



Curso Postgrado

“Bases fisiológicas y métodos histológicos para el estudio de la Biología reproductiva de Reptiles”

(Avalado por la Comisión de Doctorado en Biología, Res.CRUB N°199/11)

Dictado por: Dra. Nora Ibarzüengoytía

Dra. Jorgelina Boretto

Dra. Marlin Medina

Dirigido a: profesionales de áreas relacionadas con la zoología y alumnos de postgrado de carreras de Ciencias Biológicas o estrechamente relacionadas. También se admitirán alumnos avanzados de Licenciatura en Biología o carreras afines. Los alumnos requieren de los conceptos básicos entregados en las carreras de grado y se priorizarán aquellos que se encuentren trabajando en temas relacionados con los reptiles.

Carga horaria: 45 hs (13hs teóricas; 32 hs práctica)

Coordinador del Curso: Biól. Facundo Cabezas (facundo.cabezas.cartes@gmail.com y/o facundocabezas@yahoo.com.ar)

Fundamentación: El presente curso tiene una importante carga horaria Práctica, dado que se espera que al finalizar el mismo, los alumnos puedan en forma autónoma en sus laboratorios aplicar la observación, descripción y medición de las gónadas y la técnica histológica para el estudio de ciclos reproductivos en reptiles. Los prácticos estarán acompañados de clases teóricas en las cuales se espera conducir a los alumnos al análisis de la diversidad que existe en los ciclos reproductivos de reptiles y que conozcan los mecanismos que actúan en los organismos animales en todos los niveles, abarcando desde el celular hasta el organismo integrado con su ambiente, sintetizando conocimientos anteriores y recientes para lograr la comprensión del tema.

Objetivo: En este curso se espera que los alumnos reciban información fundamental para desarrollar un completo trabajo de biología reproductiva en reptiles tanto ovíparos como vivíparos; que aprendan la metodología de estudio y que adquieran la capacidad para interpretar y criticar trabajos científicos.

Metodología: La metodología será teórico- práctica, con mayor carga horaria en los Prácticos y con un espacio dedicado a la discusión de trabajos científicos y en donde podrán consultar dudas sobre sus trabajos de investigación

Programa analítico y Cronograma de las actividades teóricas y prácticas

Lunes 1 de Agosto:

9-10 hrs. Presentación de los docentes y de los alumnos por medio de una breve descripción del trabajo que cada uno se encuentra realizando y de los temas de mayor interés en el curso. Entrega de cuadernillos y publicaciones para analizar y discutir.

10-12 hrs. Importancia de una metodología adecuada para llevar a cabo estudios de biología reproductiva. Análisis de las variables y herramientas consensuadas para facilitar la comparación con otros estudios reproductivos. Discusión de posibles hipótesis y predicciones relacionadas con la Fisiología de la reproducción e historia de vida. Relación de la biología reproductiva con aspectos ecológicos y comportamentales.

Tipos de reproducción: sexual, asexual y partenogénesis. Bases teóricas de línea germinal. Períodos ontogenéticos. Ciclo de vida y concepto de vida. Períodos, estadios y umbrales. Eclosión, nacimiento, estadio juvenil, adquisición de la madurez sexual, adulto reproductivo.

13-18 hrs. Gametogénesis femenina. Etapas de la vitelogénesis. Ovulación. Fecundación. Reconocimiento de los aparatos reproductores femenino y masculino en ejemplares de colección. Tractos reproductivos femeninos y su variación de acuerdo al estado reproductivo de la hembra. Gestación intrauterina. Puesta o partos en reptiles. Gametogénesis masculina. Histología testicular y ovárica. Espermatogénesis. Estadios y su reconocimiento mediante microscopía óptica. Espermiogénesis. Tractos reproductivos masculinos y su variación relacionada con el estado reproductivo.

Protocolo para el estudio de los ciclos reproductivos: del campo al laboratorio. Herramientas para el estudio de los ciclos reproductivos. Métodos no invasivos: palpación-proporción de hembras vitelogénicas y preñadas, proporción y tamaño de juveniles.

