

Universidad Nacional de Córdoba
Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Tesina de Grado en Ciencias Biológicas

**Efecto del incremento de temperatura sobre caracteres
precopulatorios e inversión espermática en
*Tropidurus spinulosus***

Tesinista: Tamara Ansaldo Bronstein

Director/a: Dra. Gabriela Cardozo Milanesio

Co-director: Dr. Nicola Rossi

Lugar de trabajo:

*Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales.
Laboratorio de Biología del Comportamiento; Córdoba, Argentina.*

*Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Instituto de
Diversidad y Ecología Animal (IDEA), Córdoba, Argentina.*

Marzo 2024

**Efecto del incremento de temperatura sobre caracteres
precopulatorios e inversión espermática en
*Tropidurus spinulosus***

Alumno/a: Tamara Ansaldo Bronstein

Firma:



Director/a: Dra. Gabriela Cardozo Milanesio

Firma:



Co-director/a: Dr. Nicola Rossi

Firma:



Tribunal Examinador

Dr. Diego Guzmán

Firma:



Dr. Javier Goldberg

Firma:



Dra. Mariela Oviedo-Diego

Firma:



Calificación:

Fecha: 26/03/2024

Agradecimientos

A la Universidad Nacional de Córdoba por brindar educación pública de calidad y darme la oportunidad de poder formarme como profesional. También a la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales por ser mi casa de estudios durante estos años.

A CONICET y FONCyT por el financiamiento para llevar a cabo este trabajo.

A Gabi, mi directora, por escuchar mis sugerencias, ayudarme a resolver las preguntas que surgieron y guiarme con paciencia en cada etapa de esta Tesina, brindándome las herramientas necesarias para superar los desafíos que se fueron presentando durante el camino. También a Nico, mi co-director por haber estado tan presente durante todo el trabajo; por acompañarme en los viajes de campo, enseñarme como hacer las tareas de laboratorio y ayudarme con las cosas siempre que me hizo falta. A ambos muchas gracias de nuevo por todo su tiempo, compromiso y paciencia.

Al tribunal examinador de mi Tesina: el Dr. Diego Guzmán, Dr. Javier Goldberg y la Dra. Mariela Oviedo-Diego, por sus valiosos aportes a lo largo de todo el proceso de evaluación que ayudaron mejorar este trabajo.

A Reserva Natural Privada “Los Chorrillos” y su cuerpo de guardaparques: Talia Gaudin, Francisco Bustos, Yamil Abregu, Lucas Piccinni y Alonso García Matallana por toda la ayuda brindada durante las visitas a la reserva.

A la gente del Laboratorio de Genética (FCEfyN - UNC), el Dr. Diego Uñates (IDEA) y Dr. Maximiliano Tourmente (IIByT) por sus sugerencias, ayuda con los preparados y las tareas de laboratorio.

Al Servicio Meteorológico Nacional por brindarnos los datos solicitados.

A mis amigas de la facultad, las personas con las que tuve la enorme suerte de encontrarme durante la carrera. Alexia, Mariela, Sof, Yesi: gracias por acompañarme durante estos años y compartir conmigo este camino tan lindo.

Finalmente a mi familia, por su contención y cariño incondicional siempre. A mi mamá, papá y hermanas por haberme apoyado a lo largo de este recorrido, enseñarme a ser paciente y motivarme a seguir.

Índice

Resumen	5
Abstract.....	6
Introducción.....	7
Hipótesis	14
Objetivo general	14
Objetivos específicos.....	14
Materiales y Métodos	15
<i>Modelo de sustitución tiempo por espacio</i>	15
<i>Selección de los sitios de estudio</i>	16
<i>Calidad térmica de los hábitats</i>	18
<i>Captura y mantenimiento de los individuos</i>	19
<i>Caracterización reproductiva</i>	20
<i>Determinación de la condición corporal</i>	20
<i>Caracterización de caracteres precopulatorios</i>	20
<i>Caracterización de caracteres poscopulatorios: morfología espermática</i>	21
<i>Análisis estadísticos</i>	22
Resultados.....	24
Discusión	33
Limitaciones y propuestas de estudios a futuro.....	40
Conclusión.....	42
Referencias bibliográficas	43

Resumen

Los ectotermos pueden ser especialmente sensibles al aumento de temperatura ambiental ligado al cambio climático, ya que su temperatura corporal puede verse notablemente afectada. A nivel fisiológico, este fenómeno puede impactar sobre las tasas metabólicas y verse reflejado en niveles más altos de organización influenciando los patrones reproductivos. Sin embargo, aún se desconoce cómo los incrementos de temperatura asociados al calentamiento global pueden afectar la inversión energética en caracteres ligados a patrones de selección sexual. La hipótesis de este trabajo sostiene que las variaciones en el ambiente térmico podrían influir sobre la condición corporal en machos de *Tropidurus spinulosus* y en consecuencia que se modifique la inversión de los recursos energéticos en caracteres pre y poscopulatorios, manifestándose en cambios fenotípicos y de la morfología espermática, y en la relación entre ellos. Se empleó un diseño experimental de “sustitución tiempo-por-espacio” considerando dos poblaciones de diferentes hábitats térmicos, uno de los cuales refleja el aumento de 4°C proyectado por el escenario SSP5-8.5 del IPCC. Los individuos del hábitat de mayor temperatura presentaron mayor condición corporal, menor coloración y espermatozoides de cabezas más pequeñas. Estos resultados sugieren que el incremento de temperatura ambiental puede influir sobre las estrategias pre y poscopulatorias modificando los patrones de selección sexual.

Palabras claves: incremento de temperatura, caracteres pre y poscopulatorios, cromatismo, morfología espermática, selección sexual, estrategias reproductivas, ectotermo

Abstract

Ectotherms may be especially sensitive to the increased environmental temperatures linked to climate change, as their body temperature may be affected. At a physiological level, this phenomenon can impact on the metabolic rates and its effect may propagate to higher levels of organization, ultimately influencing reproductive patterns. However, it is still unknown how increasing temperatures associated with global warming can affect energy investment in traits linked to sexual selection patterns. The hypothesis of this work establishes that variations in the thermal environment could lead to a modification of the body condition in *Tropidurus spinulosus* males and, consequently, modify the investment of energy resources in pre and post-copulatory traits, impacting on phenotype and sperm morphology, and the relationship between them. A “time-for-space substitution” experimental design was employed considering two populations from different thermal habitats, one of which reflects the 4°C increase projected by the IPCC SSP5-8.5 scenario. Individuals from the higher temperature habitat had higher body condition, lower coloration, and sperm with shorter heads. These results suggest that increasing environmental temperature can influence pre and postcopulatory strategies by modifying sexual selection patterns.

Keywords: increasing temperatures, pre and postcopulatory traits, chromatism, sperm morphology, sexual selection, reproductive strategies, ectotherms

Introducción

El cambio climático conduce al incremento de la temperatura ambiental a un ritmo sin precedentes (Intergovernmental Panel on Climate Change IPCC, 2022). La temperatura media de la superficie de la Tierra ha aumentado 1,1 °C entre 1901 y 2018, y el escenario más probable según el IPCC (2022) estima un potencial aumento de alrededor de 4,8 °C para 2100. En este contexto, estudiar las posibles respuestas de los organismos frente a variaciones de la temperatura ambiental se ha convertido en un foco importante para diversos campos de la biología. Caracterizar la sensibilidad de parámetros biológicos, y en particular aquellos ligados a la reproducción, contribuirá a comprender la vulnerabilidad de las especies ante este cambio ambiental (Singh et. al., 2020; Sullivan et. al., 2022).

En particular, los ectotermos pueden ser especialmente sensibles al aumento de temperatura debido a que estos organismos utilizan el entorno térmico para termoregular, es decir, para mantener su temperatura corporal en un rango preferido (Angilletta 2009; Huey et al., 2009). En un gradiente térmico sin restricciones, los individuos seleccionan ciertos sitios que les permiten alcanzar temperaturas corporales adecuadas que conforman el rango preferido (T_{set}) (Sagonas et al., 2013; Taylor et al., 2021). A una temperatura ambiental adecuada, el metabolismo funciona a niveles normales y los organismos tienen mejor rendimiento fisiológico (Plasman et al., 2015; Angilletta, 2009). Ante un incremento de temperatura ambiental, la temperatura corporal puede verse notablemente afectada en los ectotermos con consecuencias en los procesos fisiológicos (Angilletta, 2009). Esto se debe a que al aumentar la temperatura corporal aumenta la energía cinética de las reacciones bioquímicas lo cual provoca un incremento en las tasas metabólicas impactando en los procesos biológicos a nivel celular (Brown et al., 2004; Dillon et al., 2010; Telemeco et al., 2017). El mantenimiento del metabolismo es costoso; la energía invertida en el mismo supone más del 80% del gasto energético anual en los animales (Angilletta, 2001). Frente al aumento de la temperatura corporal de manera sostenida, la tasa metabólica aumenta exponencialmente (Brown et al. 2004), y en consecuencia los costos energéticos lo cual podría conducir al consumo de las reservas (Lourdais et al. 2013; Plasman et al., 2020).

En lagartos, los lípidos almacenados se correlacionan con las reservas energéticas generales del organismo, por lo tanto el consumo de reservas energéticas podría conducir a menor masa corporal o robustez en los individuos (Derickson 1976). En consecuencia el efecto del aumento de la temperatura no sólo impacta en la modificación del metabolismo sino que

podría extenderse a niveles superiores de organización, tales como estructuras morfológicas o incluso el comportamiento de los organismos (Brown et al., 2004; Angilletta, 2009), afectando en última instancia su performance reproductiva (Angilletta et al. 2002; Huey et al., 2003, 2012; Sullivan et. al., 2022). Por lo tanto, la temperatura ambiental podría influenciar los patrones reproductivos, ya que los mecanismos fisiológicos subyacentes son sensibles a cambios térmicos (Angilletta et al. 2002; Taylor et al., 2021; Wang y Gunderson, 2022).

La condición corporal es un término utilizado para caracterizar la calidad de un individuo, ya que se relaciona con la cantidad de reservas energéticas o grasa corporal del animal (Sion et al., 2021) por lo tanto se ha considerado que es un predictor confiable y está fuertemente asociado con el potencial reproductivo de los individuos en muchos taxones dentro de Squamata (Cardozo et al., 2015). En lagartos, los lípidos se almacenan principalmente en los cuerpos grasos abdominales y en la sección proximal de la cola (Aguilar-Kirigin & Naya, 2013; Paz, 2019), por lo tanto rasgos como el perímetro abdominal y la robustez de la base de la cola pueden señalar la cantidad de reservas energéticas potencialmente utilizables en la búsqueda de pareja, cópulas y desarrollo de rasgos reproductivos (Cardozo et al., 2015; López Juri et al., 2020). Por ejemplo, en *Tropidurus spinulosus* López Juri et al. (2020) encontraron que la robustez corporal estaba relacionada con rasgos reproductivos en ambos sexos, y en otras especies del género observaron que la acumulación de energía en cuerpos grasos tendría un papel importante en la maduración de gónadas y posterior mantenimiento de la actividad reproductiva de machos y hembras (Ribeiro et al., 2012). En particular para machos, resultados de Paz et al. (2019) indicaron que en *Liolaemus koslowskyi* las reservas de grasa se utilizan principalmente para reproducción, ya que el contenido de grasa varía en forma inversa a los patrones estacionales del volumen testicular. Por lo tanto, la condición corporal puede modelar diversos caracteres reproductivos.

Los patrones reproductivos son en parte producto de la selección sexual, antes y después de la cópula. La selección sexual ha sido definida como cualquier selección que surja de las diferencias de aptitud asociadas con el éxito no aleatorio en la competencia por el acceso a los gametos para la fertilización (Shuker y Kvarnemo, 2021). Esto puede ocurrir a través de mecanismos de competencia intrasexual por acceso a los recursos ambientales y elección de pareja, a nivel pre y postcopulatorio (Andersson, 1994; Birkhead y Pizzari, 2002; Firman et al., 2017). Estos mecanismos son los que están detrás de la evolución morfológica, del dimorfismo sexual, de los despliegues comportamentales y de los ornamentos entre otros

caracteres; así como la evolución de los sistemas de apareamiento y los patrones de inversión a nivel gamético en ambos sexos (Emlen y Oring, 1977; Cox y Kahrl, 2014; Anderson y Dixson, 2009). Por lo tanto, dilucidar la importancia de los procesos pre y poscopulatorios es vital para comprender la dinámica de las estrategias reproductivas (Uller et al., 2013). Sin embargo, aún se desconoce cómo los incrementos de temperatura asociados al calentamiento global pueden afectar la inversión energética en caracteres ligados a patrones de selección sexual.

A nivel precopulatorio, las señales visuales pueden involucrar rasgos morfológicos y patrones de coloración, entre otros. Estos rasgos tienen cierto grado de plasticidad fenotípica frente a factores ambientales (López Juri 2020; Rossi, 2022), y al ser energéticamente costosas de desarrollar y mantener (Bajer et al., 2012; Mészáros et al., 2017), se podría esperar que diferencias térmicas en el ambiente modelen estos caracteres. Los caracteres precopulatorios suelen transmitir información sobre el estado, capacidades, calidad o condición reproductiva de individuo (Bajer et al., 2012; Plasman et al., 2015), actuando como señales honestas en la comunicación intrasexual o intersexual (Malo et al., 2005; Rossi et al., 2022). Por ejemplo, en especies del género *Tupinambis* los machos sexualmente activos presentan mayor ancho de cabeza debido al desarrollo del músculo pterigoideo, y este rasgo se correlaciona con la masa testicular (Naretto et al., 2014). Tales caracteres reflejan estrategias reproductivas (Dial et al., 2008), ya que el desarrollo mandibular es fundamental en interacciones inter e intrasexuales (Naretto et al., 2014), y una mayor masa testicular puede estar asociada con un mayor potencial reproductivo (Tourmente et al. 2009).

Al igual que los caracteres morfológicos, el color participa en la comunicación intraespecífica y funciona como una señal visual que transmite información a los congéneres (Cote et al., 2010; Langkilde y Boronow, 2010; Hamilton et al., 2013; Rossi et al., 2023). Los patrones de color están sujetos a presiones tanto ecológicas como sexuales dando lugar al dicromatismo sexual (Stuart-Fox et al., 2004). En este sentido, en lagartos, los patrones de color tienen un rol importante en el contexto reproductivo ya que están involucrados en el dominio social, la selección de pareja e interacciones intrasexuales (Bajer et al., 2012; Mészáros et al., 2017; Rossi et al., 2019). Por ejemplo, estudios de Plasman et al., (2015) sugieren que múltiples rasgos de color en *Crotaphytus dickersonae* podrían estar actuando como señales honestas en la selección de pareja reflejando la capacidad competitiva, retención de recursos y condición inmune de machos. Se sabe que la coloración es costosa de producir y mantener (Prum et al., 2006; Koch et al. 2017) y además puede variar en

relación a factores ambientales externos como las condiciones térmicas (Bajer et al., 2012; Langkilde et al., 2012). Frente a altas temperaturas, el estrés térmico puede afectar los colores (Garratt y Brooks 2012, Mészáros et al., 2019). Por lo tanto, es interesante desarrollar diseños que permitan discutir la sensibilidad de las distintas señales cromáticas en relación a temperaturas superiores al rango preferido por la especie (Rossi, 2022).

