

106
2eg

RECEBIDA EN LA SECRETARIA DE EDUCACION PUBLICA
EL 11 DE MARZO DE 1995
SECRETARIA DE EDUCACION PUBLICA



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESTRUCTURA DE LA GLÁNDULA TIROIDES EN LOS ESTADIOS LARVALES Y ADULTOS DE *Ambystoma tigrinum* DURANTE UN CICLO ANUAL

FALLA DE ORIGEN

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A:

JORGE MONTAÑO AMAYA



MEXICO, D.F.



1995

FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. EN C. VIRGINIA ABRIN BATULE

Jefe de la División de Estudios Profesionales
Facultad de Ciencias
Presente

Los abajo firmantes, comunicamos a Usted, que habiendo revisado el trabajo de Tesis que realiz(ó)ron el pasante(s) Montaña Amaya Jorge

con número de cuenta 8409449-8 con el Título:

Estructura de la Glándula tiroides en los estadios larvales y adultos de Ambystoma tigrinum durante un ciclo anual.

Otorgamos nuestro **Voto Aprobatorio** y consideramos que a la brevedad deberá presentar su Examen Profesional para obtener el título de Biólogo

GRADO	NOMBRE(S)	APELLIDOS COMPLETOS	FIRMA
M. en C. Director de Tesis	Patricia Rivas	Manzano	<i>Patricia Rivas</i>
M. en C.	Leticia Parra	Gámez	<i>Leticia Parra</i>
Biol.	Rosario Ortíz	Hernández	<i>Rosario Ortíz</i>
Dra. Suplente	Maricela Villagrán	Santa Cruz	<i>Maricela Villagrán</i>
M. en C. Suplente	José Román Latournerie	Cervera	<i>José Román Latournerie</i>

DEDICATORIA

Este trabajo esta decicado a mis padres, Antonio Montaña Suárez y Aurora Amaya de Montaña quienes con un alarde de amor, comprensión y gran esfuerzo me han guiado por el camino de la vida, también esta dedicado a mis hermanas: Alicia, Martha, Tere y Rosa, quienes con sus locuras, cariño y apoyo hemos logrado una familia como no hay dos.

GRACIAS.

¡POR FIN!

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a mucha gente, pero si la enlisto aquí, tendría que hacer otra tesis o un apéndice.

** A mis amigas de siempre, porque seguiremos haciendo nuestras locuras, Lulú B., Xochitl O., Rocío R., Claudia P. De veras les agradezco muchísimo por todo lo que pasamos juntos, y pase lo que pase siempre estaremos unidos y nunca vamos a cambiar.*

** Muy en especial a mis amigos: Laura Elena Vidal., Gerardo, G., Lulú F., Alberto U., Julio A., Magali del R. Z., Alicia M., Elma H. De quienes siempre obtuve y seguiré obteniendo apoyo, cariño y una excelente amistad.*

** Al Biol. Diego Cervantes García por su valioso apoyo en la captura de los organismos y por todas las facilidades que me brindó durante este estudio.*

** Al Dr. Pablo Barrera Sánchez, por su colaboración en la creación de la fórmula matemática que aparece en este trabajo.*

** A la banda de la calle 8 de diciembre, porque desde mi infancia, son parte importante de mí. A Luis, Lourdes, Arturo, Alfredo, Jorge y Gerardo Facio; a Guillermo e Isrrael Arroyo.*

** A la maestra Miriam R. M., por todo lo que de ella aprendí.*

** A la banda del Museo de las Ciencias: Carolina G., Elsa E., Virginia, H. Cristina O., Sergio A., Alejandro H., Lupita L., Bety G., Silvia H., Abril M., Maru Z., Mariana, G., Adriana P., José C. A., Bibiana G., Rocío P., Octavio M. por todas sus ocurrencias, que eran bastantitas.*

** Al Laboratorio de Histología de la Fac. de Ciencias: Yuriri B., Carolina M., Gloria P., por siempre escucharme.*

** A toda la raza del Laboratorio de Ecofisiología, por siempre brindarme su apoyo: Hector L., Germán, Nacho G., Paco M., Claudia C., los Jaimes F y P.*

**** A mi amiga y asesora de tesis, Paty R., a Maricela V., Ley P., Chayo O. y José R. Latournerié C. por sus consejos y buena voluntad para conmigo.***

**** A toda mi familia, que es bastante***

**** A todos aquellos que de alguna manera participaron en mi formación personal y académica, además de los mencionados anteriormente. A todos ustedes ¡GRACIAS!***

Este trabajo fue realizado con apoyo de la Dirección General de Apoyo al Personal Académico, D.G.A.P.A

ÍNDICE

RESUMEN	1
I. INTRODUCCIÓN	
I.1 JUSTIFICACIÓN	2
I.2 METAMORFOSIS	3
I.3 EVENTOS DE CONTROL HORMONAL DURANTE LA METAMORFOSIS	3
I.4 EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISIS-TIROIDES	4
I.5 GLÁNDULA TIROIDES	7
I.5.1 Antecedentes históricos	7
I.5.2 Filogenia	8
a) Endostilo	8
b) Región Prototiroidea	8
I.5.3 Ontogenia	10
a) Primer estadio (Precoloide)	10
b) Morfogénesis de los folículos Tiroideos	10
c) Inicio de la función tiroidea	11
d) Función de la glándula tiroides	11
e) Formación de las hormonas tiroideas	12
I.6 GENERALIDADES DE <i>Ambystoma tigrum</i>	14
I.7 DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO	16
II OBJETIVOS	18
III MATERIALES Y MÉTODO	
III.1 COLECTA Y MONITOREO DEL HÁBITAT	19
III.2 MEDICIONES MORFOMÉTRICAS E ÍNDICES	19
III.3 INDUCCIÓN DE LA METAMORFOSIS	19
III.4 OBTENCIÓN DE LA GLÁNDULA TIROIDES Y SU ANÁLISIS HISTOLÓGICO	20
IV RESULTADOS	
IV.1 RESULTADOS DE CAMPO	21
IV.2 PARÁMETROS MERÍSTICOS DE LOS ORGANISMOS	24
IV.3 CATEGORIZACIÓN DE LOS DIFERENTES ESTADIOS DE DESARROLLO	30
IV.4 REPRODUCCIÓN	30

IV.5 METAMORFOSIS	31
IV.6 RESULTADOS HISTOLÓGICOS DE LA GLÁNDULA TIROIDES	31
a) Histología de la glándula tiroides de larvas tempranas	31
b) Histología de la glándula tiroides de larvas tardías	32
c) Histología de la glándula tiroides de adultos neoténicos	32
d) Histología de la glándula tiroides de salamandras	32
IV.7 RESULTADOS MORFOMÉTRICOS DE LA GLÁNDULA TIROIDES	33
a) Espesor de la glándula derecha vs la izquierda (Simetría)	33
b) Tamaño de la glándula tiroides entre las diferentes estaciones y estadios	33
c) Análisis de los parámetros morfométricos de la glándula tiroides	33
V DISCUSIÓN	36
VI CONCLUSIONES	42
VII BIBLIOGRAFÍA	44
APENDICE	

RESUMEN

La metamorfosis juega un papel de vital importancia en el ciclo de vida de los anfibios, ya que este proceso permitió por vez primera durante la evolución la invasión del medio terrestre.

El anfibio urodelo *Ambystoma tigrinum* es un organismo con la peculiaridad de presentar un fenómeno conocido como neotenia facultativa, que le permite experimentar metamorfosis dependiendo de las condiciones ambientales o permanecer con un fenotipo larval, pero con la capacidad de reproducirse. Siendo la glándula tiroidea la estructura responsable de desencadenar la metamorfosis. La presente investigación tuvo como objetivo hacer la descripción morfofisiológica de la glándula tiroidea en larvas y adultos de *A. tigrinum* durante un ciclo anual.

Para esta investigación se colectaron aproximadamente 25 organismos de la especie *Ambystoma tigrinum* en la Laguna de Totolcingo, Tlax. mediante una técnica rústica de captura, en la mitad de cada estación del año. Los organismos capturados fueron categorizados en cuatro estadios de desarrollo, larvas tempranas, larvas tardías, adultos neoténicos y salamandras. A cada organismo le fueron medidos diferentes caracteres biométricos (amplitud del pliegue caudal, longitud de las branquias y longitud de la extremidad anterior derecha) así como dos índices corporales, índice de condición física (ICF) e índice hepatosomático (IHS), los especímenes fueron sacrificados por decapitación, la mandíbula fue procesada mediante técnica histológica para evidenciar la glándula tiroidea. De los cortes resultantes se hicieron mediciones de los componentes de la glándula. A los datos obtenidos les fueron aplicados análisis estadísticos ANOVA con dos criterios de clasificación y análisis de Tukey, para verificar posibles diferencias.

De lo anterior pudo observarse que son los adultos neoténicos los que presentaron más desarrollados, tanto el pliegue de la aleta media caudal como las branquias, así como el mayor ICF, lo que denota una mejor condición en general de este estadio, en relación a su medio. Por otra parte las salamandras presentaron el mayor IHS en verano.

En cuanto a las características de la glándula tiroidea, se observó que los adultos neoténicos en general poseen glándulas más grandes, sin embargo, este parámetro por sí solo no es un indicio de actividad, ya que puede estar en relación con su mayor talla. Dado que resulta difícil evaluar la actividad de la glándula por un solo parámetro (altura del epitelio, número o tamaño de los folículos tiroideos, tamaño de la glándula), se propuso una relación¹ que consideró a todos estos parámetros, observándose que la glándula tiroidea de los adultos neoténicos de primavera presentó la mayor actividad, seguido por las larvas tardías de primavera y adultos neoténicos de verano.

Los menores valores se obtuvieron para las larvas tempranas de primavera, y para los adultos neoténicos durante el invierno, en este último caso, este resultado se correlacionó con la época reproductiva, ya que en este período existen incrementos en los niveles de otras hormonas cuya actividad es antagonista respecto de las hormonas tiroideas.

Los resultados obtenidos, resaltan la importancia de hacer un análisis adecuado a nivel histológico de la glándula tiroidea que permitió elegir aquellos parámetros morfométricos indicativos de actividad que dieron origen a la formulación de una relación matemática que permite obtener información sobre la actividad de dicha estructura, como una alternativa morfológica al uso otro tipo de estudios (p. ej. radioinmunoensayos). Además de generar información general sobre la biología de esta especie.

$$1 \quad \frac{\sum AF \times NF^{-1} \times AE}{AT}$$

AT

Donde: AF, área folicular; AT, área total; NF, número de folículos y AE altura promedio del epitelio.

I. INTRODUCCIÓN

I.1 JUSTIFICACIÓN

Los anfibios poseen en general notables características biológicas, que los han ubicado como organismos de un gran valor científico (Duellman y Trueb, 1986).

Muchos de los conocimientos y conceptos que conforman el campo actual de la Biología del Desarrollo fueron resultado de descripciones y micromanipulaciones durante la embriogénesis de los anfibios.

Los urodelos han sido particularmente útiles en el área de la genética, ya que en ellos se han reconocido una gran cantidad de genes mutantes (Malacinski y Brothers, 1974).

Los fisiólogos experimentales han tenido en los anfibios un material biológico insuperable para los estudios sobre la metamorfosis. En la actualidad es indiscutible que la función tiroidea induce la metamorfosis en este grupo de organismos; experimentos con urodelos han demostrado que la metamorfosis puede ser acelerada mediante la administración de las hormonas tiroideas y que algunas salamandras (*Ambystoma tigrinum*) presentan una metamorfosis facultativa, experimentandola en algunas localidades y asumiendo una existencia terrestre, pero en otros sitios, las características larvales se retienen toda la vida y los organismos alcanzan la madurez sexual como adultos neoténicos, permaneciendo en el hábitat acuático.

En los organismos que experimentan metamorfosis de manera facultativa, los factores ambientales desempeñan un papel importante como desencadenantes de este fenómeno, al incidir sobre el hipotálamo para que sea accionada una señal que actúa sobre la hipófisis y esta a su vez sobre la tiroidea para la liberación de su secreción que actuará sobre los diferentes órganos blanco estimulando o inhibiendo la metamorfosis (Norris, 1985).