Martes 2 de Agosto:

9-18 hrs. Práctico con ejemplares de los géneros *Homonota*, *Phymaturus*, *Liolaemus*, *Boa constrictor* y las especies que los alumnos quieran traer como ejemplares de museo o fotos. Observación y caracterización de los aparatos reproductivos de lagartos ovíparos y vivíparos. Determinación de los estadios reproductivos: juvenil y hembras adultas vitelogénicas, no vitelogénicas y preñadas, y machos adultos fluyentes o en período de quiescencia. Medición de gónadas con microscopio estereoscópico.

Observación de hembras preñadas y clasificación general de los estadios de desarrollo embrionario.

Miércoles 3 de Agosto:

9-11 hrs. Teórico de técnicas histológicas aplicadas a la reproducción. Protocolo de Gallego y Hematoxilina y Eosina.

11-18 hrs. Preparación de tejidos para microscopía óptica: Se enseñarán las técnicas de fijación, conservación, deshidratación, tinción, corte y montaje necesarias para el estudio de los ciclos reproductivos masculinos. Los alumnos podrán traer tejidos para realizar el protocolo.

Jueves 4 de Agosto:

9-18 hrs. Observación y caracterización de estadios reproductivos en base a preparados de microscopía óptica de testículo, ovario y tractos reproductivos femeninos y masculinos de material de los alumnos del curso y propio de diferentes especies de reptiles.

Ciclos reproductivos en reptiles, estacionales, continuos. Ciclos reproductivos femeninos, anuales, prolongados. Ciclos masculinos prenupciales y postnupciales. Reserva de espermatozoides en machos y en hembras. Relación entre los índices gonadosomáticos y la histología gonadal en los ciclos reproductivos.

Viernes 5 de Agosto:

9-18 hrs. Mesa de trabajo. Discusión de los trabajos de interés de los alumnos (por ejemplo de tesis y tesinas en curso) o de un proyecto que integre su investigación de interés con los contenidos y herramientas obtenidas durante el curso. Análisis de la bibliografía aportada por los docentes. Se espera que la lectura de los trabajos científicos y lo aprendido durante el curso aporte nuevas ideas y soluciones a cada uno.

Bibliografía tentativa:

ANDREWS, R.M. & ROSE, B.R. 1994. Evolution of viviparity: constraints on egg retention. *Physiological Zoology*, 67: 1006–1024.

BARDIN, W., CHENG, Y.C., MUSTO, N.A. & GUNSALUS, G.L. 1988. The Sertoli cell. En: E. Knobil & J.N. Neill (eds.), *The Physiology of Reproduction*, pp 933-974. New York.

