollo testicular

Se calculó el volumen testicular de ambos testículos, pero solo se muestra el promedio del volumen del testículo derecho ya que en algunas ocasiones no se registró el volumen de testículo izquierdo debido a que se evitó un manejo excesivo de los individuos. Los testículos están localizados en la cavidad abdominal cercanos a los riñones, por su ubicación en ocasiones fue difícil detectarlos por lo que se requirió de mayor tiempo de manejo de los ejemplares. Los testículos en el ultrasonido se observan ecoicos con un contorno predominantemente circular, y en ocasiones ovalados (Fig. 22).

El volumen testicular mostró cambios significativos a lo largo del año ($F=22.07$; $p<0.001$), con un pico durante los meses de mayo, junio y julio. El incremento del volumen testicular nos indica que la actividad gonadal se incrementó desde el inicio de enero, a diferencia de las hembras en quienes la actividad gonadal se incrementó en mayo y decreció en agosto (Fig. 23).

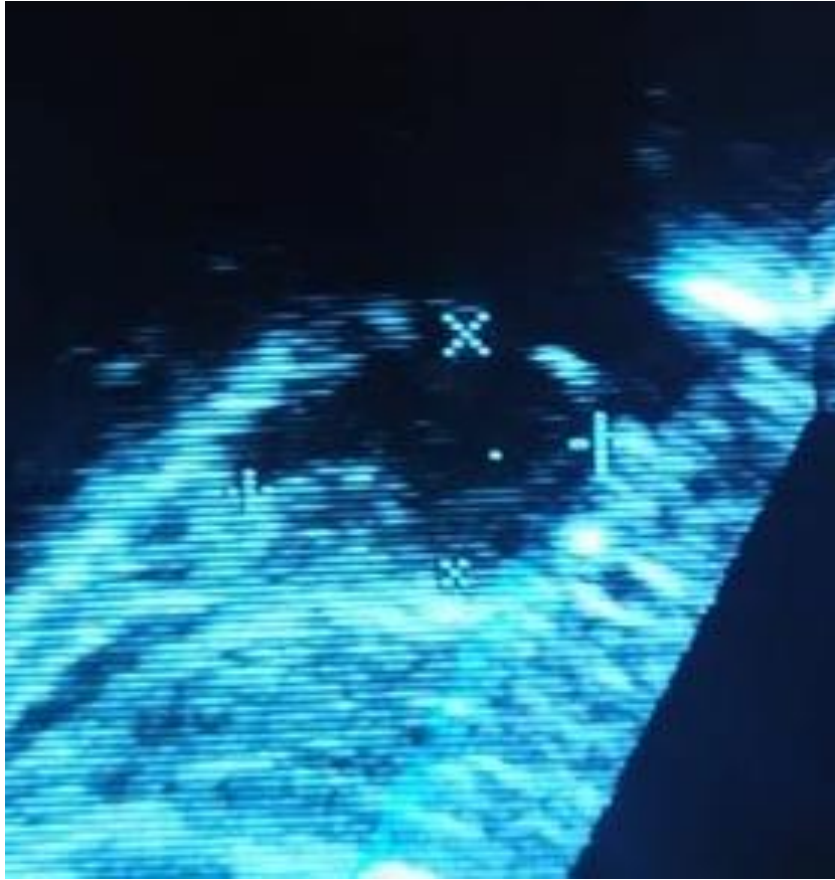


Figura 22 Imagen del ultrasonido del testículo derecho de H. horridum. La cavidad celómica en machos alberga ambos testículos, se muestra una vista lateral donde el testículo queda en la parte inferior de la cavidad, en ocasiones se pueden observar zonas hiperecóicas, sin embargo, se le adjudica a la cualidad de la piel del lagarto enchaquirado al tener osteodermos en gran parte del cuerpo.

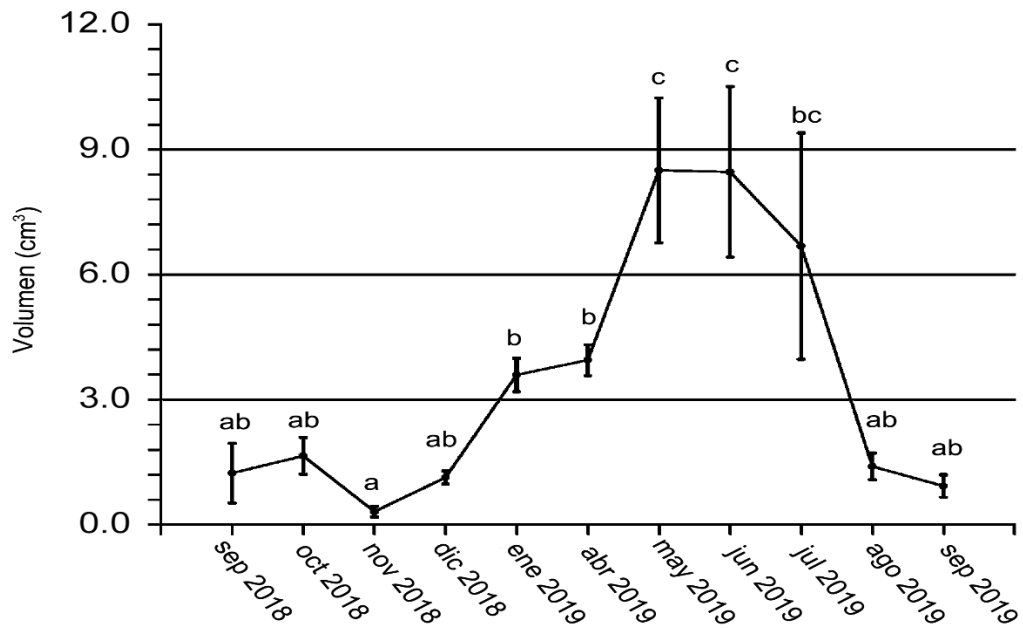


Figura 23 Volumen testicular mensual de *H. horridum* durante el segundo periodo de estudio. Las letras diferentes indican diferencias significativas $p \leq 0.05$ entre los meses (Tukey-Kramer: $D=29$, $MSE=1.6213$, valor crítico=4.93, $n=4$).

El volumen testicular y la preferencia por una zona cálida dentro del terrario fue positiva ($r=0.792$, $p=0.003$, $r^2=62.7\%$), así como en las variables conductuales como combate macho-macho ($r=0.647$, $p=0.031$, $r^2=41.8\%$), olfateo del macho a la hembra ($r=0.792$, $p=0.003$, $r^2=62.7\%$) y viceversa ($r=0.877$, $p=0.0003$, $r^2=76.9\%$), y con el arrastre del macho por parte de la hembra ($r=0.768$, $p=0.005$, $r^2=58.9\%$).

Discusión

Las medidas somáticas en la reproducción.