A nivel poscopulatorio, los lagartos pueden exhibir un sistema de apareamiento polígamo, lo que origina la superposición espacial y temporal de eyaculados de múltiples machos dentro del tracto reproductivo femenino, promoviendo la competencia espermática (Snook, 2015). En este contexto, es importante considerar que la producción espermática es costosa (Olsson et al. 1997; Snook, 2015; Kustra et al., 2019), y puede variar en función a factores intrínsecos como la condición corporal o extrínsecos como el contexto ambiental (Perry et al., 2013; Kahrl y Cox, 2015; Fenkes et al., 2019; Kustra et al., 2019). La competencia espermática se asocia al desarrollo de testículos grandes ya que los machos deben ser capaces de producir una cantidad suficiente de espermatozoides para asegurar la fecundación (Tourmente et al. 2009; Blengini et al., 2016). Sin embargo, también la calidad espermática resulta determinante para ser competitivos con los espermatozoides de otros machos rivales (Kahrl & Cox, 2015). En general, la competencia espermática podría seleccionar espermatozoides más grandes porque aumentan las habilidades competitivas del eyaculado (Snook 2005; Fenkes et al., 2019; Kustra et al., 2019). Aspectos de la morfología espermática como la longitud total de la célula, el tamaño de la cabeza, longitud de la pieza media y la longitud del flagelo (Malo et al. 2006; Lüpold et al. 2009) se relacionan con la calidad del esperma (Fenkes et al., 2019; Kahrl y Cox, 2015). Asimismo, la proporción entre las diferentes piezas de la célula como largo del flagelo:largo de la cabeza pueden usarse como predictores de la velocidad espermática (Fenkes et al., 2019). Por lo tanto los componentes espermáticos contribuyen de manera diferencial a diversas funciones y pueden influir sobre características que aumentan el rendimiento espermático (como la velocidad o longevidad), teniendo efecto en la eficiencia de la fertilización (Snook, 2005; Simmons y Fitzpatrick, 2012). Por otro lado, la variación intraindividual en la morfometría espermática puede ser un factor importante sobre el éxito reproductivo, ya que los individuos que producen espermatozoides con componentes más variables podrían tener ventajas en el contexto de la competencia espermática (Helfenstein et al., 2010). Sin embargo, se ha observado que el impacto del estrés térmico puede afectar la morfología espermática (Hellriegel y Blanckenhorn, 2002; Vasudeva et al., 2019).

Considerando la integración de procesos pre y poscopulatorios, es importante tener en cuenta que los organismos no pueden aumentar la asignación de recursos energéticos a la reproducción sin desviar una cantidad proporcional de energía de otra función, ya que ésta es limitada (López y Martín, 2002). Por lo tanto, maximizar la inversión en rasgos pre y poscopulatorios podría resultar difícil porque ambos pueden ser energéticamente exigentes (Olsson et al., 1997). Las restricciones metabólicas pueden crear compensaciones energéticas directas entre diferentes facetas de la reproducción, especialmente cuando el gasto de energía se ve alterado por factores ambientales como la temperatura (Fenkes et al., 2016). De esta forma el incremento de temperatura asociado a los posibles escenarios del calentamiento global podría afectar la manera en que los lagartos asignan sus recursos a los caracteres reproductivos, influenciando el balance en la inversión pre y poscopulatoria.

Nuestro modelo de estudio, *Tropidurus spinulosus*, es un lagarto de tamaño mediano que habita en el centro norte de Argentina y el centro de Brasil (Cruz, 1998). Su distribución dentro de áreas templadas lo convierte en un modelo interesante para comprender la plasticidad de los parámetros reproductivos ya que el incremento de temperatura asociado al cambio climático sería más marcado en estas regiones (Huey et al., 2009). A nivel de uso de hábitat, si bien la especie se observa comúnmente sobre la corteza de los árboles (Cruz, 1998), en algunas zonas de la provincia de Córdoba se puede encontrar a lo largo de los afloramientos rocosos del chaco serrano en áreas con escasa cobertura arbórea (Martori y Aùn, 1994; Cabrera, 2010). Sin embargo existen regiones de las sierras donde se han realizado plantaciones de pinos cambiando las características térmicas locales, y siendo un escenario interesante donde estudiar la plasticidad de los caracteres morfológicos, cromáticos y reproductivos de la especie.

Tropidurus spinulosus tiene requerimientos térmicos específicos para la reproducción ya que los individuos reproductivos seleccionan temperaturas diferentes al resto de la población (López Juri et al., 2018a). Los lagartos del género *Tropidurus* se consideran territoriales (Ribeiro et al., 2009; Cabrera, 2010; Van Sluys, 1997) y se ha visto que en ciertas especies, la disposición espacial de machos y hembras sugiere la formación de harenes, lo que responde a un sistema de apareamiento poligínico (Ribeiro et al., 2009; Galdino et al., 2017; Melo et al., 2017). Si bien no hay estudios sobre el *home range* de *Tropidurus spinulosus*, se ha observado que la configuración del ambiente dificulta su movimiento, ya que los lagartos evitan dispersarse a través del pastizal, quedando limitados a las áreas rocosas disponibles. Sumado a esto, en especies similares como *Tropidurus hispidus* se ha visto que

el home range en machos varía entre 9,90 a 340,51 m² (Melo et al., 2017). Por lo tanto los individuos están sujetos a las condiciones térmicas del microhábitat. La especie también muestra un marcado comportamiento social a nivel de interacciones reproductivas y la proporción de sexos operativa es sesgada hacia los machos, lo cual podría conducir a una intensa competencia espermática (López Juri et al., 2020). La especie tiene alto dimorfismo desviado hacia machos en tamaño corporal, ancho de la cabeza y perímetro de cola (López Juri et al., 2020). El dicromatismo sexual también es altamente desviado hacia machos los cuales durante la época reproductiva se caracterizan por presentar color naranja y rojo en la zona de la cabeza, garganta, pecho y abdomen y en los flancos se encuentran principalmente los colores azul, verde y amarillo (Cabrera, 2010; Rossi et al., 2019; Rossi et al., 2022). Los patrones de coloración de la especie intervienen en interacciones intra e intersexuales tales como encuentros agonísticos y comportamientos de selección de pareja (López Juri et al., 2020; Rossi et al., 2022).

Algunos estudios en la especie han explorado la relación entre el incremento de temperatura ambiental y caracteres pre y poscopulatorios en experimentos a corto plazo en el contexto de cambio climático. Rossi et al. (enviado) observaron que los aumentos de temperatura podrían limitar la plasticidad de la coloración y Rossi et al. (2021) observaron que las altas temperaturas afectan la dinámica espermática. Sin embargo no se conoce cuál es el efecto de los incrementos de temperatura en caracteres pre y poscopulatorios en poblaciones silvestres que experimentan diferencias térmicas a mayor plazo. Por lo tanto sería interesante comprender si los incrementos de temperatura asociados al cambio climático podrían tener influencia sobre la expresión de caracteres reproductivos de machos, y sus balances, afectando las estrategias reproductivas.



Tropidurus spinulosus

Hipótesis

La hipótesis de este trabajo sostiene que las variaciones en el ambiente térmico podrían influir sobre la condición corporal en machos de *Tropidurus spinulosus*, y en consecuencia, que se modifique la inversión de los recursos energéticos en caracteres pre y poscopulatorios, manifestándose en cambios fenotípicos y de la morfología espermática, y en la relación entre ellos. Por lo tanto, se podría predecir que en un hábitat donde las temperaturas ambientales superen el rango térmico preferido para la especie los individuos tengan menor condición corporal y realicen menor inversión sobre caracteres morfológicos, cromáticos y espermáticos.

Objetivo general

Evaluar la influencia del ambiente térmico sobre las reservas energéticas, caracteres precopulatorios morfológicos y cromáticos, y sobre caracteres poscopulatorios de la morfología espermática, y la relación entre ellos en machos de *Tropidurus spinulosus*, a fin de discutir los posibles efectos del incremento de temperatura asociados al calentamiento global sobre las estrategias reproductivas de un modelo ectotermo.

Objetivos específicos

En cada uno de los ambientes térmicos se propone:

- Evaluar caracteres ligados a los recursos energéticos como la condición corporal, perímetro de cola y abdomen.
- Caracterizar rasgos morfológicos asociados a la reproducción tales como el ancho de cabeza y patrones del cromatismo desviados hacia machos.
- Evaluar parámetros reproductivos tales como el volumen testicular y la dimensión de los diferentes componentes espermáticos.

Además

- Comparar los caracteres pre y poscopulatorios mencionados, y la relación entre ellos, entre ambientes térmicos diferentes.

Materiales y Métodos

Modelo de sustitución tiempo por espacio

A fin de evaluar la influencia del ambiente térmico sobre caracteres reproductivos, se empleó un diseño experimental de “sustitución tiempo por espacio” (STPE). El mismo consiste en tomar dos poblaciones diferentes de la misma especie cuyos hábitats difieran en algún factor ambiental, como por ejemplo la temperatura, en una magnitud que se asemeje a las proyecciones a largo plazo del calentamiento global (Merilä y Hendry, 2014). La metodología ha sido ampliamente utilizada en trabajos con ectotermos en relación al aumento de temperatura dado por el calentamiento global (Urban et al. 2014; Jaramillo et al., 2017; Verheyen et al., 2019; Krapf et al., 2023); en particular, en *Tropidurus spinulosus* se investigó la plasticidad comportamental e interacciones sexuales en ambientes de altas temperaturas en el contexto de cambio climático utilizando el diseño STPE (Rossi et al., 2023).

Para una mejor comprensión del diseño STPE, se explican a continuación las bases teóricas del mismo, las cuales serán posteriormente discutidas en función de los resultados obtenidos. En esta metodología se utilizan fenómenos espaciales contemporáneos para comprender, modelar y/o predecir procesos temporales (pasados o futuros) que de otro modo serían inobservables (Blois et al., 2013; Fitzpatrick y Keller 2015). La metodología se basa en encontrar asociaciones espaciales entre factores ambientales y fenotipos que coincidan con las asociaciones temporales para las cuales se desean hacer inferencias (Merilä y Hendry, 2014). Las condiciones ambientales pueden impulsar cambios en las variables bióticas a través de diferentes procesos, entre ellos la plasticidad (Parmesan, 2006) y la STPE puede proporcionar predicciones sólidas para la plasticidad fenotípica (Urban et al., 2014).

La STPE es un método que funciona como alternativa a estudios longitudinales de largo plazo (Wogan et al., 2018) y es útil para generar predicciones en especies con tiempos de generación largos o en situaciones donde hay escasez de datos (Urban et al., 2014). La STPE permite dar respuestas relativamente rápidas sobre el efecto del cambio de temperatura ligado al cambio climático sobre los sistemas biológicos (Urban et al., 2014). A pesar de esto, el modelo tiene sus limitaciones, aunque existen procedimientos que pueden ayudar a aumentar el poder de predicción del modelo (Lovell et al., 2023).

Una de las limitaciones es la transferibilidad en el tiempo. El modelo se basa en el supuesto de que las relaciones clima-bióticas son equivalentes en el espacio y el tiempo, y que estas

relaciones se mantendrán en los climas futuros (Blois et al., 2013; Wogan et al., 2018; Lovell et al., 2023). Para validar este supuesto hay diferentes propuestas, entre ellas está el uso de datos históricos existentes como monitoreo a largo plazo, hacer predicciones en escalas de tiempo cortas que puedan ser sometidas a validación, y el uso de experimentos que pueden proporcionar información sobre las respuestas bióticas a condiciones climáticas nuevas (Lovell et al., 2023).

Otra limitación es probar la causalidad. Es necesario identificar correctamente los factores climáticos relevantes y causales del cambio fenotípico observado (Wogan et al., 2018; Diamond et al., 2021; Lovell et al., 2023). Para ello, el uso de conocimientos biológicos preexistentes es importante para seleccionar variables climáticas claves de los hábitats a comparar (Van de Pol et al., 2016; Lovell et al., 2023). Paralelamente es importante seleccionar sitios de estudio a una escala espacial adecuada que permitan aislar la variable climática que explicaría el cambio fenotípico, así como que el muestreo sea representativo de las condiciones climáticas disponibles (Diamond et al., 2021; Lovell et al., 2023; Martin et al., 2023). También la STPE cobra solidez cuando se discute en conjunto con experimentos que permiten establecer un vínculo causal entre un factor y la respuesta biológica (Merilä & Hendry, 2014; Diamond et al., 2021; Lovell et al., 2023).

Selección de los sitios de estudio

El muestreo se realizó en la reserva natural privada “Los Chorrillos”, Tanti, provincia de Córdoba (31°23′33″W, 64°35′48″S), durante la época reproductiva de la especie (septiembre a diciembre; López Juri et al., 2018a) en dos años consecutivos (2022-2023). De acuerdo a lo planteado en relación al diseño STPE, y a fin de seleccionar los sitios de estudio dentro de la reserva natural, se consideró la postulación del IPCC que predice un calentamiento global en el rango de 2°C a 4.4°C para fin de siglo (IPCC, 2022). Sin embargo, en ausencia de acciones de mitigación de corto plazo para reducir las emisiones, se ha incrementado la probabilidad de alcanzar 4°C de calentamiento global como predicho por la Shared Socioeconomic Pathways 5-8.5 (abreviado SSP8.5). En concordancia se seleccionaron dos hábitats dentro de la reserva que reflejan esta diferencia térmica: los mismos fueron denominados como Hábitat de Temperatura Mayor (TMayor) y Hábitat de Temperatura Menor (TMenor). La diferencia promedio en la temperatura del sustrato (Ts) entre las zonas de $X = 3,7 \pm 2,54^\circ\text{C}$ (Rossi, 2022). Estos hábitats son geográficamente contiguos e intercalados y no difieren en altitud (900 m.s.n.m.). Considerando la escala

espacial a la cual se seleccionaron los sitios de muestreo entre hábitats, la misma se sitúa en un promedio de 600 metros aproximadamente, lo cual podría minimizar la probabilidad de adaptación local (Dill et al., 2013; Rossi, 2022). En cuanto a la vegetación, el ambiente donde se encuentra la especie en TMayor se caracteriza por presentar montículos rocosos completamente expuestos a la luz solar (Fig 1A). En contraste, en el hábitat TMenor los montículos rocosos están parcialmente cubiertos por elementos de la vegetación arbórea principalmente del género *Pinus* recibiendo sol filtrado y generando alternativas térmicas (Fig.1B) (Rossi, 2022).

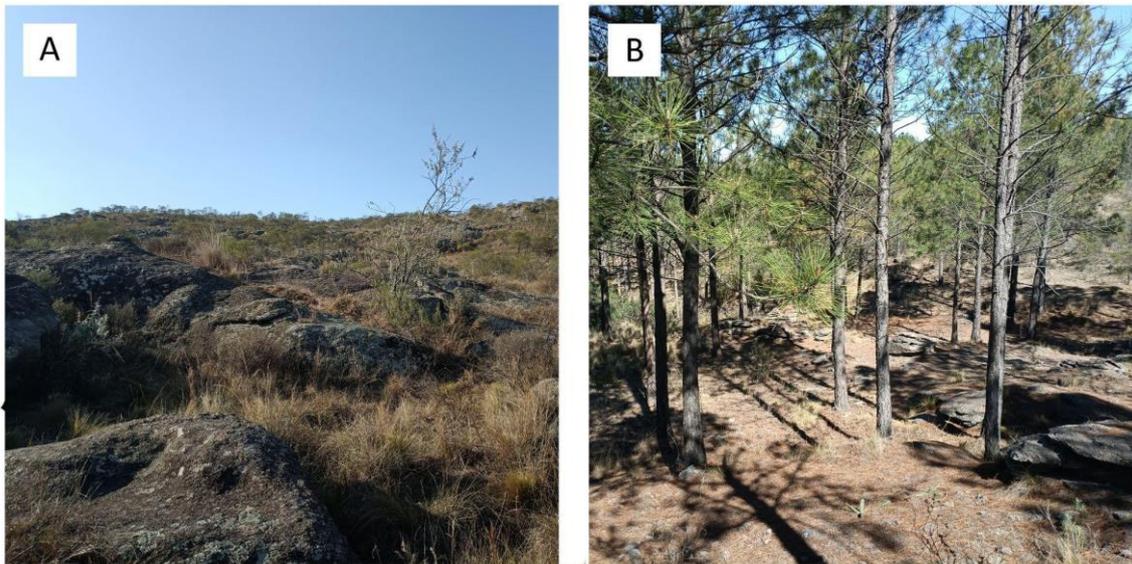


Fig 1. Sitios de muestreo dentro de la reserva. (A) Hábitat de Temperatura Mayor (TMayor) caracterizado por presentar montículos rocosos expuestos a la luz solar. (B) Hábitat de Temperatura Menor (TMenor) los montículos rocosos están parcialmente cubiertos por elementos de la vegetación arbórea principalmente pinos.