- BLACKBURN, D.G. 1982. Evolutionary origins of viviparity in the Reptilia. I. Amphibia - Reptilia, 3: 185–205.
- BLACKBURN, D.G. 1993. Standardized criteria for the recognition of reproductive modes in squamate reptiles. *Herpetologica*, 49(1): 118–132.
- BULL, J.J. & SHINE, R. 1979. Iteroparous animals that skip opportunities for reproduction. *American Naturalist*, 114: 296–316.
- CALLARD, I.P. & HO, M.S. 1980. Seasonal reproductive cycles in Reptiles. En: P.O. Hubinont (ed.), *Progress in Reproductive Biology*, pp. 5–38. Brussels.
- CALLARD, I.P., FILETI, L.A., PÉREZ, L.E., SORBERA, L.A., GIANNOUKUS, G., KLOSTERMAN, L., TSANG, P. & CRACKEN, J.A. 1992. Role of the corpus luteum and progesterone in the evolution of vertebrate viviparity. *American Zoologist*, 32: 264–275.
- COX, R.M., SKELLY, S.L. & JOUN-ALDER, H.B. 2003. A comparative test of adaptive hypotheses for sexual size dimorphism in lizards. *Evolution*, 57: 1653–1669.
- CREE, A. 1994. *Low annual reproductive output in female reptiles from New Zealand. New Zealand Journal of Zoology*, 21: 351–372.
- CREE, A. & GUILLETTE, L.J.JR. 1995. Biennial reproduction with a fourteen-month pregnancy in the gecko *Hoplodactylus maculatus* from Southern New Zealand. *Journal of Herpetology*, 20: 163–173.
- CREE, A., AMEY, A.P. & WHITTIER, J.M. 2000. Lack of consistent hormonal responses to capture during the breeding season of the bearded dragon, *Pogona barbata*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 126: 275–285.
- CREWS, D. & GANS, C. 1992. The interaction of hormones, brain, and behavior: An emerging discipline in herpetology. En: C. Gans & D. Crews (eds.), *Hormones, brain and behavior, Biology of the Reptilia. Volumen 18, Physiology E.*, pp. 1–23. Univ. Chicago Press, Chicago.
- CROCCO, M., IBARGÜENGOYTÍA, N.R. & CUSSAC, V.E. 2008. Contributions to the study of oviparity-viviparity transition: Placental structures of *Liolaemus elongatus* (Squamata: Liolaemidae). *Journal of Morphology*, 269: 865–874.
- CUSTODIA-LORA, N. & CALLARD, I.P. 2002. Progesterone and progesterone receptors in reptiles. *General and Comparative Endocrinology*, 127: 1–7.
- DUBOIS W., PUDNEY J. & CALLARD I.P. 1988. The annual testicular cycle in the turtle, *Chrysemys picta*: a histochemical and electron microscopic study. *General and Comparative Endocrinology*, 71: 191–204.
- DUVALL, D., GUILLETTE, L.J.JR. & JONES, R.E. 1982. Environmental control of Reptilian reproductive cycles. En: C. Gans & F.H. Pough (eds.), *Biology of the Reptilia. Volumen 13*, pp. 201–231. Academic Press, London.
- ECKERT, R., D. RANDALL & G. AGUSTINE. 1990. *Fisiología animal. Mecanismos y adaptaciones. Interamericana-Mc Graw-Hill. Madrid*, 683 pp.
- EDWARDS, A., JONES, S.M. & WAPSTRA, E. 2002. Multiennial reproduction in females of a viviparous, temperate-zone skink, *Tiliqua nigrolutea*. *Herpetologica*, 58: 407–414.
- FLEMMING, A.F. & VAN WYK, J.H. 1992. The female reproductive cycle of the lizard *Cordylus p. polyzonus* (Sauria: Cordylidae) in the Southwestern Cape Province, South Africa. *Journal of Herpetology*, 26: 121–127.
- GILBERT, S.F. 1994. *Developmental Biology. Sinahuer Associates, Inc. Publ.* 894 pp.
- GIST, D.H. & JONES, J.M. 1989. Sperm storage within the oviduct of turtles. *Journal of Morphology*, 199: 379–384.
- GUILLETTE, L.J. 1993. The evolution of viviparity in lizards. *BioScience*, 43: 742–751.
- GUILLETTE, L.J.JR., CREE, A. & ROONEY, A.A. 1995. Biology of stress: Interactions with reproduction, immunology and intermediary metabolism. En: C. Warwick, F.L. Frye & J.B. Murphy (eds), *Health and Welfare of Captive Reptiles*, pp. 32–81. Chapman & Hall, London.
- HABIT, E.M. & ORTIZ, J. 1996. Ciclo reproductivo de *Phymaturus flagellifer* (Reptilia, Tropiduridae). *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción, Chile*, 67: 7–14.
- HERNÁNDEZ-GALLEGOS, O., MÉNDEZ-DE LA CRUZ, F.R., VILLAGRÁN-SANTA CRUZ, M. & ANDREWS, R.M. 2002. Continuous spermatogenesis in the lizard *Sceloporus bicanthalis* (Sauria: Phrynosomatidae) from high elevation habitat of central México. *Herpetologica*, 58: 415–421.
- HILL, R.W., WYSE, G.A. & ANDERSON, M. 2006. *Fisiología Animal. Tercer edición. Panamericana, Madrid*.