Las medidas somáticas son importantes en el estudio de la reproducción de los lagartos del Género *Heloderma*, se ha propuesto que la LC y el AC pueden demostrar un dimorfismo sexual (Giegner y Beck, 2007), sin embargo entre los ejemplares del estudio no hubo diferencias significativas. La LH-C nos puede indicar si un individuo es sexualmente maduro a determinar una longitud mínima, todos los ejemplares elegidos en este estudio fueron mayores a este valor mínimo, también es posible utilizar el crecimiento anual de la LH-C ya que los adultos en vida libre tienen una tasa de crecimiento de 1.08 ± 0.39 (Beck y Lowe, 1991); en este estudio, durante el primer periodo las hembras y machos se mantuvieron dentro de la tasa esperada sin embargo en el segundo periodo ambos sexos sobrepasaron esta tasa, esto puede deberse a las condiciones que se implementaron bajo cuidado humano (Beck *et al.*, 2009). Otra medida somática importante en el estudio de reproducción es el ABC ya que en algunas especies refleja la reserva energética (Vitt, 2015) que podría cubrir el gasto energético de los eventos reproductivos (Smith *et al.*, 2015; Benabib, 1994; Bustos-Zagal *et al.*, 2011; Ardila-Marín, 2008).

Consumo de alimento y su relación con la reproducción.

Cada especie tiene rangos óptimos de temperatura y humedad, preferencia específica por algún tipo de alimento, así como adaptaciones digestivas y metabólicas que influyen en sus necesidades de agua, calorías y nutrientes. Durante el cuidado humano se realizan grandes esfuerzos por lograr las condiciones lo más similares al que se presentarían en vida silvestre (Donoghue, 2006) por ese motivo desde el inicio del estudio se implementó una dieta con diversas presas. Previo al inicio del período reproductor, la cantidad y calidad del alimento ingerido, junto con condiciones ambientales favorables son responsables de las condiciones fisiológicas de los organismos (Denardo, 2006). En particular el almacenamiento energético es determinante para algunas conductas sexuales ya que representan un gasto

significativo. En reptiles se observan conductas de agresión entre los machos, estos eventos pueden durar periodos prolongados (Norris y Lopez, 2011; Ancona *et al.*, 2010; Olsson *et al.*, 1997). En *H. horridum* las conductas de agresión se reflejan durante los combates de los machos, donde el ganador es el que logra someter al contrincante y tiene la posibilidad de seguir con el cortejo a la hembra (Beck y Ramírez-Bautista, 1991). Mientras que para las hembras las reservas energéticas en cuerpos y tejido adiposo además de nitrógeno y micronutrientes se utiliza para la vitelogénesis y la producción del huevo (Donoghue, 2006; Norris y Lopez, 2011) como se ha reportado en lagartijas como *S. orchoteranae* y *S. variabilis* (Benabib, 1994; Bustos-Zagal *et al.*, 2011). En *H. suspectum* se ha registrado que en el medio silvestre las hembras no ponen huevos todos los años, como estrategia para resarcir escases de las fuentes de energía y ponerlos hasta el siguiente año o hasta alcanzar las condiciones de salud y energéticas necesarias, sin embargo, en confinamiento se ha logrado su reproducción durante al menos 4 años consecutivos (Beck, 2009), esto probablemente a una disposición continua de alimento. Esta relevancia de la disponibilidad de energía para la reproducción se observó en *H. horridum* ya que se presentó una correlación positiva entre el ancho de la base de la cola de las hembras y la cantidad de huevos en oviductos observados y como se ha mencionado en el primer periodo de investigación se registró gran consumo de alimento, más del 30% en comparación con el segundo periodo de estudio, lo que contribuyó al crecimiento de los individuos, particularmente se observó un incremento en el peso y ancho de la cola; además no se presentaron conductas sexuales durante este primer periodo, y puede deberse de entre varios factores involucrados a un periodo de aclimatación, a un régimen alimentario deficiente anterior al estudio dando como resultado la preferencia hacia los procesos metabólicos que aseguran la supervivencia individual (Allen y Ullrey, 2004), o puede significar que se privilegió el almacenamiento energético como lo presentan algunas lagartijas, que almacenan energía en cuerpos adiposos en la cavidad celómica y tejido adiposo en la cola (Vitt, 2015), esto en algunas especies es un requerimiento para una reproducción exitosa (Smith *et al.*, 2015; Benabib, 1994; Bustos-Zagal *et al.*, 2011; Ardila-Marín, 2008).

Las condiciones ambientales derivadas de la estacionalidad pueden influir en las reservas energéticas, por ejemplo en *Sceloporus mucronatus*, la disponibilidad de agua y cantidad de refugios durante la temporada de lluvias favorece la abundancia de alimento, de manera que aumenta la probabilidad para encontrarlo sin realizar mucho gasto energético (Méndez de la Cruz *et al.*, 1992), también variables como la temperatura pueden influir, como en *H. suspectum* la preferencia por temperaturas altas se puede ver asociado con el tamaño de la ración de alimento que consume; se consigue definir que en el presente trabajo, la preferencia de los ejemplares de *H. horridum* por temperaturas altas durante el primer periodo se puede relacionar con la posibilidad de ingerir mayor alimento y almacenar energía para la reproducción (Gienger *et al.*, 2013).

Por otra parte, en machos y hembras se determinó una correlación positiva entre el promedio del alimento consumido y variables de humedad, se reporta que *H. horridum* mantiene mayor actividad de mayo a julio (Beck y Lowe, 1991), meses que coinciden con la temporada de lluvias en la selva baja caducifolia y hay mayor disponibilidad de alimento (Beck, 2009). Dentro del género *Heloderma* también se ha observado que las hembras de *Heloderma alvarezii* comienzan a incorporar vitelo a los folículos durante la estación de lluvias cuando los recursos son abundantes (Carruth, 2015).

Periodo de inactividad y su relación con los eventos reproductores.

Los periodos de letargo suelen responder a condiciones adversas como temperaturas bajas, disminución en la disponibilidad de alimento o agua; para los reptiles se ha definido el término de brumación en respuesta al fotoperiodo y la temperatura. Sin embargo, en *Heloderma* este periodo de letargo puede estar influenciado por la disponibilidad de agua, esto debido a que las especies del Género *Heloderma* pasan gran parte del año en sus madrigueras aislados de la luz y la temperatura exterior. Las condiciones dentro de las madrigueras se mantienen con pocas fluctuaciones, y los lagartos las seleccionan de acuerdo a la temporada del año buscando las condiciones ambientales en los rangos óptimos (Beck y Jennings, 2003), además en la selva baja

caducifolia o bosque seco tropical no existe una fluctuación de temperatura significativa durante el año, no obstante, la época de lluvias marca una temporalidad importante en el hábitat (Beck *et al*, 2009). Por lo que se propone que estos periodos de letargo podrían corresponder a periodos de estivación ya que en la mayoría corresponden a época de secas. Se puede definir como un periodo de aletargamiento donde la pérdida de agua corporal disminuye considerablemente como respuesta a las condiciones en la época de secas (Ariano-Sánchez y Salazar, 2015; Vitt, 2015). También, estos periodos de letargo en las especies de *Heloderma* puede además implicar un aumento en la respuesta inmunológica (Moeller *et al.*, 2017).