Se ha demostrado que en *A. tigrinum* tanto el estrés (captura, confinamiento, disminución del cuerpo de agua) (Norman y Norris, 1987), como el aumento en la temperatura (Scott, 1988) desencadenan la metamorfosis, pero también otros factores ambientales como el contenido de yodo en el agua o en los alimentos, la concentración de oxígeno en el agua, la altitud sobre el nivel del mar del cuerpo de agua, el fotoperiodo y el pH (Norris, 1985), la estabilidad del hábitat y la disponibilidad de alimento (Bizer, 1978) pueden ser condicionantes de la metamorfosis.

Las etapas larvarias y los consiguientes problemas de la metamorfosis constituyen la base de la distribución de muchas especies y son tan importantes para su supervivencia y éxito como lo son las formas adultas.

Desde el punto de vista humano, los ajolotes *A. mexicanum* y *A. tigrinum* han sido un recurso importante en la dieta de la población de escasos recursos en varios estados de la República Mexicana (Distrito Federal, Estado de México, Michoacán, Puebla, Tlaxcala, etc.) además de atribuírseles diversas propiedades medicinales (Alvarez, 1987).

Como fuente de alimento solo son comestibles los individuos con fenotipo larval (larvas tempranas, larvas tardías, adultos neoténicos) y siendo los adultos neoténicos los de mayor biomasa son los más codiciados en el mercado.

Con estos antecedentes se planteó la realización de un trabajo enfocado a estudiar los cambios morfológicos que experimenta la glándula tiroidea de *A. tigrinum* a través de sus diferentes etapas de desarrollo estimándose cuatro estadios a saber: larvas tempranas, larvas tardías, adultos neoténicos y salamandras, considerando y haciendo modificaciones a la propuesta de Hassinger, y col., (1970), el cual reporta cuatro estadios con fenotipo larval: larva temprana, larva intermedia, larva tardía y uno cercano a la reproducción, pero que por la dificultad de diferenciar estos cuatro estadios se optó por los tres mencionados anteriormente. Estos cambios se observaron durante un ciclo anual para monitorear el hábitat y ver los efectos que sobre la glándula tiroidea puedan tener los factores ambientales de las diversas estaciones del año.

1.2 METAMORFOSIS

En el caso de los anfibios, la metamorfosis es un evento de suma importancia en su ciclo vital, además de tener un significado relevante en términos de evolución, ya que estos organismos invadieron por vez primera el ambiente terrestre durante el periodo Devónico, hace aproximadamente 370 millones de años (Capula, 1990).

La metamorfosis puede definirse como una serie de cambios postembrionarios, graduales o drásticos que involucran transformaciones a nivel bioquímico, conductual (Duellman y Trueb, 1986), morfológico y fisiológico, debido a mecanismos de control endocrino, en aras de dotar a los organismos de las características que le permitan enfrentar un nuevo ambiente, sea terrestre o semiterrestre (Norris, 1985). Estos cambios pueden caracterizarse en tres clases principales:

- i) Regresión de estructuras y funciones que son significativas solamente en el estadio larval (pliegue de la aleta caudal, branquias).
- ii) Transformación de estructuras larvales hacia formas que le sean de utilidad al adulto (desplazamiento de los ojos hacia una posición más dorsal, cambio en la maquinaria enzimática del hígado para la producción de urea).
- iii) Desarrollo *de novo* de estructuras que serán de utilidad a los adultos (glándulas dérmicas, queratinización de la piel, formación de párpados).

1.3 EVENTOS DE CONTROL HORMONAL DURANTE LA METAMORFOSIS

Ha sido muy importante conocer el mecanismo hormonal encargado de regular el fenómeno de la metamorfosis. Como es sabido, la responsable directa de la metamorfosis es la glándula tiroidea; en diversos experimentos se administraron extractos de tiroidea a larvas

de ranas y se pudo observar una aceleración de la metamorfosis, por el contrario, en renacuajos a los cuales se les practicó una tiroidectomía, crecieron normalmente pero no experimentaron metamorfosis (Balinsky y Fabian, 1983).

También se ha demostrado que bajos niveles de hormonas tiroideas estimulan la maduración del sistema hipotálamo-hipófisis. Neurohormonas producidas por el hipotálamo regulan la producción y liberación de la tirotropina (TSH). Al incrementarse los niveles de TSH, ésta provoca una elevación en la actividad de la glándula tiroidea y un aumento en la secreción de hormonas tiroideas hacia el torrente sanguíneo (Norris, 1989).

1.4 EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISIS-TIROIDES

El hecho que el eje hipotálamo-hipófisis-tiroides pueda ser activado y estimulado obedece a factores genéticos dada la historia de vida de los organismos, su funcionamiento también puede estar determinado por la influencia de factores ambientales y/o por el estado endocrino general de los individuos (Duellman y Trueb, 1986). La hormona liberadora de la tirotropina (TRH, un tripéptido modificado), es secretada en el hipotálamo, liberada a la circulación (posiblemente hacia el torrente vascular de la eminencia media) y llevada hacia la adenohipófisis, por la vía del sistema portal, donde se une a receptores de las células tirotrópicas, incrementando los niveles intracelulares del AMP_c. La TRH estimula primeramente la liberación y síntesis de la hormona glucoprotéica, la tirotropina (TSH). La somatostatina, un tetradecapéptido cíclico, es sintetizado y liberado por el hipotálamo, el cual juega un papel en la regulación de la función de las células tirotrópicas, inhibiendo la secreción de TSH. La TSH estimula la síntesis y liberación de las hormonas tiroideas (THs) (principalmente tiroxina, T₄) por parte de la glándula tiroidea, probablemente activando la vía del AMP_c. Muchos de los procesos metabólicos involucrados en la síntesis de hormonas tiroideas son afectados, incluyendo el transporte de yodo, síntesis de tiroglobulina, la yodación de ésta así como su liberación hacia el lumen folicular y subsecuentemente la liberación de hormonas tiroidea. Sin embargo, la TSH parece ser el regulador más importante de la actividad de la glándula tiroidea; otros factores se han mostrado como alteradores de esta actividad tanto *in vivo* como *in vitro*, incluyendo la acetilcolina, las catecolaminas y prostaglandinas (Fig. 1).

Dentro de los factores ambientales que pueden estar involucrados en inducir la metamorfosis están: el contenido de yodo en el agua, la concentración de oxígeno, la temperatura, el pH, el fotoperiodo y la disponibilidad de alimento (Norris, 1985); así como la estabilidad del sistema y su altitud sobre el nivel del mar (Bizer, 1978).

Estos factores puede contribuir a la secreción de hormonas tiroideas a través de agentes endocrinos o nerviosos. Tales factores pueden influenciar la síntesis y liberación de hormonas hipotálamicas e hipofisarias o alterar directamente la función de la tiroidea, mediante la inervación simpática de la glándula (Sterling y Lazarus, 1977).

El hipotálamo funciona como un reloj biológico interno, regulando el control de la liberación de la TSH de la *pars distalis* de la hipófisis a través de la secreción del factor

liberador de la tirotropina (TRH), lo que incrementa los niveles de hormonas tiroideas circulantes: Triyodotironina (T_3) y Tetrayodotironina o Tiroxina (T_4) desencadenando así la metamorfosis.

Por otra parte la Prolactina (PRL) que es liberada por la adenohipófisis, es una hormona que estimula el crecimiento del organismo sin uso de reservas energéticas, promoviendo el uso directo de aminoácidos y glucosa disponibles del intestino, además de tener un papel antagónico al de las hormonas tiroideas, inhibiendo la metamorfosis.

El antagonismo entre estas dos hormonas esta dado a nivel de la especificidad del órgano blanco a dichas hormonas (Duellman y Trueb, 1986).

En el caso del anuro vivíparo *Nectophrynoides occidentalis* se ha podido observar que los niveles de PRL están controlados por la secreción de Dopamina proveniente del hipotálamo, disminuyéndolos y acelerando el proceso de la metamorfosis (Zuber-Vogeli, 1968).

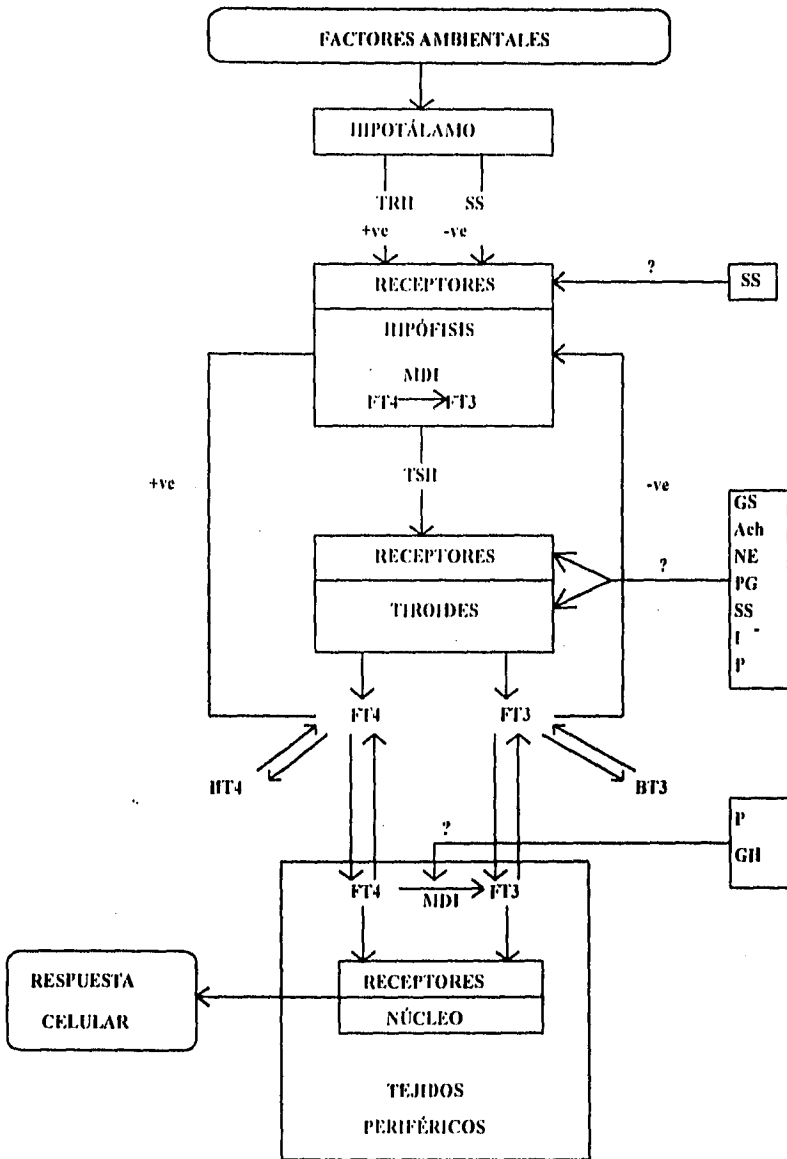


Fig.1 Esquema generalizado de la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-tiroides. Abreviaciones: Ach, Acetilcolina; BT3 y BT4, proteína unida a T3 y T4; FT3 y FT4, T3 y T4 libre (no unida); GH, hormona de crecimiento; GS, Esteroide gonadal; I⁻, yodo; MDI, monoyodinización enzimática; NE, norepinefrina; P, prolactina; PG, prostaglandinas; SS, somatostatina; TRH, hormona liberadora de tirotrópina; TSH, tiroglobulina; ve, efectos estimulatorios; -ve, efectos inhibitorios; indicados solamente por el eje principal cerebro-hipófisis-tiroides (Tomado de Leatherland, 1987).

1.5 GLÁNDULA TIROIDES

Todos los vertebrados poseen una glándula tiroides, cuyas unidades funcionales son los folículos tiroideos. Sus características morfológicas y funcionales son similares en todos los grupos de vertebrados. A continuación se hará una retrospectiva de la filogenia y ontogenia de la glándula tiroides, iniciando con un análisis histórico de la misma.

