

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

MAESTRÍA EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN ANIMAL

**“Efecto de la temperatura a través del gradiente altitudinal en la
calidad espermática de dos poblaciones de *Sceloporus
grammicus*, presentes en la Sierra del Ajusco, México.”**

Tesis para obtener el grado de Maestra en Biología de la Reproducción
Animal

Gabriela Contreras González

Matricula: 2223801985

Correo: COGG961028_bio@hotmail.com

Codirectora: Dra. Edith Arenas Ríos

Codirector: Dr. Fausto Roberto Méndez de la Cruz

Asesor: Dr. Ahiezer Rodríguez Tobón

Jurado

Presidente: Dr. Ahiezer Rodríguez Tobón

Secretaria: Dra. María del Rosario Tarrago Castellanos

Vocal: Dr. Julio Cesar Chávez Zamora

Vocal: Dr. Alejandro Ávalos Rodríguez

Iztapalapa, Ciudad de México a 28 de octubre de 2024.

COMITÉ TUTORAL

Codirectora

Dra. Edith Arenas Ríos

Profesora-Investigadora. Titular "C" T.C.

Laboratorio de Morfofisiología y Bioquímica del Espermatozoide

Departamento de Biología de la Reproducción.

Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa.

editharenas2000@yahoo.com.mx

Coodirector

Dr. Fausto Méndez de la Cruz

Investigador Asociado "C", SIN nivel 2.

Departamento de Zoología.

Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biología.

faustor@ib.unam.mx

Asesor

Dr. Ahiezer Rodríguez Tobón

Laboratorio de Morfofisiología y Bioquímica del Espermatozoide

Departamento de Biología de la Reproducción.

Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa.

ahiezerrod@yahoo.com.mx

JURADO DE EXAMEN

Dr. Ahiezer Rodríguez Tobón

Laboratorio de Morfofisiología y Bioquímica del Espermatozoide

Departamento de Biología de la Reproducción.

Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad [Iztapalapa](#)

ahiezer@xanum.uam.mx

Dr. Julio César Chávez Zamora

Instituto de Biotecnología, UNAM

julio.chavez@ibt.unam.mx

Dra. María del Rosario Tarrago Castellanos

Departamento de Biología de la Reproducción, UAM-Iztapalapa

mrtc@xanum.uam.mx

Dr. Alejandro Ávalos Rodríguez

Departamento de Producción Agrícola y Animal, UAM-Xochimilco

avalosr@correo.xoc.uam.mx

AGRADECIMIENTOS

Al programa de Maestría en Biología de la Reproducción Animal de la Universidad Autónoma Metropolitana que pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad de CONAHCyT registro 003797 y cuenta con apoyo del mismo Consejo.

Se agradece a CONAHCyT la beca otorgada (CVU/Becario): 1191006

Extiendo un agradecimiento, a la Maestría en Biología de la Reproducción Animal, y a la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, por el financiamiento otorgado durante la participación en los congresos.

Dedicatorias

Jovita Martínez Torres

María del Consuelo Martínez Torres

Los mejores ángeles, son los que me cuidan...

Agradecimientos

A mis padres, todo lo que soy, es gracias a ustedes.

A mis hermanos, gracias por impulsarme a ser mejor.

A mis tíos, Juana, Rafa y Daniel, por siempre apoyarme, sin importar que tan cerca o lejos estén.

A Eduardo, Karina, Brenda, Erick, señor Rolando, Paco, Goretti, Jorge, Mich y Miguel por aguantar otra travesía de mi vida y estar siempre, son los mejores amigos que alguien podría desear.

A Jessy, Rocío, Mariel y Vane, por formar esta bonita amistad y hacer las clases más divertidas, las admiro mucho.

A Daniel, por apoyarme, impulsarme y, sobre todo, por creer en mí. Gracias por todo.

Dra. Edith, mil gracias por recibirme con los brazos abiertos sin conocerme y por confiar en mi en estos dos años de trabajo, nos falta mucho más.

Dr. Fausto, gracias por reconectarme con la naturaleza, por esas salidas tan divertidas y tanto aprendizaje que me brindó.

Dr. Ahiezer, además de todo lo que aprendí gracias a sus clases y regaños, también me enseñó que la confianza y la amistad son aspectos importantes.

Miembros del jurado, gracias por hacer de este, un mejor trabajo, por su tiempo, dedicación y apoyo.

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT; IN 212724), por el financiamiento para la realización del trabajo.

RESUMEN.....	8
ABSTRACT	10
INTRODUCCIÓN.....	11
Cambio climático	11
Efecto de la temperatura sobre la reproducción en mamíferos	12
Efecto de la temperatura en la reproducción de ectotermos.....	12
Percepción y termorregulación de la temperatura en reptiles.....	14
Maduración espermática epididimaria	16
Participación de TRPV1 en el transporte de Ca ²⁺ en el espermatozoide.....	18
<i>Sceloporus grammicus</i> como modelo de estudio.....	19
ANTECEDENTES	21
<i>Planteamiento del problema</i>	22
<i>Justificación</i>.....	22
<i>Pregunta de investigación</i>	23
<i>Hipótesis</i>	23
<i>Objetivo general</i>.....	23
Objetivos particulares	23
<i>Material y Método</i>	23
Zona de estudio	23
Colecta	24
Temperatura preferida.....	25
Obtención del material biológico	25
Análisis de parámetros espermáticos	25
Tolerancia térmica:.....	27
Análisis histológico	27
Análisis estadístico.....	27
<i>Diseño experimental</i>.....	29
Fase 1. Fisiología térmica	29
Fase 2. Comparación de los parámetros espermáticos.....	29
Fase 3. Tolerancia térmica.....	30
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
Biología térmica de <i>Sceloporus grammicus</i>	31
Medidas morfométricas	33
IGS e IES.....	35

<i>Viabilidad y porcentaje de gota citoplasmática.....</i>	<i>39</i>
<i>Movilidad.....</i>	<i>41</i>
<i>Compactación de ADN.....</i>	<i>44</i>
<i>Concentración de calcio intracelular ([Ca²⁺]_i).....</i>	<i>46</i>
<i>Distribución de [Ca²⁺]_i.....</i>	<i>47</i>
CONCLUSIONES.....	50
PERSPECTIVAS.....	50
BIBLIOGRAFÍA.....	51

RESUMEN

El aumento de temperatura debido al cambio climático afecta las funciones biológicas de vertebrados ectotermos como las lagartijas, incluyendo la reproducción y se ha propuesto la migración altitudinal como estrategia de contención ante el incremento de temperatura. *Sceloporus grammicus* es un modelo adecuado, ya que, se distribuye de 80-4600 msnm y se pueden estudiar dos poblaciones a distintas temperaturas ambientales. El presente estudio pretende analizar el efecto de la temperatura a través del gradiente altitudinal sobre la calidad espermática de dos poblaciones de *Sceloporus grammicus*. Se colectaron diez organismos de dos poblaciones (2250 y 3500 msnm) se obtuvieron datos morfológicos, disección de órganos y obtención de espermatozoides de las tres regiones del epidídimo (*caput*, *corpus* y *cauda*) para determinar los parámetros espermáticos. Posteriormente, los espermatozoides fueron expuestos a diferentes temperaturas (21, 25, 29, 33 y 37° C) con la finalidad de evaluar el efecto del incremento de la temperatura en la movilidad. Los organismos de la población baja presentaron mayor longitud hocico-cloaca y peso con respecto a la población alta (6.70 ± 0.22 vs 5.12 ± 0.14 ; 11.85 ± 0.29 vs 5.04 ± 0.21 , respectivamente). La población a 2250 msnm presentó mayor IGS en comparación a la población a 3500 msnm (0.6 ± 0.2 vs 0.3 ± 0.1), caso contrario ocurrió en el caso del IES (0.1 ± 0.06 vs 0.1 ± 0.08). Los túbulos seminíferos de la población a menor altitud tuvieron un área mayor a comparación a la población a mayor altitud (42492 ± 6231 vs $18901 \pm 4103 \mu\text{m}$), en donde solo se observaron espermatogonias mientras que a menor altitud se observan todos los tipos celulares del epitelio seminífero. La viabilidad de las células fue de ~70% para ambas poblaciones. El porcentaje de gota citoplásmica fue mayor en células de la población baja a nivel del *corpus* y *cauda* (17.50 ± 7.0 vs $8.001.68 \pm 5.3$; 14.20 ± 6.7 vs 7.00 ± 5.1). La compactación de ADN fue mayor al 40% para ambas poblaciones. Encontramos que la temperatura óptima para mantener la movilidad espermática fue de 25 y 21° C para la población baja y alta respectivamente. Se determinaron cuatro patrones de distribución de $[\text{Ca}^{2+}]_i$, en ambas poblaciones, predominantemente en la región acrosomal y pieza media en la población alta, mientras que, en los

espermatozoides de la población baja, se localizó en la gota citoplasmática. *Sceloporus grammicus* presenta adaptaciones fisiológicas dependiendo de la temperatura en la que se encuentre cada una de las poblaciones, y la distribución de Ca^{2+} intracelular responde a la temperatura corporal que presentan los organismos.

ABSTRACT

The increase in temperature due to climate change affects the biological functions of ectothermic vertebrates such as lizards, including reproduction, and altitudinal migration has been proposed as a strategy to contain this change accompanied by adaptation in gametes. *Sceloporus grammicus* is the appropriate model, since it is distributed from 80-4600 masl and two populations can be studied at different environmental temperatures. The present study aims to analyze the effect of temperature across the altitudinal gradient on the sperm quality of two populations of *Sceloporus grammicus*. Ten organisms were collected from two populations (2250 and 3500 masl.); morphological data, organ dissection and spermatozoa were obtained from the three regions of the epididymis (*caput*, *corpus* and *cauda*) to determine sperm parameters. Subsequently, the spermatozoa were exposed to different temperatures (21, 25, 29, 33 and 37° C) in order to evaluate the effect of increased temperature on motility. Organisms from the low population presented greater snout-vent length and weight compared to the high population (6.70 ± 0.22 vs. 5.12 ± 0.14 ; 11.85 ± 0.29 vs. 5.04 ± 0.21 , respectively). The population at 2250 masl presented higher IGS compared to the population at 3500 masl (0.6 ± 0.2 vs 0.3 ± 0.1), the opposite case occurred in the case of IES (0.1 ± 0.06 vs 0.1 ± 0.08). The seminiferous tubules of the lower altitude population had a larger area compared to the higher altitude population (42492 ± 6231 vs $18901 \pm 4103 \mu\text{m}$). Cell viability was ~70% for both populations. The percentage of cytoplasmic droplet was higher in cells of the low population at the *corpus* and *cauda* level (17.50 ± 7.0 vs 8.00 ; 1.68 ± 5.3 ; 14.20 ± 6.7 vs 7.00 ± 5.1). DNA compaction was greater than 40% for both populations. We found that the optimum temperature for maintaining sperm motility was 25 and 21°C for the low and high populations, respectively. Four $[\text{Ca}^{2+}]_i$ distribution patterns were determined in both populations, with predominance in the acrosomal region and middle piece in the high population, while for the low population in the cytoplasmic droplet. *Sceloporus grammicus* presents physiological adaptations depending on the temperature in which each of the populations is found, as well as the intracellular Ca^{2+} distribution responds to the body temperature of the organisms.

INTRODUCCIÓN

En un área natural ecológicamente divergente, es decir, que contiene uno o más ecosistemas dentro de un área ecológica, las poblaciones suelen caracterizarse por sus diferencias filogenéticas. El entorno óptimo para el desarrollo y reproducción de las especies está dado, principalmente, por los factores ambientales como la temperatura, siendo una variable modificada por el cambio climático (Díaz Cordero, 2012), el cual ha propiciado que, los organismos ectotermos se desplacen sobre un gradiente altitudinal en búsqueda de menores temperaturas (Fajardo et al., 2020)

Cambio climático

La Convención del Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (CMNUCC), en su artículo 1, define el cambio climático como *“el cambio de la temperatura atribuido directa o indirectamente a la actividad humana, el cual altera la composición de la atmósfera global y que se suma a la variabilidad natural del clima observada durante períodos de tiempo comparables”* (IPCC, 2021). Los factores que afectan los cambios en la temperatura media de la tierra son, principalmente antropogénicos como la emisión de aerosoles a la atmósfera, el aumento en las emisiones de dióxido de carbono, gas metano e hidratos de metano (Díaz Cordero, 2012).

El cambio climático se refleja en el incremento de la temperatura; como olas de calor y sequías. En la Ciudad de México, se ha registrado un aumento de 1.48°C en la temperatura ambiental como consecuencia del cambio climático, el 2023 ha sido el año más caluroso desde que comenzaron los registros en 1850 según los datos del Servicio de Cambio Climático de Copernicus (c3s), el cual es operado por el Centro Europeo de Previsiones Meteorológicas a Plazo medio (ECMWF) y se basa en la investigación sobre el clima realizada en el marco del Programa Mundial de Investigaciones Climáticas (PMIC). A su vez, el Servicio Meteorológico Nacional reportó que 2023 fue el año más seco de los últimos 82 años, con 21.1% menos lluvias (Routers & Enciso, 2024; UNAM-DGCS-066, 2022).

El incremento de temperatura afecta a los organismos específicamente en el aspecto reproductivo; se han realizado estudios que muestran la disminución de los parámetros espermáticos tanto en animales domésticos como de vida silvestre, disminuyendo su capacidad reproductiva (Espinosa-Cervantes & Córdova-Izquierdo, 2018).

Efecto de la temperatura sobre la reproducción en mamíferos

En mamíferos, el incremento de la temperatura testicular induce disminución de la circunferencia escrotal (Huanca L. et al., 2015, Barragán Sierra et al., 2021) disminución de la concentración de testosterona, la concentración espermática (Kanter et al., 2013), y la movilidad espermática, promueve la fragmentación de ADN en los espermatozoides, así como aumenta la incidencia de anormalidades espermáticas (Kim et al., 2013, Huanca L. et al., 2015, Barragán Sierra et al., 2021).

Sin embargo, algunos vertebrados como los reptiles dependen de la temperatura ambiental para mantener su temperatura corporal y reproductiva (Hertz et al., 1993).

Efecto de la temperatura en la reproducción de ectotermos

La mayoría de los organismos ectotermos tienden que utilizar estrategias de termorregulación por medio de ajustes morfo-fisiológicos y/o conductuales, con el objetivo de mantener su fisiología térmica, la cual incluye la temperatura corporal y las temperaturas críticas máximas (C_{tmax}) y mínimas (C_{tmin}), siendo estas las temperaturas corporales a las cuales los animales dejan de responder normalmente a estímulos, perdiendo el reflejo de colocarse en su postura original a altas y bajas temperaturas, respectivamente (Bennett & John-Alder, 1986); lo anterior se define como el Efecto Bogert (BOGERT, 1949), y sugiere que, la biología térmica de las lagartijas es evolutivamente estable cuando son termorreguladores y no cuando son termoconformes, en respuesta al ambiente en el que se encuentren (Muñoz, 2022), no obstante, los ambientes en donde incrementa la temperatura, podrían aumentar el riesgo de sobrecalentamiento de los individuos, resultando en el acortamiento del

tiempo de actividad de búsqueda de pareja, cortejo y copula, y que resultaría en alteraciones en la reproducción (Lara-Reséndiz et al., 2014).

Diversos investigadores mencionan que, las lagartijas se están extinguiendo local y mundial debido al incremento térmico (Sinervo et al., 2010; Sinervo et al., 2011; Altamirano-Benavides et al., 2019; Fajardo et al., 2020), este fenómeno ambiental podría ocasionar la extinción del 20% de las especies de lagartijas a nivel mundial para el año 2080 (Altamirano-Benavides et al., 2019). Se ha descrito que el 12% de 200 poblaciones mexicanas estudiadas de lagartijas del género *Sceloporus* se han extinto como resultado de las altas temperaturas ambientales (Sinervo et al., 2011). Las lagartijas que han estado expuestas a temperaturas ambientales que exceden su temperatura corporal preferida, restringen el tiempo de actividad destinado al periodo reproductivo, lo cual podría conllevar a la ausencia del cortejo y cópula (Hertz et al., 1993). Por lo tanto, es fundamental que estos organismos realicen estrategias de termorregulación con el propósito de mantener su supervivencia.