Los periodos de inactividad como están acompañados por el ayuno y una desaceleración metabólica permite un ahorro de energía ya que no hay forrajeo (Donoghue, 2006), durante el tiempo de estivación de *H. horridum* se observó poca actividad gonadal, y los individuos completaron su ciclo reproductivo. Durante este periodo las hembras presentaron un mayor número de folículos con atresia y algunos vitelogénicos, comprende desde noviembre hasta enero. También se observó una relación en esta etapa con el rechazo de alimento, por eso necesitan utilizar las reservas de tejido y cuerpos adiposos, por lo que se detiene la actividad gonadal y se le da prioridad a las actividades vitales. De la misma manera en los machos también existe un cese en la actividad gonadal, presentando los volúmenes testiculares más bajos desde septiembre hasta diciembre. En la reproducción, las hormonas esteroideas son importantes para los mecanismos de producción de gametos, en animales estacionales se ha podido asociar la inactividad gonadal con bajas concentraciones de las hormonas esteroideas sexuales y la falta de estímulos ambientales para reiniciar su producción (Norris y Lopez, 2011), en los animales estudiados la disminución del volumen testicular se puede asociar a bajos niveles de hormonas esteroides.

Cambios conductuales y la relación con los eventos reproductores.

En las conductas de interacción entre sexos opuestos, la proporción entre ambos sexos suele ser un factor importante en las poblaciones silvestres para una reproducción exitosa y el éxito de una especie (Norris y Lopez, 2011). En el primer periodo de investigación no se observó interacción entre los individuos, lo cual no corresponde a los hábitos naturales que se han identificado, ya que a pesar de que en la familia Helodermatidae se ha observado que durante los periodos de actividad suelen ser solitarios, tienen dos periodos donde interactúan, en época de reproducción (donde existe interacción mediante conductas de agresión y de reproducción), y en los periodos de letargo donde se vuelven gregarios ya que pueden habitar más de 2 individuos en las madrigueras (Beck, *et al.*, 2009), esa falta de interacción pudo haber repercutido en la reproducción. Fue hasta el segundo periodo de investigación cuando se observaron interacción interespecífica y se observaron eventos de reproducción.

Patrón de reproducción en *H. horridum*

Como se ha indicado, en la temporada de reproducción están involucrados diversos factores ambientales propios de la temporada del año (Feria-Ortiz, *et al.*, 2001; Ramírez-Bautista *et al.*, 2006 y Zaldívar-Rae *et al.*, 2008), las condiciones fisiológicas de los individuos (Smith *et al.*, 2015, Benabib, 1994; Bustos-Zagal *et al.*, 2011; Ardila-Marín, 2008), la influencia del estímulo macho-hembra (Denardo y Autumm, 2001) y la historia filogenética de cada especie (Dunham y Miles 1985; Dunham *et al.*, 1988; Aldridge y Server, 2011; Rheubert *et al.*, 2015; Fitch, 1970; James y Shine, 1985).

Las condiciones que se encuentran de acuerdo a la latitud y la altitud, pueden llegar a determinar la temporada de reproducción en las especies del Orden Squamata, de tal manera que se observa un gradiente en la temporada de reproducción. Las especies que se distribuyen en latitudes alejadas de las zonas tropicales o en altitudes elevadas deben aprovechar la época de mayor productividad ambiental ya que la abundancia de los recursos para alimentarse y la cantidad de refugios se maximiza y contribuye al éxito reproductivo (Denardo, 2006; Vitt y Caldwell, 2009; Méndez *et al.*, 2015), lo que

provoca que la temporada de reproducción sea solo de un par de meses (Ibargüengoytía, 2008)

En las latitudes más alejadas de los trópicos podemos encontrar especies bianuales como el gecko *Homonota darwini* (Ibargüengoytía y Casalins, 2007) y la lagartija *Phymaturus patagonicus* (Ibargüengoytía, 2004), mientras nos acercamos a los trópicos encontramos especies con reproducción anual, en la mayoría de éstas, la reproducción sucede durante la primavera o inicios de verano como en las lagartijas *Aspidoscelis inornata* (Cristiansen, 1971), *A. tigris* (Goldberg, 1976), *S. spinosus* (Méndez de la Cruz et al., 2013), *S. variabilis* (Benabib 1994), *S. grammicus* (Vitt, 2015), las especies se acercan a zonas tropicales o disminuye la altitud, aumenta la temporada hasta varios meses (5-7 meses) abarcado desde la primavera hasta inicios de otoño como en algunas poblaciones de *S. variabilis* (Benabib 1994), *A. costata* (Zaldívar-Rae et al., 2008), *S. ochoteranae* (Bustos-Zagal et al., 2011). Y en las zonas tropicales Incluso se muestra una reproducción continua como *A. deppii* (Fitch, 1973), *Anolis lineatopus* (Gribbins et al., 2009), *A. tolimensis* (Ardila-Marín, 2008), *Cnemidophorus lemniscatus* (Mojica et al., 2003).

Ya que el género *Heloderma* tiene un gradiente latitudinal en su distribución, se podría esperar que la temporada de reproducción varíe de acuerdo a la distribución de la especie. En vida silvestre se ha registrado que presentan periodos de actividad de aproximadamente seis meses, alternados con periodos de estivación (o brumación), aunque es posible observar algunos individuos en actividad durante cualquier periodo del año (Beck et al., 2009) y es durante los periodos de actividad que llevan a cabo la reproducción. Al incorporar los resultados del periodo de reproducción con la revisión de la bibliografía, parece indicar que hay variaciones en el periodo de actividad reproductiva de las especies de *Heloderma* spp. a lo largo de un gradiente latitudinal, estrecho en el norte y más amplio en el sur. En los Estados Unidos de América (Arizona) la reproducción (*H. suspectum*) sucede de abril a junio (Goldberg y Lowe, 1997), mientras que en Sinaloa, México, en una latitud menor ocurre en agosto y septiembre (en *H. cf. horridum*) (Goldberg y Beck, 2001). En Jalisco se encontraron

ejemplares (*H. cf. horridum*) con espermiogénesis en progreso en octubre (Goldberg y Beck, 2001), un grado geográfico más sureño, en la Ciudad de México, desde mayo hasta septiembre se observó cortejo y copula, después de un año sin conductas sexuales; González-Ruíz *et al.* (1996) reportan cortejo y cópula desde abril hasta agosto, es importante mencionar que cada año mostraba diferencia en momento en que ocurrían estos eventos y presentó un periodo de 4 años sin actividad sexual, sin embargo en la misma latitud pero en Colima se encontraron ejemplares de *H. horridum* con recrudescencia testicular en Colima (Goldberg y Beck, 2001). En Chiapas se observó copula (*H. cf. alvarezii*) en julio y agosto (Beck *et al.*, 2009) y en ejemplares (*H. charlesbogerti*) obtenidos de Guatemala desde agosto a noviembre (Gil *et al.*, 2012; Carruth, 2015).