1.5.1 Antecedentes Históricos

El conocimiento de la glándula tiroides ha estado presente desde tiempos muy remotos, existen descripciones de enfermedades relacionadas con el funcionamiento de la tiroides en hombres, hechas por médicos chinos cerca del año 3000 a.C. (Trotter, 1964). También se tienen noticias de un médico griego, llamado Galeóns hacia el siglo II a.C. quien hizo anotaciones acerca de esta misma glándula, considerándola una estructura que producía una sustancia mucosa que lubricaba la faringe y la laringe. Se le asignó una función puramente cosmética, especialmente en el caso de las mujeres, dándole a la región de la garganta mayor belleza (Ericson, y Fredriksson 1990). Sin embargo, se le adjudica la descripción por vez primera de la anatomía de la glándula tiroides a un médico londinense, Thomas Warthon en 1656, (en Barrington, 1975) quien le asignó el nombre que actualmente ostenta (del griego *Thueros*: escudo y *eidós*: forma). Warthon observó que en el humano y en otros mamíferos se localiza a ambos lados de la laringe, con un istmo medio que conecta las dos partes laterales principales, al observar folículos con un contenido de naturaleza coloidal, llegó a la conclusión de que servía, por lo menos en los humanos (al igual que Galeóns en el siglo II a.C.) para suavizar los contornos del cuello, suposición que explicaba su mayor tamaño en las mujeres, cuyo cuello se hacía de este modo mas liso y hermoso (Barrington, 1975).

Más tarde se hicieron observaciones en algunos síntomas de enfermedades que tenían que ver con la tiroides. En 1895 se marcó un paso importante en el conocimiento de su fisiología, al reconocerse como la única parte del cuerpo en mamíferos capaz de fijar yodo (Ericson y Fredrikson, 1990), lo que significó también un avance importante en las investigaciones hacia el entendimiento de su filogenia. Hacia 1873, Müller y Dornh sugirieron la posibilidad de hacer una homología entre la glándula tiroides de los vertebrados y un órgano de un cordado no vertebrado, el endostilo de las larvas de las lampreas, principalmente porque la posición del endostilo en el piso de la faringe es similar a la formación de la tiroides durante el desarrollo embrionario; esta hipótesis estuvo basada exclusivamente en observaciones morfológicas (Ericson y Fredriksson, 1990). En 1915 se aisló y cristalizó por vez primera la hormona tiroidea que contenía yodo, la tiroxina (T₄), por Edward C. Kendall, marcando así un punto de partida importante en la investigación biomédica ya que fue la primera hormona en ser aislada en forma pura; en 1952 J. Gross y R. Pitt-Rivers identificaron una segunda hormona, la T₃, trazando una nueva línea de partida para dilucidar los mecanismos de síntesis de las hormonas tiroideas y su fisiología (Norris, 1985).

1.5.2 Filogenia

a). Endostilo

Este órgano se encuentra localizado en la parte ventral de la faringe de todos los cordados filtradores. En los protocordados también se encuentra en las larvas de los petromizóntidos. Está caracterizado por poseer diferentes tipos celulares involucrados en la captura del alimento, hay también células con la capacidad para organificar el yodo por procesos enzimáticos, llamadas "células prototiroideas" (Ericson y Fredriksson, 1990).

El endostilo tiene una estructura uniforme en todos los protocordados, es una abertura en la cavidad faríngea que ocupa un gran volumen del cuerpo, cubriendo virtualmente todo lo largo de la cavidad faríngea, esta cavidad está rodeada por una capa de células epiteliales. Las células de la zona ventral son grandes y altas respecto a las células de la posición dorsal, mientras que las células de la región media son difíciles de diferenciar del propio epitelio faríngeo. La parte ventral del endostilo consta de zonas ciliadas y glandulares alternadas. El mucus producido por las células glandulares es transportado hacia la cavidad branquial; las células ciliadas son las encargadas de transferir el mucus hacia la cavidad branquial, formando una película delgada que cubre la pared de la cavidad; las partículas alimenticias suspendidas en el agua, al pasar por la cavidad branquial quedan adheridas al mucus, posteriormente este mucus con las partículas alimenticias es transportado hacia el tracto intestinal para ser procesado. La zona glandular consiste de células con una maquinaria interna para la síntesis de proteínas, por lo que su citoplasma posee una gran cantidad de retículo endoplásmico rugoso, aún cuando no se sabe a ciencia cierta la naturaleza de éstos productos de secreción, Olsson (1963) (En Ericson y Fredriksson, 1990), consideró que la región ventral es productora de proteínas y mucopolisacáridos, mientras que en la región glandular dorsal produce proteínas y algunos materiales de naturaleza lipídica. Se ha reportado que el mucus tiene enzimas digestivas (Pestarino, 1981).

b). Región Prototiroidea

Para considerar la posibilidad de homologar el endostilo con la tiroidea, hubo la necesidad de hacer observaciones a nivel bioquímico mediante pruebas de autorradiografía, con las que se demostró que al inyectar yodo marcado éste fue incorporado en ambas estructuras; se hicieron pruebas con procedimientos de histoquímica, obteniendo la presencia de una enzima en este proceso, la peroxidasa (Norris, 1985). En 1942, Gorbman y Creaser (en Thomas, 1956) demostraron la incorporación de yodo en el endostilo de las larvas de las lampreas, más tarde se demostró lo mismo en anfibios, y en ascidias (Barrington y Franchi, 1956). Se ha podido observar en larvas de *Amphioxus* y *Ciona* que en la parte más dorsal del endostilo hay una región con células que fijan yodo (Región Prototiroidea) (Andrew y Hickman, 1974). Con el perfeccionamiento de técnicas de microscopía electrónica y citoquímica con peroxidasa se ha revelado que al inhibir la peroxidasa no se presenta radioactividad en el endostilo (Ericson, 1985; Fredriksson y col., 1985).

Estudiando varios tejidos en ascidias, se encontró una alta concentración de 5-hidroxitriptamina (5-HT) en el endostilo contenida en gránulos citoplasmáticos de células que están principalmente en la región prototiroidea, la distribución de los gránulos en las partes apicales y basales muestran que estos son liberados hacia el lumen de la faringe, en los gránulos que están en posición basal, se ha demostrado su contenido de 5-HT y la posibilidad de que haya también calcitonina. Además, su ultraestructura característica y su localización, sugieren que las células con dichos gránulos sean homólogas a las células C de la tiroides de vertebrados.

Las células C tienen la capacidad de almacenar sustancias como la dopamina y la 5-HT en gránulos citoplasmáticos que también poseen hormonas polipeptídicas como la calcitonina. Aún hacen falta estudios que puedan concluir categóricamente la homología entre las células granuladas del endostilo y las células C de la tiroides. A estas últimas células también se les ha relacionado estrechamente con el cuerpo ultimobranquial, que deriva igualmente de los sacos faríngeos (branquiales). Lo que sí se puede concluir es que el epitelio faríngeo tiene diferentes niveles de potencialidad para formar otros tejidos, esta condición en los protocordados parece estar ligada a la presencia de células granuladas a lo largo de todo el epitelio del endostilo (Ericson y Fredriksson, 1990). La prueba más convincente de que el endostilo pueda ser el origen de la glándula tiroidea está en los estudios de las larvas de las lampreas en donde el epitelio del endostilo es capaz de sintetizar tiroglobulina y formas parecidas a otras hormonas tiroideas.

Durante la metamorfosis de estas larvas, las células del endostilo se reorganizan en típicos folículos tiroideos, mediante procesos parecidos a la formación de los folículos en la ontogenia de otros vertebrados. Tanto en el endostilo, como en la tiroides de organismos adultos la yodinización aparece principalmente por procesos extracelulares, catalizados por una enzima, la peroxidasa, que se une al dominio apical de la membrana plasmática, al igual que en las células foliculares de los vertebrados (Ericson, 1983).

El desarrollo ontogenético de las células ciliadas de la región prototiroidea del endostilo se ve reflejado en numerosos cilios en las células foliculares de lampreas adultas, sin embargo, no solo son exclusivos de ellas, aparecen de igual forma en los otros vertebrados, la función de dichos cilios aún no está bien definida, pueden ser quizá la reminiscencia de la filogenia y ontogenia de las células foliculares a partir de células ciliadas del epitelio del endostilo.

En los folículos tiroideos, la tiroperoxidasa parece que está presente en todo el proceso de yodinización, incluyendo la oxidación del yodo, unión del yodo oxidado a los residuos tirosil en la tiroglobulina, y unión intramolecular del yodotirosil a la yodotironina. Procesos que muestran que las moléculas de tiroglobulina interactúan repetidamente con la tiroperoxidasa en la membrana celular. Evolutivamente, el hecho de que hayan aparecido folículos tiroideos responde a la especificidad y diferenciación de la yodación y formación de hormonas tiroideas, como la tiroglobulina, el principal constituyente del contenido folicular. Otra ventaja de poseer folículos tiroideos es que éstos pueden endocitar tiroglobulina en el proceso inicial para después liberar las hormonas tiroideas. La endocitosis puede incluir procesos de macropinocitosis (formación de pseudópodos y gotas de coloide) y procesos de micropinocitosis (Ericson y Fredrikson, 1990).

Podemos encontrar ciertas diferencias entre la endocitosis de la tiroides y del endostilo de los protocordados, en el sentido de que en la tiroides la endocitosis se ocupa para liberar hormonas tiroideas, mientras que se guarda la tiroglobulina en el lumen folicular, en este paso se incluye la hidrólisis de la tiroglobulina por actividad de lisosomas, mientras que en el endostilo, la endocitosis (micropinocitosis) del contenido yodatado se puede observar, pero no se ven procesos de macropinocitosis; observándose un proceso de especificidad en la localización de las células que pueden llevarlo a cabo en el endostilo (Fredrikson y col., 1984; Welsh y Loveland, 1968).

1.5.3 Ontogenia

Desde la mitad del siglo XIX se han hecho observaciones de la glándula tiroides, y se ha estudiado desde diferentes puntos de vista tanto morfológica como funcionalmente. Con el uso en un inicio del microscopio de luz, hasta en estudios recientes ultraestructurales, se ha demostrado que el desarrollo de la glándula tiroides incluye la formación de un primordio tiroideo, la morfogénesis de los folículos y la diferenciación funcional de las células foliculares.

a). Primer estadio (Precoloide)

La glándula tiroides se desarrolla a partir de una invaginación en el piso de la faringe a nivel del segundo arco branquial; esta invaginación se recubre por una capa de células epiteliales cilíndricas. Comienza con una invaginación que en el adulto se llamará *foramen cecum* en la base de la lengua. Su crecimiento es descendente respecto a la faringe, e incluye la proliferación y agregación de células vecinas preexistentes y células del epitelio faríngeo, a la par que se desarrolla el hueso ioides (Shain y col., 1972).

La invaginación se desarrolla en una vesícula con forma de matraz, cuyo cuello angosto dará lugar al ducto trigloso. La vesícula se bifurca y se continua en un crecimiento descendente hacia su posición final, la tráquea superior (en el caso de humanos), consolidándose una masa sólida de células epiteliales que se independizan de la cavidad faríngea. Estas células están separadas por tejido mesenquimatoso y vasos sanguíneos que invaden el tejido tiroideo, después las células epiteliales se reorganizan en característicos folículos tiroideos.

b). Morfogénesis de los folículos tiroideos

La foliculogénesis comienza por la formación de uniones complejas en la membrana celular, entre las células vecinas que se localizan cerca de las células epiteliales que se disponen en cordones.