La historia climática de los últimos 50 años y la historia del cambio composicional de la vegetación de la reserva también fueron consideradas en la selección de los sitios de muestreo. Según los datos del Servicio Meteorológico Nacional, se observa que la media de temperatura ambiental aumentó alrededor de 4°C principalmente en los últimos 20 años (Fig. 2). Sin embargo es necesario también considerar que a escala local, hacia fines de la década del 90 se realizaron múltiples plantaciones de pinos dentro de la reserva, generando los dos ambientes mencionados anteriormente (TMayor y TMenor). Teniendo en cuenta que la diferencia térmica entre los dos ambientes actualmente es de aproximadamente 4°C, se podría considerar que a escala local la plantación de pinos ha amortiguado el aumento general de temperatura, y por lo tanto podría estar reflejando las condiciones térmicas a las

cuales se encontraba previamente la especie, mientras que la población de los ambientes cuya vegetación no fue modificada habría estado sujeta al incremento de temperatura de los últimos 20 años. Por lo tanto el diseño STPE utilizado tiene en consideración la historia reciente de las poblaciones a fin de poder analizar los cambios fenotipo-clima en el contexto de proyecciones de cambio climático.

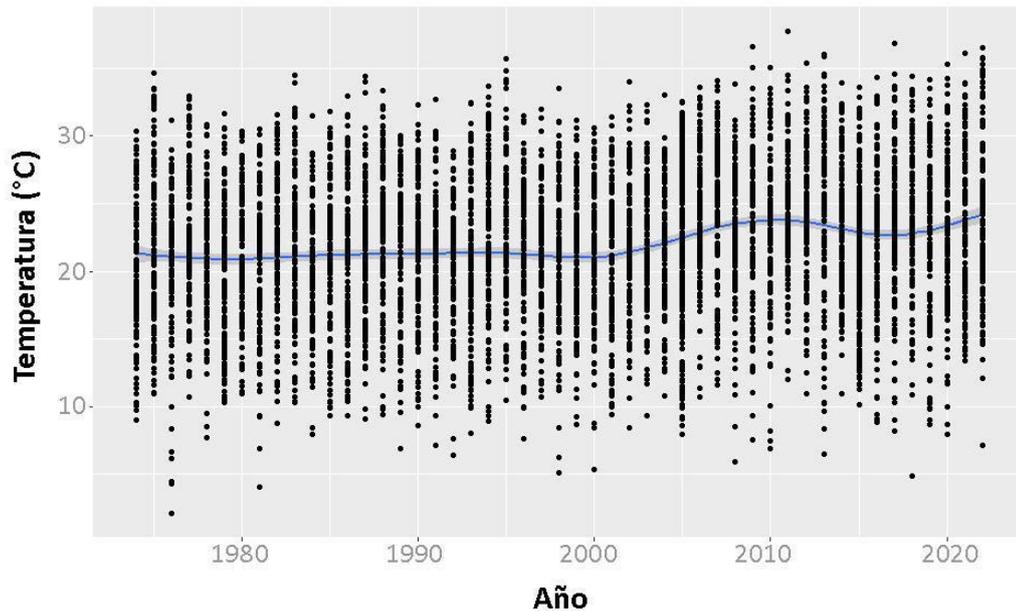


Fig. 2. Temperatura ambiental de los últimos 50 años según datos del Servicio Meteorológico Nacional (Estación Córdoba-Aeropuerto).

Calidad térmica de los hábitats

La determinación de la calidad térmica de los ambientes se realizó previamente en estudios de Rossi (2022). Para ello se relacionó la temperatura operativa (T_e) con la temperatura preferida de la especie (T_{set}). Para determinar la T_e , se usó la temperatura del sustrato (T_s) la cual funciona como una estimación confiable de la T_e , ya que la biología térmica de reptiles pequeños (<50g) se puede estimar usando un datalogger “sencillo” sin modelos corporales (Vickers y Schwarzkopf, 2016). La T_s de los hábitats T_{Mayor} y T_{Menor} se tomó utilizando dataloggers (Modelo Ibutton DS1921G, Maxim Integrated), que registraron la temperatura instantánea a intervalos de 5 minutos entre las 7 y 19 horas. El T_{set} de individuos reproductivos se obtuvo de López Juri et al. (2018a) ($T_{set\ min}= 32,21\pm 2,47$; $T_{set\ max}= 35,20\pm 1,72$). Posteriormente, se calculó la calidad térmica de los hábitats usando el índice d_e (Hertz et al., 1993), que corresponde a la diferencia entre T_e y el rango T_{set} en las distintas horas del día (Angilletta, 2009). Un hábitat se considera de alta calidad térmica

cuando T_e está dentro de T_{set} (índice $d_e = 0$). Según Rossi (2022), en T_{Mayor} la temperatura ambiental supera el valor de T_{set} de la especie durante gran parte del período de actividad mientras que en el hábitat T_{Menor} las temperaturas máximas no superan el rango preferido y además el índice d_e se mantiene en cero en las horas centrales de actividad (Fig.3)

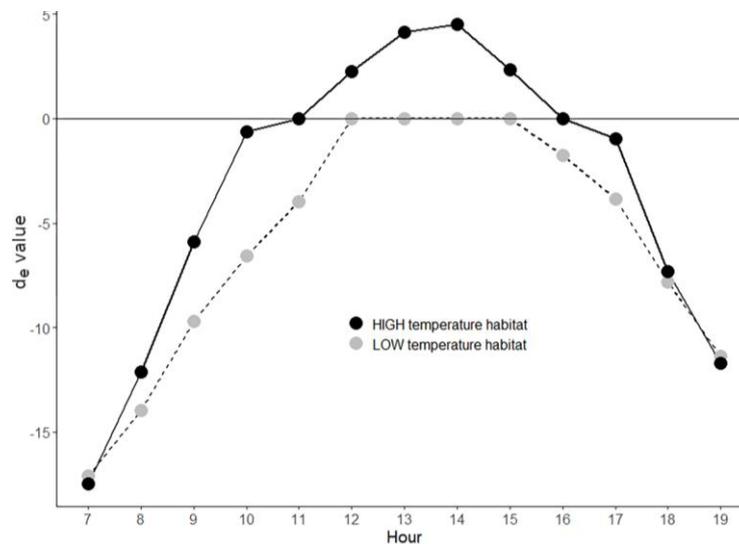


Fig. 3. Caracterización de los hábitats térmicos usados por *Tropidurus spinulosus* en función al índice d_e

Cabe aclarar que previamente se había comparado el rango T_{set} entre poblaciones mediante Test de ANOVA utilizando los datos de López Juri et al., (2018). Los mismos fueron georeferenciados de acuerdo a su pertenencia a T_{Mayor} o T_{Menor} considerando la cobertura arbórea del lugar de captura de los individuos (Rossi et al., 2023). El rango de temperatura preferida no varió significativamente entre las poblaciones de los diferentes ambientes térmicos (Media: $F=2,74$; $p=0,1$; T_{set} min: $F=1,63$; $p=0,2$; T_{set} max: $F=2,66$; $p=0,1$). Si bien estos valores de p son marginales, la magnitud de la variación de la media T_{set} min ($T_{Menor}=31,84$; $T_{Mayor}=32,52$) y T_{set} max ($T_{Menor}=34,90$; $T_{Mayor}=35,46$) es inferior a la diferencia térmica entre ambientes, por lo cual aún si hubiera diferencias significativas en el T_{set} , los hábitats seguirán difiriendo en su calidad térmica.

Captura y mantenimiento de los individuos

Se recolectaron $n=20$ machos de cada hábitat térmico. Se registraron las coordenadas GPS de los sitios de captura para la posterior liberación. Los lagartos fueron transportados al laboratorio donde permanecieron aproximadamente por una semana, durante la cual se registraron los datos requeridos y se los identificó a través del patrón dorsal para evitar su posterior recaptura. Los animales fueron alojados individualmente en recintos de plástico

(30x25x20cm) enriquecidos con rocas tomadas de su hábitat natural. Se simuló un fotoperiodo natural (9-17 horas) proveyendo además luz UV (Tubos Zoomed UVB 5.0). Mediante lámparas dicróicas la temperatura del aire fue regulada a fin de lograr 28°C dentro de los recintos. Esta temperatura corresponde a la temperatura del aire promedio de la reserva durante la temporada reproductiva de los lagartos (López Juri G., datos no publicados). Se le suministró una larva de *Zophoba morio* y agua *ad libitum* diariamente a cada individuo.

Caracterización reproductiva

Para determinar la condición reproductiva de los lagartos se realizó un escaneo de ultrasonido (ecógrafo portátil Sonosite 180 Plus). Los machos con testículos desarrollados, turgentes e hiperecogénicos fueron considerados como reproductivos (López Juri et al., 2018a). Para estimar la inversión espermática, se determinó el volumen testicular mediante la fórmula del elipsoide $V = (4/3)\pi(TL/2)[(TW/2)]^2$ donde TL: largo testicular y TW: ancho testicular (Ortiz et al 2014).

Determinación de la condición corporal

Para el cálculo de la condición corporal, se registró el largo hocico cloaca (LHC) con un calibre digital con precisión de 1mm (Pittsburgh 6'' Composite Digital Caliper) y el peso de los individuos con una balanza digital con precisión de 0,01g (Traveler OHAUS). A fin de obtener el índice de condición corporal se relacionó el peso y el largo de los individuos (ver análisis estadísticos). En relación a las reservas energéticas, también se caracterizó el perímetro de cola y perímetro del abdomen, mediante técnica de lazo y calibre, a fin de evaluar la robustez de los sitios de almacenamiento de grasa (López Juri et al., 2020).

Caracterización de caracteres precopulatorios

Como rasgo morfológico, se determinó el ancho de cabeza mediante el uso de un calibre digital con precisión de 1mm (Pittsburgh 6'' Composite Digital Caliper). En relación al color, se analizaron regiones corporales dicromáticas (Rossi et al., 2019). Para ello se tomaron fotografías en condiciones de iluminación estandarizadas usando una cámara digital Nikon Coolpix P510 montada arriba de un trípode posicionado 80cm arriba del espécimen. Las regiones corporales fotografiadas fueron el dorso, cabeza (dorsal y lateral), flancos, cloaca, abdomen, pecho y garganta (Fig. 4).

Para determinar la extensión de las diferentes bandas de color en cada región corporal se procedió a recortar las fotos en las diferentes secciones. En cada sección se asignaron los

pixeles a una banda de color mediante un análisis de clasificación supervisada utilizando el algoritmo RandomForest del paquete homónimo en R (Liaw et al., 2002). Para llevar a cabo la clasificación supervisada es necesario generar grupos de entrenamiento (ver Rossi, 2022). El algoritmo compara los valores RGB de los puntos a clasificar con los parámetros del conjunto de datos de entrenamiento y asigna cada pixel al grupo al cual pertenece con mayor probabilidad (Rodríguez-Galiano et al., 2012). Finalmente se calcula la extensión de cada banda de color como una proporción relativa de pixeles sobre el total de pixeles de la región del cuerpo; asimismo se consideró la suma de las proporciones de los distintos colores dentro de una región. Esta metodología aplicada al cromatismo de lagartos ha sido publicada por López Juri et al., (2020) Rossi et. al., (2019) y Rossi et al., (2023).

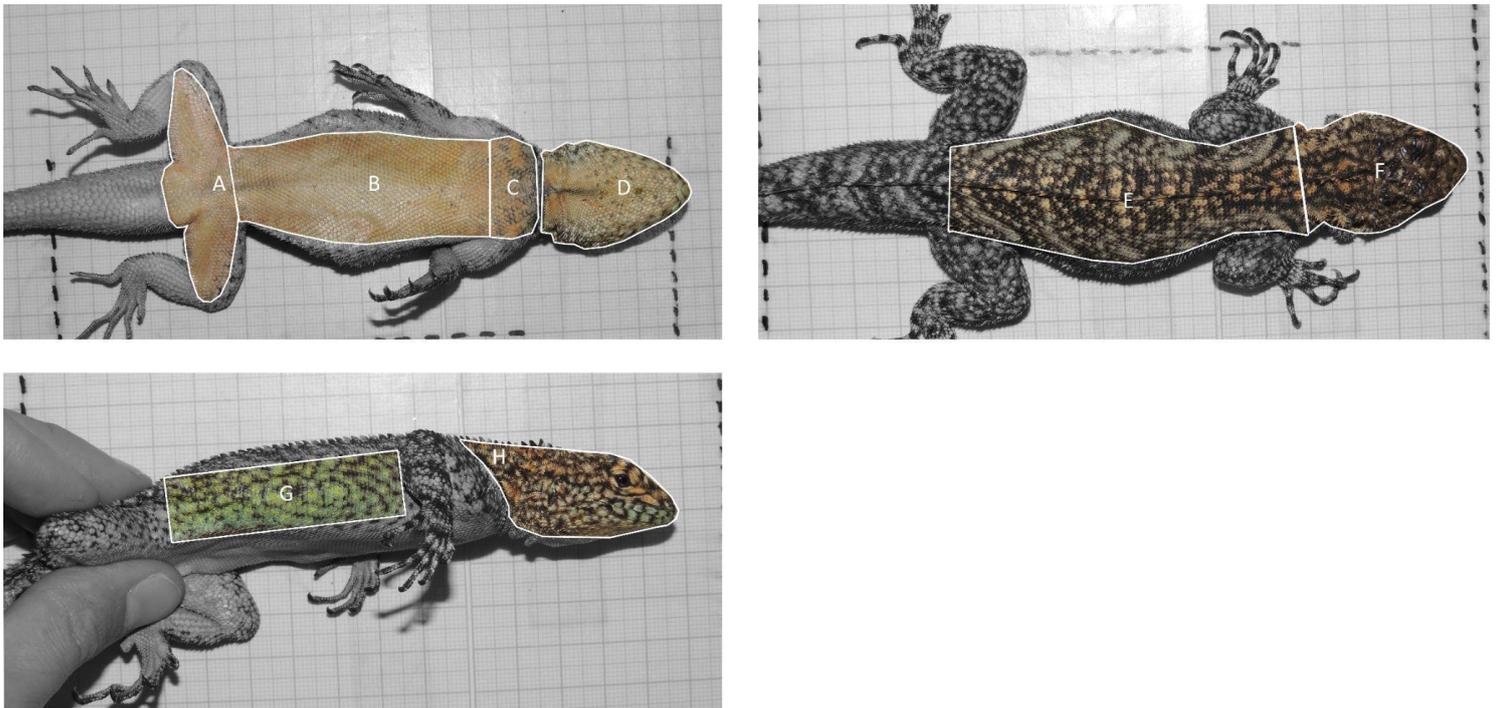


Fig. 4. Regiones corporales analizadas en *Tropidurus spinulosus* para la caracterización cromática. Se tuvieron en cuenta las áreas de la cloaca (A), abdomen (B), pecho (C), garganta (D), dorso (E), región dorsal de la cabeza (F), flanco (G) y región lateral de la cabeza (H).

Caracterización de caracteres poscopulatorios: morfología espermática

Se obtuvo espermatozoides mediante el procedimiento de electroeyaculación, recolectando la muestra en la cloaca a la salida de los conductos deferentes (López Juri et al., 2018b). Se añadieron 10µl de solución salina al espermatozoides expulsado. Esta solución fue inmediatamente aspirada con una micropipeta (recuperando un volumen parcial) y después enjuagada con

10 μ l más de solución salina colocada en un tubo Eppendorf (Rossi, 2022). Las series de electroestimulación fueron estandarizadas para todos los machos (3 series de cinco estímulos; López Juri et al., 2018b). Posteriormente se fijaron alícuotas de muestras de semen en formaldehído al 2% (Tourmente et al. 2009). Para su procesamiento, se hicieron dos ciclos de centrifugado (2,5 rpm por 7 minutos cada uno) y luego de descartar el sobrenadante, se hizo un frotis donde se tiñeron las células con Blue Brilliant Coomassie (Firman y Simmon, 2010). Las muestras se examinaron con un aumento de 400x bajo un microscopio Nikon eclipse Ti de contraste de fase, y se tomaron microfotografías de las muestras utilizando una cámara digital Nikon DS-Qi1Mc. Se midió la longitud (μ m) de la cabeza, la pieza media y el flagelo (Fig. 5) de 50 espermatozoides por individuo utilizando el software Image J (con excepción de dos individuos en los cuales se llegó a medir 30 espermatozoides). También se consideró la relación entre componentes espermáticos calculando la relación largo del flagelo:largo de la cabeza (Fenkes et al., 2019).