Durante el segundo periodo de este estudio, *H. horridum* presentó un ciclo de actividad reproductora estacional, las hembras iniciaron la maduración ovárica durante la primavera con una producción alta de folículos previtelogénicos en abril y mayo, y en junio un incremento en el número de folículos vitelogénicos; este patrón es similar al de algunas especies que habitan en regiones subtropicales como *Sceloporus orchoterenae* y *S. sinifer* (Bustos-Zagal *et al.*, 2011; Fitch, 1970) sin embargo la vitelogénesis fue más extensa ya que duró hasta el otoño. De esta manera se aprovecha el alimento generado durante la temporada de lluvias que inicia en mayo (Vitt, 2015), así como *Heloderma charlesbogerti* donde las hembras comienzan a incorporar vitelo a los folículos durante la estación de lluvias cuando los recursos son abundantes (Carruth, 2015). Algunas especies con reproducción multianual, presentan vitelogénesis prolongada y ya que luego de la ovoposición se encuentran en el periodo de letargo, no hay alimento para resarcir las reservas energéticas, por lo mismo saltan una o varias temporadas (Van Wyk, 1991).

En los lagartos machos se observaron cambios en el volumen testicular a lo largo del año; se ha reportado que la masa y el volumen testicular pueden estar relacionados con la actividad hormonal y la producción de células gaméticas (Fitch, 1970; Norris y

López, 2011), por lo que es posible categorizar las etapas de reproducción a partir de este parámetro.

En los machos durante los meses de septiembre a diciembre se encontraron los volúmenes testiculares menores y pueden relacionarse con inactividad reproductora. El incremento de volumen testicular inició en enero y se mantuvo con volúmenes similares hasta abril, este periodo puede indicar una etapa de reactivación gonadal o recrudescencia. El volumen testicular se incrementó significativamente en mayo, y en julio comenzó a decrecer, puede estimarse que este periodo sea la etapa de espermiogénesis, y en agosto se observó que el volumen disminuyó significativamente marcando el inicio de la regresión.

En reptiles se han registrado principalmente 2 tipos de espermatogénesis principalmente, la prenupcial (en donde la producción de espermatozoides ocurre previo a la cópula), y postnupcial (la producción ocurre desde la etapa posterior a la cópula a lo largo del año). En *Heloderma* se ha encontrado que el patrón es prenupcial, (Goldberg y Lowe 1970; Carruth, 2015). En este estudio el mayor volumen testicular se observó los meses previos a la cópula, que ocurrió en el mes de junio lo que concuerda con las otras especies de *Heloderma* (Carruth, 2015).

Desarrollo gonadal y eventos reproductores

Durante el desarrollo de este estudio se presentaron correlaciones positivas entre el volumen testicular y el número de combates macho-macho que se presentaron, estas conductas suelen ser reguladas por la presencia de hormonas glucocorticoides y testosterona (Norris y Lopez, 2011), ambas hormonas han sido estudiadas como indicadores del ciclo reproductor en *H. charlesborgeti* por lo que podemos inferir que el aumento del volumen testicular está a su vez relacionado con un incremento en los niveles de testosterona circulantes (Carruth, 2015).

También se encontró una correlación positiva entre el volumen testicular con las conductas de olfateo, tanto de machos a hembras como olfateo de hembras a los

machos. La señalización química en reptiles aún se encuentra en debate, no obstante, las señalizaciones químicas mediante feromonas han sido propuestas como un indicador para encontrar pareja, al identificar el sexo y la estacionalidad reproductora en que se encuentran (Verhaeghe, *et al.*, 2013; Parker y Manson, 2014). Estas señales son principalmente captadas por los sensores del órgano vomeronasal bien desarrollado en los miembros del orden Squamata (Vitt y Cadwell, 2009). Se sugiere que los niveles elevados de testosterona pueden generar un ambiente permisivo para la captación de señales externas como en éste caso las feromonas.

En *Heloderma* se ha registrado que la formación del huevo puede durar entre seis u ocho semanas antes de la ovoposición (Beck *et al.*, 2009). En este trabajo durante las etapas en que se encontraron huevos en desarrollo en el oviducto de la hembra, se obtuvo una correlación negativa con la preferencia a una zona fría, lo que podría indicar que durante este periodo suelen buscar temperaturas altas dadas sus características poiquilothermas (Aranda-Coello *et al.*, 2019). La ovoposición ocurrió ocho semanas después de la cópula sugiriendo que éste es el tiempo requerido de formación del huevo en el oviducto. Se ha demostrado que en el género *Heloderma*, el periodo reproductor se presenta de julio hasta diciembre (González-Ruiz, 1996; Goldberg y Lowe, 1997; Carruth, 2015; Ariano-Sánchez y Salazar, 2015; Bulger, 2017; DeNardo *et al.*, 2018) y las crías emergen hasta julio del siguiente año (Beck *et al.*, 2009, DeNardo *et al.*, 2018) En el presente estudio no se incluyen las actividades post ovoposiciones, sin embargo se sabe que el tiempo de incubación de los mismos puede variar, de 140 a 270 días debido a las condiciones ambientales de las madrigueras donde se han depositado los huevos (Beck *et al.*, 2009) Una vez que eclosionan los huevos, las crías pueden permanecer en el nido hasta finales de primavera o mediados de verano, es en esta temporada cuando las condiciones del ambiente favorecen la supervivencia de las crías ya que se tienen recursos nutricionales abundantes (DeNardo *et al.*, 2018), como huevos de lagartijas pequeñas, incluso de *Ctenosaura pectinata* que se pueden encontrar desde abril y forman parte de la dieta de *H. horridum* (Beck *et al.*, 2009).

La tendencia del lagarto enchaquirado hacia el ahorro máximo de energía, se puede observar en varios aspectos de su historia de vida, desde un periodo muy corto de actividad (Beck y Lowe, 1991), los patrones conductuales nocturnos para evitar la competencia con otros depredadores (Beck, 1990, Beck y Lowe 1991), presas con objetivos con poco desplazamiento (Beck *et al.*, 2009), movimientos lentos, tácticas de defensa que lo protegen contra depredadores más ágiles (Koludarov *et al.*, 2014), sistemas de defensas contra patógenos que se refuerzan en momentos de letargo (Moeller *et al.*, 2017) y los patrones de reproducción no son la excepción. Este lagarto ha logrado adaptar sus conductas y eventos reproductivos para aprovechar la época de abundancia tanto para que los ejemplares reproductores adquieran condiciones corporales adecuadas, como para que las crías salgan e sus nidos y tengan condiciones necesarias para aumentar su supervivencia (DeNardo *et al.*, 2018).

Conclusiones

Las repuestas conductuales y el desarrollo gonadal del lagarto enchaquirado bajo cuidado humano en zonas centrales de México muestran una reproducción estacional muy relacionada con su periodo de actividad. Muchos son los factores involucrados para que presenten los eventos reproductores; uno de los principales fue la ingesta de diversos alimentos que se consideró como un factor determinante para lograr almacenamiento de energía suficiente y buen estado de salud, de lo contrario tendrán periodos sin reproducción hasta obtener las reservas de energía adecuadas.