Hay dos puntos de vista acerca del mecanismo de formación del lumen folicular. Uno de ellos propone que el lumen tiene una formación extracelular, apareciendo primero una fisura angosta entre las células colindantes delimitadas por los complejos de unión (Hilfer,

1964; Chan, 1983). El lumen se agranda por crecimiento de la membrana apical agregándose nuevo material a la membrana proveniente del Aparato de Golgi mediante vesículas, también se ven la agregación de otras células, mecanismo que se puede observar en la metamorfosis de las larvas de las lampreas (Wright y Youson, 1980). El otro punto de vista lo proponen Shephard (1968) y Olin y col., (1970) los cuales mencionan que habiendo lúmenes presentes en células vecinas al tejido tiroideo, éstas se fusionan por canaliculos intracelulares, formando así los folículos tiroideos

c). Inicio de la función tiroidea

La función de la glándula tiroidea, consistente en la formación de hormonas, requiere de una síntesis que debe darse de manera secuencial. La tiroglobulina se expresa en las células aún antes de que aparezca el lumen folicular, solo que en este punto no está yodada, por lo que el Retículo Endoplásmico Rugoso es muy activo, la capacidad para organificar el yodo inicia cuando aparecen los folículos tiroideos.

d). Función de la Glándula tiroidea

La glándula tiroidea es una glándula endocrina cuyas células van a secretar tiroxina (T_4) y triyodotironina (T_3) (Fujita, 1988); se ha demostrado su participación directa en la metamorfosis en el caso de anfibios, siendo considerada como la clave de éste proceso (Duellman y Trueb, 1986). Sin embargo, las hormonas de la glándula tiroidea tienen efectos en otras funciones de relevancia, como en la reproducción, metabolismo general, crecimiento y muda, en el caso de *Ambystoma tigrinum* los niveles de T_4 están relacionados de manera inversa al desarrollo gonadal (Norris, y col., 1977). La muda en larvas y adultos está controlada directamente por las hormonas tiroideas, por lo regular después de la muda, sobreviene la metamorfosis (Kaltenbach, 1968). En el individuo terrestre, las hormonas tiroideas producen la queratinización de la dermis, papel contrario a la prolactina, que reduce la queratinización (Nicoll, 1974). En cuanto al metabolismo, aún no está claro el papel real de las hormonas tiroideas, algunos autores mencionan que existe una correlación directa, entre el estado hormonal y el consumo de oxígeno (Maher, 1967), mientras que otros no han encontrado ninguna relación (Marusic y col., 1966). Se ha observado que las hormonas tiroideas realzan la efectividad de otras hormonas, en un papel de cooperatividad, llamado también acción permisiva, produciendo cambios en los tejidos blanco para que sean más receptivos a otras hormonas, por ejemplo, las hormonas tiroideas actúan en el hígado, riñón, corazón, sistema nervioso y músculo esquelético, sensibilizando a estos tejidos a la adrenalina y estimulando la respiración, el consumo de oxígeno y la tasa metabólica (Eckert y col., 1993).

Aunque no es bien conocido el papel de las hormonas tiroideas, al parecer, una función importante, así como la de algunos esteroides, es la de modificar la expresión génica. Estas hormonas entran a la célula blanco, fijándose en las proteínas receptoras específicas en el núcleo de las mismas. El complejo hormona-receptor, se unen al DNA nuclear, modificando la expresión génica, produciendo cambios de larga duración en la función de las células blanco (Eckert y col., 1993).

e). Formación de las hormonas tiroideas

Como es sabido, la glándula tiroides esta constituida de numerosos folículos formados por células epiteliales secretoras, envueltos por tejido conjuntivo (Duellman y Trueb, 1986), ricamente vascularizado por un densa red de capilares que rodean cada folículo. La inervación esta dada por una vía simpática que inerva las células foliculares y los vasos sanguíneos. Las células epiteliales secretan un fluido de naturaleza protéica llamado coloide tiroideo que se acumula extracelularmente en el espacio del lumen folicular. La región de las células epiteliales que colinda con el lumen lleva por nombre porción apical. El núcleo se localiza de manera general en la región basal de la célula que está en la parte más lejana del lumen y la más cercana a los capilares (Norris, 1985) (Fig. 2).

La síntesis y almacenamiento de las hormonas tiroideas se dá de manera general de acuerdo a los siguientes pasos:

- Acumulación de yodo inorgánico por parte de los folículos tiroideos.
- Síntesis de Tiroglobulina (glucoproteína con residuos tirosin para la síntesis de las hormonas.
- Unión del yodo inorgánico a los residuos tirosin en la tiroglobulina.
- Síntesis de T3 y T4 a partir de tirosinas yodadas (Fig. 3).
- Almacenaje de las hormonas tiroideas en el lumen folicular.
- Englobamiento del coloide por las células foliculares e hidrólisis de tiroglobulina para liberar las hormonas tiroideas.
- Difusión de T3 y T4 hacia la circulación y su transporte hacia los órganos blanco (Norris,1985).

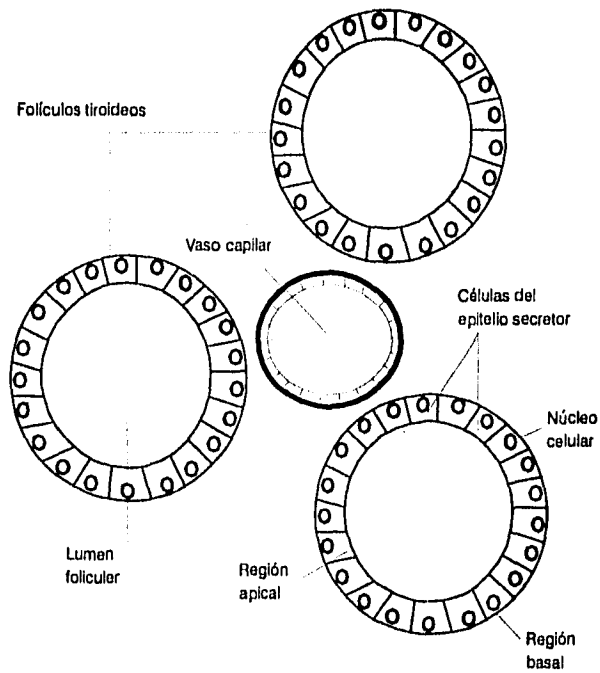
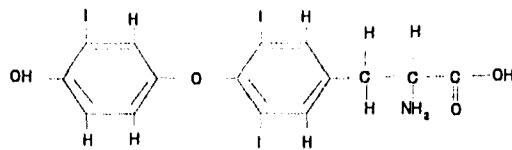
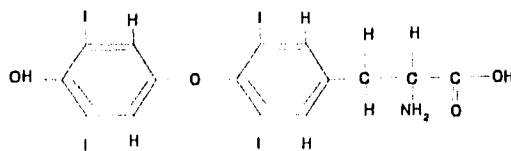


Figura 2. Estructura simplificada de los folículos tiroideos en la glándula tiroides



TRIIODOTIRONINA (T₃)



TIROXINA (T₄)

Figura 3. Estructura química de las hormonas tiroideas más importantes.

1.6 GENERALIDADES DE *Ambystoma tigrinum*

Ambystoma tigrinum es un anfibio Urodelo perteneciente al **Suborden SALAMANDROIDEA** Noble, 1931 (en Duellman y Trueb, 1986) y a la **Familia AMBYSTOMATIDAE** Hallowell, 1856 (en Duellman y Trueb, 1986), comunmente llamado Ajolote (del náhuatl *axolotl*: monstruo o perro del agua); este organismo tiene una forma alargada cilíndrica con cuatro extremidades no especializadas. Poseen una aleta que corre por el dorso hasta desaparecer a nivel de la cloaca, a ambos lados de la cabeza tiene tres pares de branquias externas largas y plumosas; mide en promedio 18 a 20 cm.. Su piel en la parte dorsal y lateral presenta manchas oliváceas o amarillentas de forma irregular sobre un fondo café oscuro o negro, en la parte ventral el color es amarillo oliva (Cervantes, 1992) (Fig. 4).

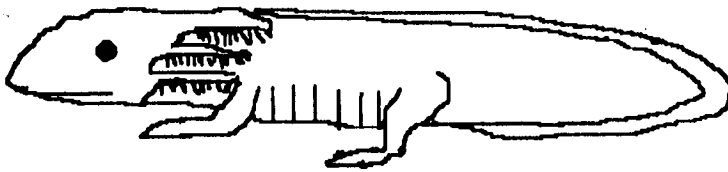


Fig.4 Esquema general de un organismo del género *Ambystoma tigrinum*.

En el mundo prehispánico ya se tenía conocimiento de este organismo. Fray Bernardino de Sahagún hacía referencia a ellos indicando que: "Hay unos animalejos en el agua que se llaman axolotl, (que) tienen la cola como anguila y el cuerpo también, tienen muy ancha la boca y barbas en el pescuezo. Es muy bueno de comer, es comida de los señores" (Dibble y Andersons, 1979); se refería concretamente a la especie *Ambystoma mexicanum*, aunque con el tiempo el término castellano ajolote se aplica también a otras especies neoténicas del mismo género. En medicina se ocupaban para las inflamaciones del hígado, se hacía referencia a que servían para curar la hidropesía y curaba el "pali" infantil (anemia), entre otras enfermedades (Gatti, 1985).

A. tigrinum se distribuye a lo largo de la meseta del Valle de México y en el Este de los Estados Unidos, presentando en ambas regiones la particularidad de ser un organismo neoténico facultativo (Goin, y col. 1978); encontrándose en forma larval o de manera ocasional transformado en salamandra. De manera natural puede experimentar metamorfosis en lagos o cuerpos de agua cálidos, pero que deriven de cuerpos de agua

fríos. En esta especie la neotenia puede ser favorecida por un ambiente frío, por condiciones terrestres severas y por la ausencia de predadores en el agua (Sprules, 1974).

Generalmente presentan un gran tamaño en los estadios potencialmente reproductores (Adultos Neoténicos), con un rápido crecimiento, madurando aproximadamente en un año independientemente de experimentar la metamorfosis y presentar un alto grado de intercompatibilidad en su conducta reproductiva, de tal manera que pueden reproducirse con organismos de otras especies dentro del mismo género (Amstrong y Malacinski, 1989).

Siguiendo con la tradición prehispánica, en ciertos Estados de México es una especie de importancia ya que es fuente de recursos, muy valorada por sus propiedades alimentarias y medicinales.

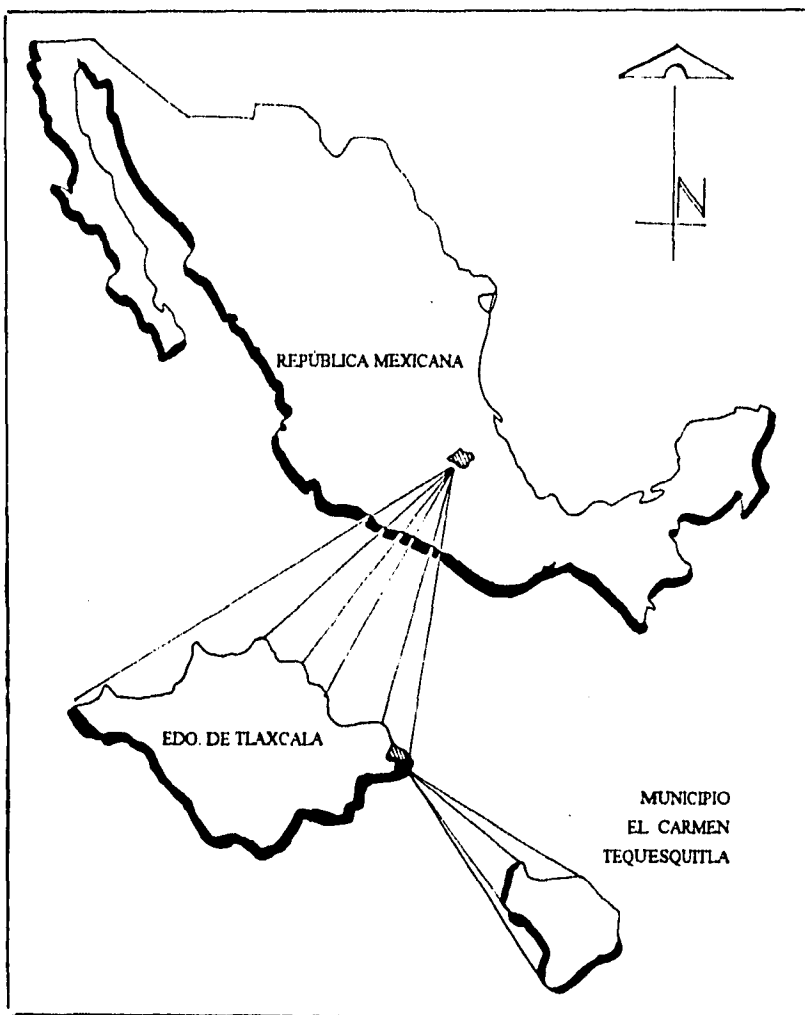
1.7 DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

El trabajo de campo de la presente investigación fue realizado en la laguna de Totolzingo, Tlax. (Mapa), dicha laguna se encuentra en el extremo oriente del municipio de El Carmen Tequezquitla, localizada a 19° 19' latitud norte y 97° 39' longitud oeste, con 2380 msnm (I.N.E.G.I. , 1993). Sin embargo la laguna está en los límites de los estados de Puebla y Tlaxcala, localizándose la mayor parte de la misma en el estado de Puebla, no obstante de pertenecer a un municipio del estado de Tlaxcala; la laguna está dividida por la carretera Federal No. 95 México-Veracruz.