Una de las estrategias que implementan estos organismos es realizar cambios en el horario de actividad, consiste en pasar mayor tiempo en sus refugios evitando el sobrecalentamiento que produce las altas temperaturas y la radiación solar (Sasa et al., 2010). Así como la modificación de su zona de distribución a través de un gradiente altitudinal; las poblaciones se mueven a una mayor altitud en busca de temperaturas menores y con esto tener un mayor horario de actividad y posiblemente un mayor éxito reproductivo (Fajardo et al., 2020). La temperatura local depende de la altitud, el aumento de 154 metros (180 metros en la zona intertropical), resulta en la disminución de la temperatura ~ 1 °C, conforme disminuye la presión de un gas, desciende su temperatura (IDEAM, 2005). Dichas manifestaciones en los ecosistemas terrestres son evidentes con la anticipación de la primavera y el desplazamiento de la flora y la fauna hacia los polos y hacia una mayor altitud (Díaz Cordero, 2012).

Es por ello que Domínguez-Godoy et al. (2020) analizaron la relación entre la altitud y el porcentaje de supervivencia de *Sceloporus grammicus* aunado a su ciclo reproductivo. Encontrando que, la disminución de la temperatura preferida por los animales resulta en el aumento de la probabilidad de supervivencia (80-90%) en el

sitio de menos elevación (2600 msnm), 76-87% en el sitio de elevación media (3 100 msnm) y 90-94% en el sitio más elevado (4150 msnm). Esto sugiere que, en ambientes de baja temperatura, *S. grammicus* podría emplear estrategias termorreguladoras (conductuales, fisiológicas y/o morfológicas) con la finalidad de disminuir su gasto metabólico y poder maximizar su supervivencia y tiempo dedicado a la reproducción.

Para poder emplear estrategias termorreguladoras las lagartijas tienen que responder a los cambios de temperatura a través de mecanismos de percepción de la misma.

Percepción y termorregulación de la temperatura en reptiles

En mamíferos, la temperatura puede ser detectada por una familia de termorreceptores o canales iónicos, conocidos como Receptores de Potencial Transitorio (TRP), que son activados por temperaturas específicas, permeables a cationes que despolarizan las membranas celulares mediando el flujo de Ca^{2+} y Na^{2+} (Lozano Jiménez & Sánchez Mora, 2020) los TRP se encuentran dentro de las terminaciones nerviosas libres de la piel, así como en el sistema nervioso periférico, el cerebro, corazón e hígado en mamíferos.

En reptiles, se ha demostrado la expresión de TRPV1 y TRPM8, los cuales responden al calor y al frío respectivamente, en diversos órganos como el corazón, hígado y músculo del cocodrilo *Crocodylus porosus* y en un lagarto *Pseudemoia entrecasteuxi* (Seebacher & Murray, 2007). Estos receptores activan una vía de señalización hacia el sistema nervioso central a través del ganglio de la raíz dorsal que continúa hacia el área preóptica medial del hipotálamo dirigiendo una señal al núcleo dorso-medial, esto resulta en respuestas termorreguladoras conductuales y cardiovasculares (Seebacher & Murray, 2007). Dichos mecanismos se presentan como variaciones en el sistema cardiovascular, donde la tasa de transferencia calórica en el cuerpo se modifica por cambios en la frecuencia cardíaca, el flujo y la redistribución de la sangre (Seebacher, 2000), durante el calentamiento, la frecuencia cardíaca aumenta, así como el flujo de sangre, resultando en el desplazamiento del calor en las regiones superficiales hacia al centro del cuerpo, caso contrario en el proceso de enfriamiento. La respuesta en la variación de los vasos periféricos modifica el flujo de sangre, durante la dilatación, la

sangre caliente va desde la periferia y los apéndices hacia el centro del cuerpo (Tansey et al., 2014).

Las señales fisiológicas resultan en respuestas conductuales que se reflejan en los cambios en la postura de los organismos. Las lagartijas toman cinco posturas diferentes dependiendo de la temperatura del ambiente o la radiación, se han clasificado en: 1) adquisición de calor, 2) cuerpo arqueado, 3) adquisición por encima del refugio, 4) dentro del refugio y, 5) parcialmente en el refugio (Rangel-Patiño et al., 2020).

La termorregulación es un aspecto importante en los organismos ectotérmicos como *S. grammicus*, ya que, la disminución de la temperatura ambiental ralentiza el desarrollo embrionario, el crecimiento del organismo y la eficiencia digestiva, a su vez, modifica el comportamiento. Caso contrario, las altas temperaturas incrementan la locomoción, eficiencia digestiva, sin embargo, restringen su tiempo de exposición al sol. Además, la termorregulación les permite mantener una temperatura corporal adecuada para realizar actividades constantes, cerca de su intervalo térmico preferido, favoreciendo sus actividades biológicas (Lara-Reséndiz et al., 2014). La temperatura preferida es una de las variables fisiológicas más importante para ectotermos pues afecta directamente su adecuación biológica a través del efecto en el desempeño de distintas variables conductuales y fisiológicas como la reproducción.

S. grammicus es una especie heliotérmica (los organismos obtienen el calor principalmente por medio de la radiación solar); sin embargo, cuando el ambiente es favorable puede ser tigmotérmica, en otras palabras, está estrechamente relacionada con la temperatura del sustrato en el que se encuentre (Woolrich-Piña et al., 2006). La relación con la temperatura influye en el éxito reproductivo, particularmente en la gametogénesis (interviene en la respuesta de los testículos a las gonadotropinas y diferenciación de las células) y la maduración de los espermatozoides (Domínguez-Godoy et al., 2020), dichos procesos se llevan a cabo en los testículos y los epidídimos respectivamente. En mamíferos, los espermatozoides que son liberados de los túbulos seminíferos todavía no adquieren el potencial necesario para fertilizar un ovocito, en

los reptiles sucede de manera similar, los gametos masculinos deberán transitar por el epidídimo para alcanzar su completa madurez (Retana et al., 2014).

Maduración espermática epididimaria

Las lagartijas presentan un par de testículos en la cavidad abdominal de los cuales parten canales similares a la *rete testis* en los mamíferos. Esta red de conductos se comunica con los conductos eferentes, a su vez, se unen al túbulo epididimario, adosado cranealmente al testículo (Gist, 2010; Kardong, 2008).

En vertebrados como los reptiles, el epidídimo ha sido dividido anatómicamente en tres regiones; segmento anterior (*caput*), media ancha (*corpus*) y una posterior estrecha (*cauda*) (Aranha et al., 2023). Se ha descrito que los espermatozoides que alcanzan la región distal del *corpus* del epidídimo, adquieren su capacidad para moverse, reconocer y fertilizar al ovocito (Robaire, 2019; Retana et al., 2014). Conforme los espermatozoides transitan por el epidídimo, experimentan cambios morfológicos, bioquímicos y fisiológicos que les permiten adquirir su movilidad y llevar a cabo la capacitación y la reacción acrosomal en el tracto reproductor femenino (Robaire, 2019; Retana et al., 2014; Cardona-Maya & Cadavid, 2005). Todos los cambios se deben a la estrecha relación de los gametos con las diferentes células del epidídimo, como las células principales, claras, estrechas, halo, apicales, claras y basales, que proporcionan el microambiente y las proteínas necesarias para que los espermatozoides adquieran su potencial fértil (Robaire, 2019; (Tarique et al., 2020).

Algunos de los cambios morfológicos reconocidos en los espermatozoides, es la remodelación masiva del acrosoma (en algunas especies), el desplazamiento de la gota citoplasmática del cuello a la pieza media del flagelo acompañada de su eliminación. Sin embargo, en algunos mamíferos, la gota citoplasmática es esencial para la maduración de los espermatozoides en el cuerpo del epidídimo, la migración de la gota citoplasmática a lo largo de la pieza media proporciona una alta actividad mitocondrial y el inicio de la movilidad del espermatozoide (Angrimani et al., 2017). Dentro de los cambios bioquímicos que se presentan en los gametos masculinos

encontramos, el cambio en la carga total de la superficie celular, volviéndose más negativa, cambio en el cociente fosfolípidos-colesterol de la membrana del espermatozoide lo que aumenta su fluidez, modificaciones en la cantidad de sacáridos y glicoproteínas de la membrana y fosforilación en los residuos de tirosinas de las proteínas de los espermatozoides (Nixon et al., 2011).

Durante la espermatogénesis las histonas somáticas son hiperactivadas y reemplazadas por las proteínas de transición nuclear, éstas a su vez son reemplazadas por otras proteínas conocidas como protaminas, las cuales son abundantes en el espermatozoide maduro y empaquetan el genoma dentro del núcleo espermático, los múltiples residuos de cisteína son oxidados para formar puentes disulfuros (S-S) entre las protaminas y estabilizan la cromatina durante los estadios finales de la maduración espermática (Quintero-Vásquez et al., 2015). Los puentes disulfuro bloquean determinados genes para que exista reprogramación del genoma durante el desarrollo embrionario, el resultado es la condensación nuclear espermática es la reducción hasta el 10% del volumen del ADN de una célula somática. Esta compactación permite la protección de ADN por su recorrido hasta encontrarse con el ovocito (Quintero-Vásquez et al., 2015).

Los cambios fisiológicos se reflejan con un incremento en la movilidad (Retana et al., 2014). En la adquisición de la movilidad del espermatozoide participan diversas moléculas y iones, uno de los más importantes es el Ca^{2+} . Ya que el aumento en la concentración de Ca^{2+} estimula la enzima Adenilato ciclasa soluble (ACs), (Mendoza-Sánchez et al., 2023) que activa la vía de la Adenosín monofosfato cíclico (AMPC) y la activación de la proteína cinasa A1 (PKA1), la cual fosforila algunas proteínas en los residuos de serina y treonina, desencadenando la fosforilación de tirosina en los brazos de dineína que conforman el citoesqueleto del espermatozoide y activa la movilidad flagelar. La remoción de Ca^{2+} resulta en la disminución de la movilidad espermática (Neri-Vidaurre et al., 2014).

Participación de TRPV1 en el transporte de Ca^{2+} en el espermatozoide

En mamíferos el funcionamiento de las gónadas masculinas requiere de temperaturas más bajas que la corporal, los espermatozoides requieren de temperaturas óptimas desde su formación hasta su encuentro con el ovocito para realizar la fertilización (Barragán Sierra et al., 2021).

Los receptores de potencial transitorios (TRP) son proteínas que participan en la percepción de la temperatura, TRPV1 se activa a temperaturas mayores a 42 °C mientras que para las temperaturas bajas, TRPM8 es el que responde, específicamente de 8-26 °C (Izquierdo et al., 2021).

A su vez, el TRPV1 puede ser activado por diferentes agonistas como la capsaicina, las lipooxigenasas, acidez, cambios en la osmolaridad, la delección de depósitos intracelulares de Ca^{2+} (Galán Martínez et al., 2015), y TRPM8 por voltaje, presión y compuestos refrescantes como el mentol (Izquierdo et al., 2021).

En reptiles, se desconoce la presencia y participación de TRPV1 y TRPM8 en los espermatozoides (Seebacher & Murray, 2007). En mamíferos, TRPV1 se localiza en el cuello, flagelo y cabeza del espermatozoide, específicamente en la zona ecuatorial y post acrosomal; Cardona-Maya & Cadavid, 2005).

Los cambios en las concentraciones intracelulares de calcio son regulados por la actividad de TRPV1 que permite el paso de Ca^{2+} a través de la membrana plasmática del espermatozoide y tienen efecto sobre la movilidad de los espermatozoides (Lozano Jiménez & Sánchez Mora, 2020). En humano y ratón se han descritos diversos reservorios de calcio propios de los espermatozoides; las mitocondrias, el acrosoma y la envoltura nuclear redundante (REN) (Amaral et al., 2013). La reserva del REN se encuentra en la base del flagelo y la más utilizada para el desarrollo de la activación e hiperactivación del espermatozoide (Visconti, 2009). El calcio almacenado en el REN de los espermatozoides es la principal fuente de Ca^{2+} asociada a la movilidad (Chang & Suarez, 2011).

Durante el tránsito por el epidídimo los espermatozoides adquieren la capacidad de moverse, por lo cual en dicho órgano las concentraciones de Ca^{2+} varían desde

aproximadamente 1.3 nm en el segmento inicial hasta 0.25 nm en la cauda y se mantiene bajo para evitar la hiperactivación del flagelo en la misma (Shum et al., 2022).

Los estudios sobre la participación de Ca^{2+} y los patrones de distribución en espermatozoides se han realizado en varias especies de mamíferos, sin embargo, no existe registro de los patrones de distribución y cambios en la concentración del Ca^{2+} en reptiles como lagartijas y su relación con el estado de madurez de los gametos.

***Sceloporus grammicus* como modelo de estudio**

Conocida como “lagartija espinosa del mezquite”, *S. grammicus* es un reptil ectotermo vivíparo, pertenece a la familia Phrynosomatidae que habita en el centro de México y el sur de los Estados Unidos de América, en un intervalo altitudinal que va desde los 80 hasta los 4 600 msnm (Hall, 2010; Plasman et al., 2020).

La especie *S. grammicus* está constituida por un “complejo”, el cual está integrado por siete razas cromosomales, esto quiere decir que, presentan mutaciones Robertsonianas en sus macrocromosomas; las cuales produjeron números diploides que van desde $2n$ (32) a (46) (Reed & Sites, 1995). Tiene un cuerpo robusto y de talla pequeña; la longitud hocico-cloaca (LHC) media de ambos sexos es de 54.1 ± 1.81 mm en organismos adultos, las crías nacen con una LHC de 19.8 mm. La masa corporal de ambos sexos adultos es de 4.84 ± 0.77 g y la masa de la cría es de aproximadamente 0.2 g. En la superficie posterior de los muslos exhiben escamas de forma granular y dorsales alargadas; el color del fondo de la región dorsal va de gris claro a gris oscuro, con figuras onduladas de color negro distribuidas a lo largo del cuerpo. La región ventral es gris oscuro, los machos presentan parches en la región ventral de color azul turquesa, los cuales los distinguen de las hembras (Ramírez-Bautista et al., 2005; Arguez et al., 2021).

Presenta un patrón reproductivo estacional geográficamente variable, es decir, que depende de la latitud y altitud en la que se encuentren las poblaciones, la temporalidad en la que ocurra la reproducción (Ramírez-Bautista et al., 2005; Lozano et al., 2015). Se han descrito cambios morfológicos que sufren los testículos y se describen en

cuatro etapas: quiescencia, recrudescencia, espermatogénesis y regresión; cada una caracterizada por la morfología externa y el análisis histológico de los testículos (Méndez-De La Cruz et al., 2013). La quiescencia es caracterizada por inactividad testicular y durante este tiempo, los testículos presentan menor volumen y masa, en esta etapa solo se observan células de Sertoli y algunas espermatogonias en la membrana basal de los túbulos seminíferos. En la etapa de recrudescencia (reactivación) las gónadas comienzan a incrementar en volumen y masa como resultado de la actividad en los túbulos seminíferos, con esto se observan espermatogonias A en constante división mitótica, incluso se observa el resultado de divisiones meióticas con la presencia de los espermátocitos primarios y secundarios. Durante la etapa de la espermatogénesis (máxima actividad) los testículos alcanzan su máximo volumen, están altamente vascularizados y presentan un color opaco, se puede observar la diferenciación de espermátidas redondas a espermatozoides, estos se encuentran distribuidos en el lumen de los túbulos (Méndez-De La Cruz et al., 2013). Finalmente, la etapa de regresión, la cual ocurre cuando las espermátidas terminan su diferenciación y son liberadas a los conductos, hay una reducción en el número de células que constituyen en epitelio germinal. Durante la fase temprana de la regresión siguen ocurriendo las cópulas y los epidídimos contienen espermatozoides en abundancia (Méndez-De La Cruz et al., 2013; Jenssen et al., 2001). Durante esta etapa, el epidídimo y los conductos deferentes presentan una gran cantidad de espermatozoides. Durante la regresión tardía, solo se observan células de Sertoli, espermatogonias y fagocitos (Méndez-De La Cruz et al., 2013). Debido a la amplia distribución de esta especie se requeriría hacer estudios histológicos para obtener resultados más precisos para cada población según su ubicación geográfica.