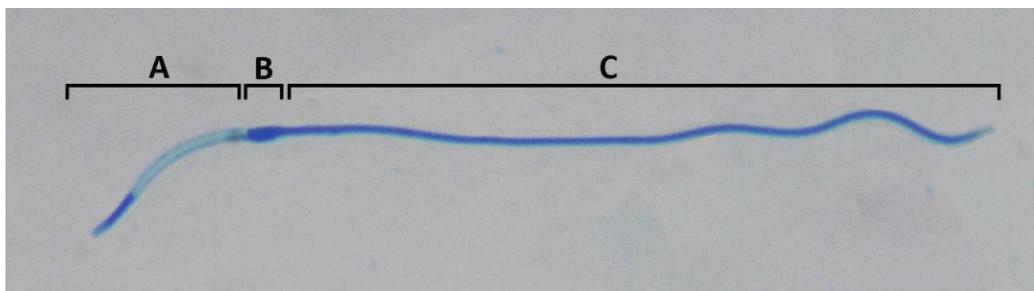


Fig. 5. Microfotografía de espermatozoide de *Tropicurus spinulosus*. Componentes espermáticos: cabeza (A), pieza media (B) y flagelo (C).

Análisis estadísticos

Para determinar la condición corporal se calcularon los residuales de la relación entre el logaritmo natural del peso y del LHC (Warner et al., 2016; Rossi et al., 2022). Para estimar la inversión sobre caracteres relacionados a las reservas energéticas (perímetro de abdomen y perímetro de cola), en caracteres morfológicos como el ancho de cabeza y en el potencial reproductivo medido a través del volumen testicular, se obtuvieron los residuales de una regresión lineal entre el logaritmo natural de cada variable y el logaritmo natural LHC (López Juri et al., 2020). El mismo procedimiento se realizó para parámetros espermáticos debido a la presencia de alometría. En la sección resultados, si bien nos referimos a las

variables con su nombre sencillo, las mismas representan los residuales de las regresiones mencionadas.

Los caracteres relacionados a las reservas energéticas (condición corporal, perímetro abdominal y el perímetro de cola), morfológicos (ancho de cabeza) y volumen testicular se compararon entre los hábitats a través del test de ANAVA. Para evaluar relaciones entre variables relacionadas a las reservas energéticas y morfológicas se realizaron análisis de regresión lineal. Se inspeccionaron los residuales de los modelos para comprobar su normalidad y homocedasticidad; adicionalmente se aplicó el test de Shapiro-Wilk para confirmar la normalidad y el Test de Levene para confirmar homocedasticidad. En el caso que no se cumplieran los supuestos, los datos fueron analizados con estadística no paramétrica (Test de Kruskal Wallis). En cuanto a los datos de extensión de coloración, siendo proporciones contenidas entre 0 y 1, se analizaron con regresiones BETA en R (paquete *betareg*; Cribari-Neto et al., 2010). En todos los casos, se pusieron a prueba covariables. En primer lugar se incluyó fecha de captura (cantidad de días que pasaron desde la primera captura) y la interacción estadística entre el efecto fijo Hábitat térmico (factor con 2 niveles: TMayor, TMenor) y la covariable fecha de captura, ya que datos biológicos previos indican que pueden haber patrones temporales dentro de la época reproductiva. Por otro lado, y solo con fines estadísticos, se incluyó la covariable temporada (factor con 2 niveles: 2022, 2023), cuya interacción con Hábitat térmico no se consideró debido a que no se encontró razón biológica. Los datos de morfología espermática se compararon entre los hábitats a través de un modelo lineal mixto, siendo la identidad del macho el factor aleatorio (Bates et al., 2009). Para comparar el coeficiente de variación espermática entre poblaciones se utilizó un Test de Kruskal Wallis.

Para evaluar la relación entre caracteres relacionados a las reservas energéticas, caracteres morfológicos, cromáticos y reproductivos se realizaron Análisis de Componentes Principales (PCA). Para la selección de variables se consideraron aquellas que presentaron diferencias significativas entre poblaciones como así mismo otras que conllevan cierta relevancia biológica para la especie (López Juri et al., 2020; Rossi et al., 2022). Para comparar las poblaciones (TMayor y TMenor), se consideró los valores sobre los componentes principales obtenidos mediante Test general de Hotelling y Kruskal Wallis para cada componente principal.

Resultados

Los individuos del ambiente TMayor presentaron una condición corporal más alta que los individuos del hábitat TMenor (Fig. 6). En la población TMayor la condición corporal está asociada al perímetro del abdomen ($R^2=0,41$; $p=0,003$) mientras que en el hábitat TMenor este parámetro se vincula al tamaño de la base de la cola ($R^2=0,34$; $p=0,007$). Sin embargo, no se observaron diferencias para el perímetro de cola y de abdomen entre los hábitats (Tabla 1). Además, en el hábitat TMayor habría una tendencia a que los machos con mayor perímetro abdominal desarrollen cabezas más anchas ($R^2=0,20$; $p=0,047$) aunque no habría diferencias en este parámetro entre ambientes térmicos. Por otro lado se observó que podría haber cierta tendencia a que los individuos del hábitat TMayor sean de menor longitud respecto a los del hábitat TMenor (Tabla 1).

En relación al cromatismo, los machos del hábitat TMenor presentaron el dorso de la cabeza más colorido que los machos del hábitat TMayor considerando en conjunto los colores pigmentarios amarillo, naranja y rojo (Tabla 1). Esta diferencia se evidencia también, en particular, en la banda roja (Tabla 1). Respecto al color negro del dorso, en ambas poblaciones se observa un incremento a lo largo de la estación reproductiva aunque los individuos de TMenor aumentarían la proporción de este color en forma más marcada (Tabla 1; Fig. 7A). Por otro lado, los individuos del hábitat TMenor tienen mayor proporción de color azul y verde en los flancos, aunque hacia fin de la temporada los individuos de TMayor también incrementan estos colores (Tabla 1; Fig. 7B y Fig. 7C). Respecto al color blanco, los machos del hábitat TMayor presentaron mayor proporción de este color en la cabeza tanto en la región dorsal como lateral y la misma tendencia en el pecho (Tabla 1). Los individuos no variaron para ninguna banda de color en el abdomen, la cloaca ni la garganta entre ambientes (Tabla 1).

Desde una perspectiva integradora se analizaron en conjunto la condición corporal, el ancho de cabeza y variables cromáticas. El análisis multivariado arrojó dos componentes principales que explican el 56,7% de la variabilidad de los datos. La condición corporal se asoció de manera positiva al CP1, mientras que los colores de la cabeza y el flanco (sumatoria verde-azul) se asociaron negativamente a este componente. Por otro lado, el ancho de cabeza y el color negro del dorso se relacionaron positivamente con el CP2 (Fig. 8, Tabla 3). Las poblaciones se diferencian principalmente por la condición corporal y el

cromatismo, ya que los individuos de TMayor presentan mayor condición corporal pero menor extensión de las bandas de color (Test de Hotelling $F= 8,68$; $p= 0,0008$ y Kruskal Wallis CP1 $p=0,0005$; CP2 $p= 0,53$).

En cuanto a los parámetros reproductivos, se observó que el volumen testicular no presenta diferencias significativas entre poblaciones (Tabla 2). Respecto a la morfología espermática, el tamaño de la cabeza de los espermatozoides varió entre ambientes, siendo mayor en el hábitat TMenor; mientras que el resto de los componentes espermáticos no presentaron diferencias (Tabla 2). El tamaño relativo del flagelo respecto de la cabeza (flagelo:cabeza) tendería a ser más grande en individuos de TMayor. La variabilidad en el tamaño de las distintas partes de los espermatozoides fue similar entre ambientes.

En el contexto reproductivo, el análisis multivariado muestra que los componentes principales explicaron el 65,7% de la variabilidad de los datos. Se observa una asociación entre el volumen testicular y el largo del flagelo en relación al CP1. El largo de la cabeza espermática se asoció en forma positiva al CP2 mientras que la pieza media lo hizo de forma negativa (Fig. 9; Tabla 3). Las poblaciones provenientes de los diferentes hábitats térmicos se diferencian marginalmente a nivel reproductivo cuando las variables se analizan en conjunto. Según el análisis multivariado los machos del hábitat TMayor producirían flagelos más largos asociados a un volumen testicular más grande en contraste con TMenor, en la cual los individuos producirían espermatozoides de cabeza más larga (Test Hotelling $F=2,54$; $p=0,09$ y Test de Kruskal Wallis CP1 $p= 0,09$; CP2 $p= 0,09$).

Por último, integrando la condición corporal, caracteres morfológicos, cromáticos y reproductivos en base a las variables seleccionadas, el análisis multivariado mostró que la variabilidad de los datos es explicada en un 54,8% por los componentes principales. La relación flagelo:cabeza espermática y el volumen testicular se asocian positivamente con el CP1, mientras que el color del flanco lo hace en forma negativa. Por otro lado, los colores de la cabeza se asocian positivamente con el CP2 y se contraponen a la condición corporal y ancho de cabeza (Fig. 10; Tabla 3). Mediante este análisis se evidenciarían dos estrategias reproductivas diferentes entre las poblaciones. Por un lado, los individuos de la población TMenor invertirían en el desarrollo de rasgos cromáticos de cabeza y flanco y en la producción de espermatozoides con cabezas más grandes en relación al flagelo; mientras que en la población TMayor, los individuos tendrían mayor robustez dada por la condición

corporal y tamaño de la cabeza como así también mayor volumen testicular y espermatozoides con flagelos relativamente más largos (Test Hotelling $F=7,77$; $p=0,0015$ y Kruskal Wallis CP1 $p= 0,0035$; CP2 $p= 0,016$).

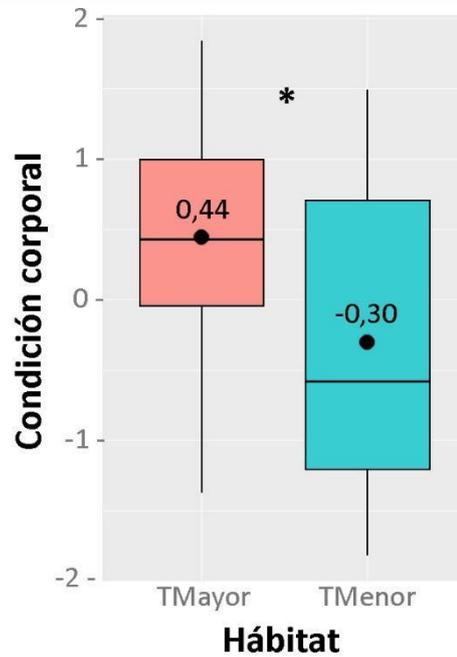


Fig. 6. Condición corporal en machos de *Tropidurus spinulosus* de dos ambientes térmicos. TMayor: ambiente de mayor temperatura; TMenor: ambiente de menor temperatura (ANAVA: $F=6,66$; $p=0,01$; Media de TMayor \pm D.E.= $0,44\pm 0,83$; Media TMenor \pm D.E.= $-0,30\pm 1,04$; covariable: fecha de captura).

Tabla 1. Comparación de caracteres morfológicos y cromáticos en machos de *Tropidurus spinulosus* provenientes de dos poblaciones de diferentes ambientes térmicos. Notas: debajo de cada variable se mencionan las covariables que resultaron significativas en el modelo; el estimador y p reportado corresponden al factor Hábitat o a la interacción Hábitat*Fecha en el caso que esta sea significativa. TMayor: ambiente de mayor temperatura; TMenor: ambiente de menor temperatura. D.E.: desvío estándar. Variables con diferencias significativas están resaltadas con amarillo oscuro y las marginalmente significativas con amarillo claro.

Variable ~ Hábitat	Media ± D.E. TMayor	Media ± D.E. TMenor	Estimador	p - valor
LHC	114±12,52	120,6±9,76	H= 3,48	0,06
Residuo base de la cola	0,11±1,09	-0,12±0,93	F= 0,55	0,46
Residuo perímetro de abdomen	0,22±0,96	-0,10±1,06	F= 1,02	0,32
Residuo ancho de cabeza Temporada	-0,03±1,23	0,01±0,81	F= 0,0005	0,98
Abdomen amarillo	0,44±0,07	0,41±0,08	Chisq= 0,90	0,34
Abdomen blanco	0,29±0,13	0,33±0,15	Chisq= 0,32	0,57
Abdomen rojo	0,02±0,02	0,01±0,02	Chisq= 0,001	0,97
Abdomen naranja	0,16±0,11	0,17±0,13	Chisq= 0,0009	0,98
Suma colores pigmentarios abdomen Temporada	0,62±0,12	0,59±0,16	Chisq= 0,23	0,63
Cabeza dorsal amarillo	0,03±0,02	0,05±0,03	Chisq= 2,50	0,11
Cabeza dorsal negro Temporada	0,64±0,11	0,68±0,10	Chisq= 1,57	0,21
Cabeza dorsal blanco Temporada	0,15±0,06	0,12±0,04	Chisq= 4,82	0,03
Cabeza dorsal rojo	0,005±0,002	0,02±0,02	Chisq= 3,90	0,05
Cabeza dorsal naranja	0,011±0,007	0,03±0,02	Chisq = 2,37	0,12
Suma de colores pigmentarios cabeza dorsal	0,05±0,02	0,10±0,06	Chisq= 4,26	0,04
Cabeza lateral amarillo Temporada	0,06±0,02	0,08±0,04	Chisq= 0,94	0,33
Cabeza lateral negro Temporada	0,48±0,09	0,52±0,13	Chisq= 1,94	0,16
Cabeza lateral blanco Temporada	0,22±0,07	0,18±0,07	Chisq= 7,00	0,008
Cabeza lateral rojo	0,011±0,009	0,02±0,03	Chisq= 1,08	0,30
Cabeza lateral naranja	0,02±0,01	0,04±0,03	Chisq= 0,50	0,48
Suma de colores pigmentarios cabeza lateral Temporada	0,10±0,03	0,14±0,09	Chisq= 1,87	0,17
Cloaca amarillo Temporada	0,33±0,13	0,39±0,13	Chisq= 2,66	0,10
Cloaca blanco Temporada	0,38±0,17	0,37±0,18	Chisq= 0,16	0,69
Cloaca rojo	0,005±0,005	0,007±0,007	Chisq= 2,74	0,10
Cloaca naranja	0,03±0,04	0,04±0,05	Chisq= 0,62	0,43
Suma de colores pigmentarios cloaca Temporada	0,36±0,14	0,43±0,17	Chisq= 2,75	0,10
Dorso amarillo	0,03±0,02	0,03±0,02	Chisq= 0,47	0,49
Dorso negro Fecha Temporada Hábitat*Fecha	0,55±0,09	0,60±0,12	Chisq= 4,58	0,03

Dorso blanco Fecha Temporada	0,29±0,06	0,27±0,07	Chisq= 0,10	0,75
Dorso rojo	0,002±0,002	0,002±0,002	Chisq= 0,16	0,69
Dorso naranja	0,003±0,003	0,004±0,005	Chisq= 0,55	0,46
Suma de colores pigmentarios dorso	0,04±0,02	0,04±0,03	Chisq= 0,41	0,52
Flanco amarillo Fecha	0,08±0,04	0,06±0,05	Chisq= 0,06	0,81
Flanco negro Temporada	0,35±0,10	0,37±0,10	Chisq= 0,26	0,61
Flanco verde Fecha Hábitat*Fecha	0,09±0,07	0,13±0,06	Chisq= 6,64	0,01
Flanco blanco Fecha	0,39±0,14	0,30±0,09	Chisq= 1,39	0,24
Flanco azul Fecha Hábitat*Fecha	0,08±0,09	0,13±0,06	Chisq= 6,40	0,01
Garganta amarillo Temporada	0,25±0,07	0,26±0,09	Chisq= 0,49	0,48
Garganta negro Fecha	0,15±0,06	0,16±0,05	Chisq= 0,42	0,52
Garganta blanco Temporada	0,32±0,17	0,32±0,15	Chisq= 0,19	0,66
Garganta rojo	0,03±0,03	0,03±0,04	Chisq= 0,50	0,48
Garganta naranja	0,08±0,06	0,09±0,09	Chisq= 0,04	0,84
Suma colores pigmentarios garganta Temporada	0,36±0,11	0,39±0,15	Chisq= 0,19	0,66
Pecho amarillo Temporada	0,16±0,07	0,19±0,11	Chisq= 0,55	0,46
Pecho negro Fecha Temporada	0,10±0,08	0,14±0,12	Chisq= 0,07	0,79
Pecho blanco Temporada	0,58±0,18	0,50±0,22	Chisq= 2,82	0,09
Pecho rojo	0,01±0,01	0,01±0,01	Chisq= 0,11	0,74
Pecho naranja	0,03±0,04	0,06±0,10	Chisq= 0,06	0,81
Suma de colores pigmentarios pecho Temporada	0,20±0,10	0,26±0,18	Chisq= 0,82	0,37