En Tlaxcala, los ríos principales son el Zahuapan y el Atoyac pertenecientes a la cuenca superior del río Balsas uniéndose con el río Atoyac en los límites con el estado de Puebla; entre los embalses más importantes se pueden citar La Presa Atlanga, Laguna Jalnene, Laguna Totolzingo, Laguna del Vicencio, Presa Colonia Magdalena Soltepec y Bordo la Cañada (Sec. Pesca, 1994).

En la localidad de El Carmen Tequezquitla se presenta de acuerdo a la clasificación de Köppen, un clima templado sub-húmedo, con régimen de lluvias en los meses de junio a septiembre; una temperatura media mínima anual de 8.5°C y la máxima extrema de 30°C. Precipitación media anual de 438mm, con una mínima de 322mm y una máxima de 535.8mm, con una evaporación de 121.86mm (See Gob., 1987).

La Laguna de Totolzingo cuenta con una superficie de 1404 ha., segunda más importante detrás de la presa Atlanga en el municipio de Atlangatepec, Latitud Norte 19°32', Longitud Oeste 98°11' a 2550 m.s.n.m., (Leal, 1978); con una superficie de 1200 ha, las especies más abundantes registradas son: carpa de Israel (*Cyprinus carpio specularis*), carpa hervibora (*Ctenopharyngodon idellus*), lobina (*Micropterus salmoides*), pescado blanco (*Chirostoma estor*) y charal (*Ch. bartoni*) (Sec. Pesca, 1994). Es también una laguna permanente de una alta concentración salina, de aguas alcalinas, con un pH de más de 7 (Leal, 1978).



Mapa. Localización del área de Estudio.

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Describir morfofuncionalmente la glándula tiroides del ajolote *Ambystoma tigrinum* (AMPHIBIA: CAUDATA) durante un ciclo anual.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Hacer una comparación a nivel histológico y morfométrico de la glándula tiroides de *A. tigrinum* en los cuatro estadios de desarrollo: Larvas tempranas, larvas tardías, adultos neoténicos y salamandras en las cuatro estaciones del año.
- Contrastar algunos caracteres biométricos: Longitud de las branquias, amplitud de la aleta caudal, longitud de las extremidades, Índice de Condición Física e Índice Hepatosomático para establecer posibles criterios de clasificación de los diferentes estadios en las cuatro estaciones del año.
- Proponer un modelo matemático que pueda integrar diversos parámetros merísticos de los componentes de la glándula tiroides para establecer una relación en aras de poder evaluar la actividad de esta glándula.

HIPÓTESIS

Si la glándula tiroides está involucrada en la metamorfosis y en otras actividades del desarrollo en *Ambystoma tigrinum*, entonces podremos ver diferencias en los componentes estructurales de la misma, así como su influencia en las características morfológicas externas en los cuatro estadios de desarrollo y en las cuatro épocas del año.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

III.1 COLECTA Y MONITOREO DEL HÁBITAT

La colecta de organismos (*Ambystoma tigrinum*) fue llevada a cabo en la Laguna de Totolcingo, Tlax. en la mitad de cada estación del año, mediante una técnica rústica de captura, haciendo arrastres de 100 metros de longitud, con una Red de arrastre de 25 metros de largo, 1.5 metros de ancho y una luz de malla de 1.5 centímetros en 5 partes de la laguna elegidas al azar. Fueron colectados un total 136 organismos; de cada arrastre se separaron los individuos de *A. tigrinum*. Al mismo tiempo fueron evaluados diferentes parámetros fisicoquímicos en la Laguna, siendo estos pH, con un potenciómetro de campo CORNING pHmeter 3D; temperatura (de fondo y superficial), concentración de oxígeno disuelto en el agua, con un oxímetro YSI 54ARC, Sci. Prod. ± 0.05 mg O₂/l; dureza cálcica, dureza total, nitritos y nitratos, con un equipo portátil Merck.

III.2 MEDICIONES MORFOMÉTRICAS E ÍNDICES

Los organismos se trasladaron al laboratorio de Biología de la Reproducción de la Facultad de Ciencias de la UNAM. Los especímenes de cada estación fueron clasificados, según su estado de desarrollo en: larvas tempranas, larvas tardías, adultos neoténicos y salamandras, se sexaron (Brandon, 1976; Norris y col., 1977) y les fueron evaluados diferentes caracteres biométricos: peso húmedo (gr) (Wilbur y Collins, 1973), longitud total (cm) (Scott, 1993), longitud del hocico a la cloaca (cm) (Brandon, 1976; Scott, 1993), longitud del pliegue caudal (mm) (Jacobs, y col., 1988), amplitud de la aleta (mm) (Jacobs, y col. 1988; Norris y col. 1977), longitud de las branquias (mm) (Jacobs, y col. 1988; Norris y col., 1977), longitud de las extremidades anterior y posterior derechas (mm) (Hassinger, y col., 1970; Latimer y Roffe, 1964), longitud de la gónada (mm) y peso del hígado (gr); también se evaluaron dos índices corporales, el Índice de Condición Física (ICF), evaluado como $\text{Peso total/Longitud hocico-cloaca} \times 100$ (Méndez de la Cruz, y col. 1992) y el Índice Hepatosomático (IHS) evaluado como: $\text{Peso del hígado/Peso total} \times 100$. Para la longitud del pliegue caudal, longitud de las branquias, longitud de la extremidad anterior derecha y los índices morfométricos: ICF e IHS se probaron diferencias significativas para la época, el estadio y su interacción, mediante un modelo de análisis de varianza (ANOVA) de dos criterios de clasificación con interacción, empleando la prueba de Tukey de rango estudentizado.

III.3 INDUCCIÓN DE LA METAMORFOSIS

De cada estación fueron apartados siete organismos (larvas tardías y adultos neoténicos) para la inducción de la metamorfosis, esto se logró elevando la temperatura, manteniéndola constante a 25°C, se saturó de oxígeno del agua mediante una bomba de aereación y se redujo el nivel del agua con la suficiente para cubrir a los ejemplares, el fotoperiodo fue 12 horas luz por 12 horas oscuridad, estas condiciones prevalecieron constantes hasta que se obtuvo el estadio de salamandra.

III.4 OBTENCIÓN DE LA GLÁNDULA TIROIDES Y SU ANÁLISIS HISTOLÓGICO

Todos los individuos fueron sacrificados por decapitación, se analizaron las características anatómicas y la longitud de la gónada para determinar el grado de madurez y confirmar el sexo. Se separó la cabeza del resto del cuerpo y la mandíbula inferior fue fijada en líquido de Zenker, después de 24 horas fue postfijada en formol amortiguado al 10% .

Cuando se tuvieron todas las muestras de las cuatro estaciones del año y de las cuatro fases de desarrollo se procedió a realizar la técnica histológica que comprendió los siguientes pasos: las mandíbulas completas fueron deshidratadas, aclaradas e incluidas en parafina, para ser sometidas a cortes histológicos seriados de 5µm cada uno en un microtomo de rotación, AMERICAN OPTICAL Sci. Inst. Div.; posteriormente se tiñeron con las técnicas histológicas de Hematoxilina-Eosina, PAS (Estrada y col. 1982) y Tricrómica de Masson, y observadas en un microscopio óptico AMERICAN OPTICAL Microstar Sci. Inst., para el análisis histológico de la glándula tiroides de *Ambystoma tigrinum* de cada estación y estadio de desarrollo con énfasis en las características del epitelio secretor, su forma y contenido de coloide, posteriormente se contabilizó el número de folículos tiroideos en el corte histológico que correspondía a la mitad de la glándula tiroides con un objetivo de 16x en un área de 0.44 mm². Toda la serie de cortes se utilizó para determinar el diámetro de cada glándula, tanto del lado derecho como del izquierdo; procediendo a hacer un análisis estadístico de Tukey para establecer diferencias significativas entre ambas glándulas.

A la par del análisis histológico se hizo un análisis morfométrico de los folículos tiroideos y de las células foliculares con un objetivo micrométrico C:REICHERT BPK 10x . A los primeros les fue medido su eje mayor y menor en un fotomicroscopio óptico ZEISS 473012-9901 con un objetivo de 16x en un área de 0.44 mm² hacia la mitad de cada glándula, así mismo se midió la altura del epitelio folicular.

IV. RESULTADOS

IV.1 RESULTADOS DE CAMPO

El muestreo a lo largo de un año arrojó los siguientes resultados:

La tabla 1 muestra el número de individuos de *Ambystoma tigrinum* de cada estadio colectados en cada estación.

ESTACION	ESTADIO				Total
	Larva Temprana	Larva Tardía	Adulto Neoténico	Salamandra	
Primavera	17	8	2	0	27
Verano	11	15	6	3	35
Otoño	25	9	4	0	38
Invierno	5	12	17	2	36
Total	58	44	29	5	136

Tabla 1

Individuos de *Ambystoma tigrinum* colectados durante un ciclo anual.

De estos resultados vemos que durante el año de muestreo las larvas tempranas fueron las más abundantes en un 42.65%; las larvas tardías representaron el 32.35%, los adultos neoténicos el 21.32% y las salamandras solamente el 3.67% .

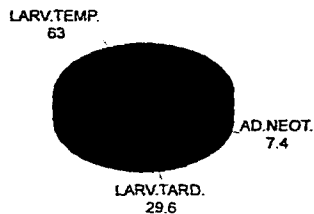
En la gráfica 1 podemos ver el porcentaje de individuos por estación en comparación con el total durante el año.

En la tabla 2 pueden apreciarse los valores de los parámetros fisicoquímicos del ambiente natural.

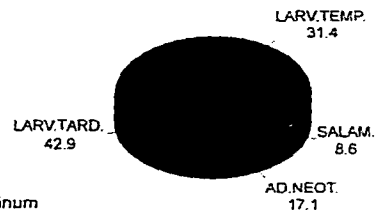
ESTACION DEL AÑO	TEMPERATURA (°C)	pH (1-12)	CONCENTRACION DE O ₂ (mg/l)	NITRITOS (mg/l)	AMONIO (mg/l)
Primavera	18	8.50	*****	0.25	0.0
Verano	21	9.19	6.8	0.25	0.0
Otoño	18	8.50	7.6	0.25	0.2
Invierno	15	9.37	5.8	0.00	0.1

Tabla 2
Parámetros fisicoquímicos del ambiente natural

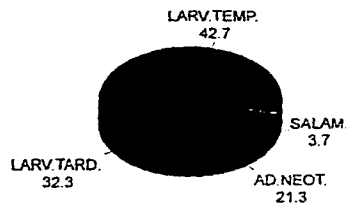
PORCENTAJE DE INDIVIDUOS DE *Ambystoma tigrinum*
PRIMAVERA.



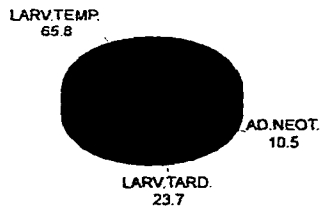
PORCENTAJE DE INDIVIDUOS DE *Ambystoma tigrinum*
VERANO.



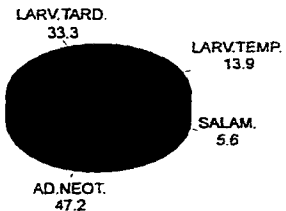
PORCENTAJE DE INDIVIDUOS DE *Ambystoma tigrinum*
DURANTE UN AÑO.



PORCENTAJE DE INDIVIDUOS DE *Ambystoma tigrinum*
OTOÑO.



PORCENTAJE DE INDIVIDUOS DE *Ambystoma tigrinum*
INVIERNO.