Existen poblaciones de *S. grammicus* en diferentes áreas geográficas, una de ellas es la sierra del Ajusco, la cual ha registrado el aumento de la temperatura a lo largo de los años como consecuencia del calentamiento global; a una altitud de entre los 3200-3400 msnm, únicamente se tienen registros de la temperatura promedio-máxima del año 1983, que fue de 12 °C (Méndez de la Cruz, 1983). Mientras que a una altitud 2 240 msnm se ha registrado el aumento de 3 °C en el periodo de 1984 a 2001 (Woolrich-Piña et al., 2006).

ANTECEDENTES

Gist et al. (2000) realizaron un estudio en el que midieron la movilidad de los espermatozoides de tres especies de tortugas (*Sternotherus odoratus*, *Trachemys scripta* y *Chrysemys picta*), los cuales fueron expuestos a dos temperaturas diferentes (2 y 23 °C) durante una hora; sus resultados mostraron que, en las dos especies, la movilidad de los espermatozoides aumentó cuando estos fueron incubados a 2 °C en comparación con la temperatura ambiente. Los autores sugieren que, las bajas temperaturas favorecen la movilidad de los espermatozoides, lo que podría favorecer el aumento en el éxito de la fecundación.

(Tourmente et al., 2007), estudiaron el efecto de la temperatura en la movilidad y velocidad de espermatozoides de dos especies de serpientes que se encuentran en un rango de temperatura entre los 28-36 °C, para ello, incubaron los espermatozoides de dos especies de serpientes a 25, 30 y 37 °C, encontrando que, el aumento de la temperatura tiene un efecto negativo en la movilidad y viabilidad de los espermatozoides. Los autores mencionan que estos organismos se encuentran en un rango de temperatura de los 28-36 °C, es por ello que, la movilidad de los espermatozoides responde a factores ambientales como la temperatura.

Dentro del género *Sceloporus* se han realizado estudios sobre el efecto de la temperatura en los parámetros espermáticos de dos especies, *S. siniferus* y *S. megalepidurus*, en los que se muestra que las altas temperaturas disminuyen el porcentaje de movilidad y viabilidad e incrementa el porcentaje de gota citoplasmática (Retana et al., 2014; Uriostegui, 2021).

Quintero-Pérez et al. (2023) realizó un estudio en el que aclimató a machos de *Sceloporus aeneus* a distintas temperaturas (24 °, 28 ° y 32 °C) en condiciones de laboratorio por un periodo de 7 días. Reportó que la temperatura preferida por los organismos, la cual es aquella en la que los organismos pueden realizar sus actividades locomotoras, digestivas, conductuales, etc., es más cercana a la óptima (32.7°C). Sin embargo, a esta temperatura observó disminución significativa en los parámetros espermáticos, mientras que cuando fueron aclimatados a 24 °C los

parámetros no se afectan. Esto sugiere que, altas temperaturas alteran la concentración espermática, viabilidad, movilidad y morfología de los espermatozoides, por lo tanto, la temperatura preferida para sus actividades locomotoras no es la ideal para que se lleve a cabo correctamente la reproducción. Por lo anterior, la presente investigación analiza el efecto de la temperatura en dos poblaciones de *Sceloporus grammicus* con el mismo citotipo, expuestas a condiciones ambientales contrastantes, con el propósito de comparar los parámetros de su fisiología térmica y definir su desempeño espermático en diferentes temperaturas.

Planteamiento del problema

Las lagartijas han estado expuestas a temperaturas ambientales que exceden su temperatura corporal y les permite estar a su temperatura preferida más tiempo, lo que altera la reproducción (Quintero-Pérez et al., 2023) pero también puede inducir el desplazamiento de los organismos a un sitio con temperaturas más bajas, se piensa entonces, que el cambio de distribución de *S. grammicus* (Domínguez-Godoy et al., 2020) se debe a la búsqueda de condiciones adecuadas para disminuir los efectos de las altas temperaturas sobre su función reproductiva.

Son escasos los trabajos relacionados con el efecto de las altas temperaturas en el testículo y epidídimo de organismos ectotermos, esto es importante ya que estos órganos son fundamentales para la formación y maduración de los espermatozoides y lograr el éxito reproductivo (Retana et al., 2014).

Justificación

Diversos estudios en el género *Sceloporus* han mostrado que existe diferencia entre las temperaturas que maximizan sus funciones biológicas y aquellas que favorecen la reproducción con la evidencia que las temperaturas favorables para las capacidades motoras, podrían disminuir la calidad espermática.

Por lo tanto, se requiere determinar si dentro de un gradiente de altitud, por presentar temperaturas ambientales diferentes, las poblaciones pudieran haber ajustado sus procesos reproductivos de acuerdo con las condiciones locales en que habitan.

Pregunta de investigación

¿Existe diferencia en el índice de calidad espermática de dos poblaciones de *S. grammicus* a distintas temperaturas dadas por un gradiente altitudinal?

Hipótesis

Si la calidad espermática es afectada por temperaturas altas, entonces, la población presente en menor altitud y por ende a mayor temperatura, tendrá menor índice de calidad espermática.

Objetivo general

Analizar el efecto de la temperatura a través del gradiente altitudinal en la calidad espermática de dos poblaciones de *Sceloporus grammicus*.

Objetivos particulares

- Conocer el efecto de la temperatura en los parámetros espermáticos de dos poblaciones de *S. grammicus*.
- Determinar el efecto de la temperatura en la histomorfología de los testículos y epidídimos de dos poblaciones de *S. grammicus*.

Material y Método

Zona de estudio

La Sierra del Ajusco se localiza en las entidades de la Ciudad de México, el Estado de México y Morelos (Latitud: 18° 53' 32" a 19° 20' 02" N, Longitud: 99° 51' 54" a 99° 25' 07" W). Presenta una superficie de 1,261 km² con cumbres que rebasan los 3900 msnm. La población a altitud baja fue en los alrededores del jardín botánico en Ciudad Universitaria, a una altitud de 2250 msnm, la población a mayor altitud fue en el Valle de la cantimplora, Ajusco, México, y se encuentra a una altitud de 3500 msnm.

Colecta

Selección de machos en época reproductiva: una de las características de los machos de *S. grammicus* es el desarrollo de patrones de color azul en la región del vientre lo cual se tomó como parámetro para la identificación de los organismos macho en época reproductiva (Fig. 1).



Figura 1. Patrones de coloración en la región ventral de *S. grammicus* indicativo de machos en etapa reproductiva. 1 cm.

Se colectaron 10 machos adultos sexualmente activos de la especie *S. grammicus* en cada población localizada a distinta altitud (2,250 y 3,500 msnm) en la Sierra del Ajusco. Los machos en época de reproducción presentan coloración azul en la región ventral, lo cual fue tomado como parámetro de inclusión.

La colecta se realizó por el método de “caña”; el cual consta de colocar en una caña de pescar un hilo delgado de aproximadamente 20 cm de largo, al final se realizó un nudo corredizo. Una vez avistado el organismo, se colocó el nudo cuidadosamente alrededor de su cuello; se cerró el nudo con un movimiento ascendente y posteriormente se tomó al organismo, seguido de su liberación del nudo.

Se tomaron medidas morfométricas como lo son: Longitud Hocico-Cloaca, Longitud Cloaca-Cola (Vernier) y peso de cada organismo. En seguida se tomó la temperatura corporal (Termómetro infrarrojo) y se registró la temperatura del sustrato y aire del sitio de colecta.

El trabajo realizado contó con el permiso de colecta (oficio SGPA/DGVS/0092/22) y se realizó en apego al numeral 55 de la Norma Oficial Mexicana NOM-126-ECOL-2000.

Temperatura preferida

Se fabricó un gradiente de temperatura, el cual consta de carriles de 1.5 m de largo con una altura de 50 cm, se colocaron focos de 100 w en un extremo, el cual proporcionó calor a los individuos, en el otro extremo se colocó hielo, brindando una temperatura menor. Los individuos fueron colocados en el gradiente, las mediciones de temperatura se realizaron con un termómetro digital cada hora durante el horario de actividad de los organismos y se registró para obtener la temperatura preferida.

Obtención del material biológico

Se tomaron diez organismos machos por cada una de las poblaciones, los cuales fueron llevados inmediatamente al laboratorio de Morfofisiología y Bioquímica del espermatozoide en donde se llevó a cabo la eutanasia por decapitación, se extrajeron ambos testículos y epidídimos con ayuda de material quirúrgico. Se tomaron las siguientes medidas: diámetros, longitudes y masa (g) (Quintero-Pérez *et al.*, 2023).

Los epidídimos derechos fueron seccionados en tres regiones: *caput*, *corpus* y *cauda* (Aranha *et al.*, 2023), fueron colocados en tubos eppendorf de 2 mL con 600µL de solución fisiológica Tyrode (pH 7.6) y se realizó el picado de acuerdo con (Edith *et al.*, 2016), con la finalidad de obtener la mayor cantidad de espermatozoides.

Análisis de parámetros espermáticos

Los espermatozoides obtenidos fueron evaluados de acuerdo a las especificaciones del Manual de la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2021) con modificaciones para organismos silvestres, del cual se obtendrá lo siguiente:

- Concentración de espermatozoides: se obtuvo contando los espermatozoides en la cámara de Neubauer, se realizó una dilución dependiendo de la densidad de espermatozoides, cada cámara se llenó con 10 µl. Se calculó mediante la fórmula $N/n \times (1/20) \times \text{factor de dilución}$. La dilución fue de 1:5. Donde: N= Número total de células contadas; n= recuadros de la cámara contabilizados.

- Viabilidad espermática: Se realizó un frotis de la muestra de espermatozoides 1:0.5 con eosina-nigrosina, los espermatozoides sin teñir se consideraron células vivas, esto se evaluó con microscopio de campo claro.
- Porcentaje de gota citoplasmática: De la muestra teñida con eosina-nigrosina se cuantificaron aquellos espermatozoides con presencia de gota citoplasmática.
- Movilidad espermática: Se colocaron 10 µl de muestra en un portaobjetos y cubreobjetos, se cuantificaron 100 células móviles e inmóviles en un microscopio de campo claro y se obtuvo el porcentaje.

Análisis de maduración espermática

- Compactación de ADN: Se realizó un frotis de 10 µl, se dejó secar por aproximadamente 30 minutos a temperatura ambiente, posteriormente, se fijó con metanol por 10 minutos seguido de un lavado con agua destilada, se dejó secar a temperatura ambiente por 30 minutos. Se tiñó con azul de anilina por 5 minutos y se lavó con agua destilada, y se dejó secar a temperatura ambiente. Finalmente, las laminillas se revisaron en un microscopio de campo claro.

Los criterios para evaluar la compactación de ADN fueron si los espermatozoides presentaban una tinción color azul producto del colorante, el cual se une a las proteínas histonas que se encuentran en el ADN antes del proceso de compactación, en dicho proceso se intercambian las histonas por protaminas a las cuales el colorante no es capaz de unirse, por lo tanto, las células sin teñir llevaron a cabo el proceso de compactación de ADN característico dentro del proceso de maduración epididimaria (Enciso, 2009)

- Concentración de Ca^{2+} intracelular: Se tomó una muestra de 10µl de espermatozoides y fueron fijados 1:1 con paraformaldehído al 4%, la medición de la concentración del ion se realizó por citometría de flujo, se añadió Fluo-3 (2µmol) (Mendoza-Sánchez et al., 2023), una sonda fluorescente que se une específicamente a Ca^{2+} . Se protegió de la luz y se dejó por 30 minutos, posteriormente, se centrifugó 300 g x 5 minutos, se removió el sobrenadante y

la muestra se re-suspendió con 500 µl de solución Tyrode. Se llevó la muestra al citómetro FACSCalibur (Becton Dickinson) en el cual se obtuvo el índice de fluorescencia ($IF = (\%vis) \times (media \text{ de fluorescencia})$).

- Localización del Ca^{2+} intracelular: Para localizar las reservas de $[Ca^{2+}]_i$ en los espermatozoides, se adicionó Clortetraciclina (CTC), puesto que es un quelante de Ca^{2+} que tiene afinidad por dicho ion. Se tomó una alícuota de 10µl de espermatozoides y se fijaron 1:1 con paraformaldehído (4%), posteriormente se colocaron 20 µl de la solución CTC y fueron protegidos de a luz. Se determinó la distribución de $[Ca^{2+}]_i$ en un microscopio de epifluorescencia (Rodríguez-Tobón et al., 2016)

Tolerancia térmica:

Una vez obtenidos los parámetros espermáticos se tomó una alícuota de 500 µl se dividió en 5 partes de 100 µl y se colocaron en baño seco a diferentes temperaturas (21°, 25°, 29°, 33° y 37 °C). En cada alícuota se cuantificó la movilidad de los espermatozoides por cada hora hasta que se redujo por completo.

Análisis histológico

El testículo y epidídimo izquierdos fueron fijados en formalina (10%) posteriormente deshidratados e incluidos en parafina (Paraplast X-tra). Se realizaron cortes de 5µm que posteriormente fueron teñidos con hematoxilina-eosina para su análisis en microscopio óptico (Uriostegui, 2021).

Se obtuvieron 6 imágenes por organismo y se midió el área de 60 túbulos seminíferos por población con ayuda del programa IMAGEJ.

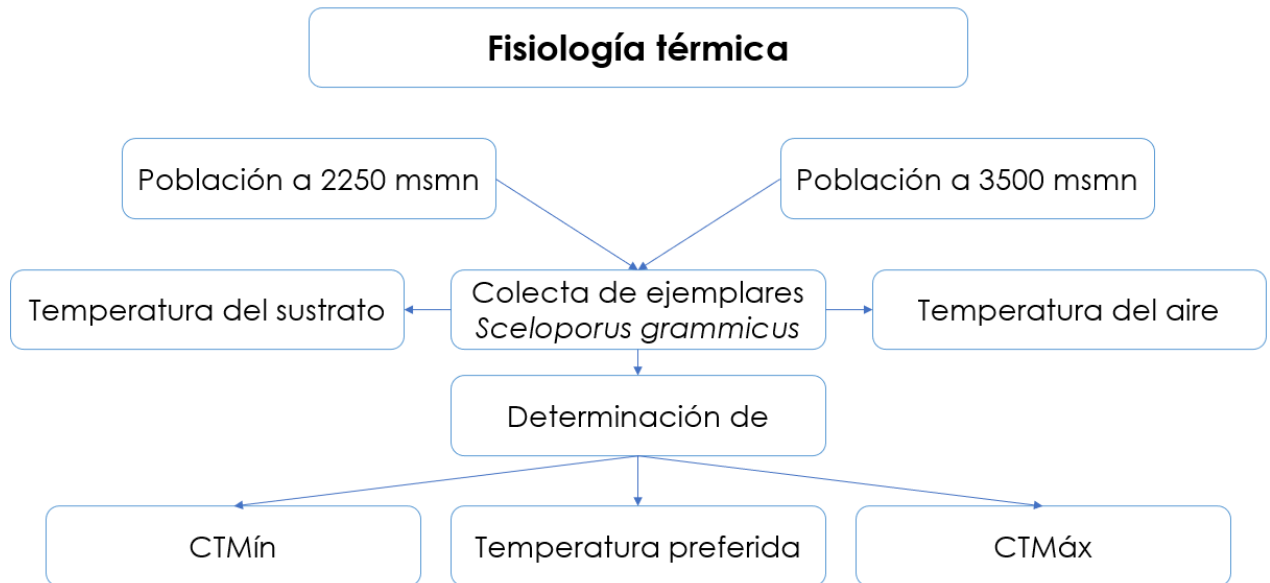
Análisis estadístico

Con la finalidad de observar el comportamiento de los datos, fueron analizados bajo pruebas de normalidad y homocedasticidad (Kolmogórov-Smirnov o Shapiro-Wilk).