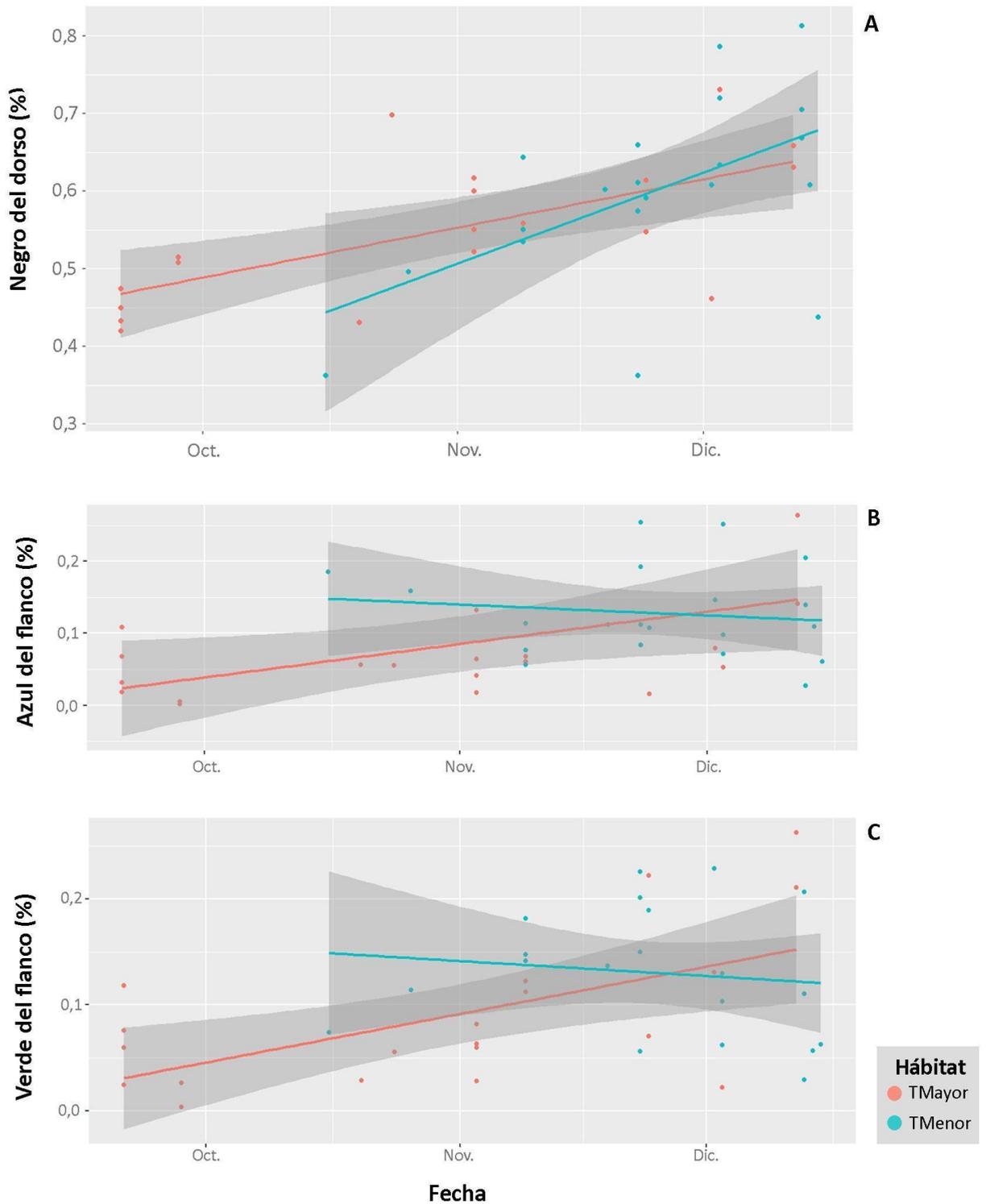


Fig. 7. Comparación de rasgos cromáticos en machos de *Tropicurus spinulosus* provenientes de dos poblaciones de diferentes ambientes térmicos considerando la variación temporal. Color negro en el dorso (A), azul del flanco (B) y verde del flanco (C) TMayor: ambiente de mayor temperatura; TMenor: ambiente de menor temperatura. Fecha: fecha de captura. Solo se graficaron las variables donde la interacción Hábitat*Fecha fue significativa.

Tabla 2. Comparación de parámetros reproductivos en machos de *Tropidurus spinulosus* provenientes de dos poblaciones de diferentes ambientes térmicos. Notas: debajo de cada variable se mencionan las covariables que resultaron significativas en el modelo; el estimador y p reportado corresponden al factor hábitat o a la interacción Hábitat*Fecha en el caso que esta sea significativa. TMayor: ambiente de mayor temperatura; TMenor: ambiente de menor temperatura. D.E.: desvío estándar. C.V.: coeficiente de variación. Variables con diferencias significativas están resaltadas con amarillo oscuro y las marginalmente significativas con amarillo claro.

Variable	Media TMayor ± D.E.	Media TMenor ± D.E.	Estimador	p - valor
Residuos de volumen testicular Temporada Fecha	0,14±0,91	-0,006±1,09	F= 1,69	0,20
Residuo promedio cabeza	-0,37±1,11	0,36±0,76	F= 6,84	0,02
Residuo promedio pieza media	-0,03±1,22	0,04±0,80	F= 0,04	0,84
Residuo promedio flagelo	-0,02±0,98	0,01±1,07	F= 0,09	0,92
Flagelo : Cabeza	3,65±0,10	3,61±0,08	F= 3,58	0,06
C.V. Cabeza espermática	4,54±2,23	3,70±1,60	H= 1,51	0,22
C.V. Pieza media	11,243±3,23	10,40±2,33	H= 1,65	0,20
C.V. Flagelo	2,95±0,90	2,81±1,01	H= 0,87	0,35

Tabla 3. Valores de los autovectores de las variables morfológicas, cromáticas y reproductivas utilizadas en cada uno de los análisis de componentes principales. CP1: Primer Componente Principal; PC2: Segundo Componente Principal. RE: residual.

Autovectores PCA de condición corporal, variables morfológicas y cromáticas		
VARIABLES	CP1	CP2
Condición corporal	0,63	-0,22
Residuo ancho de cabeza	0,30	0,51
Suma azul y verde de flancos	-0,42	-0,09
Colores pigmentarios cabeza	-0,48	-0,39
Dorso negro	-0,33	0,73
Autovectores PCA de parámetros reproductivos		
VARIABLES	CP1	CP2
Residuo volumen testicular	0,68	-0,14
Residuo promedio cabeza espermática	-0,31	0,80
Residuo promedio pieza media	-0,29	-0,48
Residuo promedio flagelo	0,60	0,33
Autovectores de PCA integrador		
VARIABLES	CP1	CP2
Condición corporal	0,27	-0,48
Suma azul y verde de flancos	-0,47	0,19
Colores pigmentarios cabeza	-0,02	0,65
Residuo ancho cabeza	0,12	-0,44
Residuo volumen testicular	0,58	0,21
Flagelo: Cabeza espermática	0,60	0,27

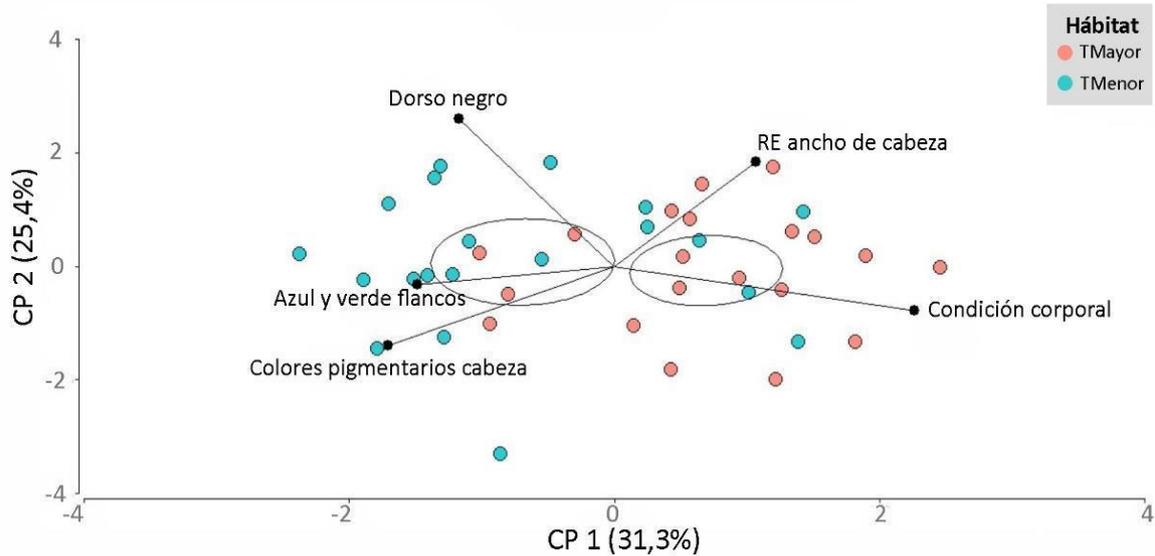


Fig. 8. Comparación poblacional considerando condición corporal, variables morfológicas y cromáticas en machos de *Tropidurus spinulosus* mediante Análisis de Componentes Principales. N=40. TMayor: ambiente de mayor temperatura; TMenor: ambiente de menor temperatura. CP1: Primer Componente Principal; CP2: Segundo Componente Principal; RE: residual; elipse de confianza = 95%.

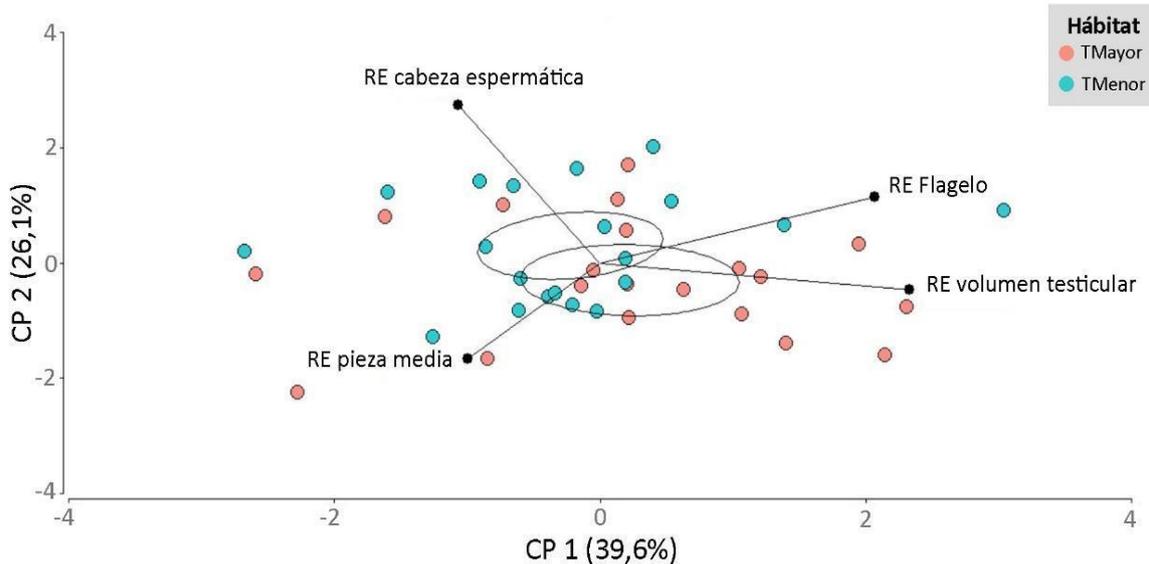


Fig. 9. Comparación poblacional considerando parámetros reproductivos en machos de *Tropidurus spinulosus* mediante Análisis de Componentes Principales. N=40. TMayor: ambiente de mayor temperatura; TMenor: ambiente de menor temperatura. CP1: Primer Componente Principal; CP2: Segundo Componente Principal; RE: residual; elipse de confianza = 95%.

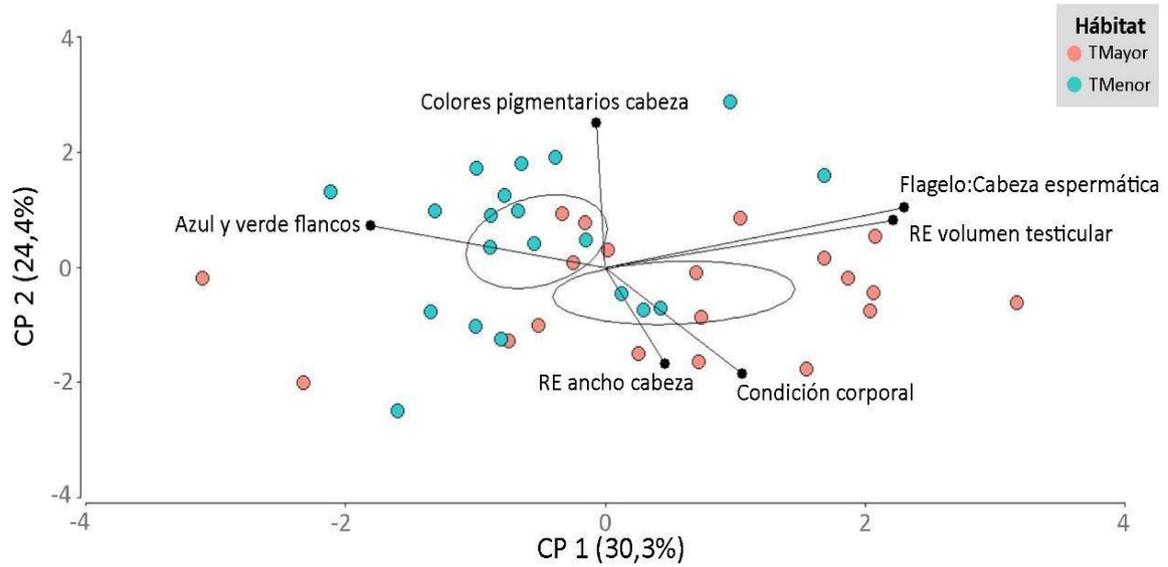


Fig. 10. Comparación poblacional integrando las variables pre y poscopulatorias seleccionadas en machos de *Tropidurus spinulosus* mediante Análisis de Componentes Principales. N=40. TMayor: ambiente de mayor temperatura; TMenor: ambiente de menor temperatura. CP1: Primer Componente Principal; CP2: Segundo Componente Principal; RE: residual; elipse de confianza = 95%.

Discusión

Los resultados obtenidos indican que la variación de la temperatura ambiental puede influir sobre rasgos pre y poscopulatorios en un modelo de estudio ectotermo, ya que se encontraron diferencias en la condición corporal, caracteres cromáticos relacionados a la reproducción y espermáticos entre dos poblaciones de *Tropidurus spinulosus* que habitan ambientes de diferente calidad térmica; sugiriendo que los rasgos reproductivos podrían ser sensibles al efecto del incremento de temperatura en el contexto del calentamiento global. A nivel de reservas energéticas, los individuos del hábitat TMayor presentaron una condición corporal más alta. En cuanto al cromatismo los individuos del hábitat TMenor presentaron mayor extensión de colores pigmentarios en la cabeza y verde-azul en los flancos. También se encontraron diferencias a nivel espermático, ya que los individuos del hábitat TMenor tienen espermatozoides con cabezas más grandes.

Contrariamente a lo esperado según la hipótesis de este trabajo, observamos que en el hábitat TMayor los individuos tienen mejor condición corporal. Se ha visto en algunos lagartos que la condición corporal incrementa con la temperatura (Chamaille-Jammes et al., 2006; Bestion et al., 2015), y que una mayor masa corporal permite disminuir la velocidad a la cual los individuos ganan calor (Rutschmann et al., 2020). Conjuntamente el menor LHC observado en individuos de TMayor podría contribuir a que los machos de esta población logren mayor masa corporal (Cardozo et al., 2015), lo cual sería beneficioso para termorregular más eficientemente al tener una tasa de calentamiento más lenta y evitar el sobrecalentamiento (Angilletta et al., 2002; Rutschmann et al., 2020). Además, en *T.spinulosus* se ha visto que individuos con mayor condición corporal pueden acotar las temperaturas corporales preferidas a un rango estrecho, por lo tanto la condición corporal es un rasgo importante para mantener la estabilidad térmica, lo cual es necesario para muchos procesos reproductivos (López Juri et al., 2018a). Por lo tanto, en el hábitat TMayor donde las alternativas térmicas son más limitadas, tener una mayor condición corporal podría favorecer a los machos en el mantenimiento de la estabilidad térmica corporal.