Los factores físico químicos (temperatura y humedad) y los factores sociales serán esenciales para que cada uno de los individuos pueda iniciar los eventos involucrados en la reproducción como el desarrollo gonadal y las conductas sexuales en cada etapa de ciclo reproductor.

No obstante, durante el estudio se logró identificar los patrones de reproducción por temporada, asociación de madurez gonadal entre sexos y la frecuencia, es importante mencionar que las condiciones bajo cuidado humano nunca serán iguales a las de vida silvestre, y el número de ejemplares es muy pequeño.

Bibliografía

Aldridge, R. D. y Sever, D. M. (2011). Reproductive biology and phylogeny of snakes, Reproductive biology and phylogeny. Science Publishers ; CRC Press, Enfield, NH : Boca Raton, FL.

Allen, M. E. y Ullrey, D. E. (2004). Relationships among nutrition and reproduction and relevance for wild animals. Zoo Biology. 23 (6), 475-487. doi.org/10.1002/zoo.20029

Ancona, S., Drummond, H. y Zaldívar-Rae, J. (2010). Male whiptail lizards adjust energetically costly mate guarding to male–male competition and female reproductive value. Animal Behaviour. 79, 75-82. doi.org/10.1016/j.anbehav.2009.10.005

Aranda-Coello, J. M., Cruz, A. G., Mendoza V., O. M. y Reyes, G. E. (2019). Termorregulación en el comportamiento de *Heloderma horridum* (Squamata: Helodermatidae) en cautiverio. Revista Latinoamericana de Herpetología. 2 (2), 41-46.

Ardila-Marín, D. A. (2008). Reproductive biology of a population of *Anolis tolimensis* (Sauria: Iguanidae) in the Colombian Andes. Caldasia. 30, 151-159.

Ariano-Sánchez, D. y Salazar, G. (2015). Spatial ecology of the endangered Guatemalan beaded lizard *Heloderma charlesbogerti* (Sauria: Helodermatidae), in a tropical dry forest of the Motagua Valley, Guatemala. Mesoamerican Herpetology. 2, 64-74.

Barten, S. y Simpson, S. (2019). Differential diagnoses by clinical signs-lizards. En: Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery. Elsevier, 1257-1265.

Beck, D. D. y Lowe, C. H. (1991). Ecology of the beaded lizard, *Heloderma horridum*, in a tropical dry forest in Jalisco, Mexico. Journal of Herpetology. 25 (4), 395-406 <https://doi.org/10.2307/1564760>

Beck, D. D. y Jennings, R. D. (2003). Habitat use by gila monsters: the importance of shelters. *Herpetological Monographs*. 17, 111-129. [https://doi.org/10.1655/0733-1347\(2003\)017\[0111:HUBGMT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1655/0733-1347(2003)017[0111:HUBGMT]2.0.CO;2)

Beck, D. D., Martin, B. E., Lowe, C. H. y Wiewandt, T. A. (2009). *Biology of gila monsters and beaded lizards*. University of California Press, Berkeley, CA.

Beck, D. D. y Ramírez-Bautista, A. (1991). Combat behavior of the beaded lizard, *Heloderma h. horridum*, in Jalisco, Mexico. *Journal of Herpetology*. 25 (4), 481-484. <https://doi.org/10.2307/1564773>

Benabib, M. (1994). Reproduction and lipid utilization of tropical populations of *Sceloporus variabilis*. *Herpetological Monographs*. 8, 160-180. <https://doi.org/10.2307/1467079>

Bertocchi, M., Pelizzone, I., Parmigiani, E., Ponzio, P., Macchi, E., Righi, F., Di Girolamo, N., Bigliardi, E., Denti, L., Bresciani, C. y Di Ianni, F. (2018). Monitoring the reproductive activity in captive bred female ball pythons (*P. regius*) by ultrasound evaluation and noninvasive analysis of faecal reproductive hormone (progesterone and 17 β -estradiol) metabolites trends. *PLoS ONE*. 13, 1-29. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199377>

Bogert, C. M. y Martín del Campo, R. (1956). The gila monsters and its allies: The relationships, habits and behavior of the lizards of the family Helodermatidae. *Bulletin of the AMNH* 109, 1-238.

Boretto, J. M., Fornés, M. W., Jahn, G. A., Acosta, J. C. e Ibarzüengoytía, N. R. (2014). Testosterone cycle and regulation of reproductive events in the lizard *Phymaturus punae* (Liolaemidae) from the highlands of the andes, Argentina. *Journal of Herpetology*. 48, 172-180. <https://doi.org/10.1670/12-171>

Boretto, J. M., Ibarzüengoytía, N. R., Acosta, J. C., Blanco, G. M., Villavicencio, J. y Marinero J. A. (2007). Reproductive biology and sexual dimorphism of a high-altitude population of the viviparous lizard *Phymaturus punae* from the Andes in Argentina. *Amphibia-Reptilia*. 28, 3, 427-432. <http://doi.org/10.1163/156853807781374791>

Bulger, J. (2017). Gila monster (*Heloderma suspectum*) Recovery plan. Department of game and fish, wildlife management division, Santa Fe, New Mexico.

Bustos-Zagal, M. G., Méndez-de la Cruz, F. R., Castro-Franco, R. y Villagrán-Santa Cruz, M. (2011). Ciclo reproductor de *Sceloporus ochoteranae* en el estado de Morelos, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 82 (2), 589-597. <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2011.2.471>

Cabeza, F. C., Boretto, J., Acosta, J. C., Jahn, G., Laspiur, A., y Ibarzüengoytia, N. (2010). Reproductive biology of *Phymaturus cf. palluma*: a vulnerable lizard from the highlands of the Andes, San Juan, Argentina. *Herpetological Conservation and Biology*. 5(3), 430-440.

Carruth, W.C.III. (2015). The reproductive cycle of the Guatemalan beaded lizard, *Heloderma charlesbogerti*. Georgia Southern University.

Coti, P. y Ariano-Sánchez, D. (2008). Ecology and traditional use of the Guatemalan black iguana (*Ctenosaura plearis*) in the dry forests of the Motagua Valley, Guatemala. *Iguana*. 15 (3), 142-149.

Crews, D (1984). Gamete production, sex hormone secretion, and mating behavior uncoupled. *Hormones and Behavior*. 18, 22-28. [https://doi.org/10.1016/0018-506X\(84\)90047-3](https://doi.org/10.1016/0018-506X(84)90047-3)

Christiansen, J. L. (1971). Reproduction of *Cnemidophorus inornatus* and *Cnemidophorus neomexicanus* (Sauria, Teiidae) in northern New Mexico. *American Museum Novitates* 2442, 1–48.