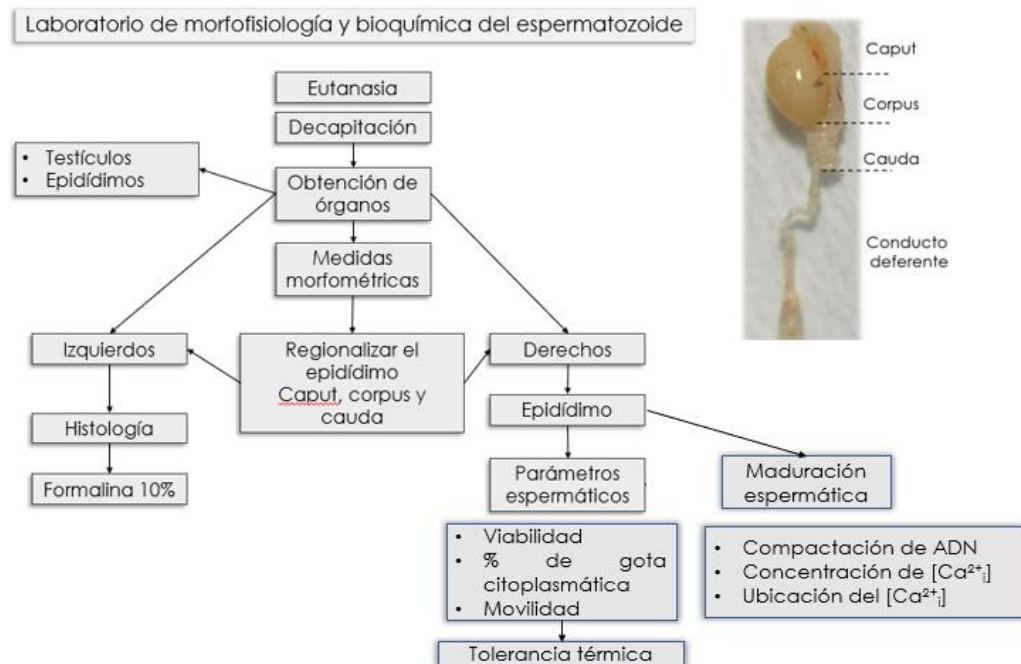
En la comparación de las partes del epidídimo, se realizaron Análisis de Varianza o Kruskal-Wallis dependiendo del comportamiento de los datos, mientras que en la comparación de poblaciones se realizó t de Student o bien U de Mann-Whitney.

Diseño experimental

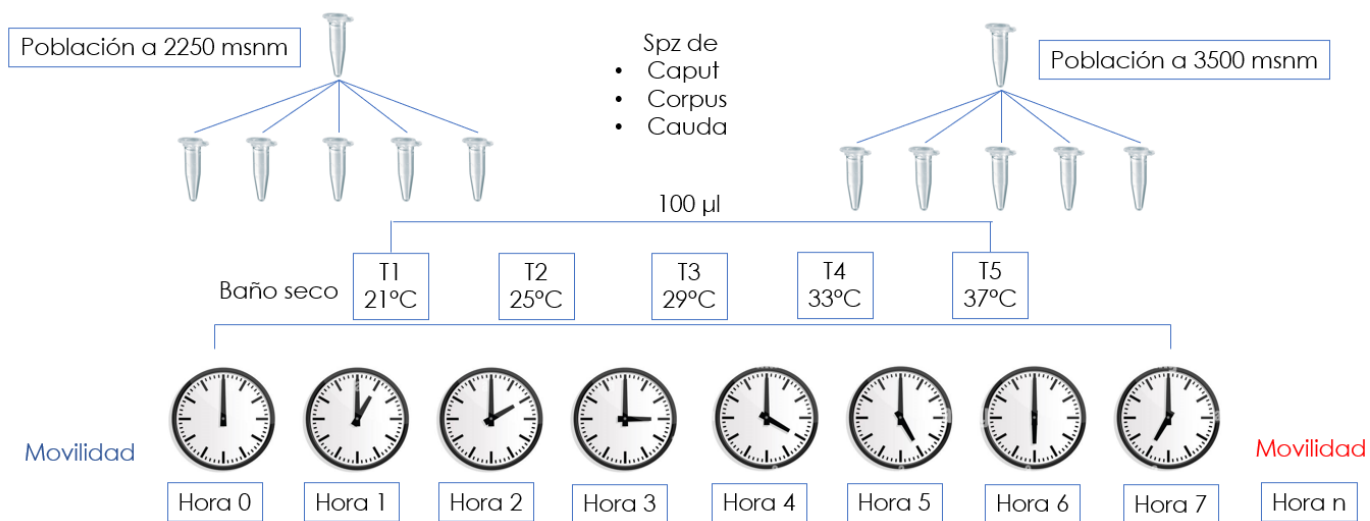
Fase 1. Fisiología térmica



Fase 2. Comparación de los parámetros espermáticos



Fase 3. Tolerancia térmica



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con la finalidad de comprender el efecto de la temperatura presente en un gradiente altitudinal, se describió la biología térmica de la especie y a partir de ella tomamos como referencia las temperaturas a las que se encuentran expuestas las poblaciones de *S. grammicus* para realizar la comparación de los parámetros espermáticos.

Biología térmica de *Sceloporus grammicus*

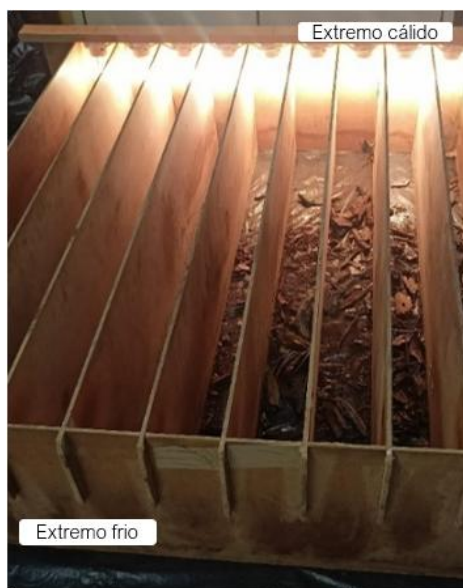


Figura 2. Modelo del gradiente de temperatura para *S. grammicus* en el que se muestran los extremos cálido y extremo frío. Se colocaron 3 organismos por carril, y se tomó la temperatura cloacal cada hora.

La temperatura corporal que presentó la población a 2250 msnm fue significativamente mayor ($p < 0.05$) en comparación con la población a 3500 msnm, 33.84 ± 2.6 vs $25.55 \pm 6.8^{\circ}\text{C}^*$, respectivamente. Resultados similares en cuanto a la temperatura del aire y el sustrato las cuales fueron 25.3 ± 2.6 vs $18.1 \pm 2.5^*$ y 27.0 ± 2.7 vs $20.7 \pm 3.5^*$, respectivamente (Tabla 1).

La temperatura preferida fue de 34.1 ± 3.0 y 33.4 ± 3.2 para la población a 2250 msnm y a 3500 msnm, respectivamente. En cuanto a la temperatura crítica máxima los valores obtenidos para cada población fueron de 44.10 ± 1.0 y $42.85 \pm 1.5^{\circ}\text{C}$, mientras que, la temperatura crítica mínima fue mayor para la población a 2250 msnm en

comparación a la que se encontró a 3500 msnm ($p < 0.05$) con valores de 14.19 ± 2.1 vs $11.78 \pm 0.7^{\circ}\text{C}$ (Tabla 2).

Tabla 1. Registro de los datos obtenidos de campo en ambas localidades para *S. grammicus*. Se muestra la temperatura corporal (Tb), temperatura del aire (Ta) y temperatura del sustrato (Ts) en donde se colectaron a los organismos. Kruskal-Wallis, Dunn's post hoc ($*p = 0.0001$).

Altitud	Tb	Ta	Ts
2250 msnm	33.84±2.6	25.3±2.6	27.0±2.7
3500 msnm	25.55±6.8*	18.1±2.5*	20.7±3.5*

Tabla 2. Registro de los datos obtenidos del gradiente de temperaturas en horario de actividad de dos poblaciones de *S. grammicus*. Se muestra temperatura preferida (T. sel), temperatura crítica mínima (T. C. Min.) y temperatura crítica máxima (T. C. Máx). T de Student, ($p = 0.0196$).

Altitud	T. sel ($^{\circ}\text{C}$)	T. C. Máx. ($^{\circ}\text{C}$)	T. C. Min. ($^{\circ}\text{C}$)
2250 msnm	34.1±3.0	44.10±1.0	14.19±2.1
3500 msnm	33.4±3.2	42.85±1.5	11.78±0.7*

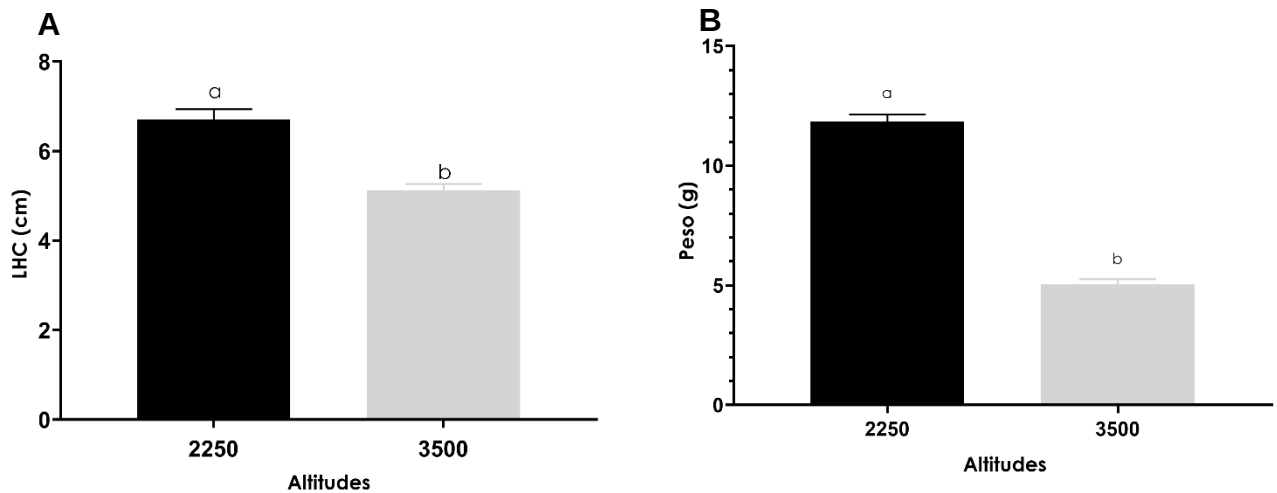
Los resultados de Tsel y CTmax concuerdan con lo establecido en el Efecto Bogert (1949), el cual señala que, lagartos de un mismo género tienden a conservar temperaturas corporales similares, independiente del sitio en donde habitan. Sin embargo, la CTmin y la Tb fueron diferentes, lo cual sugiere que *S. grammicus*, a pesar de ser un organismo termorregulador, presenta adaptaciones en su fisiología térmica dependiente de la temperatura ambiental, esto coloca a *S. grammicus* como un organismo termo-conforme, lo cual se opone a lo establecido por Bogert.

Hertz et al. (1993) plantean que la fisiología térmica podría o no responder relativamente rápido a las presiones de selección, denominándolas planteamientos lábil y estático, respectivamente. La fisiología térmica conservada (estática) se favorecería dado que la Tb es una variable fundamental dentro del gasto de energía

de ectotermos (Spotila & Standora, 1985), y cambios en las temperaturas corporales determinarían una serie de cambios en los desempeños de otras variables, esto repercutiría negativamente en la reproducción. Más aún, si se considera que varias funciones celulares en reptiles ocurren más rápido a temperaturas próximas a T_{sel} . La imposibilidad de cambio, aparte de proteger a los organismos de la selección también limitan la evolución fisiológica (Muñoz, 2022). Las poblaciones de *S. grammicus*, a pesar de encontrarse en altitudes y ambientes diferentes mantiene algunos rasgos de su biología térmica. Sin embargo, es necesario definir si está limitado su evolución fisiológica.

Medidas morfométricas

Con la finalidad de conocer si existían diferencias morfológicas como la talla y el peso entre los organismos de dos poblaciones a diferentes elevaciones de *S. grammicus* se obtuvo la longitud hocico-cloaca y el peso de 10 organismos macho (Gráfica 1). Los organismos de la población a 2250 msnm presentaron mayor longitud hocico-cloaca (6.4 ± 0.7 vs 5.1 ± 0.4) y peso (11.8 ± 0.9 vs 5.0 ± 0.6) comparado con la población a 3500 msnm ($p < 0.05$). Este fenómeno se explica a través de la regla inversa de Bergmann, la cual establece que los reptiles, como las lagartijas, suelen tener un cuerpo más pequeño cuando se encuentran en regiones más frías; aunado a la hipótesis del equilibrio térmico el cual postula que, en las regiones más frías, los ectotermos presentan tamaños más pequeños, ya que, pueden ganar calor rápidamente y preservarlo eficientemente en comparación con un tamaño corporal grande (Liang et al., 2023).



Gráfica 1. Longitud Hocico-Cloaca (LHC) (A) y peso corporal (B) de *S. grammicus* de dos diferentes poblaciones, 2250 y 3500 msnm. Barras negras indican la población a 2250 msnm; barras grises señalan la población a 3500 msnm. Letras indican diferencias estadísticamente significativas entre poblaciones ($n = 10$). T de Student, ($p < 0.0001$), $F = 2.579, 9, 9$; $1.940, 9, 9$.

Una vez realizada la eutanasia se obtuvieron los testículos y epidídimos (Figura 3).

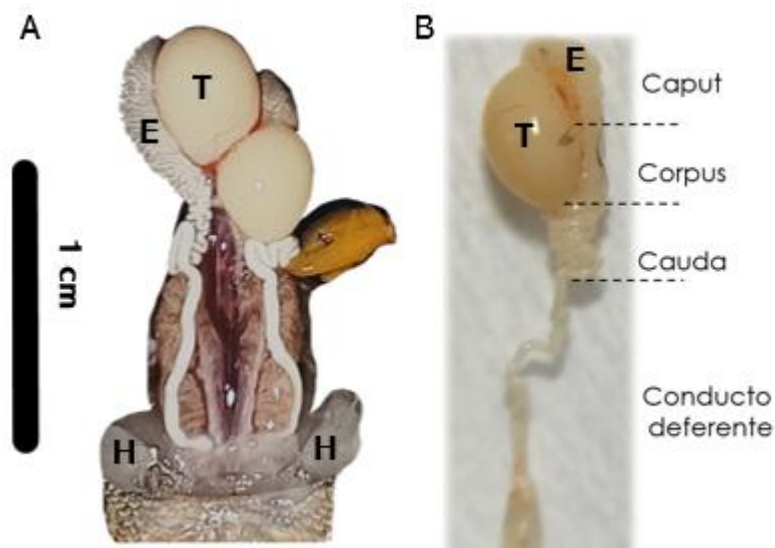
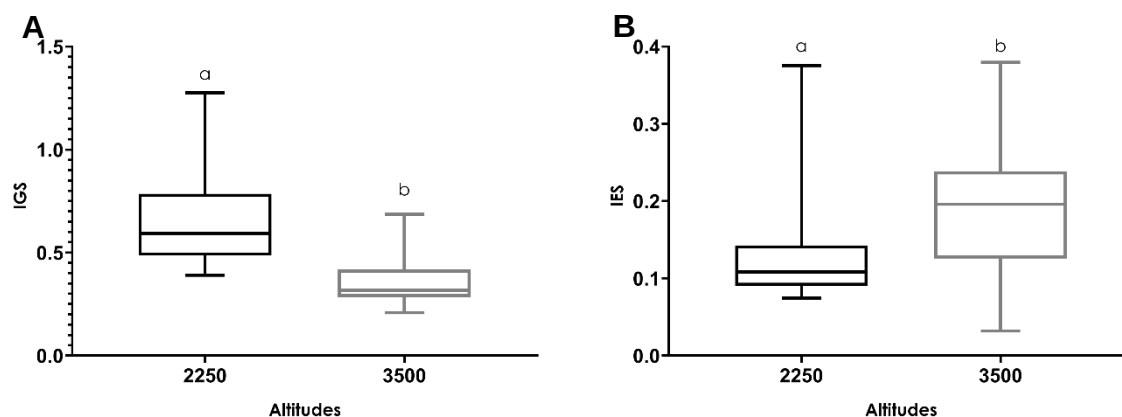


Figura 3. Posición de las gónadas y regionalización del epidídimo de *Sceloporus grammicus* en época reproductiva. (A) Se señala el testículo (T), epidídimo (E) y los hemipenes (H); (B) T=testículo, así como la regionalización del E=epidídimo (caput, corpus y cauda) (Arhana et al., 2023).