Gráfica 1. Porcentaje de individuos de *Ambystoma tigrinum* por estaciones y durante un año

IV.2 PARÁMETROS MERÍSTICOS DE LOS ORGANISMOS

En cuanto a los caracteres biométricos, encontramos que la amplitud del pliegue caudal difirió significativamente tanto en el estadio ($p=0.0001$) como en la época ($p=0.028$); no así la interacción ($p=0.2405$), la estación de invierno difirió significativamente de las otras estaciones y entre éstas no hubo diferencias; la Mínima Diferencia Significativa (MDS) fue de 7.74; para los estadios los adultos neoténicos difieren significativamente de las larvas tempranas y de las larvas tardías, así como las larvas tardías difieren de las larvas tempranas en este caso la MDS fue de 4.48. (tabla 3)

ESTACION	ESTADIO			
	Larva Temprana	Larva Tardía	Adulto Neoténico	Salamandra
Primavera	7.26±1.63	7.734±1.75	9.36±2.09	0
Verano	6.78±1.96	4.29±0.29	9.71±1.89	0±0
Otoño	5.98±2.02	6.85±1.62	9.66±1.65	0
Invierno	8.86±0.85	9.77±1.37	9.55±2.9	0±0

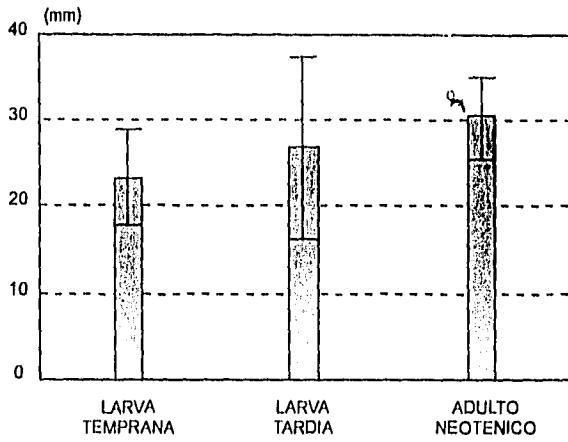
Tabla 3.
Amplitud del pliegue caudal (media \pm s_x).

En la longitud de las branquias, hubo correlación entre la época y el estadio ($p=0.0233$), las branquias más grandes corresponden a los adultos neoténicos de verano (Graf. 2b) que difieren del resto de los estadios, los adultos neoténicos de otoño (Graf. 2a) e invierno difieren con las larvas tempranas de primavera y verano, con larvas tardías de primavera y adultos neoténicos de primavera, y la MDS=10.0353. (Tabla 4).

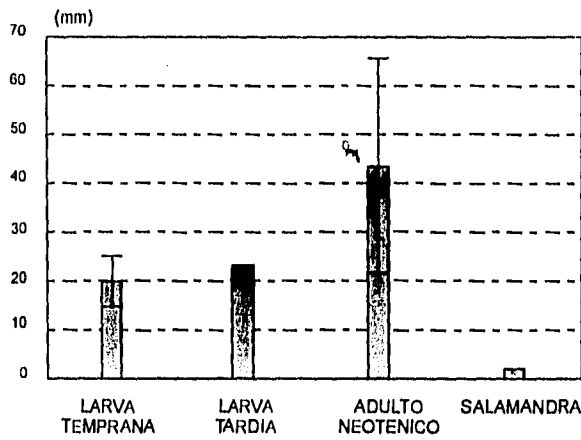
ESTACION	ESTADIO			
	Larva Temprana	Larva Tardía	Adulto Neoténico	Salamandra
Primavera	16.4±5.12 n=19	18.74±2.67 n=4	18.43±9.53 n=2	0 n=0
Verano	19.82±5.29 n=11	22.91±0 n=1	43.55±22.28 n=6	1.66±0.01 n=2
Otoño	23.35±5.52 n=25	26.82±10.63 n=3	30.4±4.81 n=3	0 n=0
Invierno	26.39±4.9 n=3	24.6±3.37 n=12	30.96±5.84 n=11	0.0±0.0 n=2

Tabla 4.
Longitud de la Branquia (media \pm s_x), n=número de organismos.

a) Otoño



b) Verano



Diferencias significativas de los adultos neoténicos respecto a los demás estadios

Gráfica 2. Longitud de las branquias de otoño y verano ($p < 0.05$)

En relación a la longitud de la extremidad anterior derecha hubo diferencias significativas en cuanto a la época ($p=0.0001$) y el estadio ($p=0.0221$), no así en su correlación ($p=0.2142$), en la época no hubo diferencias entre verano y otoño, mientras que en las demás estaciones se encontraron diferencias significativas, la MDS=7.97; en cuanto al estadio hay diferencias entre adultos neoténicos respecto a los demás estadios, también difieren larvas tempranas de larvas tardías y no hubo diferencias entre salamandras y el resto de los estadios, la MDS=6.87. (Tabla 5).

ESTACION	ESTADIO			
	Larva Temprana	Larva Tardía	Adulto Neoténico	Salamandra
Primavera	27.32±3.62	31.35±2.35	32.5±2.26	0
Verano	27.83±2.49	31.61±0	40.12±4.1	32.72±1.06
Otoño	29.74±4.12	31.2±4.66	40.6±2.8	0
Invierno	29.73±2.81	33.9±3.77	39.24±2.72	27.47±4

Tabla 5
Longitud de la extremidad anterior derecha (media $\pm s_x$)

Respecto al índice de condición física (ICF), los adultos neoténicos de verano (Graf. 3a), otoño e invierno (Graf.3b) difieren significativamente del resto de los individuos, la MDS=378.1. (Tabla 6).

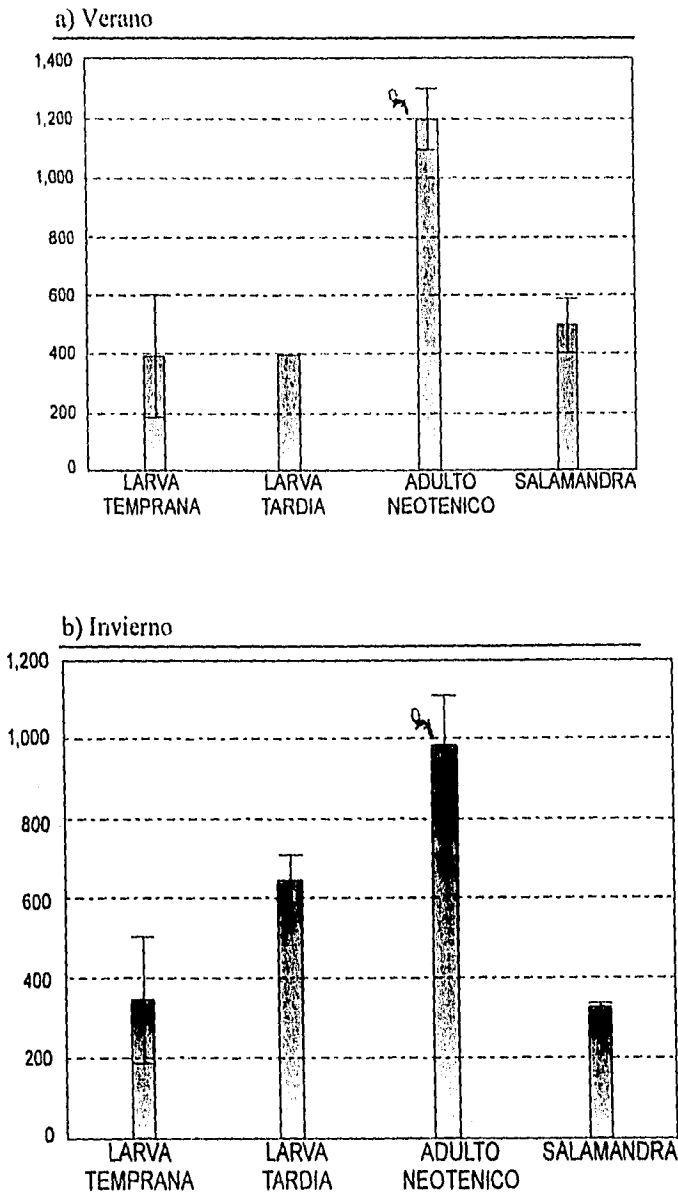
ESTACION	ESTADIO			
	Larva Temprana	Larva Tardía	Adulto Neoténico	Salamandra
Primavera	311.2±82.99 n=19	452.2±85.87 n=4	613.77±311.25 n=2	0 n=0
Verano	392.6±209.19 n=11	396.84±0 n=1	1200.52±106.93 n=8	497±94.75 n=2
Otoño	438.94±163.03 n=25	579.37±66.96 n=3	1004.48±192.41 n=3	0 n=0
Invierno	342.89±160.14 n=3	645.79±64.42 n=12	983.89±126.27 n=11	325±9.89 n=2

Tabla 6.
Índice de Condición Física (media $\pm s_x$), n=número de individuos.

En el índice hepatosomático (IHS), se encontró una correlación del estadio y la época ($p=0.0001$), los adultos neoténicos de verano difieren significativamente de las larvas tempranas y larvas tardías de primavera; las salamandras de verano difieren del resto de los organismos y las larvas tempranas de invierno difieren de adultos neoténicos, siendo la $MDS = 3.5$ (Gráfica 4) (Tabla 7).

ESTACION	ESTADIO			
	Larva Temprana	Larva Tardia	Adulto Neotenico	Salamandra
Primavera	2.9±1.3 n=19	2.1±1.5 n=4	3.9±2.5 n=2	0 n=0
Verano	5.16±1.1 n=11	4.24±0 n=1	7.09±1.91 n=5	11.61±0.62 n=2
Otoño	4.3±1.42 n=25	4.82±1.25 n=3	5.45±1.79 n=3	0 n=0
Invierno	2.56±1.07 n=3	5.32±0.85 n=12	4.89±0.82 n=11	4.05±0.23 n=2

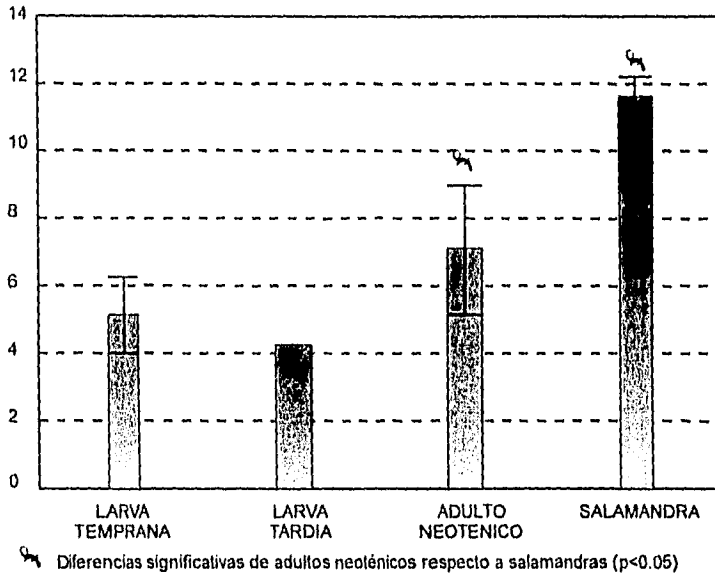
Tabla 7.
Índice Hepatosomático (media \pm s_v) n=número de individuos.



☞ Diferencias significativas de los adultos neoténicos respecto a los demás estadios

Gráfica 3. Índice de condición física de verano e invierno ($p < 0.05$)

Indice hepatosomático de *Ambystoma tigrinum* durante la estación de verano



Gráfica 4. Índice hepatosomático de verano

IV.3 CATEGORIZACIÓN DE LOS DIFERENTES ESTADIOS DE DESARROLLO

La categorización de los diferentes estadios de desarrollo se hizo de la siguiente manera, tomando en cuenta el peso húmedo, la longitud total, y características cualitativas de la gónada:

Larva temprana.- Organismos con un peso promedio de 16.48 ± 2.5 cm de longitud total, y un peso promedio de 37.95 ± 17.35 g, la observación macroscópica de la gónada reveló una estructura inconspícua o incipiente, en la cual no se pudo definir el sexo.

Larva tardía.- Organismos de un promedio de 19.62 ± 2.8 cm de longitud total y un peso promedio de 61.42 ± 15.27 g, en la gónada podía reconocerse el sexo, sin embargo no estaba bien desarrollada.

Adulto neoténico.- Fueron los organismos más grandes, con una longitud promedio de 25.1 ± 2.2 cm y de mayor peso, con un promedio de 129.05 ± 32.39 g respecto a los anteriores estadios, branquias bien desarrolladas, y gónadas generalmente maduras.

Salamandras.- Individuos completamente terrestres sin branquias ni pliege de la aleta media caudal. La longitud promedio fue de 19.0 ± 1.87 cm y un peso de 38.26 ± 13.77 g en promedio. En cuanto a la gónada, ésta se encontró bien desarrollada cuando se obtuvo a expensas de adultos neoténicos y poco desarrollada cuando se obtuvo a expensas de larvas tardías.