HUSAK, J.F., IRSCHICK, D.J., MEYERS, J.J., LAILVAUX, S.P. & MOORE, I.T. 2007. Hormones, sexual signals, and performance of green anole lizards (*Anolis carolinensis*). *Hormones and Behavior*, 52: 360–367.

IBARGÜENGOYTÍA, N.R. 2004. Prolonged cycles as a common reproductive pattern in viviparous Lizards from Patagonia, Argentina: Reproductive cycle of *Phymaturus patagonicus*. *Journal of Herpetology*, 38 (1): 73–79.

IBARGÜENGOYTÍA, N.R. & CASALINS, L. 2007. Reproductive biology of the southernmost gecko *Homonota darwini*: Convergent life-history patterns among southern hemisphere reptiles living in harsh environments. *Journal of Herpetology*, 41: 71–79.

JONES, S.M., WAPSTRA, E. & SWAIN, R. 1997. Asynchronous male and female gonadal cycles and plasma steroid concentrations in a viviparous lizard, *Niveoscincus ocellatus* (Scincidae), from Tasmania. *General and Comparative Endocrinology*, 108: 271–281.

KVARNEMO, C. & AHNESJO, I. 1996. The dynamics of operational sex ratios and competition for mates. *TREE*, 10: 404–407.

LEMUS, D.A. 1967. Contribución al estudio de la embriología de reptiles chilenos. II. Tabla de desarrollo de la lagartija vivípara *Liolaemus gravenhorti* (Reptilia-Squamata-Iguanidae). *Biológica*, 40: 39–61.

MAHMOUD, I.Y. & LICHT, P. 1997. Seasonal changes in gonadal activity and the effects of stress on reproductive hormones in the common snapping turtle, *Chelydra serpentina*. *General and Comparative Endocrinology*, 107: 359–372.

MAHMOUD, I.Y., CYRUS, R.V., BENNETT, T.M., WOLLER, M.J., & MONTAG, D.M. 1985. Ultrastructural changes in testes of the snapping turtle, *Chelydra serpentina*, in relation to plasma testosterone, Δ^5 -3 β -hydroxysteroid dehydrogenase, and cholesterol. *General and Comparative Endocrinology*, 57: 454–464.

MAYHEW, W.W. & WRIGHT, S. 1970. Seasonal changes in testicular histology of three species of the lizard genus *Uma*. *Journal of Morphology*, 130: 163–186.

MÉNDEZ-DE LA CRUZ, F.R., VILLAGRÁN-SANTA CRUZ, M. & ANDREWS, R.M. 1998. Evolution of viviparity in the lizard genus *Sceloporus*. *Herpetologica*, 54: 521–532.

MOORE, M. C., & LINDZEY, J. 1992. The physiological basis of sexual behavior in male reptiles. En: C. Gans & D. Crews (eds.), *Biology of the Reptilia*, Volumen 18, pp. 70–113. Univ. of Chicago Press, Chicago.

MOORE, M.C., THOMPSON, C.W. & MARLER, C.A. 1991. Reciprocal changes in corticosterone and testosterone levels following acute and chronic handling stress in the tree lizard, *Urosaurus ornatus*. *General and Comparative Endocrinology*, 81: 217–226.

MOORE, I.T., LERNER, J.P., LERNER, D.T. & R.T. MASON. 2000. Relationships between annual cycles of testosterone, corticosterone, and body condition in male red-spotted garter snakes, *Thamnophis sirtalis concinnus*. *Physiological and Biochemical Zoology*, 73(3): 307–312.

MOUTON, P.F.N. & VAN WYK, J.H. 1993. Sexual dimorphism in cordylid lizards: a case study of the Drakensberg crag lizard, *Pseudocordylus melanotus*. *Canadian Journal of Zoology*, 71: 1715–1723.

OLSSON, M. & SHINE, R. 1998. Timing of parturition as a maternal care tactic in an alpine lizard species. *Evolution*, 52: 1861–1864.

OLSSON, M. & SHINE, R. 1999. Plasticity in frequency of reproduction in an alpine lizard *Niveoscincus microlepidotus*. *Copeia*, 1999: 794–796.