IGS e IES

Se calculó el índice gonadosomático (IGS) y epididimosomático (IES) con el fin de conocer el efecto de la temperatura a la que están expuestas las lagartijas en ambas poblaciones sobre el peso del testículo y epidídimo. La población a 2250 msnm presentó mayor IGS en comparación a la población a 3500 msnm (0.6 ± 0.2 vs 0.3 ± 0.1), caso contrario ocurrió en el caso del IES (0.1 ± 0.06 vs 0.1 ± 0.08) (Gráfica 2).



Grafica 2. (A) Índice gonadosomático (IGS) e (B) epididimosomático (IEE) de dos poblaciones de *S. grammicus* presentes a distintas altitudes. Las cajas indican la mediana del IGS e IEE de *S. grammicus* obtenidos de dos diferentes altitudes. Las letras representan diferencias significativas entre poblaciones. IGS (0.6 ± 0.2 vs 0.3 ± 0.1) e IES (0.1 ± 0.06 vs 0.1 ± 0.08). T de Student ($p < 0.05$).

Sceloporus grammicus presenta un patrón reproductivo geográficamente variable y que tanto la latitud como la altitud podría modificar dicho patrón, se realizó el análisis histológico con el fin de dilucidar la etapa del ciclo espermatogénico en el que se encuentra cada población y así explicar las diferencias encontradas en los índices gonadosomático y epididimosomático.

ANÁLISIS HISTOLÓGICO

MEDIDAS DE LAS ÁREAS

Los túbulos de la población a menor altitud tuvieron un área mayor a comparación a la población a mayor altitud (42492 ± 6231 vs $18901 \pm 4103 \mu\text{m}$) (Figura 4A). Los testículos de ambas poblaciones presentan espermatogonias (G) en la base del

epitelio germinal (Figura 4B), en la población a 2250 msnm observamos espermatoцитos en diferenciación (E), espermátidas alargadas (EA) y espermatozoides (Spz) (Figura 4 A-C). Ambas poblaciones presentan etapa de regresión, sin embargo, la población a 2250 msnm se encuentra en regresión temprana en donde se observa la separación de las células del epitelio germinal, mientras que la población a 3500 msnm presenta regresión tardía en donde ya no se encuentra células del epitelio germinal (Figura 4 a-c) (Méndez-De La Cruz et al., 201; Jenssen et al., 2001).

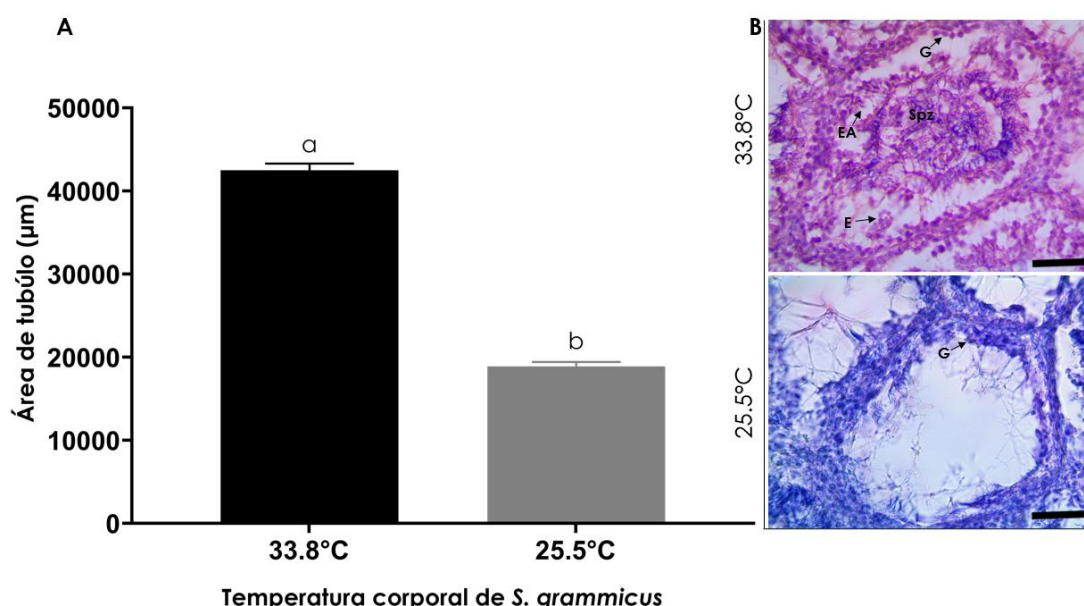


Figura 4. Área de los túbulos seminíferos de dos poblaciones de *Sceloporus grammicus* que presentan distinta temperatura corporal a distintas elevaciones (2250 msnm = 33.8°C; 3500 msnm = 25.5°C). Las barras indican el promedio de 60 túbulos por población. Así como las fotomicrografías de los túbulos seminíferos (B) de la población a 33.8°C y de la población a 25.5°C, teñidas con la técnica de Hematoxilina-Eosina. En el que se señalan espermatogonias (G), espermatoцитos en diferenciación (E), espermátidas alargadas (EA) y espermatozoides (Spz). 50 μm.

Posteriormente realizamos la histología del túbulo epididimario de ambas poblaciones.

El epidídimo de ambas poblaciones presenta los tipos de células reportadas por (Aranha et al., 2023), en la región de *caput* observamos células basales (Cb), células principales (Cp) (Figura 5 A, a y Figura 6 A, a). En la región de *corpus* observamos Cb, Cp, células claras (Cc), células estrechas (Ce) (Figura 5B, b). En *cauda*, observamos Cb, Cp, Cc, Ce y Células halo (Ch) (Figura 5C, c). Sin embargo, en la población a

mayor temperatura, en la región de *caput* del epidídimo se puede observar una menor cantidad de espermatozoides e incluso ausencia de los mismos en la región de *corpus* y *cauda* en comparación a la población a 3500 msnm.

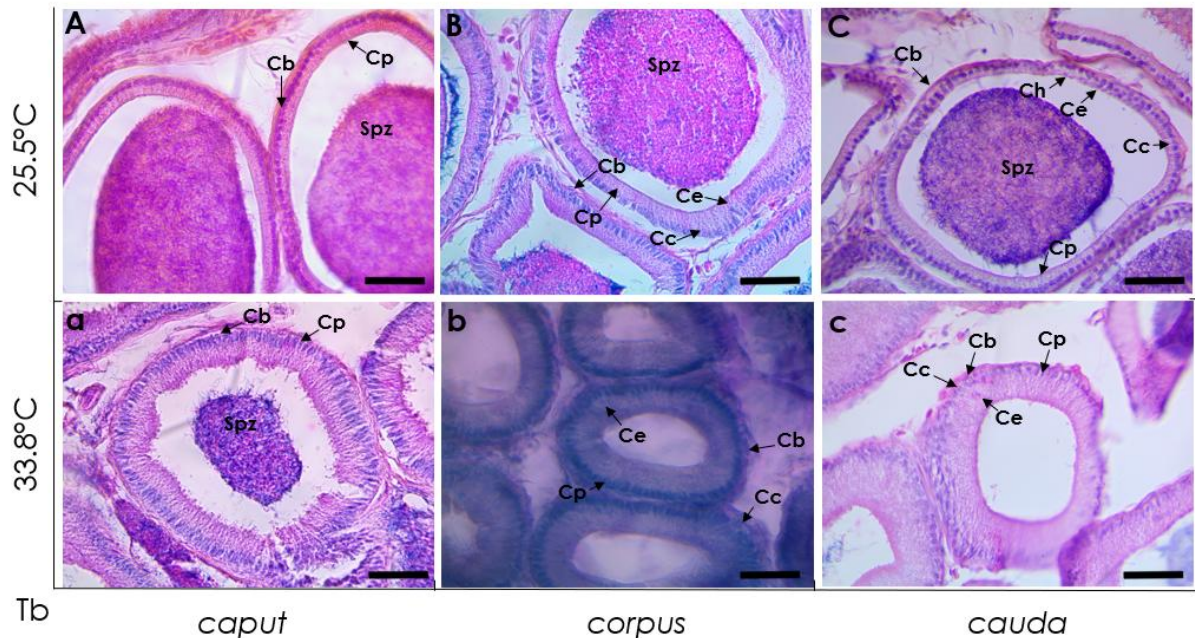


Figura 5. Fotomicrografías de las tres regiones del epidídimo de dos poblaciones de *Sceloporus grammicus* con distinta temperatura corporal a diferente altitud (2250 msnm = 33.8°C; 3500 msnm = 25.5°C) teñidas con Hematoxilina-Eosina y observadas a 40x. 50 μ m. En el que se señalan: Células basales (Cb), Células principales (Cp), Células claras (Cc), Células estrechas (Ce) y Células halo (Ch).

Los resultados del análisis histológico respaldan los índices gonadosomático y epididimosomático, encontrando menor área en los túbulos seminíferos, se relaciona con la masa gonadal, así como mayor área espermática en la población a 3500 msnm, resultado contrario en la población a menor altitud. Esto podría indicar un desfase temporal en el proceso espermatogénico entre las dos poblaciones, aunado a que posiblemente la población a menor temperatura podría estar llevando a cabo el proceso de almacenamiento prolongado de espermatozoides en el epidídimo después de una regresión testicular, lo cual ha sido reportado en mamíferos como es el caso del murciélago (Arenas-Ríos et al., 2016), sin embargo, se necesita describir el ciclo reproductivo de ambas poblaciones de *Sceloporus grammicus* así como si existe o no

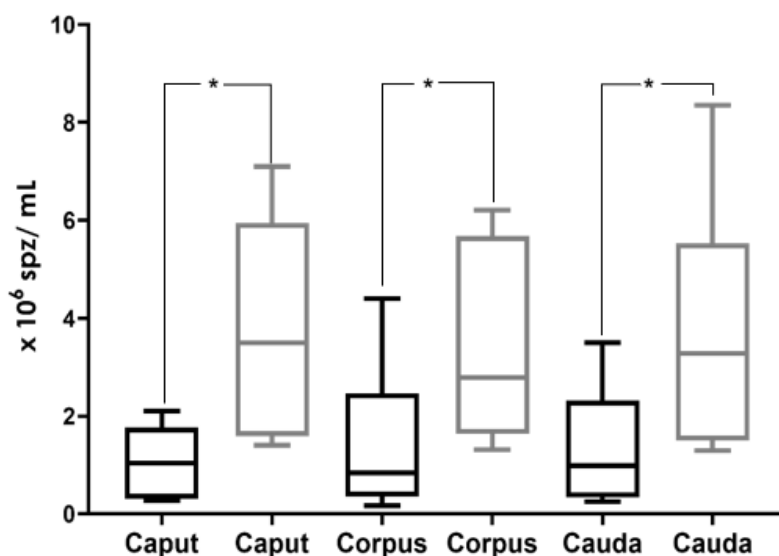
almacenamiento de espermatozoides en el epidídimo y cuál es el factor que propicia esta diferencia en ambas poblaciones.

Parámetros espermáticos

Los parámetros espermáticos se evaluaron en cada región del epidídimo para ambas poblaciones.

Concentración

La población a 2250 presentó menor concentración espermática en cada región del epidídimo; *caput* (1.0 ± 0.7 vs 3.7 ± 2.2), *corpus* (1.4 ± 1.4 vs 3.4 ± 2.0) y *cauda* (1.3 ± 1.2 vs 3.6 ± 2.4), en comparación a la población a 3500 msnm (Gráfica 3).



Gráfica 3. Concentración de espermatozoides obtenida por región epididimaria de organismos de dos diferentes poblaciones de *S. grammicus* de diferentes altitudes ($\times 10^6$ spz/mL). La caja negra representa la mediana de concentración de espermatozoides de la población a 2250 msnm, mientras que, la caja gris representa la mediana de la población a 3500 msnm. El * indica diferencias estadísticas cuando se compara entre la misma región de las dos diferentes poblaciones Kruskal-Wallis post hoc Dun; *caput* (1.0 ± 0.7 vs 3.7 ± 2.2), *corpus* (1.4 ± 1.4 vs 3.4 ± 2.0) y *cauda* (1.3 ± 1.2 vs 3.6 ± 2.4). ($p < 0.05$) ($n=10$).

Los resultados obtenidos en concentración espermática, concuerdan con lo observado en la histología del epidídimo de ambas poblaciones, ya que existe menor área

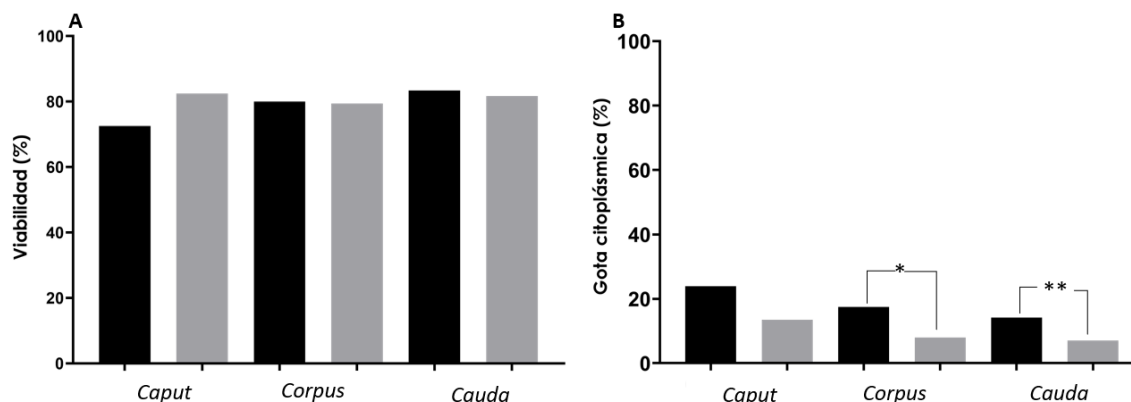
espermática en la población a 2250 msnm en comparación con la población a 3500 msnm, sin embargo, aún falta dilucidar si existe diferencia entre las poblaciones en cuanto al almacenamiento espermático epididimario o si el desfase temporal en el ciclo espermático es la respuesta a nuestros datos, por lo que no podríamos sugerir que, al menos, la concentración espermática es afectada por la diferencia de 8°C presente en la temperatura corporal de las poblaciones estudiadas (Tabla 1).

Viabilidad y porcentaje de gota citoplasmática

Se evaluó la viabilidad de los espermatozoides en cada región del epidídimo (*caput*, *corpus* y *cauda*) de ambas poblaciones, la cual fue mayor al 70% (Gráfica 4 A), sin encontrar diferencias significativas.

Contrario a lo reportado anteriormente en organismos sometidos a temperaturas altas o similares a las preferidas, en donde la exposición a mayor temperatura resulta en disminución de la viabilidad espermática (Retana et al., 2014; Urióstegui, 2021; Quintero-Pérez et al., 2023). Nuestros resultados indican que la diferencia de 8°C en la temperatura corporal de ambas poblaciones no altera la viabilidad de las células espermáticas.

La población a 2250 msnm presentó mayor porcentaje de gota citoplasmática en las regiones de *corpus* (17.5 ± 7.0 vs 8.0 ± 5.3) y *cauda* (14.2 ± 6.7 vs 7.1 ± 5.1) en comparación a la población a 3500 msnm, sin diferencias en la región de *caput* (23.9 ± 11.9 vs 13.5 ± 10.3) (Gráfica 4 B). Resultados que concuerdan con lo reportado por Retana et al. (2014) y Uriostegui (2021), quienes reportaron retención de gota citoplasmática debido al aumento en la temperatura. Se sabe que la gota citoplasmática es enzimáticamente activa y participa en el funcionamiento adecuado de las mitocondrias en los espermatozoides como fuente de energía durante su transporte en el epidídimo en tortugas de caparazón blando (Tarique et al., 2020).