IV.4 REPRODUCCIÓN

Durante el trabajo de campo, y a lo largo del año, se pudo detectar que la época de reproducción se da durante el invierno, ya que se encontraron puestas de huevecillos, en un arreglo masivo y de consistencia mucilaginosa, también se descubrieron organismos recién eclosionados o en las primeras fases de desarrollo (aprox. de 1 a 5 cm de longitud total), lo que no se observó durante el resto del año.

En el laboratorio, el análisis anatómico de la gónada mostró para el invierno, ovarios y testículos en etapa reproductiva para todos los organismos sexualmente adultos (adultos neoténicos y salamandras), no así en el resto de las estaciones.

IV.5 METAMORFOSIS

Solamente en las estaciones de verano e invierno se encontró en estado silvestre el estadio de salamandra, y en un número muy pequeño ($n=5$) que corresponde a un 3.88% del total de individuos capturados, no obstante al inducir la metamorfosis en el laboratorio a partir de larvas tardías y adultos neoténicos, la metamorfosis se logró en un 86% en un lapso de 5 a 7 días aproximadamente.

IV.6 RESULTADOS HISTOLÓGICOS DE LA GLÁNDULA TIROIDES

La glándula tiroidea de *Ambystoma tigrinum* se presentó como una estructura pareada y alargada, una a cada lado de la región mandibular, inmersa entre los paquetes de los músculos intermandibulares en posición ventral (Lámina 1 Fig.1), se observó constituida por folículos tiroideos característicos con forma variada, desde esférica hasta fusiforme, cada folículo está formado por una capa de células epiteliales secretoras que van de epitelio plano a cilíndrico, el lumen foliolar fue posible observarlo lleno, parcialmente lleno o vacío de coloide tiroideo, el cual presentó una reacción PAS positiva de diferente intensidad (Lámina 1 Fig.2 y 3). Los folículos de esta especie, al igual que en los otros grupos de vertebrados que presentan glándula ultimobranquial, no tienen células parafoliculares. También pudimos observar que puede haber eseaso o abundante tejido conjuntivo entre los folículos y siempre se encuentra ricamente vascularizado.

a). Histología de la glándula tiroidea de larvas tempranas

Primavera.- se encontraron folículos esféricos llenos de coloide tiroideo, células epiteliales aplanadas y los folículos están prácticamente unidos entre sí, no habiendo gran cantidad de tejido intersticial ni vasos sanguíneos entre ellos (Lámina 4 Fig.1). Y dada su morfología no se encontraron indicios de actividad tiroidea (Lámina 3 Fig. 3).

Verano.- presentó folículos vacíos y esféricos, con células epiteliales cúbicas, con espacio mínimo entre los folículos.

Otoño.- se observaron folículos llenos de coloide, con tejido conjuntivo interfolicular, células epiteliales cúbicas y gotas de coloide endocítico.

Invierno.- los folículos se encontraron llenos de coloide, sin espacios interfoliculares, las células epiteliales son planas.

b). Histología de la glándula tiroides de larvas tardías

Primavera.- en este estadio los folículos se presentaron esféricos y el lumen folicular se encontró parcialmente lleno de coloide, las células epiteliales cúbicas y hay gran cantidad de tejido conjuntivo entre los folículos (Lámina 4 Fig.2).

Verano.- presentó algunos folículos llenos y otros vacíos; sin espacios entre ellos, las células epiteliales son cúbicas.

Otoño.- los folículos se encontraron llenos de coloide no se observó espacio interfolicular y el epitelio es plano.

Invierno.- los folículos se observaron parcialmente llenos de coloide, y sin espacio interfolicular, el epitelio es plano.

c). Histología de la glándula tiroides de adultos neoténicos

Primavera.- los folículos tiroideos son ovoides, encontrándose folículos vacíos y algunos llenos con gotas de coloide endocíticas, células epiteliales cúbicas o cilíndricas (Lámina 4 Fig. 3), siendo todas estas características morfológicas de gran actividad tiroidea (Lámina 3 Fig. 1 y 2)

Verano.- presentó folículos llenos de coloide sin espacio entre ellos y epitelio cúbico bajo.

Otoño.- se observaron folículos vacíos, células epiteliales cúbicas y con espacio interfolicular.

Invierno.- folículos parcialmente llenos y sin espacio interfolicular, las células epiteliales de forma cúbica.

d). Histología de la glándula tiroides de salamandras

Primavera.- se encontraron folículos llenos de coloide y de forma irregular, con células epiteliales cúbicas (Lámina 4 Fig. 4, Lámina 3 Fig. 4).

Verano.- los folículos se presentaron llenos de coloide sin espacios interfoliculares con epitelio cúbico bajo.

Otoño.- folículos llenos de coloide con gotas endocíticas y espacios interfoliculares, el epitelio varió de cúbico a cilíndrico.

Invierno.- se observaron folículos llenos de coloide, sin espacios interfoliculares y epitelio plano.

IV.7 RESULTADOS MORFOMÉTRICOS DE LA GLÁNDULA TIROIDES

a) Espesor de la glándula derecha vs izquierda (Simetría)

Se comparó el tamaño de la glándula tiroides del lado derecho con la lado en izquierdo en las cuatro estaciones del año y para los cuatro estadios de desarrollo; no encontrándose diferencias significativas ($P > 0.3305$) en éste parámetro.

b) Tamaño de la glándula tiroides entre las diferentes estaciones y estadios

Al comparar el espesor de la glándula tiroides entre las diferentes estaciones y estadios se encontró que el mayor tamaño correspondió a los adultos neoténicos de la estación de primavera y el más pequeño a las salamandras de la misma estación (Tabla 8).

ESTACION	ESTADIO			
	Larva Temprana	Larva Tardía	Adulto Neoténico	Salamandra
Primavera	547.3±1.19	288.59±1.01	854.08±1.1	129.02±1.19
Verano	342.07±1.34	312.86±1.09	323.76±1.2	277.27±1.04
Otoño	292.95±1.37	333.62±1.22	461.74±1.05	448.09±1.08
Invierno	328.65±1.14	395.44±1.66	533.79±1.5	389.65±1.58

Tabla 8

Tamaño de la glándula tiroides de *Ambystoma tigrinum* ($\mu\text{m} \pm s_x$)

c) Análisis de los parámetros morfométricos de la glándula tiroides

El análisis de los parámetros morfométricos (Número de folículos, eje mayor, eje menor, altura del epitelio) (Lámina 2 Fig 1, 2 y 3) de la glándula tiroides en los diferentes estadios y estaciones del año mostró los resultados que se presentan en la tabla 9.

En la tabla 10 se muestra la actividad de la glándula tiroides, valorada mediante la relación:

$$\frac{\sum \text{AE} \times \text{NF}^{-1} \times \text{AE}}{\text{AT}}$$

Donde:

$\sum \text{AF}$ = Sumatoria del área folicular;

AT = Área total;

NF = Número de folículos y

AE = Altura promedio del epitelio folicular.

ESTACION	ESTADIO			
	Larva Temprana	Larva Tardía	Adulto Neoténico	Salamandra
Primavera	n=24	n=5	n=5	n=12
	E+=102.78±20.01	E+=344.24±64.36	E+=298.48±133.72	E+=289.8±80.76
	E-=90.54±18.46	E-=156±28.72	E-=161.2±86.31	E-=138.32±36.62
	AE=5.82±1.73	AE=9.36±2.33	AE=13.52±2.85	AE=10.92±3.84
Verano	n=10	n=8	n=6	n=11
	E+=209.95±37.7	E+=193.14±15.72	E+=332.8±76.7	E+=242.84±95.6
	E-=124.48±38.64	E-=112.57±33.52	E-=182±44.58	E-=166.4±50.36
	AE=9.75±1.84	AE=11.89±2.54	AE=9.36±2.33	AE=9.88±2.95
Otoño	n=7	n=12	n=7	n=14
	E+=309.07±80.85	E+=227.86±112.18	E+=204.29±55.74	E+=187.63±48.09
	E-=128.27±22.71	E-=112.51±34.36	E-=164.91±30.57	E-=120.9±38.79
	AE=9.53±3.91	AE=6.62±2.43	AE=9.66±1.97	AE=15.17±1.52.95
Invierno	n=10	n=9	n=11	n=8
	E+=214.5±80.74	E+=332.15±73.98	E+=298.08±90.1	E+=257.77±101.45
	E-=140.4±69.43	E-=159.25±34.15	E-=125.38±42.6	E-=151.54±98.96
	AE=9.75±1.84	AE=9.75±1.84	AE=6.36±2.3	AE=6.69±2.54

Anotaciones.- n= número de folículos; E+= eje mayor del folículo; E-= eje menor del folículo; AE= altura del epitelio.

Tabla 9

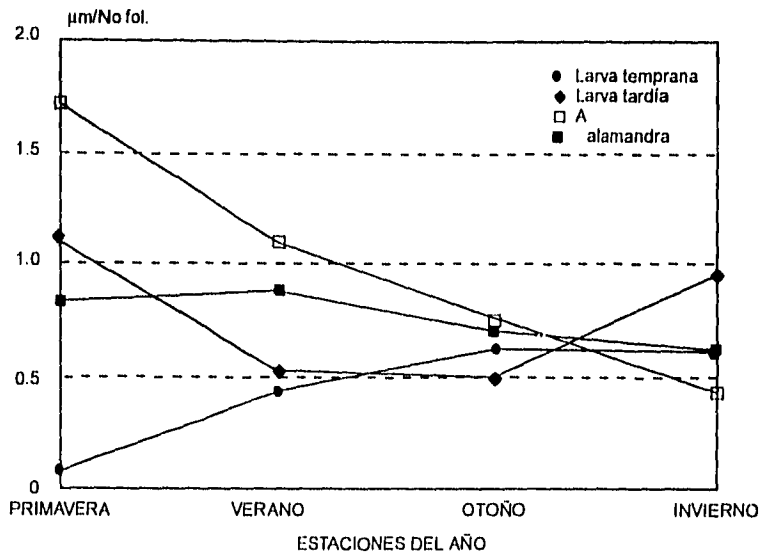
Datos morfométricos de la glándula tiroides de *A. tigrinum*

Se puede observar que la mayor actividad la presentan los adultos neoténicos y va declinando conforme avanzan las épocas del año, por el contrario las larvas tempranas inician con una pobre actividad que aumenta conforme avanzan las estaciones del año, las salamandras mantienen una actividad constante en todo al año y las larvas tardías inician con una gran actividad declinando hasta el verano, manteniéndose al otoño y aumenta nuevamente para el invierno (Graf.5).

EPOCA	ESTADIO			
	Larva Temprana	Larva Tardía	Adulto Neoténico	Salamandra
Primavera	0.0884	1.1137	1.7182	0.8331
Verano	0.43	0.5205	1.1057	0.88
Otoño	0.6185	0.4974	0.756	0.7022
Invierno	0.6041	0.9561	0.4347	0.6123

Tabla 10

Actividad de la glándula tiroides



Gráfica 5. Actividad de la glándula tiroides de *Ambystoma tigrinum* durante un ciclo anual usando la fórmula: suma (área fol./área total) (No. fol.^{-1}) (alt. prom. epitelio).

V. DISCUSIÓN

Dado que no se encontró el estadio de salamandra en las estaciones de primavera y otoño en el ambiente natural se indujo la metamorfosis en todas las estaciones a expensas, tanto de larvas tardías como de adultos neoténicos; la cual se alcanzó entre 5-7 días. La metamorfosis fue inducida por la alteración de las condiciones ambientales: hacinamiento, disminución del cuerpo de agua y aumento de la temperatura, factores que se han reportado como agentes disparadores de dicho evento (Amstrong y Malasinski, 1989).

Dado que el fenotipo larval es predominante en la localidad, la función de la glándula tiroides quizás no esté relacionada con la metamorfosis, sino que esté encaminada hacia otras vías del metabolismo animal como por ejemplo la del crecimiento rápido o la respuesta a factores causantes de *stress* en estos individuos como pueden ser un cambio drástico en la temperatura, disminución del cuerpo de agua o la falta de alimento (Marshall y Hughes, 1980).