Currylow, A. F., Tift, M. S., Meyer, J. L., Crocker, D. E. y Williams, R. N. (2013). Seasonal variations in plasma vitellogenin and sex steroids in male and female eastern box turtles, *Terrapene carolina carolina*. *General and Comparative Endocrinology*. 180, 48-55. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2012.11.005>

Resende, F. C. y Nascimento, L. B. (2015). The female reproductive cycle of the neotropical snake *Atractus pantostictus* (Fernandes and Puerto, 1993) from southeastern Brazil. *Anatomia, Histologia, Embryologia*. 44 (3), 225-235. <https://doi.org/10.1111/ahe.12132>

DeNardo, D. (2006). Reproductive biology. En: *Reptile medicine and surgery*. Saunders Elsevier. pp. 376-390.

DeNardo, D. F. y Autumn, K. (2001). Effect of male presence on reproductive activity in captive female blood pythons, *Python curtus*. *Copeia*. 2001 (4), 1138-1141. [https://doi.org/10.1643/0045-8511\(2001\)001\[1138:EOMPOR\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1643/0045-8511(2001)001[1138:EOMPOR]2.0.CO;2)

Donoghue, S. (2006). Nutrition. En: *Reptile medicine and surgery*. Saunders Elsevier. pp. 251-298.

Douglas, M. E., Douglas, M. R., Schuett, G. W., Beck, D. D. y Sullivan, B. K. (2010). Conservation phylogenetics of helodermatid lizards using multiple molecular markers and a supertree approach. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 55, 153-167. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2009.12.009>

Dunham, A. E. y Miles, D. B. (1985). Patterns of covariation in life history traits of squamate reptiles: The effects of size and phylogeny reconsidered. *The American Naturalist*. 126 (2), 231-257. <https://doi.org/10.1086/284411>

Dunham, A. E., Miles, D. B. y Reznick, D. N. (1988). Life history patterns in squamate reptiles. *Biology of the Reptilia*. 16, 441-522.

Feria-Ortiz, M., Nieto-Montes de Oca, A., Salgado-Ugarte, I. (2001). Diet and reproductive biology of the viviparous lizard *Sceloporus torquatus torquatus* (Squamata: Phrynosomatidae). *Journal of herpetology*. 35, 104-112. <https://doi.org/10.2307/1566029>

Fitch, H. S. (1970). Reproductive cycles of lizards and snakes. The University of Kansas printing service, Lawrence.

Fowler, M. E. (2008). Restraint and handling of wild and domestic animals, 3rd ed. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa.

García-Collazo, R., Villagrán-Santa Cruz, M., Morales-Guillaumin, E., Meza, R.N.L., y Méndez-de la Cruz, F. R. (2012). Egg retention and intrauterine embryonic development in *Sceloporus aeneus* (Reptilia: Phrynosomatidae): implications for the evolution of viviparity. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 83: 802-808. doi:10.7550/rmb.33595

García-Collazo, R., Alatamirano-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, 51–59.

Gienger, C. M. y Beck, D. D. (2007). Heads or tails? Sexual dimorphism in helodermatid lizards. *Canadian Journal of Zoology*. 85, 92-98. Gienger, C. M., & Beck, D. D. (2007). Heads or tails? Sexual dimorphism in helodermatid lizards. *Canadian Journal of Zoology*, 85(1), 92–98. doi:10.1139/z06-198

Gienger, C. M., Tracy, C. R. y Zimmerman, L. C. (2013). Thermal responses to feeding in a secretive and specialized predator (Gila monster, *Heloderma suspectum*). *Journal of Thermal Biology*. 38(3), 143-147. doi.org/10.1016/j.jtherbio.2012.12.004

Gienger, C. M., Walker, J. G., Mcmillan, M., Scott, S. y Richard, T. C. (2005). Timing of hatching in beaded lizards (*Heloderma horridum*). *Sonoran Herpetologist*. 18, 93-94.

Gil, J. L., Alquijay, B. y Ariano, D. (2012). Reproducción en cautiverio de *Heloderma horridum charlesbogerti* Museo de Historia Natural Jorge A. Ibarra (Actividad del programa experiencias docentes con la comunidad (EDC) de la carrera de biología). Universidad de San Carlos Guatemala, Guatemala.

Girons, H. S. y Newman, D. G. (1987). The reproductive cycle of the male tuatara, *Sphenodon punctatus*, on Stephens Island, New Zealand. *New Zealand Journal of Zoology*. 14 (2), 231-237. <https://doi.org/10.1080/03014223.1987.10422993>

Goldberg, S. R. (1976). Reproduction in a mountain population of the coastal whiptail lizard, *Cnemidophorus tigris multiscutatus*. *Copeia* 1976. 2, 260-266. doi.org/10.2307/1443945

Goldberg, S. R. y Beck, D. D. (2001). *Heloderma horridum* (beaded lizard) reproduction. *Herpetological Review*. 32 (4), 255-256.

Goldberg, S. R. y Lowe, C. H. (1997). Reproductive cycle of the gila monster, *Heloderma suspectum*, in Southern Arizona. *Journal of Herpetology*. 31, 161. <https://doi.org/10.2307/1565350>

González Trápaga, R., Aguirre, G. y Adest, G. (2000). *Heloderma horridum* (beaded lizard) reproduction. *Acta zoológica mexicana*. 80, 101-117.

González-Ruíz, A., Godínez-Cano, E. y Rojas-González, I. (1996). Captive reproduction of the Mexican acaltetepon, *Heloderma horridum*. *Herpetological Review*. 27, 192–193.

Graham, S., Ward, C., Walker, J., Sterrett, S. y Mendonca, M. (2015). Sexual dimorphism and seasonal variation of reproductive hormones in the Pascagoula map turtle, *Graptemys gibbonsi*. COPEIA. 42-50. <https://doi.org/10.1643/CP-13-157>.

Gribbins, K. M., Rheubert, J. L., Poldeman, E. H., Collier, M. H., Willson, B., y Wolf, K. (2009). Continuous spermatogenesis and the germ cell development strategy within the testis of the Jamaican gray anole, *Anolis lineatopus*. Theriogenology. 72, 484-492.

Guillén, S., F., Ramírez, Carvajal, S., Parque de Conservación de Vida Silvestre Zoo Ave, Fundación Restauración de la Naturaleza (2004). Opciones de manejo para fauna silvestre en cautiverio. (Programas de manejo para fauna silvestre cautiva y recomendaciones básicas para la sujeción, transporte y mantenimiento de animales decomisados y rescatados), 1st ed. PCVS-Zoo Ave.

Hamlin, H. J., Lowers, R. H., Guillette, L. J. (2011). Seasonal androgen cycles in adult male American alligators (*Alligator mississippiensis*) from a Barrier Island Population. Biology of Reproduction. 85 (6), 1108-1113. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.111.092692>

Henderson, R. W. (1973). Ethoecological observations of *Ctenosaura similis* (Sauria: Iguanidae) in British Honduras. Journal of Herpetology. 7, 27-33. <https://doi.org/10.2307/1562826>

Ibargüengoytía, N. R. (2004). Prolonged cycles as a common reproductive pattern in viviparous lizards from Patagonia, Argentina. Reproductive cycle of *Phymaturus patagonicus*. Journal of Herpetology. 38, 73-79.