En mamíferos se ha estudiado el contenido de la gota citoplasmática (CG) como estructura indispensable en el mantenimiento de los espermatozoides, Xu et al. (2013) estudiaron la relación de la presencia u ausencia de la GC en el desarrollo de la movilidad espermática en ratones y monos, su estudio mostró que los espermatozoides con presencia de GC lograban la movilidad progresiva, mientras que, aquellas células que no la tenían rara vez presentaban movilidad, sus estudios sugieren que la GC tiene un papel importante en el desarrollo de la movilidad durante la maduración epididimaria. Aunado a esto, Yuan et al. (2013) realizaron análisis proteómicos en las GC de ratón con el fin de dilucidar la función de dicha estructura, encontraron 105 proteínas de las cuales aproximadamente el 60% son enzimas involucradas en las funciones de los espermatozoides. Dos de ellas: la isoforma C de la lactato deshidrogenasa y la fosfoglicerato quinasa 2, las cuales participan en la producción de energía del espermatozoide a través de la glucólisis anaeróbica la cual es la principal fuente de producción de ATP, esencial para la fosforilación de la proteína tirosina y la activación de la movilidad, a su vez, mostraron que la actividad mitocondrial es mayor en espermatozoides con GC en comparación con los que no la poseen, dado que la GC se encuentra en la pieza media de los espermatozoides por lo cual tiene contacto con las mitocondrias, también mostraron que las concentraciones de piruvato

(sustrato tanto de la glucólisis como del ciclo de Krebs) son más altas en espermatozoides con GC en el corpus y cauda del epidídimo.

Sceloporus grammicus, así como diversos reptiles (Retana et al., 2014; Uriostegui, 2021) ; Tarique et al., 2020) retienen la gota citoplasmática y la retención aumenta respondiendo al incremento de la temperatura, por lo cual es posible que dicha retención sea como reserva de energía para contrarrestar el incremento.

Movilidad

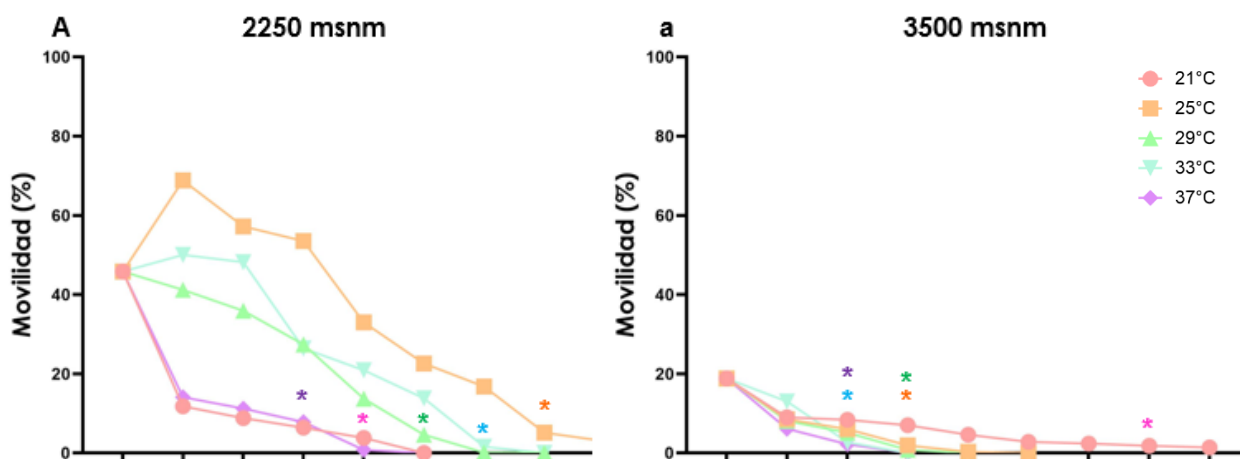
La movilidad inicial (Tiempo 0) no presentó diferencias entre las regiones del epidídimo de la población a 2250 msnm (*caput* (45.8 ± 17.3) vs *corpus* (82.2 ± 29.5) vs *cauda* (66.9 ± 14.2) : vs vs) ni en la población a 3500 msnm (*caput* (18.8 ± 9.2) vs *corpus* (36.20 ± 22.1) vs *cauda* (35.7 ± 20.1)) (Grafica 5). En tiempo 0, los espermatozoides de la población a 2250 msnm presentaron mayor porcentaje de movilidad en comparación a la población a 3500 msnm en la región de *caput* $(45.8 \pm 17.3$ vs $18.8 \pm 9.2)$ y *cauda* $(66.9 \pm 14.2$ vs $35.7 \pm 20.1)$, sin mostrar diferencias en la región de corpus $(52.2 \pm 29.5$ vs $36.20 \pm 22)$.

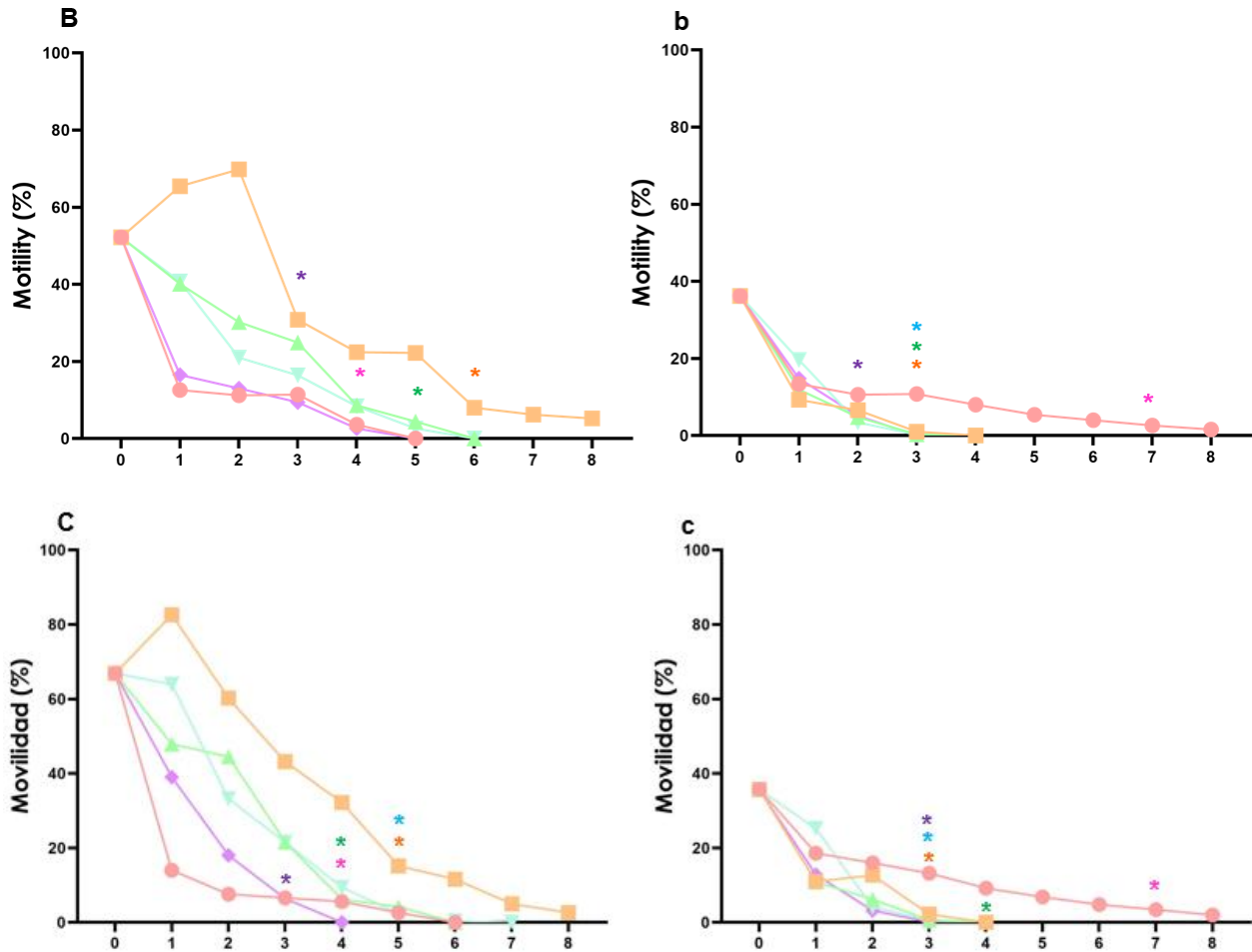
Una vez obtenidos los parámetros espermáticos, se utilizó una alícuota de 500 μ L de espermatozoides más medio, la cual se dividió en 5 partes de 100 μ L y se cuantificó la movilidad cada hora a diferentes temperaturas.

La movilidad inicial (Tiempo 0) no presentó diferencias entre las regiones del epidídimo en ambas poblaciones. 2250msnm (*Caput* vs *corpus* vs *cauda*: 45.8 ± 17.3 vs 52.2 ± 29.5 vs 66.9 ± 14.2); 3500 msnm (*Caput* vs *corpus* vs *cauda*: 18.8 ± 9.2 vs 36.20 ± 22.1 vs 35.7 ± 20.1). La población a 2250 msnm presentó mayor % de movilidad en la región de *caput* $(45.8 \pm 17.3$ vs $18.8 \pm 9.2)$ y *cauda* $(66.9 \pm 14.2$ vs $35.7 \pm 20.1)$, sin mostrar diferencias en la región de corpus $(52.2 \pm 29.5$ vs $36.20 \pm 22)$. Los espermatozoides de la población a 2250 msnm presentaron disminución de la movilidad a las 4 h vs 7 h de la población a 3500 msnm a 21 °C. De 25-29 °C los

espermatozoides de la población a 2250 msnm presentaron disminución de la movilidad a las 5-6 h vs 3 h de la población a 3500 msnm. A 37 °C los espermatozoides de ambas poblaciones presentaron disminución de la movilidad a las 2 h (Grafica 5).

Sin embargo, la temperatura óptima que mantuvo la movilidad por hasta 9 horas fue de 25°C y 29°C en la población a 2250 msnm y 3500 msnm respectivamente, lo que responde a la temperatura corporal que presentaron ambas poblaciones.





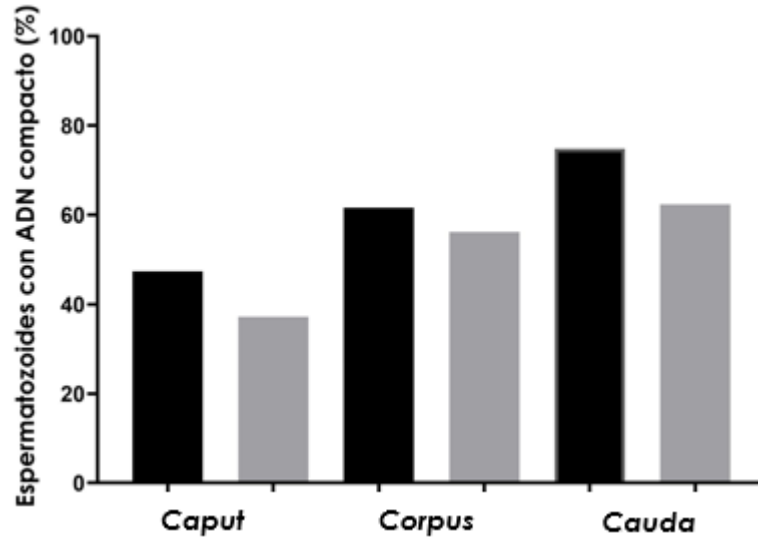
Grafica 5. Porcentaje de movilidad de espermatozoides de *S. grammicus* (*caput*, *corpus* y *cauda*) a distintas temperaturas por 8 horas. (A, B, C) población a 2250 msnm, (a,b,c) a 3500 msnm. Los símbolos indican las temperaturas a las que fueron expuestos los espermatozoides (● 21°C, ■ 25°C, ▲ 29°C, ▼ 33°C y ◆ 37°C).

Nuestros resultados son similares a lo encontrado en espermatozoides de dos especies de serpientes (Tourmente et al., 2007), en donde los espermatozoides de *Boa constrictor occidentalis* y *Waglerophis merremi* que fueron sometidos a distintas temperaturas, presentaron disminución de la movilidad a las 2 horas a 37 °C y la temperatura óptima para mantener la movilidad para estas dos especies fue de 25 °C, esto sugiere que, los efectos nocivos de las altas temperaturas de incubación podrían deberse a un aumento en el metabolismo de los espermatozoides, esto aumenta el consumo de energía y da como resultado una aceleración general de la senescencia de los espermatozoides.

El aumento en el metabolismo del espermatozoide aunado al incremento de temperatura resulta en mayor generación de especies reactivas de oxígeno (ERO), (Durairajanayagam et al., 2015), las ERO son un grupo de moléculas que contienen oxígeno con diferente capacidad química conformados por radicales libres (RL) los cuales contienen uno o más electrones no apareados, lo que las hace reactivas frente a otras moléculas, la mayoría de las ERO se generan a nivel mitocondrial en los procesos que generan energía (Carvajal, 2019). Los RL son el anión superóxido ($O^{\cdot-}$) radical hidroxilo ($OH^{\cdot}$) y el óxido nítrico, también otras moléculas como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) que no son radicales libres pero que actúan fisiológicamente como tal (Tortolero et al., 2003). Dentro de los efectos de las ERO se encuentra la peroxidación lipídica, proceso que tiene como resultado cambios degradativos que afectan la organización y función de la membrana del espermatozoide (Tortolero et al., 2003; Carvajal, 2019). La disminución de la movilidad espermática podría deberse a que la peroxidación lipídica reduce el contenido de ácidos grasos en la membrana plasmática del espermatozoide y con ello, pérdida de la fluidez e integridad lo que resulta en pérdida de la movilidad espermática (Tortolero et al., 2003). Proceso que podrían estar llevando a cabo los espermatozoides sometidos a temperaturas mayores a su temperatura óptima para mantener la movilidad, caso más particular a $37^{\circ}C$, temperatura en la cual la movilidad solo perdura por dos horas.

Compactación de ADN

Los espermatozoides de *Sceloporus grammicus* no presentaron diferencias entre regiones del epidídimo (*caput* (47.4 ± 26.35) vs *corpus* (61.60 ± 8.09) vs *cauda* (74.8 ± 15.19)) y (*caput* (37.20 ± 15.51) vs *corpus* (56.2 ± 18.7) vs *cauda* (62.40 ± 19.44)) para la población a 2250 msnm y 3500 msnm respectivamente, así mismo, no se encontraron diferencias entre poblaciones (Gráfica 6).

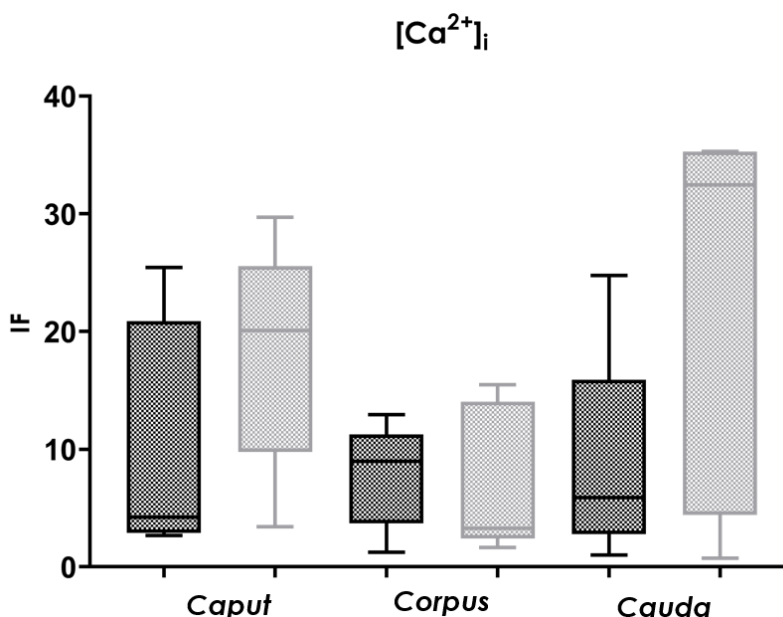


Gráfica 6. Compactación de ADN en espermatozoides de las diferentes regiones del epidídimo (*caput*, *corpus* y *cauda*) de dos poblaciones de *Sceloporus grammicus* de dos diferentes altitudes. Barras negras población a 2250 msnm; Barras grises población a 3500 msnm. ($n = 10$).