Por otro lado, la condición corporal podría estar relacionada al contexto social el cual se ha visto que varía con las características térmicas del ambiente. Estudios previos realizados han demostrado que el tiempo de presencia simultánea entre conespecíficos es mayor en TMayor, principalmente en horarios donde la T_e está dentro del rango de T_{set} , y probablemente eso conlleve a más interacciones entre machos y hembras (Rossi et al., 2023).

En este contexto, la condición corporal podría ser beneficiosa ya que podría usarse en sí como una señal al indicar la capacidad física. Esto se ha visto en otras especies de lagartos donde las hembras seleccionan a los machos por su condición corporal (Fitze et al., 2010); también previamente al combate, los machos usan señales visuales tales como el tamaño corporal de los rivales para evaluar su capacidad competitiva ya que la fuerza física depende -entre otros rasgos- de la masa corporal (Hamilton et al., 2013). En relación a la robustez, otro carácter de importancia es el ancho de cabeza. Si bien no se observaron diferencias significativas entre hábitats para este rasgo, en TMayor se relaciona al perímetro del abdomen, medida que ha sido asociada a los cuerpos grasos abdominales (Cardozo et al., 2015), y en el análisis de componentes principales se posiciona próxima a la condición corporal caracterizando a la población TMayor. Por lo tanto, los lagartos de la población TMayor, además de ser robustos por su condición corporal también tenderían a desarrollar otros rasgos de robustez como la cabeza. Los individuos de mayor ancho de cabeza podrían verse beneficiados en interacciones sociales, ya que este es un carácter que se ha asociado con la fuerza de mordida utilizada durante el combate en lagartos y con la sujeción de la hembra durante la cópula (Naretto et al., 2014).

Si bien en este trabajo se propone evaluar el efecto de la temperatura, lograr una mayor condición corporal podría estar también ligado a factores ecológicos. Stark et al., (2022) estudiaron el efecto del microhábitat sobre el lagarto *Mesalina bahaeldini*, y vieron que la vegetación provee abundancia de presas reduciendo los costos energéticos de búsqueda, lo que impacta positivamente en la condición corporal. En concordancia con esto y en relación a nuestros sitios de estudio, en el hábitat TMenor la predominancia de pinos dificultaría que se desarrolle otro tipo de vegetación (Giorgis et al., 2005) disminuyendo en consecuencia la disponibilidad de ítems alimenticios para los lagartos (Lortie et al., 2020). Por el contrario, en TMayor el desarrollo de hierbas y arbustos alrededor de los montículos rocosos incrementaría la variedad de recursos alimenticios lo que podría contribuir a la mejor condición corporal de los lagartos.

En relación al cromatismo, nuestros resultados indican que los individuos de TMayor producen menor coloración en comparación con los individuos de TMenor. Factores ambientales como las altas temperaturas pueden incrementar las tasas metabólicas y en consecuencia, el estrés oxidativo, aumentando las especies reactivas del oxígeno (ROS) (Brown et al., 2004; Lourdais et al. 2013). Altos niveles de ROS pueden oxidar tanto las

moléculas de pigmento como dañar los colores estructurales produciendo una pérdida de coloración (Garratt y Brooks 2012; Mészáros et al., 2019). El deterioro de las señales de color puede afectar el éxito reproductivo en individuos, un patrón que se ha observado ya en peces, reptiles y aves (Cote et al. 2010; Mougeot et al. 2010; Pike et al. 2007). Particularmente, en otras especies de lagartos se ha visto que la calidad térmica del hábitat influye negativamente sobre el color a través del daño oxidativo ya que permanecer tiempo excesivo a temperaturas subóptimas (por ejemplo en ambientes estocásticos) puede actuar como un estresor produciendo altos niveles de ROS y la coloración sexual se torna débil (Mészáros et al., 2019). La coloración sexual cumple una función de señalización, por lo tanto la disminución del color por estrés oxidativo podría afectar el potencial reproductivo en poblaciones sometidas a un incremento de temperatura asociado a los cambios ambientales actuales.

Por otro lado, estudios experimentales realizados anteriormente por Rossi (2022) sobre cambios de coloración y temperatura a corto plazo, se relacionan con el patrón observado en este estudio. Rossi (2022) encontró que individuos sometidos a altas temperaturas pierden la capacidad plástica de oscurecer el color. Sumado a esto, también se ha visto que hembras sometidas a altas temperaturas destinan menos tiempo a la selección de pareja y dan menos importancia a las señales de color (Rossi, 2022). Estas observaciones en conjunto sugieren que las altas temperaturas podrían ser un disruptor de las señales de color y por lo tanto las mismas podrían perder relevancia en el contexto de la selección sexual.

La coloración podría depender de otros factores además de la temperatura, como la estructura del hábitat. Los patrones de color deben mantener un nivel de visibilidad que represente un equilibrio óptimo entre la cripsis y la eficacia de señales (Stuart-Fox et al., 2007). En relación a esto, en TMenor donde hay más obstáculos visuales dado por la cobertura boscosa, la mayor coloración de los individuos podría ser necesaria para ser advertidos por conespecíficos, aún más en contextos donde los encuentros pueden llegar a ser menos frecuentes (Rossi, 2022). La exacerbación del color en lagartos es importante en ambientes visuales ruidosos tales como hábitats boscosos (Stuart-Fox et al. 2007; Hamilton et al., 2013), por ejemplo en *Podarcis* donde los morfos naranjas se asocian a estos ambientes (Thompson et al., 2023). Asimismo, en TMayor una coloración más débil podría contribuir a la cripsis teniendo en cuenta que en este hábitat los individuos se encuentran más expuestos.

Las diferencias cromáticas se encontraron en regiones corporales particulares (colores pigmentarios del dorso de la cabeza, el color verde y azul del flanco, y también colores tales como el negro y el blanco en el dorso y en la cabeza respectivamente), lo cual sugiere que la plasticidad de los colores varía de manera no uniforme en función a las temperaturas ambientales.

Respecto a la coloración de la cabeza, los individuos de TMenor desarrollaron mayor coloración pigmentaria. Si bien la coloración es costosa y podría estar relacionada a la condición corporal (Prum et al., 2006; Koch et al. 2017), hay estudios que sugieren una relación inversa entre la incorporación de lípidos y la producción de color pigmentario. Se ha visto en lagartos que la ingesta de lípidos afecta negativamente la concentración de antioxidantes no pigmentarios conduciendo a una disminución del color de sus ornamentaciones (San-José et al., 2012). Esto se atribuye a que lípidos y antioxidantes (carotenoides y no pigmentarios) son transportados por lipoproteínas, por lo que puede existir una competencia para su inclusión (San-José et al., 2012). Una mayor coloración podría señalar en forma honesta los niveles de antioxidantes totales presentes en el organismo, ya que un sistema antioxidante más eficiente evitaría la oxidación de los pigmentos (Hartley and Kennedy 2004). De hecho, en lagartos del género *Lacerta* se ha visto que la expresión de coloración basada en carotenoides aumenta cuando se incrementan los niveles de antioxidantes no pigmentarios (Kopena et al., 2014). Considerando que algunos estudios sugieren que la incorporación de lípidos y carotenoides ocurre en forma independiente (Finke, 2002), los individuos del ambiente TMayor podrían priorizar la ingesta de alimentos ricos en grasas a fin de, como dijimos previamente, desarrollar una mejor condición corporal pero con el costo de reducir las ornamentaciones de color. En contraste, los individuos en TMenor podrían prescindir de los alimentos ricos en grasas y en su lugar maximizar la ingesta de carotenoides, lo que se reflejaría en una mayor coloración rojo-naranja en la cabeza.

Respecto a la función de la coloración de la cabeza, en *Tropidurus spinulosus* las áreas naranjas se exacerban durante el período reproductivo cuando la competencia por las hembras se intensifica (Rossi et al., 2019). En las interacciones agonísticas los machos que dominan las peleas generalmente presentan grandes áreas de color en las partes más visibles del cuerpo como la cabeza (Rossi et al., 2021). Además en esta situación, los machos elevan la cresta en la región dorsal de la cabeza haciendo que la coloración naranja-amarillo sea

más visible (Rossi et al., enviado). En lagartos, la coloración rojo-naranja puede ser una señal de estatus y permite resolver conflictos de forma pasiva (Hamilton et al., 2013; Rossi et al., 2023), lo cual se podría relacionar a la menor robustez de los individuos de TMenor ya que estos podrían utilizar las señales visuales de color como estrategia evitando el contacto físico.

Respecto a la coloración verde-azul, López Juri et al., (2020) describieron que cuando la competencia intrasexual se intensifica (hacia mediados-finales de la temporada reproductiva) estos colores aumentan. Según la teoría cromática, dichos colores podrían causar un importante contraste cromático con la coloración naranja del abdomen durante displays de encuentros agonísticos tales como la compresión lateral (Rossi, et al., 2022). Sin embargo, en la población TMayor los individuos muestran menor coloración verde-azul en relación a los de TMenor durante gran parte de la temporada reproductiva, sugiriendo nuevamente que las altas temperaturas podrían afectar la señalización por coloración. Respecto al balance blanco-negro, los machos de TMayor presentaron mayor proporción de blanco en distintas regiones del cuerpo. Además, la coloración negra del dorso aumenta más marcadamente en los individuos de TMenor. El negro es un color producido por melaninas, y en ectotermos, se ha asociado con la termorregulación (Geen et al., 2014). Estudios hechos sobre otros lagartos apoyan la hipótesis de la termorregulación mediada por el color proporcionando evidencia de que la reflectancia de la piel influye en la velocidad de calentamiento y enfriamiento (Geen et al., 2014; Aguado y Clusella-Trullas, 2021). Langkilde et al. (2012) observaron en *Sceloporus undulatus* que a temperaturas cálidas, una coloración dorsal más clara ayudaría a reducir las cargas de calor. Por lo tanto el balance negro-blanco podría estar implicado en la termorregulación ya que las proporciones de estos colores podrían disminuir la tasa de calentamiento en TMayor. Sin embargo, es necesario considerar que para las variables cromáticas que muestran una dinámica temporal dentro de la época reproductiva (Fig. 7), las conclusiones pueden ser parciales debido a que en el hábitat TMenor el muestreo tiene un corrimiento hacia mediados-finales del período reproductivo, por lo cual sería importante en próximos estudios reforzar la toma de datos en el inicio de la temporada a fin de corroborar si las diferencias encontradas se deben a un patrón espacial o temporal.

Relacionando el cromatismo con parámetros reproductivos, en *Tropidurus spinulosus* se ha observado que la extensión del amarillo del flanco y del naranja del abdomen se

correlacionan con el volumen testicular, siendo posiblemente una señal reproductiva, y las hembras muestran preferencia hacia mayor extensión de amarillo (López Juri et al., 2020; Rossi et al., 2022). Notablemente estos colores no presentan variaciones significativas entre poblaciones, lo cual podría estar reflejando la importancia de estas señales de color en relación al potencial reproductivo de los machos.

Sumado a esto, en otros grupos taxonómicos como las aves, hay evidencia de que las señales de color basadas en carotenoides pueden señalar de forma honesta parámetros de la calidad espermática como viabilidad y motilidad (Helfenstein et al., 2010; Navara et al., 2012), ya que un mejor sistema antioxidante (reflejado en mayor color) evitaría el daño que producen los ROS sobre espermatozoides (Helfenstein et al., 2010). De hecho se han encontrado carotenoides en pequeñas cantidades en el semen de aves que podrían tener una función antioxidante (Rowe y McGraw, 2008; Helfenstein et al., 2010). Por lo tanto considerando que la población TMayor exhibe menos coloración pigmentaria en la cabeza y estaría sujeta a mayor nivel de estrés oxidativo, sería predecible que los individuos de esta población pudieran tener semen de menor calidad. En futuros estudios sería interesante comparar viabilidad y motilidad espermática entre estas poblaciones.

Respecto a la morfología espermática, en ambientes de temperaturas favorables para la especie y donde hay baja competencia espermática, el almacenamiento de espermatozoides sería una estrategia posible (Uller y Olsson, 2008). Los espermatozoides con cabezas más elongadas presentes en la población del hábitat TMenor podrían desempeñar un papel importante durante la guarda de esperma al contribuir en las interacciones espermatozoide-hembra en el epitelio del oviducto. Esta estrategia es común en reptiles (Shankar et al., 2023) e implica un reconocimiento entre carbohidratos en la superficie del tracto reproductivo de la hembra y las proteínas que recubren la cabeza espermática (Green et al. 2001; Pitnick et al., 2009).

En contraste, los lagartos del hábitat TMayor presentaron espermatozoides de cabezas más cortas. De manera similar, en *Poecilia reticulata* se observó que altas temperaturas reducen el tamaño espermático (Breckels y Neff, 2013). En el presente estudio, la reducción de la cabeza espermática podría contribuir a una natación más veloz, ya que se disminuiría el arrastre que experimenta el espermatozoide durante su natación (Malo et al., 2006; Fenkes et al., 2019). Este cambio en la cabeza espermática se traduce en un aumento de la longitud relativa del flagelo, por lo cual la velocidad espermática podría incrementar, ya que la

longitud del flagelo y la velocidad del esperma se han correlacionado de forma positiva en varios taxones (Lüpold et al., 2009; Tourmente et al., 2011). En ambientes de altas temperaturas esto podría ser beneficioso para alcanzar los sitios de fertilización evitando la permanencia en el tracto femenino de hembras donde las temperaturas corporales podrían estar afectadas por temperaturas ambientales elevadas. De hecho, Rossi et al., (2021) encontraron que temperaturas altas asociadas a un escenario de cambio climático extremo afectan la dinámica y supervivencia de los espermatozoides de forma negativa. En función a esto, los resultados obtenidos sugieren que las altas temperaturas podrían modificar las estrategias reproductivas poscopulatorias, conduciendo a cambios en los caracteres de la morfología espermática.

Además, una natación más rápida sería también ventajosa bajo el escenario de mayor presencia simultánea descrita para el hábitat TMayor (Rossi, 2022), ya que más interacción entre machos conduciría a una mayor competencia espermática (Snook, 2015). En concordancia, si bien no hubo diferencias significativas entre poblaciones, los individuos de TMayor tenderían a desarrollar más volumen testicular según el Análisis de Componentes Principales (Fig. 9 y 10), característica que en general es promovida por la competencia espermática (Malo et al., 2006; Lüpold et al., 2009; Tourmente et al. 2009).

Limitaciones y propuestas de estudios a futuro

Para los modelos STPE, el uso de conocimientos biológicos previos es importante (Van de Pol et al., 2016; Lovell et al., 2023). Teniendo en cuenta la biología térmica de la especie (López Juri et al., 2018a) y las condiciones térmicas de los ambientes (Rossi et al., 2023), se determinó que el hábitat tomado como escenario de incremento de temperatura (TMayor) presentó menor calidad térmica. Según los datos climáticos, este ambiente ha estado sujeto a un incremento de la temperatura ambiental en las últimas décadas. La variación ambiental dada por el cambio climático puede impulsar cambios fenotípicos rápidos mediante mecanismos de plasticidad; mientras que la adaptación de las estrategias de termorregulación ocurriría a una tasa más lenta sobretodo en especies de tiempos de generación largos como los lagartos (Sinervo et al., 2010; Parmesan, 2006). De hecho, cuando se comparó el rango Tset entre individuos provenientes de los diferentes ambientes térmicos, se observó que las poblaciones no difieren en la temperatura preferida, en consecuencia, se podría descartar un efecto de aclimatación a altas temperaturas para TMayor (Rossi et al., 2023). Considerando esto, el diseño STPE utilizado podría estar evidenciando cambios del fenotipo ligados al ritmo de acción del cambio climático (Urban et al., 2014) y en base a ello se realizaron predicciones sobre posibles cambios en los patrones reproductivos. Sin embargo, como las comparaciones poblacionales puntuales son poco informativas acerca de los procesos plasticidad-adaptación (Lovell et al., 2023), este estudio podría ser complementado a futuro con diseños experimentales de translocación a diferentes escalas para dilucidar los mecanismos subyacentes a los cambios observados y poner en evidencia las características plásticas de la especie (Lovell et al., 2023), lo que permitiría robustecer los resultados obtenidos y las predicciones realizadas.