Ibargüengoytía, N. R. (2008). Estrategias Reproductivas. En: Reptiles. En: Herpetología de Chile. Science Verlag. pp.331-425.

Ibargüengoytía, N.R. y Casalins, L. M. (2007). Reproductive biology of the southernmost gecko *Homonota darwini*: Convergent life-history patterns among

southern hemisphere reptiles living in harsh environments. *Journal of Herpetology*. 41, 72-80. doi.org/10.1670/0022-1511(2007)41[72:RBOTSG]2.0.CO;2

James, C. y Shine, R. (1985). The seasonal timing of reproduction: A tropical-temperate comparison in Australian lizards. *Oecologia* 67 (4), 464-474. <https://doi.org/10.1007/BF00790016>

Kakizoe, Y., Fujiwara, M., Akune, Y., Kanou, Y., Saito, T. y Uchida, I. (2010). Cyclical changes of plasma sex steroids in captive breeding loggerhead turtles (*Caretta caretta*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 41 (4), 643-648. <https://doi.org/10.1638/2009-0254.1>

Koleff, P., Urquiza-Haas, T. y Contreras, B. (2012). Prioridades de conservación de los bosques tropicales en México: reflexiones sobre su estado de conservación y manejo. *Ecosistemas*. 21, 6-20.

Koludarov, I., Jackson, T., Sunagar, K., Nouwens, A., Hendrikx, I. y Fry, B. (2014). Fossilized venom: The unusually conserved venom profiles of *Heloderma* species (beaded lizards and gila monsters). *Toxins*. 6, 3582–3595. <https://doi.org/10.3390/toxins6123582>

Kummrow, M. S., Gilman, C., Mackie, P., Smith, D. A. y Mastro Monaco, G. F. (2010). Noninvasive analysis of fecal reproductive hormone metabolites in female veiled chameleons (*Chamaeleo calyptratus*) by enzyme immunoassay. *Zoo Biology*. 30, 95-115. <https://doi.org/10.1002/zoo.20318>

Kummrow, M. S., Mastro Monaco, G. F., Crawshaw, G. y Smith, D. A. (2010). Fecal hormone patterns during non-ovulatory reproductive cycles in female veiled chameleons (*Chamaeleo calyptratus*). *General and Comparative Endocrinology*. 168 (3), 349-355. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2010.06.005>

Kummrow, M. S., Smith, D. A., Crawshaw, G. y Mastromonaco, G. F. (2010). Characterization of fecal hormone patterns associated with the reproductive cycle in female veiled chameleons (*Chamaeleo calyptratus*). *General and Comparative Endocrinology*. 168 (3), 340-348. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2010.04.022>

Lance, V. A., Rostal, D. C., Elsey, R. M., Trosclair, P. L. (2009). Ultrasonography of reproductive structures and hormonal correlates of follicular development in female American alligators, *Alligator mississippiensis*, in southwest Louisiana. *General and Comparative Endocrinology*. 162 (3), 251-256. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.03.021>

Lind, C. M., Husak, J. F., Eikenaar, C., Moore, I.T. y Taylor, E.N. (2010). The relationship between plasma steroid hormone concentrations and the reproductive cycle in the Northern Pacific rattlesnake, *Crotalus oreganus*. *General and Comparative Endocrinology*. 166 (3), 590–599. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2010.01.026>

Lovern, M. B. (2011). Hormones and reproductive cycles in lizards. En: *Hormones and Reproduction of Vertebrates Volume 3: Reptiles*. Academic Press. pp. 321-353.

Manlik, O. (2019). The importance of reproduction for the conservation of slow-growing animal population. En: *Reproductive sciences in animal conservation*. Springer Nature Switzerland AG. pp. 13-39

Martínez-Torres, M., Guzmán-Rodríguez, R., Cárdenas-León, M. y Brunner-Reynaldo, N. (2006). Follicular development and ovulation determined by ultrasound imaging in the viviparous lizard *Barisia imbricata* (Reptilia: Anguidae). *The Southwestern Naturalist*. 51 (3), 401-406. [https://doi.org/10.1894/0038-4909\(2006\)51\[401:FDAODB\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1894/0038-4909(2006)51[401:FDAODB]2.0.CO;2)

Mayhew, W. W. (1963). Reproduction in the granite spiny lizard, *Sceloporus orcutti*. *COPEIA*. 1963, 144-152. doi:10.2307/1441282

Meave, J. A., Romero-Romero, M. A., Salas-Morales, S. H., Pérez-García, E. A., Gallardo-Cruz, J. A. (2012). Diversidad, amenazas y oportunidades para la conservación del bosque tropical caducifolio en el estado de Oaxaca, México. *Ecosistemas*. 21, 85-100.

Méndez, F. R. D. L. C., Manríquez, N. L. M., Arenas, E. R. e Ibargüengoytía, N. R. (2015). Male reproductive cycles in lizards. En: *Reproductive Biology and Phylogeny of Lizards and Tuatara*. CRC Press, Taylor & Francis Group, Australia.

Méndez-de la Cruz, F.R., Cruz, M.V.S., 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. <https://doi.org/10.1894/0038-4909-58.1.54>

Méndez-de la Cruz, F.R., Villagrán-Santa Cruz, M. y Hernández-Gallegos, O. (2009). Reproductive cycle of the lizard *Sceloporus mucronatus* with comments on intraspecific geographic variation. *Western North American Naturalist*. 69 (4), 437-446. <https://doi.org/10.3398/064.069.0403>

Méndez-de-la-Cruz, F. R. y Cruz, M. (1992). Variación anual en la alimentación y condición física de *Sceloporus mucronatus* (Sauria: Iguanidae) en la Sierra del Ajusco, Distrito Federal, México. *The Southwestern Naturalist*. 37 (4), 349-355. <https://doi.org/10.2307/3671785>

Mesquita, D. O. y Colli, G. R. (2010). Life history patterns in tropical South America lizards. En O. Hernández-Gallegos, F. R. Méndez-de la Cruz and J. F. Méndez-Sánchez (eds.), *Reproducción en Reptiles: Morfología, Ecología y Evolución*. Universidad Autónoma del Estado de México.

Meza-Oviedo, M. A., Gómez-Pizano, D. A., Carrillo D’Lacoste, L., Campos-Guerrero, L. M., Izquierdo-Urbe, M.P. y Ducoing-Watty, A. E. (2020). Sex determination in mexican-beaded lizard specimens (*Heloderma alvarezii* and *Heloderma horridum*)

employing contrast radiography method. *Journal of Exotic Pet Medicine* 34, 10-14.
<https://doi.org/10.1053/j.jepm.2020.02.019>

Moeller, K. T., Demare, G., Davies, S., y DeNardo, D. F. (2017). Dehydration enhances multiple physiological defense mechanisms in a desert lizard, *Heloderma suspectum*. *Journal of Experimental Biology*. 220, 2166-2174. <https://doi.org/10.1242/jeb.150367>

Mojica, B. H, Rey, B. H., Serrano, V. H., y Ramírez-Pinilla, M. P. (2003). Annual reproductive activity of a population of *Cnemidophorus lemniscatus* (Squamata: Teiidae). *Journal of Herpetology*. 37, 35-42.