OLSSON, M., SHINE, R., WAPSTRA, E., UJVARI B., MADSEN, T. 2002. Sexual dimorphism in lizard body shape: The roles of sexual selection and fecundity selection. *Evolution*, 56: 1538–1542.

Randall, D., W. Burggren & K. French. 1997. *Eckert Animal Physiology: mechanisms and adaptations*. W.H. Freeman and Co. NY. 728 pp.

ROSS, M.H. & PAWLINA, W. 2007. *Histología. Texto y atlas color con biología celular y molecular*. Quinta edición. Panamericana. Argentina.

RUSSEK, M. & M. CABANAC. 1983. *Regulación y control en biología*. Cía. Ed. Continental, México. 148 pp.

SCHMIDT-NIELSEN, K. 1976. *Fisiología animal. Adaptación y medio ambiente*. Ed. Omega. Barcelona, 499 pp.

SEVER, D.M. & HAMLETT, W.C. 2002. Female sperm storage in reptiles. *Journal of Experimental Zoology*, 292: 187–199.

SHINE, R. 2004. Does viviparity evolve in cold climate reptiles because pregnant females maintain stable (not high)

body temperatures? *Evolution*, 58: 1809–1818.

SWAIN, R. & JONES, S. M. 1994. Annual cycle of plasma testosterone and other reproductive parameters in the Tasmanian skink, *Niveoscincus metallicus*. *Herpetologica*, 50(4): 502–509.

TINKLE, D.W. & GIBBONS, J.W. 1977. The distribution and evolution of viviparity in reptiles. *Miscellaneous Publications. Museum of Zoology, University of Michigan*, 154: 1–55.

VAN WYK, J.H. 1991. Biennial reproduction in the female viviparous lizard *Cordylus giganteus*. *Amphibia-Reptilia*, 12: 329–342.

WHITTIER, J.M., & TOKARZ, R.R. 1992. Physiological regulation of sexual behavior in female reptiles. En: C. Gans & D. Crews (eds.), *Biology of the Reptilia. Physiology E. Hormones, Brain, and Behavior*, Volumen 18, pp. 24–69. University of Chicago Press, Illinois.

WILSON, J.L., & CREE, A. 2003. Extended gestation with late-autumn births in cool-climate viviparous gecko from southern New Zealand (Reptilia. *Naultinus gemmeus*). *Austral Ecology*, 28: 339–348.

Programa sintético:

El curso abordará la importancia de aplicar metodologías adecuadas para realizar estudios de biología reproductiva en reptiles, analizando las variables y herramientas consensuadas que permitan comparar los trabajos con otros estudios reproductivos y se discutirán las hipótesis y predicciones que se plantean al realizar un estudio de Reproducción e Historia de Vida de Reptiles. Se abordarán temas teóricos como: relación de la biología reproductiva con aspectos ecológicos y comportamentales, tipos de reproducción, bases teóricas de la línea germinal, períodos ontogenéticos y ciclos de vida, estadio juvenil, adquisición de la madurez sexual y adulto reproductivo. Las clases teórico-prácticas abordarán la gametogénesis, el reconocimiento de los aparatos reproductores en ejemplares de colección, sus variaciones según el estado reproductivo, la gestación intrauterina y la determinación de los estadios embrionarios, las clasificaciones de los ciclos reproductivos y el protocolo para su estudio desde el campo al laboratorio, incluyendo los métodos no invasivos más utilizados. Se realizarán teóricos-prácticos de histología testicular y ovárica, con técnicas de tinción alternativas, aprendiendo a reconocer los estadios espermatogénicos mediante microscopía óptica y discutiendo la relación entre los índices gonadosomáticos y la histología gonadal. Se realizará un trabajo de discusión donde los alumnos presentarán sus trabajos de interés (tesis y tesinas en curso) o un proyecto que integre su investigación con los contenidos y herramientas obtenidas durante el curso, y se analizará la bibliografía aportada por los docentes, esperando que de su lectura y lo aprendido durante el curso se aporten nuevas ideas y posibles soluciones a los interrogantes planteados.