En mamíferos, se sabe que la compactación de ADN comienza durante el paso de los espermatozoides al epidídimo, la cromatina se encuentra organizada en los nucleosomas, los cuales están compuestos por histonas, la condensación nuclear inicia con la hiperacetilación estas proteínas y persiste en el intercambio de histonas por protaminas (Quintero-Vásquez et al., 2015). Cuando los espermatozoides transitan por el epidídimo, las protaminas bloquean determinados genes por medio de puentes disulfuro, lo cual resulta en mayor compactación del ADN (Enciso, 2009). Sin embargo, los espermatozoides de ambas poblaciones de *Sceloporus grammicus* no presentaron cambios en la compactación de ADN en ninguna de las regiones del epidídimo, así mismo, no hubo diferencias entre las poblaciones estudiadas (Figura 6), esto podría indicar que el sistema de intercambio de histonas por protaminas se lleva a cabo desde el testículo o podría ser más eficiente lo que sucede en mamíferos, sería de gran importancia realizar más estudios al respecto. Se ha estudiado que las altas temperaturas podrían alterar la función de las proteínas, sin embargo, para *Sceloporus grammicus*, la diferencia en la temperatura en la que se encuentran ambas poblaciones, no afecta la compactación del ADN en los espermatozoides.

Concentración de calcio intracelular ($[Ca^{2+}]_i$)

Se evaluó la $[Ca^{2+}]_i$ por medio de citometría de flujo, el cual fue expresado como el índice de fluorescencia (IF). No se encontraron diferencias entre las regiones del epidídimo (*caput* (10.36 ± 10.15) vs *corpus* (7.78 ± 4.37) vs *cauda* (8.65 ± 9.2)) y (*caput* (18.15 ± 9.6) vs *corpus* (7.24 ± 6.32) vs *cauda* (22.37 ± 16.62)) para la población a 2250 msnm y 3500 msnm respectivamente ni entre poblaciones.



Gráfica 7. Concentración de Ca^{2+}_i reportado como el índice de fluorescencia resultante de la unión de Fluo 3-AM en espermatozoides obtenidos de las tres regiones del epidídimo de dos poblaciones de *Sceloporus grammicus* de dos diferentes altitudes, las cajas negras representan la mediana y cuartiles del índice de fluorescencia de la población a 2250 msnm, mientras que las cajas grises la población a 3500 msnm. ($n=5$ por población).

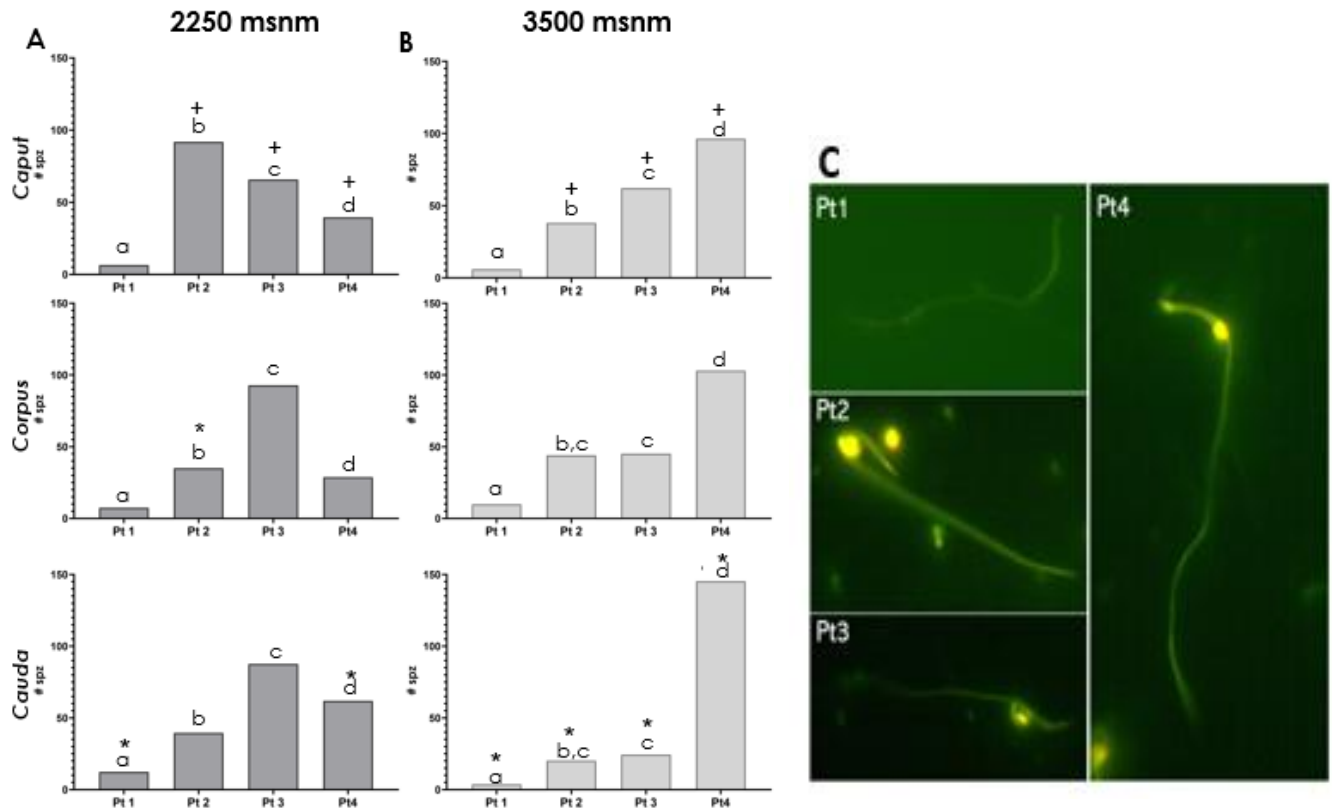
En mamíferos, la $[Ca^{2+}]_i$ en el espermatozoide disminuye conforme transita el epidídimo con el fin de evitar la hiperactivación, siendo de aproximadamente 1.3 nM en el segmento inicial hasta 0.25 nM en la *cauda* (Shum et al., 2022). Sin embargo, los espermatozoides de *Sceloporus grammicus* no presentaron diferencias en la $[Ca^{2+}]_i$ en las diferentes regiones del epidídimo. En mamíferos, la concentración Ca^{2+} en la región de *cauda* del epidídimo es mayor que lo estudiado en mamíferos (0.5 mEq/L), sin embargo, no es suficiente para inducir la cascada de señalización para que se lleve a cabo la capacitación, esto sugiere que las células podrían estar modificando su

fisiología y reservando el calcio para llevar a cabo la activación, hiperactivación y la reacción acrosomal y posiblemente requieran concentraciones superiores a las requeridas en la mayoría de los mamíferos para llevar con éxito la fertilización. A su vez, la temperatura a la que están expuestas las poblaciones parece no afectar las proteínas que transportan el calcio como TRPV1 ya que no se presentaron diferencias en dicha concentración entre poblaciones, sin embargo, para conocer la localización del calcio intracelular, se determinó su distribución en los espermatozoides de *Sceloporus grammicus*.

Distribución de $[Ca^{2+}]_i$

En espermatozoides de mamíferos se ha estudiado la distribución del $[Ca^{2+}]_i$ con el fin de evaluar el proceso de capacitación espermática, sin embargo, la localización del calcio durante el proceso de maduración epididimaria no se ha realizado en especies de vertebrados como las lagartijas.

Los espermatozoides de ambas poblaciones de *Sceloporus grammicus* presentaron cuatro patrones de distribución de $[Ca^{2+}]_i$ (Gráfica 8 C). La población a 2250 msnm tuvo mayor presencia de calcio en la gota citoplasmática en las regiones de corpus y cauda del epidídimo en comparación a las distintas distribuciones; mientras que, la población a 3500 msnm tuvo mayor concentración de calcio en la región acrosomal así como en la pieza media en cada parte del epidídimo en comparación a las distintas distribuciones presentes (Gráfica 8).



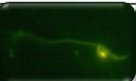
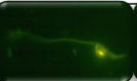
Gráfica 8. Patrones de distribución $[Ca^{2+}]_i$ en espermatozoides obtenidos de las tres regiones del epidídimo en dos poblaciones de *Sceloporus grammicus* observados por CTC en microscopia de epifluorescencia. A) Población a 2250 msnm; B) población a 3500 msnm; C) se muestra la distribución de $[Ca^{2+}]_i$ en espermatozoides de *S. grammicus*. Letras indican diferencias entre patrones. * indica diferencia entre la región anterior; + indica diferencia entre la última región. ANOVA seguido de Tukey. $p < 0.05$. ($n = 5$ por población).

En mamíferos se han registrado reservorios de calcio en las mitocondrias, acrosoma y en la REN, los cuales son posiblemente utilizados para el desarrollo de la activación e hiperactivación del espermatozoide (Amaral et al., 2013), en los espermatozoides de *S. grammicus* el calcio se observó en mayor proporción en la gota citoplasmática y en la región del acrosoma, estos podrían ser sus reservorios de calcio, y una vez que ingresen en el tracto genital femenino pudieran modificar su movilidad como sucede en mamíferos, reconocida como hiperactivación.

La comparación en los patrones de distribución de calcio entre ambas poblaciones, indica que, la población a 2250 msnm mantiene el calcio en la gota citoplasmática sin

importar la región del epidídimo en el que se encuentre el espermatozoide, mientras que, la población a 3500 msnm distribuye el calcio entre la región del acrosoma y la pieza media, distribución similar a lo que presenta un espermatozoide capacitado de mamífero (Tabla 3).

Tabla 3. Patrones de distribución $[Ca^{2+}]_i$ en espermatozoides obtenidos de las tres regiones del epidídimo en dos poblaciones de *Sceloporus grammicus* observados por CTC en microscopia de epifluorescencia. * Indica diferencia entre el mismo patrón entre poblaciones ($p \leq 0.05$).

Patrones								
Caput	6.6±3.2	91.8±4.4	65.8±6.3	39.6±5.0	6.0±3.2	38.0±2.0*	62.2±7.6	96.4±3.2*
Corpus	7.4±3.5	35.0±07	92.8±14.4	28.8±10.6	9.8±2.4	44.0±10.0	45.2±11.8*	103±4.2*
Cauda	12.4±3.6	39.6±5.4	87.6±5.6	62.0±3.7	38±1.3	20.2±2.9*	24.4±7.3*	145±4.3*
Población	2250 msnm				3500 msnm			

La retención de la gota citoplasmática atribuida a la exposición a mayor temperatura (Retana et al., 2014; Uriostegui, 2021) podría estar relacionada con el reservorio de calcio en dicha estructura en los espermatozoides de la población a 2250 msnm para combatir el aumento de la temperatura, ya que al aumentar el metabolismo incrementan las especies reactivas de oxígeno resultando en lipooxigenasas un agonista del canal TRPV1 ya que al activarse el receptor, permite la entrada de calcio a la célula, al encontrarse el calcio en la gota citoplasmática y no en el acrosoma, podríamos sugerir que podrían estar evitando la hiperactivación o bien la reacción acrosomal. Contrario a esto, la población a 3500 msnm se encuentra expuesta a menores temperaturas, por lo que el reservorio de calcio no estaría en la gota citoplasmática, se podría suponer que como sucede en mamíferos, exista un sitio de almacén parecido a la ENR, el cual es utilizado para la movilidad espermática, sin embargo, hace falta más estudios en los que se analice la ultra estructura del espermatozoide para dar una ubicación precisa de estos reservorios de calcio.

CONCLUSIONES

Sceloporus grammicus presenta adaptaciones en su fisiología térmica, así como en su fisiología espermática dependiendo de la temperatura ambiental en la que se encuentre, lo cual se opone a lo propuesto por el Efecto Bogert.

La retención de la gota citoplasmática podría ocurrir en función del mantenimiento del metabolismo del espermatozoide aunado al incremento de la temperatura.

La distribución del Ca^{2+} intracelular podría responder a la diferencia de 8°C en la temperatura corporal que presentaron ambas poblaciones.

PERSPECTIVAS

Se requiere describir el ciclo espermatogénico de ambas poblaciones y estudiar si existe almacenamiento espermático en el epidídimo, así como los factores ambientales que modifican dichos procesos.

Dilucidar la participación de la gota citoplasmática en los espermatozoides epididimarios de lagartijas.

Describir los procesos post testiculares como la maduración epididimaria y la capacitación aunados a la distribución de Ca^{2+} intracelular, con el fin de entender un poco más la fisiología espermática de los reptiles.

BIBLIOGRAFÍA

1. Altamirano-Benavides, M. A., Domínguez-Guerrero, S. F., Muñoz-Nolasco, F. J., Arenas-Moreno, D. M., Santos-Bibiano, R., Gómez-Trejo Pérez, R., Lozano-Aguilar, L. E., Fierro-Estrada, N., Gandarilla-Aizpuro, F. J., Woolrich-Piña, G. A., Martínez-Méndez, N., Lara-Reséndiz, R. A., & Méndez-de la Cruz, F. R. (2019). Ecología térmica y riesgo de extinción ante el cambio climático de *Gonatodes concinnatus* (Squamata: Sphaerodactylidae), una lagartija endémica de la Amazonía occidental. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 90(0). <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2019.90.2824>
2. Amaral, A., Lourenço, B., Marques, M., & Ramalho-Santos, J. (2013). Mitochondria functionality and sperm quality. In *Reproduction* (Vol. 146, Issue 5). <https://doi.org/10.1530/REP-13-0178>
3. Angrimani, D. S. R., Losano, J. D. A., Lucio, C. F., Veiga, G. A. L., Landim, F. C., Nichi, M., & Vannucchi, C. I. (2017). Cytoplasmic droplet acting as a mitochondrial modulator during sperm maturation in dogs. *Animal Reproduction Science*, 181. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.03.014>
4. Aranha, I., Bhagya, M., & Sagar, B. K. C. (2023). Epididymis of the Lizard *Eutropis carinata*: A Light Microscopic and Ultrastructural Seasonal Study. *Journal of Endocrinology and Reproduction*. <https://doi.org/10.18311/jer/2023/31257>
5. Argaez, V., Pruett, J. A., Seddon, R. J., Solano-Zavaleta, I., Hews, D. K., & Zúñiga-Vega, J. J. (2021). Steroid hormones, ectoparasites, and color: Sex, species, and seasonal differences in *Sceloporus* lizards. *General and Comparative Endocrinology*, 304. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2021.113717>
6. Barragán Sierra, A., Avendaño-Reyes, L., Hernández Rivera, J. A., Vicente-Pérez, R., Correa-Calderón, A., Mellado, M., Meza-Herrera, C. A., & Macías-Cruz, U. (2021). Termorregulación y respuestas reproductivas de carneros bajo estrés por calor. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 12(3). <https://doi.org/10.22319/rmcp.v12i3.5624>
7. Bennett, A. F., & John-Alder, H. (1986). Thermal Relations of Some Australian Skinks (Sauria: Scincidae). *Copeia*, 1986(1). <https://doi.org/10.2307/1444888>
8. Bogert, C. M. (1949). Thermoregulation in reptiles; a factor in evolution. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 3(3). <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1949.tb00021.x>
9. Cardona-Maya, W. D., & Cadavid, A. P. (2005). Evaluación de la reacción acrosomal en espermatozoides humanos inducida por los monosacáridos manosa y N-acetilglucosamina. *Actas Urológicas Españolas*, 29(7). [https://doi.org/10.1016/S0210-4806\(05\)73318-0](https://doi.org/10.1016/S0210-4806(05)73318-0)
10. Carvajal, C. C. (2019). ESPECIES REACTIVAS DEL OXÍGENO: FORMACIÓN, FUNCION Y ESTRÉS OXIDATIVO REACTIVE OXYGEN SPECIES: TRAINING, FUNCTION AND OXIDATIVE STRESS. *Medicina Legal de Costa Rica*, 36(1).
11. Chang, H., & Suarez, S. S. (2011). Two Distinct Ca²⁺ signaling pathways modulate sperm flagellar beating patterns in mice. *Biology of Reproduction*, 85(2). <https://doi.org/10.1095/biolreprod.110.089789>