Norris, D. O. y Lopez, K. H. (2011). *Reptiles, hormones and reproduction of vertebrates*. Elsevier Science & Technology, Amsterdam.

Olsson, M., Madsen, T. y Shine, R. (1997). Is Sperm really so cheap? Costs of reproduction in male adders, *Vipera berus*. *Proceedings: Biological Sciences*. 264 (1380), 455-459.

Owens, T. C. 2006. Ex-situ: Notes on reproduction and captive husbandry of the guatemalan beaded lizard (*Heloderma horridum charlesbogerti*). *Iguana*. 13, 213-215.

Parker, M. R. y Mason, R. T. (2014). A novel mechanism regulating a sexual signal: The testosterone-based inhibition of female sex pheromone expression in garter snakes. *Hormones and Behavior*. 66 (3), 509-516.
<https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2014.07.007>

Portelinha, T. C. G., Jahn, G. A., Hapon, M. B., Verdade, L. M., y Piña, C. I. (2015). Hormone levels and ultrasound evaluation of *Caiman latirostris* (*Crocodylia, Alligatoridae*) ovulation. *South American Journal of Herpetology*. 10, 23-31.
<https://doi.org/10.2994/SAJH-D-14-00030.1>

Radovanovic, A. (2014). Captive husbandry and management of the Rio Fuerte beaded lizard *Heloderma exasperatum*. *The Herpetological Bulletin*. 6-8.

Ramírez-Bautista, A., Luja, V. H., Balderas-Valdivia, C., y Ortiz-Pulido, R. (2006). Reproductive cycle of male and female spiny lizards, *Sceloporus melanorhinus*, In a tropical dry forest. *The Southwestern Naturalist* 51 (2), 157-162. [https://doi.org/10.1894/0038-4909\(2006\)51\[157:RCOMAF\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1894/0038-4909(2006)51[157:RCOMAF]2.0.CO;2)

Recknagel, H. y Elmer, K. R. (2019). Differential reproductive investment in co-occurring oviparous and viviparous common lizards (*Zootoca vivipara*) and implications for life-history trade-offs with viviparity. *Oecologia*. 190, 85-98. doi:10.1007/s00442-019-04398-w

Reiserer, R., Schuett, G. y Beck, D. (2013). Taxonomic reassessment and conservation status of the beaded lizard, *Heloderma horridum* (Squamata: Helodermatidae). *Amphibian and Reptile Conservation*. 7, 74-96.

Rheubert, J. L., Siegel, D. S., Trauth, S. E. (Eds.) (2015). Reproductive biology and phylogeny of lizards and tuatara, *Reproductive biology and phylogeny*. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton.

Rittenhouse, C. D., Millspaugh, J. J., Washburn, B. E., y Hubbard, M. W. (2005). Effects of radiotransmitters on fecal glucocorticoid metabolite levels of three-toed box turtles in captivity. *Wildlife Society Bulletin*. 33(2), 706-713. doi:10.2193/0091-7648(2005)33[706:EOROFG]2.0.CO;2

Romero, L. M., y Reed, J. M. (2005). Collecting baseline corticosterone samples in the field: is under 3 min good enough? *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 140, 73-79. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2004.11.004>

Rostal, D. C., Owens, D. W., Grumbles, J. S., MacKenzie, D. S., y Amoss, M. S. (1998). Seasonal reproductive cycle of the kemp's ridley sea turtle (*Lepidochelys kempi*). *General and Comparative Endocrinology*. 109 (2), 232-243. <https://doi.org/10.1006/gcen.1997.7026>

Rzedowski, J. (2006). Vegetación de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México.

Schuett, G., N Taylor, E., A Van Kirk, E., J. y Murdoch, W. (2004). Handling stress and plasma corticosterone levels in captive male western diamond-backed rattlesnakes (*Crotalus atrox*). Herpetological review. 35 (3), 229-233.

Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2019). NOM-059-SEMARNAT-2010, en: Diario Oficial de La Federación.

Serrano-Cardozo, V. H., Ramírez-Pinilla, M. P., Ortega, J. E., y Cortes, L. A. (2007). Annual reproductive activity of *Gonatodes albogularis* (Squamata: Gekkonidae) living in an anthropic area in Santander, Colombia. South American Journal of Herpetology. 2, 31-38.

Seward, M. (1998). Gila Monster Propagation, 2nd ed. Natural Selections Publishing.

Smith, C. F., Schuett, G. W., y Amarello, M. (2015). Male mating success in a North American pitviper: influence of body size, testosterone, and spatial metrics: Male mating success in copperheads. Biological Journal of the Linnean Society. 115, 185-194. <https://doi.org/10.1111/bij.12490>

Trauth, S. E. (1979). Testicular Cycle and Timing of Reproduction in the Collared Lizard (*Crotaphytus collaris*) in Arkansas. Herpetologica. 35 (2), 184-192.

Trauth, S. E. (1978). Ovarian cycle of *Crotaphytus collaris* (Reptilia, Lacertilia, Iguanidae) from Arkansas with emphasis on corpora albicantia, follicular atresia, and reproductive Potential. Journal of Herpetology. 12 (4), 461-470. <https://doi.org/10.2307/1563350>

Van Wyk, J. H. (1991). Biennial reproduction in the female viviparous lizard *Cordylus giganteus*. Amphibia-Reptilia. 12 (3), 329-342. doi.org/10.1163/156853891X00473

Verhaeghe, J., Gheysen, R., y Enzlin, P. (2013). Pheromones and their effect on women's mood and sexuality. *Facts Views Vis Obgyn.* 5 (3), 189–195.

Vitt, L. J. (2015). Lizard reproduction: a history of discovery. En: *Reproductive Biology and Phylogeny of Lizards and Tuatara*. CRC Press, Taylor & Francis Group, Australia.

Vitt, L. J., y Caldwell, J. P. (2014). *Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles*, Fourth edition. Elsevier, AP, Academic Press, Amsterdam ; Boston.

Vitt, L. J., Caldwell, J. P. (2009). *Herpetology an introduction biology of amphibians and reptiles*, 3rd ed. Academic Press Elsevier, China.

Zaldívar-Rae, J., Drummond, H., Ancona-Martínez, S., Manríquez-Morán, N.L., y Méndez-De La Cruz, F.R. (2008). Seasonal breeding in the western Mexican whiptail Lizard *Aspidoscelis costata* on Isla Isabel, Nayarit, Mexico. *The Southwestern Naturalist*. 53, 175-184. [https://doi.org/10.1894/0038-4909\(2008\)53\[175:SBITWM\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1894/0038-4909(2008)53[175:SBITWM]2.0.CO;2)