Por otro lado, se ha propuesto que el uso de datos históricos existentes puede ayudar a mejorar el poder de predicción del modelo en relación a las limitaciones asociadas a la transferibilidad en el tiempo (Lovell et al., 2023). En función a esto, y considerando que se cuenta con datos morfológicos y cromáticos del inicio del proyecto (2014) y planificando la continuidad de futuros estudios, sería interesante analizar si las diferencias espaciales detectadas son congruentes con la variación temporal de los fenotipos en asociación con los cambios térmicos. También se ha planteado la importancia del uso de experimentos que pueden proporcionar información sobre las respuestas bióticas poniendo a prueba factores causales y generando condiciones climáticas pronosticadas (Lovell et al., 2023), por lo que

sería interesante comprobar experimentalmente si el aumento de temperatura previsto por el IPCC podría influir -por ejemplo- en los ciclos espermatogénicos y modificar la morfología espermática, a fin de evaluar si las respuestas ocurren en el mismo sentido que las predicciones planteadas en este trabajo.

La metodología STPE ya ha sido utilizada para proyectar respuestas de ectotermos al calentamiento global. Por ejemplo, Jaramillo et al. (2017) evaluaron patrones morfológicos de diversas especies de crustáceos a macroescala en relación a los efectos del cambio climático y evidenciaron que los cambios térmicos son el principal predictor de las variaciones en el tamaño corporal. Ellos sostienen que el diseño STPE utilizado considerando gradientes ambientales *in situ* puede proveer importantes evidencias de las respuestas poblacionales al cambio climático. Sin embargo, la fortaleza de su estudio reside en el amplio rango ambiental muestreado y en el alto número de réplicas poblacionales. En el mismo sentido, Merilä y Hendry (2014) plantean que poniendo a prueba la correlación fenotipo-clima entre múltiples ubicaciones independientes en un gradiente ambiental *in situ* ayudaría a aumentar la robustez del modelo. Por lo tanto, en estudios futuros el diseño utilizado en este estudio podría replicarse en otros puntos de la distribución de la especie para evaluar si los patrones observados son congruentes y poder hacer extrapolaciones a una escala geográfica más general.

Conclusión

Nuestros resultados indican que variaciones en el ambiente térmico pueden modificar la condición corporal y la inversión en caracteres pre y poscopulatorios, ya que se encontraron diferencias en rasgos fenotípicos asociados al cromatismo y a la morfología espermática. Bajo la perspectiva del diseño STPE y considerando los resultados obtenidos en cuanto a las asociaciones espaciales ambiente-fenotipo, se podría proyectar cambios en patrones reproductivos en función al incremento de temperatura asociado al cambio climático. Ante un aumento de temperatura el balance entre caracteres se podría modificar produciendo variaciones en las estrategias pre y poscopulatorias. La inversión en algunas ornamentaciones de color se reduciría y éstas podrían perder su rol como señales, por lo tanto la comunicación intra e intersexual mediada por este mecanismo visual podría verse afectada. La robustez se incrementaría lo cual favorecería la competencia entre conespecíficos dando mayor peso a las interacciones físicas con sus costos asociados. La morfología espermática podría variar a fin de otorgar ventajas a la velocidad de natación, aunque una menor calidad térmica del ambiente -en conjunto con la disminución de pigmentos antioxidantes- podría conducir a menor viabilidad y longevidad espermática. En conclusión, los resultados obtenidos sugieren que las altas temperaturas asociadas al cambio climático pronosticado podrían modificar las estrategias reproductivas pre y poscopulatorias en un modelo de estudio ectotermo con consecuencias en los patrones involucrados en la selección sexual.

Referencias bibliográficas

- AGUADO, S., & CLUSELLA-TRULLAS, S. (2021). Intra-specific variation of thermal performance, skin reflectance and body size partially co-vary with climate in a lizard. *Biological Journal of the Linnean Society*, 134(1), 111-125.
- AGUILAR-KIRIGIN, A. J., & NAYA, D. E. (2013). Latitudinal patterns in phenotypic plasticity: the case of seasonal flexibility in lizards' fat body size. *Oecologia*, 173(3), 745-752.
- ANDERSSON M. (1994). *Sexual selection*. Princeton: Princeton University Press
- ANDERSON, M. J., & DIXSON, A. F. (2009). Sexual selection affects the sizes of the mammalian prostate gland and seminal vesicles. *Current Zoology*, 55(1), 1-8.
- ANGILLETTA, M. J. (2001). Variation in metabolic rate between populations of a geographically widespread lizard. *Physiological and Biochemical Zoology*, 74(1), 11-21.
- ANGILLETTA, M. J. (2009). *Thermal adaptation: a theoretical and empirical synthesis*. Oxford University Press.
- ANGILLETTA, M. J., NIEWIAROWSKI, P. H., AND NAVAS, C. A. (2002). The evolution of thermal physiology in ectotherms. *J. Therm. Biol.* 27, 249–268.
- BAJER, K., MOLNAR, O., TÖRÖK, J., & HERCZEG, G. (2012). Temperature, but not available energy, affects the expression of a sexually selected ultraviolet (UV) colour trait in male European green lizards. *PLoS One*, 7(3), e34359.
- BATES, J. H. (2009). *Lung mechanics: an inverse modeling approach*. Cambridge University Press.
- BESTION, E., TEYSSIER, A., RICHARD, M., CLOBERT, J., & COTE, J. (2015). Live fast, die young: experimental evidence of population extinction risk due to climate change. *PLoS Biology*, 13(10), e1002281. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002281>
- BIRKHEAD, T. R., & PIZZARI, T. (2002). Postcopulatory sexual selection. *Nature reviews genetics*, 3(4), 262-273.
- BLENGINI, C. S., SERGIO, N., GABRIELA, C., GIOJALAS, L. C., & MARGARITA, C. (2014). Variability in sperm form and function in the context of sperm competition risk in two Tupinambis lizards. *Ecology and Evolution*, 4(21), 4080-4092.
- BLENGINI, C. S., NARETTO, S., CARDOZO, G., GIOJALAS, L. C., & CHIARAVIGLIO, M. (2016). Relationship between pre-and post-copulatory traits in *Salvator rufescens* (Squamata: Teiidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 119(4), 932-942.
- BLOIS, J. L., WILLIAMS, J. W., FITZPATRICK, M. C., JACKSON, S. T., & FERRIER, S. (2013). Space can substitute for time in predicting climate-change effects on biodiversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(23), 9374-9379.
- BRECKELS, R. D., & NEFF, B. D. (2013). The effects of elevated temperature on the sexual traits, immunology and survivorship of a tropical ectotherm. *Journal of Experimental Biology*, 216(14), 2658-2664.
- BROWN, J. H., GILLOOLY, J. F., ALLEN, A. P., SAVAGE, V. M., & WEST, G. B. (2004). Toward a metabolic theory of ecology. *Ecology*, 85(7), 1771-1789.
- CABRERA, M. R. (2010). *Lagartos del centro de la Argentina*. Universidad Nacional de Córdoba.
- CARDOZO MILANESIO, G. A., NARETTO, S., BLENGINI, C. S., & CHIARAVIGLIO, M. (2015). Phenotypic diversity in female body shape is related to reproductive potential in *Tupinambis merianae* lizards.
- CHAMAILLE-JAMMES, S., MASSOT, M., ARAGON, P., & CLOBERT, J. (2006). Global warming and positive fitness response in mountain populations of common lizards *Lacerta vivipara*. *Global Change Biology*, 12(2), 392– 402. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2005.01088.x>
- CLUSELLA-TRULLAS S, VAN WYK JH, SPOTILA JR. (2007). Thermal melanism in ectotherms. *Journal of Thermal Biology* 32: 235–245.
- COTE, J., MEYLAN, S., CLOBERT, J., & VOITURON, Y. (2010). Carotenoid-based coloration, oxidative stress and corticosterone in common lizards. *Journal of Experimental Biology*, 213(12), 2116-2124.

- COX, R. M., & KAHRL, A. F. (2014). Sexual selection and sexual dimorphism. *Reproductive biology and phylogeny of lizards and tuatara*, 78-108.
- CRIBARI-NETO, F., & ZEILEIS, A. (2010). Beta regression in R. *Journal of statistical software*, 34, 1-24.
- CRUZ, F. B., (1998). Natural history of *Tropidurus spinulosus* (Squamata: Tropiduridae) from the dry chaco of Salta, Argentina. *Herpetological Journal*, 8, 107-110.
- DERICKSON, W. K. (1976). Lipid storage and utilization in reptiles. *American Zoologist*, 16(4), 711-723.
- DIAL, K. P., GREENE, E., & IRSCHICK, D. J. (2008). Allometry of behavior. *Trends in ecology & evolution*, 23(7), 394-401.
- DIAMOND, S. E., & MARTIN, R. A. (2021). Physiological adaptation to cities as a proxy to forecast global-scale responses to climate change. *Journal of Experimental Biology*, 224(Suppl_1), jeb229336.
- DILL, A. K., SANGER, T. J., BATTLES, A. C., & JOHNSON, M. A. (2013). Sexual dimorphisms in habitat-specific morphology and behavior in the green anole lizard. *Journal of Zoology*, 290(2), 135-142.
- DILLON, M. E., WANG, G. & HUEY, R. B. (2010). Global metabolic impacts of recent climate warming. *Nature* 467, 704-706.
- EMLEN, S. T., & ORING, L. W. (1977). Ecology, sexual selection, and the evolution of mating systems. *Science*, 197(4300), 215-223.
- FENKES, M., SHIELS, H. A., FITZPATRICK, J. L., & NUDDS, R. L. (2016). The potential impacts of migratory difficulty, including warmer waters and altered flow conditions, on the reproductive success of salmonid fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 193, 11-21.
- FENKES, M., FITZPATRICK, J. L., SHIELS, H. A., & NUDDS, R. L. (2019). Acclimation temperature changes spermatozoa flagella length relative to head size in brown trout. *Biology Open*, 8(7), bio039461.
- FINKE, M. D. (2002). Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. *Zoo biology: published in affiliation with the American zoo and aquarium association*, 21(3), 269-285.
- FIRMAN, R. C., GASPARINI, C., MANIER, M. K., & PIZZARI, T. (2017). Postmating female control: 20 years of cryptic female choice. *Trends in Ecology & Evolution*, 32(5), 368-382.
- FIRMAN, R. C., & SIMMONS, L. W. (2010). Experimental evolution of sperm quality via postcopulatory sexual selection in house mice. *Evolution*, 64(5), 1245-1256.
- FITZE, P. S., COTE, J., & CLOBERT, J. (2010). Mating order-dependent female mate choice in the polygynandrous common lizard *Lacerta vivipara*. *Oecologia*, 162, 331-341.
- FITZPATRICK, M. C., & KELLER, S. R. (2015). Ecological genomics meets community-level modelling of biodiversity: Mapping the genomic landscape of current and future environmental adaptation. *Ecology letters*, 18(1), 1-16.
- GALDINO, C. A., VENTURA, S. P., LISBOA, C. C., & YOUNG, R. J. (2017). Social spacing of the montane lizard *Tropidurus montanus*. *The Herpetological Journal*, 27(4).
- GARRATT, M., & BROOKS, R. C. (2012). Oxidative stress and condition-dependent sexual signals: more than just seeing red. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1741), 3121-3130.
- GEEN, M. R., & JOHNSTON, G. R. (2014). Coloration affects heating and cooling in three color morphs of the Australian bluetongue lizard, *Tiliqua scincoides*. *Journal of Thermal Biology*, 43, 54-60.
- GIORGIS, M. A., CINGOLANI, A. M., GURVICH, D. E., REYNERO, N., & RUFINI, S. (2005). Diferencias en la estructura de la vegetación del sotobosque entre una plantación de *Pinus taeda* L.(Pinaceae) y un matorral serrano (Cuesta Blanca, Córdoba). *Kurtziana*, 31(1-2), 39-49.
- GREEN, C. E., BREDL, J., HOLT, W. V., WATSON, P. F., & FAZELI, A. (2001). Carbohydrate mediation of boar sperm binding to oviductal epithelial cells in vitro. *REPRODUCTION-CAMBRIDGE-*, 122(2), 305-315.

- HAMILTON, D. G., WHITING, M. J., & PRYKE, S. R. (2013). Fiery frills: carotenoid-based coloration predicts contest success in frillneck lizards. *Behavioral Ecology*, 24(5), 1138-1149.
- HARTLEY, R. C., & KENNEDY, M. W. (2004). Are carotenoids a red herring in sexual display?. *Trends in Ecology & Evolution*, 19(7), 353-354.
- HELFENSTEIN, F., LOSDAT, S., MØLLER, A. P., BLOUNT, J. D., & RICHNER, H. (2010). Sperm of colourful males are better protected against oxidative stress. *Ecology letters*, 13(2), 213-222.
- HELLRIEGEL, B., & BLANCKENHORN, W. U. (2002). Environmental influences on the gametic investment of yellow dung fly males. *Evolutionary Ecology*, 16, 505-522.
- HERTZ, P. E., HUEY, R. B., & STEVENSON, R. (1993). Evaluating temperature regulation by field-active ectotherms: The fallacy of the inappropriate question. *The American Naturalist*, 142(5), 796-818.
- HUEY, R. B., DEUTSCH, C. A., TEWKSBURY, J. J., VITT, L. J., HERTZ, P. E., ÁLVAREZ PÉREZ, H. J., & GARLAND JR, T. (2009). Why tropical forest lizards are vulnerable to climate warming. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 276(1664), 1939-1948.
- HUEY, R. B., HERTZ, P. E., & SINERVO, B. (2003). Behavioral drive versus behavioral inertia in evolution: a null model approach. *The American Naturalist*, 161(3), 357-366.
- HUEY, R. B., KEARNEY, M. R., KROCKENBERGER, A., HOLTUM, J. A., JESS, M., & WILLIAMS, S. E. (2012). Predicting organismal vulnerability to climate warming: roles of behaviour, physiology and adaptation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 367(1596), 1665-1679.
- JARAMILLO, E., DUGAN, J. E., HUBBARD, D. M., CONTRERAS, H., DUARTE, C., ACUÑA, E., & SCHOEMAN, D. S. (2017). Macroscale patterns in body size of intertidal crustaceans provide insights on climate change effects. *PLoS One*, 12(5), e0177116.
- KAHRL, A. F., & COX, R. M. (2015). Diet affects ejaculate traits in a lizard with condition-dependent fertilization success. *Behavioral Ecology*, 26(6), 1502-1511.
- KOCH, R. E., JOSEFSON, C. C., & HILL, G. E. (2017). Mitochondrial function, ornamentation, and immunocompetence. *Biological Reviews*, 92(3), 1459-1474.
- KOPENA, R., LÓPEZ, P., & MARTÍN, J. (2014). What are carotenoids signaling? Immunostimulatory effects of dietary vitamin E, but not of carotenoids, in Iberian green lizards. *Naturwissenschaften*, 101, 1107-1114.
- KRAPF, P., ARTHOFER, W., AYASSE, M., STEINER, F. M., & SCHLICK-STEINER, B. C. (2023). Global change may make hostile—Higher ambient temperature and nitrogen availability increase ant aggression. *Science of The Total Environment*, 861, 160443.
- KUSTRA, M. C., KAHRL, A. F., REEDY, A. M., WARNER, D. A., & COX, R. M. (2019). Sperm morphology and count vary with fine-scale changes in local density in a wild lizard population. *Oecologia*, 191, 555-564.
- LANGKILDE, T., & BORONOW, K. E. (2010). Color as a signal: the relationship between coloration and morphology in male eastern fence lizards, *Sceloporus undulatus*. *Journal of Herpetology*, 44(2), 261-271.
- LANGKILDE, T., & BORONOW, K. E. (2012). Hot boys are blue: temperature-dependent color change in male eastern fence lizards. *Journal of Herpetology*, 461-465.
- LIAW, A., & WIENER, M. (2002). Classification and regression by randomForest. *R news*, 2(3), 18-22.
- LÓPEZ JURI, G., CHIARAVIGLIO, M., & CARDOZO, G. (2018a). Do female reproductive stage and phenotype influence thermal requirements in an oviparous lizard?. *Journal of Thermal Biology*, 71, 202-208.
- LÓPEZ JURI, G., CHIARAVIGLIO, M., & CARDOZO, G. (2018B). Electrostimulation is an effective and safe method for semen collection in medium-sized lizards. *Theriogenology*, 118, 40-45.
- LÓPEZ JURI, G., ROSSI, N., CHIARAVIGLIO, M., & CARDOZO, G. (2020). Phenotypic diversity and its relationship to reproductive potential in changing social contexts in a lizard model. *Biological Journal of the Linnean Society*, 131(1), 122-135.