12. Díaz Cordero, G. (2012). El cambio climático. Ciencia y sociedad. In *Ciencia y Sociedad: Vol. XXXVII* (Issue 2).
13. Domínguez-Godoy, M. A., Hudson, R., Pérez-Mendoza, H. A., Ancona, S., & Díaz de la Vega-Pérez, A. H. (2020). Living on the edge: Lower thermal quality but greater survival probability at a high altitude mountain for the mesquite lizard (*Sceloporus grammicus*). *Journal of Thermal Biology*, 94. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2020.102757>
14. Durairajanayagam, D., Agarwal, A., & Ong, C. (2015). Causes, effects and molecular mechanisms of testicular heat stress. In *Reproductive BioMedicine Online* (Vol. 30, Issue 1). <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2014.09.018>
15. Arenas-Ríos, E. A. R. G., Edith, C. B., Mina, K., Marcela, A. S., Ahiezer, R. T., Gisela, F. M., & Angel, L. G. M. (2016). Reactive oxygen species production and antioxidant enzyme activity during epididymal sperm maturation in *Corynorhinus mexicanus* bats. *Reproductive Biology*, 16(1). <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2016.01.001>
16. Espinosa-Cervantes, R., & Córdova-Izquierdo, A. (2018). Efecto del estrés calórico y el estrés oxidativo en la función espermática de los mamíferos. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 12(1). <https://doi.org/10.5209/rccv.59850>
17. Fajardo, V., Burguete, M., & González-Morales, J. C. (2020). Calentamiento global y la fisiología de ectotermos: El caso de tres lacertilios mexicanos. *CIENCIA Ergo Sum*, 27(3). <https://doi.org/10.30878/ces.v27n3a9>
18. Galán Martínez, L., Souto Cárdenas, R. D., Valdés García, S., & Minaberriet Conceiro, E. (2015). Canales iónicos Receptores de Potencial Transitorio y su papel protagónico en la terapia analgésica. In *Revista Cubana de Investigaciones Biomedicas* (Vol. 34, Issue 3).
19. Gist, D. H. (2010). Hormones and the Sex Ducts and Sex Accessory Structures of Reptiles. In *Hormones and Reproduction of Vertebrates: Reptiles*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374930-7.10005-6>
20. Gist, D. H., Turner, T. W., & Congdon, J. D. (2000). Chemical and thermal effects on the viability and motility of spermatozoa from the turtle epididymis. *Journal of Reproduction and Fertility*, 119(2). <https://doi.org/10.1530/jrf.0.1190271>
21. Hall, W. P. (2010). Chromosome variation, genomics, speciation and evolution in *sceloporus* lizards. In *Cytogenetic and Genome Research* (Vol. 127, Issues 2–4). <https://doi.org/10.1159/000304050>
22. Hertz, P. E., Huey, R. B., & Stevenson, R. D. (1993). Evaluating temperature regulation by field-active ectotherms: The fallacy of the inappropriate question. *American Naturalist*, 142(5). <https://doi.org/10.1086/285573>
23. Huanca L., W., Coronado S., L., & Galloway, D. B. (2015). Efecto de la Manipulación de la Temperatura Escrotal sobre las Características Clínicas, Seminales y Endocrinas en Carneros. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 26(4). <https://doi.org/10.15381/rivep.v26i4.11217>
24. IDEAM. (2005). Atlas climatológico de Colombia, Parte I Aspectos básicos. *Atlas Climatológico de Colombia*.
25. IPCC. (2021). Cambio Climático 2021: Bases físicas. In *Climate Change and Land: an IPCC special report on climate change, desertification, land degradation, sustainable land management, food security, and greenhouse gas fluxes in terrestrial ecosystems*.

26. Izquierdo, C., Martín-Martínez, M., Gómez-Monterrey, I., & González-Muñiz, R. (2021). Trpm8 channels: Advances in structural studies and pharmacological modulation. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 16). <https://doi.org/10.3390/ijms22168502>
27. Jenssen, T. A., Lovern, M. B., & Congdon, J. D. (2001). Field-testing the protandry-based mating system for the lizard, *Anolis carolinensis*: Does the model organism have the right model? *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 50(2). <https://doi.org/10.1007/s002650100349>
28. Kanter, M., Aktas, C., & Erboğa, M. (2013). Heat stress decreases testicular germ cell proliferation and increases apoptosis in short term: An immunohistochemical and ultrastructural study. *Toxicology and Industrial Health*, 29(2). <https://doi.org/10.1177/0748233711425082>
29. Kardong, K. (2008). Vertebrates: comparative anatomy, function, evolution. *Paper Knowledge . Toward a Media History of Documents*, 3(April).
30. Kim, J. H., Park, S. J., Kim, T. S., Park, H. J., Park, J., Kim, B. K., Kim, G. R., Kim, J. M., Huang, S. M., Chae, J. Il, Park, C. K., & Lee, D. S. (2013). Testicular hyperthermia induces unfolded protein response signaling activation in spermatocyte. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 434(4). <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.04.032>
31. Lara-Reséndiz, R. A., Larraín-Barrios, B. C., Díaz De La Vega-Pérez, A. H., & Méndez-De La Cruz, F. R. (2014). Calidad térmica a través de un gradiente altitudinal para una comunidad de lagartijas en la sierra del Ajusco y el Pedregal de San Ángel, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85(3). <https://doi.org/10.7550/rmb.42249>
32. Liang, T., Dai, W., Zhang, Z., Bempah, G., Shi, L., & Lu, C. (2023). Altitudinal gradients and body size variation among Chinese lizards in different terrains. *Journal of Zoology*, 320(1). <https://doi.org/10.1111/jzo.13055>
33. Lozano, A., Uribe, M. C., & Ramírez-Bautista, A. (2015). Seasonal and continuous spermatogenesis in the viviparous lizard *Sceloporus grammicus*, a study of two populations in contrasting environments from the Central Mexican Plateau. *Zoologischer Anzeiger*, 254. <https://doi.org/10.1016/j.jcz.2014.12.001>
34. Lozano Jiménez, Y. Y., & Sánchez Mora, R. M. (2020). Canales de calcio como blanco de interés farmacológico - Calcium channels as a pharmacological target. *Nova*, 18(34).
35. Méndez-De La Cruz, F. R., Cruz, M. V. S., López-Ortiz, M. L., & Hernández-Gallegos, O. (2013). Reproductive cycle of a high-elevation, oviparous lizard (*Sceloporus spinosus*: Reptilia: Phrynosomatidae). *Southwestern Naturalist*, 58(1). <https://doi.org/10.1894/0038-4909-58.1.54>
36. Mendoza-Sánchez, J. E., Rodríguez-Tobón, A., Arenas-Ríos, E., Orta-Salazar, G. J., León-Galván, M. A., Cruz, C. L. T. S., & Chávez, J. C. (2023). Sperm calcium flux and membrane potential hyperpolarization observed in the Mexican big-eared bat *Corynorhinus mexicanus*. *Journal of Experimental Biology*, 226(2). <https://doi.org/10.1242/jeb.244878>
37. Muñoz, M. M. (2022). The Bogert effect, a factor in evolution. *Evolution*, 76. <https://doi.org/10.1111/evo.14388>

38. Nixon, B., Ecroyd, H. W., Dacheux, J. L., & Jones, R. C. (2011). Monotremes provide a key to understanding the evolutionary significance of epididymal sperm maturation. In *Journal of Andrology* (Vol. 32, Issue 6). <https://doi.org/10.2164/jandrol.110.012716>
39. Organization, W. H. (2021). WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. In *Geneva: World Health Organization* (Vol. 6).
40. Plasman, M., Bautista, A., McCUE, M. D., & Díaz De La Vega-Pérez, A. H. (2020). Resting metabolic rates increase with elevation in a mountain-dwelling lizard. *Integrative Zoology*, 15(5). <https://doi.org/10.1111/1749-4877.12434>
41. Quintero-Pérez, R. I., Méndez-de la Cruz, F. R., Miles, D. B., Vera Chávez, M. C., López-Ramírez, Y., Arenas-Moreno, D. M., & Arenas-Ríos, E. (2023). Trade-off between thermal preference and sperm maturation in a montane lizard. *Journal of Thermal Biology*, 113. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2023.103526>
42. Quintero-Vásquez, G. A., Bermúdez-Cruz, R. M., & Castillo-Cadena, J. (2015). INFERTILIDAD MASCULINA Y FRAGMENTACIÓN DEL ADN ESPERMÁTICO: UN PROBLEMA ACTUAL. *TIP*, 18(2). <https://doi.org/10.1016/j.recqb.2015.09.006>
43. Ramírez-Bautista, A., Maciel-Mata, C. A., & Martínez-Morales, M. A. (2005). Reproductive cycle of the viviparous lizard *Sceloporus grammicus* (Squamata: Phrynosomatidae) from Pachuca, Hidalgo, México. *Acta Zoologica Sinica*, 51(6).
44. Rangel-Patiño, C. A., Mastachi-Loza, C. A., Eifler, D., García-Morales, C., & Ruiz-Gómez, M. de L. (2020). When things get hot: Thermoregulation behavior in the lizard *Sceloporus aeneus* at different thermal conditions. *Journal of Thermal Biology*, 89. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2020.102572>
45. Reed, K. M., & Sites, J. W. (1995). Female fecundity in a hybrid zone between two chromosome races of the *Sceloporus grammicus* complex (Sauria, Phrynosomatidae). *Evolution*, 49(1). <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1995.tb05958.x>
46. Retana, F. M., Rodríguez-Tobón, A., León-Galván, M. A., Méndez-de la cruz, F. R., & Arenas-Ríos, E. (2014). Fisiología reproductiva de la lagartija macho *Sceloporus mucronatus*. *Revista Iberoamericana de Ciencias*.
47. Robaire, B. (2019). A new era in research on the epididymis. In *Andrology* (Vol. 7, Issue 5). <https://doi.org/10.1111/andr.12697>
48. Rodríguez-Tobón, A., Fierro, R., León-Galván, M. A., Rosado, A., Cortés-Barberena, E., & Arenas-Ríos, E. (2016). Tyrosine phosphorylation as evidence of epididymal cauda participation in the sperm maturation process of *Corynorhinus mexicanus* bat. *Acta Zoologica*, 97(3). <https://doi.org/10.1111/azo.12124>
49. Sasa, M., Chaves, G., & Porras, L. W. (2010). Anfibios y reptiles frente al cambio climático. *Ambientico*, 205.
50. Seebacher, F. (2000). Heat transfer in a microvascular network: The effect of heart rate on heating and cooling in reptiles (*Pogona barbata* and *Varanus varius*). *Journal of Theoretical Biology*, 203(2). <https://doi.org/10.1006/jtbi.1999.1067>
51. Seebacher, F., & Murray, S. A. (2007). Transient receptor potential ion channels control thermoregulatory behaviour in reptiles. *PLoS ONE*, 2(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000281>
52. Shum, W., Zhang, B. L., Cao, A. S., Zhou, X., Shi, S. M., Zhang, Z. Y., Gu, L. Y., & Shi, S. (2022). Calcium Homeostasis in the Epididymal Microenvironment: Is Extracellular

- Calcium a Cofactor for Matrix Gla Protein-Dependent Scavenging Regulated by Vitamins. In *Frontiers in Cell and Developmental Biology* (Vol. 10).
<https://doi.org/10.3389/fcell.2022.827940>
53. Sinervo, B., Méndez-de-la-Cruz, F., Miles, D. B., Heulin, B., Bastiaans, E., Cruz, M. V. S., Lara-Resendiz, R., Martínez-Méndez, N., Calderón-Espinosa, M. L., Meza-Lázaro, R. N., Gadsden, H., Avila, L. J., Morando, M., De La Riva, I. J., Sepúlveda, P. V., Rocha, C. F. D., Ibargüengoytia, N., Puntriano, C. A., Massot, M., ... Sites, J. W. (2010). Erosion of lizard diversity by climate change and altered thermal niches. *Science*, 328(5980).
<https://doi.org/10.1126/science.1184695>
 54. Sinervo, B., Miles, D. B., Martínez-Méndez, N., Lara-Resendiz, R., & Méndez-De La Cruz, F. R. (2011). Response to comment on "Erosion of lizard diversity by climate change and altered thermal niches." In *Science* (Vol. 332, Issue 6029).
<https://doi.org/10.1126/science.1195348>
 55. Spotila, J. R., & Standora, E. A. (1985). Energy budgets of ectothermic vertebrates. *Integrative and Comparative Biology*, 25(4). <https://doi.org/10.1093/icb/25.4.973>
 56. Tansey, E. A., Roe, S. M., & Johnson, C. J. (2014). The sympathetic release test: A test used to assess thermoregulation and autonomic control of blood flow. *American Journal of Physiology - Advances in Physiology Education*, 38(1).
<https://doi.org/10.1152/advan.00095.2013>
 57. Tarique, I., Tariq, M., Bai, X., Wenjia, Q., Yang, P., Huang, Y., Sheng, Y., Vistro, W. A., & Chen, Q. (2020). Interaction of Epididymal Epithelia and their Secretions with Spermatozoa Supports Functional and Morphological Changes during Long-Term Storage in the Chinese Soft-Shelled Turtle (*Pelodiscus sinensis*). *Microscopy and Microanalysis*, 26(3). <https://doi.org/10.1017/S1431927620001373>
 58. Tortolero, Arata-Bellabarba, G., Osuna, J. A., Gómez, R., & Regadera, J. (2003a). Revista venezolana de endocrinología y metabolismo. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*, 3(3), 12–19.
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-31102005000300003&lng=es&nrm=iso&tlng=es
 59. Tortolero, Arata-Bellabarba, G., Osuna, J. A., Gómez, R., & Regadera, J. (2003b). Revista venezolana de endocrinología y metabolismo. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*, 3(3), 12–19.
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-31102005000300003&lng=es&nrm=iso&tlng=es
 60. Tourmente, M., Cardozo, G. A., Guidobaldi, H. A., Giojalas, L. C., Bertona, M., & Chiaraviglio, M. (2007). Sperm motility parameters to evaluate the seminal quality of *Boa constrictor occidentalis*, a threatened snake species. *Research in Veterinary Science*, 82(1). <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2006.06.001>
 61. Uriostegui, D. (2021). "EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA CALIDAD ESPERMÁTICA DE LA LAGARTIJA *Sceloporus megalepidurus*." UAM-I.
 62. Visconti, P. E. (2009). Understanding the molecular basis of sperm capacitation through kinase design. In *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* (Vol. 106, Issue 3). <https://doi.org/10.1073/pnas.0811895106>

63. Woolrich-Piña, G. A., Lemos-Espinal, J. A., Oliver-López, L., Calderón Méndez, M. E., González-Espinoza, J. E., Correa-Sánchez, F., & Montoya Ayala, R. (2006). ECOLOGÍA TÉRMICA DE UNA POBLACIÓN DE LA LAGARTIJA SCELOPORUS GRAMMICUS (IGUANIDAE: PHRYNOSOMATINAE) QUE OCURRE EN LA ZONA CENTRO-ORIENTE DE LA CIUDAD DE MÉXICO. *ACTA ZOOLOGICA MEXICANA (N.S.)*, 22(2).
<https://doi.org/10.21829/azm.2006.2222017>
64. Xu, H., Yuan, S. Q., Zheng, Z. H., & Yan, W. (2013). The cytoplasmic droplet may be indicative of sperm motility and normal spermiogenesis. *Asian Journal of Andrology*, 15(6). <https://doi.org/10.1038/aja.2013.69>
65. Yuan, S., Zheng, H., Zheng, Z., & Yan, W. (2013). Proteomic Analyses Reveal a Role of Cytoplasmic Droplets as an Energy Source during Epididymal Sperm Maturation. *PLoS ONE*, 8(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077466>



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00128

Matricula: 2223801985

Efecto de la temperatura a través del gradiente altitudinal en la calidad espermática de dos poblaciones de *Sceloporus grammicus*, presentes en la Sierra del Ajusco, México.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 10:00 horas del día 28 del mes de octubre del año 2024 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DR. AHIEZER RODRIGUEZ TOBON
DR. JULIO CESAR CHAVEZ ZAMORA
DR. ALEJANDRO AVALOS RODRIGUEZ
DRA. MARIA DEL ROSARIO TARRAGO CASTELLANOS

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretaría la última, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN ANIMAL

DE: GABRIELA CONTRERAS GONZALEZ

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

APROBAR

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

GABRIELA CONTRERAS GONZALEZ
ALUMNA

REVISÓ

MTRA. ROSALÍA SERRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBS

DR. JOSE LUIS GOMEZ OLIVARES

PRESIDENTE

DR. AHIEZER RODRIGUEZ TOBON

VOCAL

DR. JULIO CESAR CHAVEZ ZAMORA

VOCAL

DR. ALEJANDRO AVALOS RODRIGUEZ

SECRETARIA

DRA. MARIA DEL ROSARIO TARRAGO
CASTELLANOS