- LÓPEZ, P., & MARTÍN, J. (2002). Locomotor capacity and dominance in male lizards *Lacerta monticola*: a trade-off between survival and reproductive success?. *Biological Journal of the Linnean Society*, 77(2), 201-209.
- LORTIE, C. J., BRAUN, J., WESTPHAL, M., NOBLE, T., ZULIANI, M., NIX, E., ... & SCOTT BUTTERFIELD, H. (2020). Shrub and vegetation cover predict resource selection use by an endangered species of desert lizard. *Scientific Reports*, 10(1), 4884.
- LOURDAIS, O., GUILLON, M., DENARDO, D., & BLOUIN-DEMERS, G. (2013). Cold climate specialization: adaptive covariation between metabolic rate and thermoregulation in pregnant vipers. *Physiology & behavior*, 119, 149-155.
- LOVELL, R. S., COLLINS, S., MARTIN, S. H., PIGOT, A. L., & PHILLIMORE, A. B. (2023). Space-for-time substitutions in climate change ecology and evolution. *Biological Reviews*, 98(6), 2243-2270.
- LÜPOLD, S., CALHIM, S., IMMLER, S., & BIRKHEAD, T. R. (2009). Sperm morphology and sperm velocity in passerine birds. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 276(1659), 1175-1181.
- MALO, A. F., ROLDAN, E. R., GARDE, J., SOLER, A. J., & GOMENDIO, M. (2005). Antlers honestly advertise sperm production and quality. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 272(1559), 149-157.
- MALO, A. F., GOMENDIO, M., GARDE, J., LANG-LENTON, B., SOLER, A. J., & ROLDAN, E. R. (2006). Sperm design and sperm function. *Biology letters*, 2(2), 246-249.
- MARTIN, R. A., DA SILVA, C. R., MOORE, M. P., & DIAMOND, S. E. (2023). When will a changing climate outpace adaptive evolution?. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Climate Change*, 14(6), e852.
- MARTORI, R., & AUN, L. (1994). Aspects of the ecology of a population of *Tropidurus spinulosus*. *Amphibia-Reptilia*, 15(3), 317-321.
- MELO, G. C., PINHEIRO, L. T., PASSOS, D. C., & GALDINO, C. A. (2017). Spatial organisation of the Neotropical lizard *Tropidurus hispidus* (Squamata: Tropiduridae). *Salamandra*, 53(3), 435-438.
- MERILÄ, J., & HENDRY, A. P. (2014). Climate change, adaptation, and phenotypic plasticity: the problem and the evidence. *Evolutionary applications*, 7(1), 1-14.
- MÉSZÁROS, B., HERCZEG, G., BAJER, K., TÖRÖK, J., & MOLNÁR, O. (2017). Effects of energy and thermoregulation time on physiological state and sexual signal in a lizard. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology*, 327(9), 570-578.
- MÉSZÁROS, B., JORDÁN, L., BAJER, K., MARTÍN, J., TÖRÖK, J., & MOLNÁR, O. (2019). Relationship between oxidative stress and sexual coloration of lizards depends on thermal habitat. *The Science of Nature*, 106, 1-9.
- MOUGEOT, F., MARTINEZ-PADILLA, J., BLOUNT, J. D., PÉREZ-RODRÍGUEZ, L., WEBSTER, L. M. I., & PIERTNEY, S. B. (2010). Oxidative stress and the effect of parasites on a carotenoid-based ornament. *Journal of Experimental Biology*, 213(3), 400-407.
- NARETTO, S., CARDOZO, G., BLENGINI, C. S., & CHIARAVIGLIO, M. (2014). Sexual selection and dynamics of jaw muscle in Tupinambis lizards. *Evolutionary Biology*, 41, 192-200.
- NAVARA, K. J., ANDERSON, E. M., & EDWARDS, M. L. (2012). Comb size and color relate to sperm quality: a test of the phenotype-linked fertility hypothesis. *Behavioral Ecology*, 23(5), 1036-1041.
- OLSSON, M., MADSEN, T., & SHINE, R. (1997). Is sperm really so cheap? Costs of reproduction in male adders, *Vipera berus*. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 264(1380), 455-459.
- ORTIZ, M. A., BORETTO, J. M., PIANTONI, C., ÁLVAREZ, B. B., & IBARGÜENGOYTÍA, N. R. (2014). Reproductive biology of the Amazon Lava Lizard (*Tropidurus torquatus*) from the Wet Chaco of Corrientes (Argentina): congeneric comparisons of ecotypic and interspecific variations. *Canadian Journal of Zoology*, 92(7), 643-655.
- PARMESAN, C. (2006). Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 37, 637-669.

- PAZ, M. M. (2018). Diversidad Morfológica, Filogenia y Evolución de los Órganos de Reserva Lipídica en Lagartos de la Familia Liolaemidae (Reptilia: Squamata).
- PERRY, J. C., SIROT, L., & WIGBY, S. (2013). The seminal symphony: how to compose an ejaculate. *Trends in ecology & evolution*, 28(7), 414-422.
- PIKE, T. W., BLOUNT, J. D., BJERKENG, B., LINDSTRÖM, J., & METCALFE, N. B. (2007). Carotenoids, oxidative stress and female mating preference for longer lived males. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274(1618), 1591-1596.
- PITNICK, S., WOLFNER, M. F., & SUAREZ, S. S. (2009). Ejaculate–female and sperm–female interactions. In *Sperm biology* (pp. 247-304). Academic Press.
- PLASMAN, M., A., BAUTISTA, M. D., MCCUE & A. H., DÍAZ DE LA VEGA-PÉREZ (2020). Resting metabolic rates increase with elevation in a mountain-dwelling lizard. *Integrative Zoology*, 15(5), 363-374.
- 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), 363-374.
- PLASMAN, M., REYNOSO, V. H., NICOLÁS, L., & TORRES, R. (2015). Multiple colour traits signal performance and immune response in the Dickerson’s collared lizard *Crotaphytus dickersonae*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 69, 765-775.
- PÖRTNER, H. O., ROBERTS, D. C., POLOCZANSKA, E. S., MINTENBECK, K., TIGNOR, M., ALEGRÍA, A., ... & OKEM, A. (2022). IPCC, 2022: Summary for policymakers.
- PRUM, R.O. (2006) *Anatomy, Physics, and Evolution of Structural Colors*. In: Hill GE, McGraw KJ, eds. *Bird Coloration, Volume 1: Mechanisms and Measurements*. Cambridge: Harvard University Press.
- RIBEIRO, L. B., SOUSA, B. M., & GOMIDES, S. C. (2009). Range structure, microhabitat use, and activity patterns of the saxicolous lizard *Tropidurus torquatus* (Tropiduridae) on a rock outcrop in Minas Gerais, Brazil. *Revista Chilena de Historia Natural*, 82(4), 577-588.
- RIBEIRO, L. B., SILVA, N. B., & FREIRE, E. M. (2012). Reproductive and fat body cycles of *Tropidurus hispidus* and *Tropidurus semitaeniatus* (Squamata, Tropiduridae) in a caatinga area of northeastern Brazil. *Revista Chilena de Historia Natural*, 85(3), 307-320.
- RICKARD, J. P., POOL, K. R., DRUART, X., & DE GRAAF, S. P. (2019). The fate of spermatozoa in the female reproductive tract: A comparative review. *Theriogenology*, 137, 104-112.
- RODRIGUEZ-GALIANO, V. F., CHICA-OLMO, M., ABARCA-HERNANDEZ, F., ATKINSON, P. M., & JEGANATHAN, C. (2012). Random Forest classification of Mediterranean land cover using multi-seasonal imagery and multi-seasonal texture. *Remote Sensing of Environment*, 121, 93-107.
- ROSSI, N. (2022). Efectos del calentamiento global sobre los mecanismos de selección sexual, el esfuerzo reproductivo y la dinámica social en *Tropidurus spinulosus*. Tesis de doctorado en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba.
- ROSSI, N., BENITEZ-VIEYRA, S., COCUCCHI, A., CHIARAVIGLIO, M., & CARDOZO, G. (2019). Sexual dichromatism and color diversity in the spiny lava lizard *Tropidurus spinulosus* using lizard visual modelling. *Scientific Reports*, 9(1), 1-10.
- ROSSI, N., CHIARAVIGLIO, M., & CARDOZO, G. (2022). Relationships among Behavior, Chromatism, and Morphology in Male Aggressive Encounters in *Tropidurus spinulosus*. *Ichthyology & Herpetology*, 110(2), 340-349.
- ROSSI, N., LÓPEZ JURI, G., CHIARAVIGLIO, M., & CARDOZO, G. (2021). Oviductal fluid counterbalances the negative effect of high temperature on sperm in an ectotherm model. *Biology open*, 10(4), bio058593.
- ROSSI, N., CHIARAVIGLIO, M., & CARDOZO, G. (2023). Behavioural plasticity in activity and sexual interactions in a social lizard at high environmental temperatures. *Plos one*, 18(7), e0285656.
- ROWE, M. & MCGRAW, K.J. (2008). Carotenoids in the seminal fluid of wild birds: interspecific variation in fairy-wrens. *Condor*, 110, 694–700.

- RUTSCHMANN, A., ROZEN-RECHELS, D., DUPOUÉ, A., BLAIMONT, P., DE VILLEMEREUIL, P., MILES, D. B., ... & CLOBERT, J. (2020). Climate dependent heating efficiency in the common lizard. *Ecology and Evolution*, 10(15), 8007-8017.
- SAGONAS, K., MEIRI, S., VALAKOS, E. D., & PAFILIS, P. (2013). The effect of body size on the thermoregulation of lizards on hot, dry Mediterranean islands. *Journal of Thermal Biology*, 38(2), 92-97.
- SAN-JOSE, L. M., GRANADO-LORENCIO, F., & FITZE, P. S. (2012). Dietary lipids reduce the expression of carotenoid-based coloration in *Lacerta vivipara*. *Functional Ecology*, 26(3), 646-656.
- SHANKAR, G., GAGAN, T. A., KUMARI, T. R., & MARATHE, G. K. (2023). Sperm storage by females across the animal phyla: A survey on the occurrence and biomolecules involved in sperm storage. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, 340(4), 283-297.
- SHUKER, D. M., & KVARNEMO, C. (2021). The definition of sexual selection. *Behavioral Ecology*, 32(5), 781-794.
- SIMMONS, L. W., & FITZPATRICK, J. L. (2012). Sperm wars and the evolution of male fertility. *Reproduction*, 144(5), 519.
- SINERVO, B., MENDEZ-DE-LA-CRUZ, F., MILES, D. B., HEULIN, B., BASTIAANS, E., VILLAGRÁN-SANTA CRUZ, M., ... & SITES JR, J. W. (2010). Erosion of lizard diversity by climate change and altered thermal niches. *Science*, 328(5980), 894-899.
- SINGH, S. K., DAS, D., & RHEN, T. (2020). Embryonic temperature programs phenotype in reptiles. *Frontiers in Physiology*, 11, 35.
- SION, G., WATSON, M. J., & BOUSKILA, A. (2021). Measuring body condition of lizards: a comparison between non-invasive dual-energy X-ray absorptiometry, chemical fat extraction and calculated indices. *Frontiers in Zoology*, 18(1), 1-9.
- SNOOK, R. R. (2005). Sperm in competition: not playing by the numbers. *Trends in ecology & evolution*, 20(1), 46-53.
- STARK, G., MA, L., ZENG, Z. G., DU, W. G., & LEVY, O. (2022). Rocks and vegetation cover improve body condition of desert lizards during both summer and winter. *Integrative and Comparative Biology*, 62(4), 1031-1041.
- STUART-FOX, D. M., & ORD, T. J. (2004). Sexual selection, natural selection and the evolution of dimorphic coloration and ornamentation in agamid lizards. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 271(1554), 2249-2255.
- STUART-FOX, D., MOUSSALLI, A., & WHITING, M. J. (2007). Natural selection on social signals: signal efficacy and the evolution of chameleon display coloration. *The American Naturalist*, 170(6), 916-930.
- SULLIVAN, S., HEINRICH, G. L., MATTHEUS, N. M., CASSILL, D., & DOODY, J. S. (2022). Can Reptiles Use Nest Site Choice Behavior to Counter Global Warming Effects on Developing Embryos? Potential Climate Responses in a Turtle. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 10, 825110.
- TAYLOR, E. N., DIELE-VIEGAS, L. M., GANGLOFF, E. J., HALL, J. M., HALPERN, B., MASSEY, M. D., ... & TELEMECO, R. S. (2021). The thermal ecology and physiology of reptiles and amphibians: A user's guide. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology*, 335(1), 13-44.
- TELEMECO, R. S., GANGLOFF, E. J., CORDERO, G. A., POLICH, R. L., BRONIKOWSKI, A. M., & JANZEN, F. J. (2017). Physiology at near-critical temperatures, but not critical limits, varies between two lizard species that partition the thermal environment. *Journal of Animal Ecology*, 86(6), 1510-1522.
- THOMPSON, A., KAPSANAKI, V., LIWANAG, H. E., PAFILIS, P., WANG, I. J., & BROCK, K. M. (2023). Some like it hotter: differential thermal preferences among lizard color morphs. *Journal of Thermal Biology*, 113, 103532.
- TOURMENTE, M., GOMENDIO, M., & ROLDAN, E. R. (2011). Sperm competition and the evolution of sperm design in mammals. *BMC evolutionary biology*, 11(1), 1-10.

- TOURMENTE, M., GOMENDIO, M., ROLDAN, E. R., GIOJALAS, L. C., & CHIARAVIGLIO, M. (2009). Sperm competition and reproductive mode influence sperm dimensions and structure among snakes. *Evolution*, 63(10), 2513-2524.
- ULLER, T., & OLSSON, M. (2008). Multiple paternity in reptiles: patterns and processes. *Molecular ecology*, 17(11), 2566-2580.
- ULLER, T., SCHWARTZ, T., KOGLIN, T., & OLSSON, M. (2013). Sperm storage and sperm competition across ovarian cycles in the dragon lizard, *Ctenophorus fordi*. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 319(7), 404-408.
- URBAN, M. C., RICHARDSON, J. L., & FREIDENFELDS, N. A. (2014). Plasticity and genetic adaptation mediate amphibian and reptile responses to climate change. *Evolutionary Applications*, 7(1), 88-103.
- VAN DE POL, M., BAILEY, L. D., MCLEAN, N., RIJSDIJK, L., LAWSON, C. R., & BROUWER, L. (2016). Identifying the best climatic predictors in ecology and evolution. *Methods in Ecology and Evolution*, 7(10), 1246-1257.
- VAN SLUYS, M. (1997). Home range of the saxicolous lizard *Tropidurus itambere* (Tropiduridae) in southeastern Brazil. *Copeia*, 1997(3), 623-628.
- VASUDEVA, R., SUTTER, A., SALES, K., DICKINSON, M. E., LUMLEY, A. J., & JG, G. M. (2019). Adaptive thermal plasticity enhances sperm and egg performance in a model insect. *eLife*, 8.
- VERHEYEN, J., & STOKS, R. (2019). Temperature variation makes an ectotherm more sensitive to global warming unless thermal evolution occurs. *Journal of Animal Ecology*, 88(4), 624-636.
- VICKERS, M., & SCHWARZKOPF, L. (2016). A simple method to predict body temperature of small reptiles from environmental temperature. *Ecology and Evolution*, 6(10), 3059–3066.
- WANG, W. W. Y., & GUNDERSON, A. R. (2022). The physiological and evolutionary ecology of sperm thermal performance. *Frontiers in Physiology*, 13, 505.
- WARNER, D. A., JOHNSON, M. S., & NAGY, T. R. (2016). Validation of body condition indices and quantitative magnetic resonance in estimating body composition in a small lizard. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 325(9), 588-597.
- WOGAN, G. O., & WANG, I. J. (2018). The value of space-for-time substitution for studying fine-scale microevolutionary processes. *Ecography*, 41(9), 1456-1468.