Se ha reportado que la altitud es un factor condicionante de la metamorfosis, en lugares de altitudes aproximadamente de 2300 msnm, el género *Ambystoma* casi no experimenta metamorfosis, es decir, prevalece el fenotipo larval (Rogers, 1985) mientras que en localidades de altitudes de aproximadamente 1200 msnm la incidencia de la neotenia es de alrededor del 75% contrastando con un 10% de neotenia alrededor de los 100 msnm, (Eagleson y McKewn, 1978). La laguna de Totolzingo se encuentra ubicada en los 2380 msnm y en ella se encontraron muy pocas salamandras 3 en verano y 2 en invierno (de un total de 139 individuos), lo que muestra un predominio del fenotipo larval (96%). Aun cuando el cuerpo de agua se considera permanente, se tiene referencia que hay años en los que la laguna se seca en su totalidad, y muy posiblemente los individuos expresan su potencialidad para experimentar metamorfosis, como se demostró en el laboratorio con un 86% de eficacia, tanto a partir de larvas tardías como de adultos neoténicos, esto habla de la existencia de un estado de madurez del eje hipotálamo-hipófisis-tiroides desde el estadio de larva tardía y de una plasticidad de estos dos fenotipos (neoténico y larvas tardías) para responder a diversas presiones selectivas, lo que les confiere notables ventajas en su ambiente natural. Solamente en la estación de invierno 3 de 7 individuos (adultos neoténicos) no experimentaron metamorfosis, lo cual podría explicarse porque en esta estación se lleva a cabo la reproducción, evento durante el cual se eleva la concentración de hormona prolactina (PRL) en el torrente sanguíneo que antagoniza con la producción de hormonas tiroideas (Duellman y Trueb, 1986); por lo que la metamorfosis no puede tener prioridad durante esta época del año, ya que la canalización de los recursos energéticos están encaminados a la reproducción. Aun cuando la tiroides participa en la consecución de la madurez sexual, una vez alcanzada ésta, su función declina en el momento de que se inicia la fase reproductiva (Marshall y Hughes, 1980).

En lo referente a visualizar el efecto de la función de la tiroides, de manera macroscópica en el momento de la metamorfosis, fue claro que hay cambios como la degeneración del pliegue de la aleta media caudal, la formación de glándulas dérmicas, la regresión de branquias, el crecimiento de los músculos extrínsecos del ojo, etc. como ha sido indicado por Duellman y Trueb en 1986, además se tomó en cuenta la parte locomotora del

organismo, las extremidades, como estructuras susceptibles de experimentar cambios durante la metamorfosis (Ashley y col., 1991); por lo que consideramos necesario hacer las mediciones tanto del pliegue caudal, la longitud de las branquias, y la longitud de la extremidad anterior derecha, de esto observamos que los dos primeros parámetros se reducen drásticamente durante el proceso de metamorfosis. Jacobs y col (1988) demostraron que al administrar $20\mu\text{g}$ de TRH en dos dosis se produjo la reabsorción completa de las branquias y del pliegue medio caudal en un tiempo aproximado de 80 días, y contrastándolo con los resultados obtenidos, en condiciones de laboratorio, sin la administración de hormonas, fue posible ver que la reducción de dichas estructuras se dió entre 5 y 7 días únicamente. También Larras-Regard y col. (1981) reportan cambios, tanto en la longitud de las branquias como la desaparición del pliegue caudal, además de que encontraron, por medio de radioinmunoensayos, que en el plasma hay mayores cantidades de T_3 que de T_4 durante la metamorfosis. Lo que indica claramente que el eje hipotálamo-hipófisis-tiroides responde prácticamente de inmediato ante el estímulo de diversos factores como confinamiento, reducción de la cantidad de agua y aumento de la temperatura.

Los resultados mostraron que en los adultos neoténicos las branquias tuvieron un aumento significativo de longitud, esto se puede deber a que al ser los organismos de mayor talla necesitan estas estructuras bien desarrolladas para maximizar la obtención del oxígeno disuelto, ya que el medio en el que habitan la profundidad del sistema es de 1.5m por lo que se requiere de una gran superficie para el intercambio gaseoso, por otro lado vemos que éste caracter esta bien desarrollado en los adultos neoténicos de las estaciones de verano, otoño e invierno, es decir, en la mayor parte del año lo que es indicio de estabilidad en el sistema; en cuanto a las branquias como órganos de intercambio gaseoso, se reporta que el grado de desarrollo de las branquias también está en función de la temperatura, la presión parcial del gas (oxígeno), niveles de actividad, estado de desarrollo y tamaño corporal (Burggren y Roberts, 1993), además Duellman y Trueb (1986) reconocen tres tipos de branquias en urodolos, que estan en función del hábitat. El tamaño y área de superficie de estas estructuras depende de la cantidad de oxígeno disuelto en el agua; en estanques, donde no hay corrientes de agua, las branquias estan bien desarrolladas (como es el caso de *Ambystoma tigrinum* de la localidad de Totolzingo), en arroyos son cortas y menos filamentosas y en riachuelos de montaña son muy cortas y reducidas.

En cuanto al pliegue caudal, éste es significativamente mayor en las larvas tardías y en los adultos neoténicos, ya que este es uno de los caracteres más evidentes que definen el estado larval (Larras-Regard y col., 1981). En las larvas tempranas éste caracter es significativamente menor, debido, posiblemente a que es un estadio temprano de desarrollo en el que los individuos no alcanzan su mayor talla. Podemos proponer a este caracter como un indicio para la clasificación de los primeros estadios (larvas tempranas) respecto a las larvas tardías y adultos neoténicos en esta especie.

Ashley y col (1991) sugirieron que en una población de *A. tigrinum* debería haber cambios significativos en la musculatura de las extremidades durante la metamorfosis, dada su importancia en el cambio de hábitat, sin embargo al cuantificar los cambios en la masa muscular no obtuvieron cambios significativos tanto de organismos acuáticos, como de organismos terrestres; no obstante en los resultados obtenidos respecto a la longitud de las

extremidades, se encontraron diferencias entre dos grupos de individuos larvas tardías-adultos neoténicos y entre larvas tempranas-salamandras, el primero con una mayor longitud que en el segundo, dado que durante la metamorfosis hay una pérdida de peso total, estos resultados sugieren una reducción en la longitud de las extremidades, llegando a los niveles del primer estadio de desarrollo, mientras que el mayor desarrollo está en las típicas fases larvales (larvas tardías y adultos neoténicos).

Aunque el IHS (peso del hígado/peso total del organismo x 100), se ha aplicado principalmente a hembras de peces, como un índice cuyo resultado es directamente proporcional al estado reproductivo, dado que el hígado segrega vitelogeninas, durante la vitelogénesis exógena, que serán captadas por el ovocito (Rodríguez, 1992). Se consideró que es posible aplicar este índice en esta investigación, dado que el hígado es una estructura que se ve afectada por la tiroxina (T_4) durante la metamorfosis, independientemente del sexo. En el hígado, durante la metamorfosis aumentan la síntesis de DNA y RNAr, los carbohidratos, los lípidos, las proteínas como la albumina y las enzimas del ciclo de la urea (Smith-Gill y Craver, 1981), estas últimas son de importancia ya que, participan en el cambio del tipo de excreción, de un tipo de excreción de amonio (durante la fase larval) a una excreción de urea (durante la fase terrestre) (Fox, 1981). La enzima que regula la velocidad del ciclo de producción de la urea en el hígado es la carbamil-fosfo-sintetaza (CPS), durante el proceso de metamorfosis, la T_4 estimula la producción de CPS, promoviendo el inicio de dicho ciclo (Balinsky y Fabian, 1983). Se han reportado que durante la metamorfosis el peso del hígado aumenta en un 0.2% a un 10% debido al aumento en el contenido de glucógeno. En adultos del género *Xenopus* este parámetro puede aumentar en un 20% (Fox, 1981).

Se encontró que el índice hepatosomático (IHS) es significativamente mayor en el estadio de salamandras y en la estación de verano, lo que demuestra que el hígado está participando significativamente durante el proceso metamórfico, lo que apoya el hallazgo de incrementos importantes durante la metamorfosis en dicho índice y aporta indicios de la participación de las hormonas tiroideas sobre éste órgano. También es probable que siendo la estación de verano cuando se encuentra mayor disponibilidad de alimento, se favorezca la incorporación de sustancias de reservas en el hígado para su posterior uso.

En lo que se refiere al índice de condición física (ICF), se observa que los adultos neoténicos presentan un mayor ICF, indicando un mejor estado general, lo que se ve reflejado en un aumento de biomasa, debido quizá, a que han acabado de crecer y han alcanzado su máximo desarrollo con fenotipo larval, por lo que la energía se ve canalizada, por un lado, al incremento de biomasa, y por el otro al desarrollo de las estructuras reproductoras, ya que necesitan un estado físico adecuado para éste evento (Méndez de la Cruz, y Gutiérrez-Mayén 1991), lo cual se ve en las estaciones de otoño e invierno, donde hay un mayor tamaño de las gónadas, preparándose para la reproducción la que se verifica en invierno, concordando con lo visto directamente en el campo.

Para valorar la función de la glándula tiroidea de organismos del género *Ambystoma*, se han realizado estudios de radioinmunoensayo reconociendo las cantidades de hormonas tiroideas (T_3 y T_4) circulantes en el plasma sanguíneo (Scott, 1993). Sin embargo, solo se han podido observar cambios de concentraciones de hormonas tiroideas en individuos

metamorfoseados respecto de individuos neoténicos (Jacobs y col., 1988). También se ha recurrido al análisis morfológico de la glándula tiroides, pero basándose solamente en un solo parámetro de la glándula como indicador de su actividad, por ejemplo, la altura del epitelio folicular (Duellman y Trueb, 1986); el diámetro folicular, o bien una relación: (Altura del epitelio/diámetro folicular) \times 100, el peso de la glándula (Norman y Norris, 1987) o el tamaño de los folículos (Norris, 1985), considerándose que un mayor tamaño es indicativo de mayor actividad.

Con el propósito de evaluar de una manera más integral el funcionamiento global de la tiroides se relacionó el mayor número de parámetros mesurables con base en datos morfométricos (Sumatoria del área folicular, referida a una unidad de área constante, el número de folículos y la altura del epitelio). Por lo que proponemos una relación de la forma:

$$\frac{\Sigma AF \times NF^{-1} \times AE}{AT}$$

Donde:

ΣAF = Sumatoria del área folicular;

AT = Área total;

NF = Número de folículos por unidad de área y

AE = Altura promedio del epitelio folicular.

En esta relación se integran los principales parámetros que morfológica y morfométricamente sugieren cambios importantes de actividad por parte de la glándula tiroides, con las siguientes consideraciones:

- i) Mientras menor sea el área folicular, el valor, resultado de la relación $\Sigma AF/ AT$ tenderá a cero, y por lo tanto el resultado final será menor, respecto a una mayor área folicular, aún cuando la altura del epitelio sea mayor.
- ii) Cuando el área folicular es mayor, el valor de la operación $\Sigma AF/ AT$ tenderá a uno por lo que el resultado final dependerá de la altura del epitelio.
- iii) Cuando el número de folículos es mayor, el valor de la operación NF^{-1} será menor, respecto a cuando hay pocos folículos, ya que es una relación inversa, por lo que éste resultado afectará de manera importante los otros parámetros de la relación original, ahora si tomamos como base que entre más grandes sean los folículos habrá más actividad (Norris, 1985), entonces habrá menos folículos por unidad de área, y la relación tenderá a incrementar el resultado.
- iv) La altura del epitelio es el parámetro que más afecta el resultado final y como estos parámetros están interrelacionados, al final entre mayor sea la altura del epitelio, mayor será el resultado, lo que se interpreta como una mayor actividad.

Al relacionar los parámetros morfométricos medidos en la glándula tiroides y analizar los resultados (gráfica 5), se encontró que en las larvas tempranas hay bajos niveles de actividad todo el año, aunque hay una tendencia al incremento progresivo, relacionado

quizá al aumento de talla del organismo, en el invierno estos organismos no se reproducen por lo que en la primavera siguiente pueden seguir creciendo y reclutarse como larvas tardías y aumentar más su actividad tiroidea hacia niveles suficientes para desencadenar la metamorfosis en caso de ser necesario, favorecida por el aumento de la temperatura ambiental. En dado caso de que no se lleve a cabo éste proceso, durante el otoño y el invierno, la actividad decae, elevándose nuevamente en invierno, época en la cual éste estadio no se reproduce por ser aún organismos inmaduros. La actividad tiroidea, por lo tanto se ve favorecida, y en la siguiente primavera pueden crecer y reclutarse como adultos neoténicos; los que presentan un aumento considerable de la actividad tiroidea, lo que es indicativo de su capacidad para experimentar la metamorfosis, en las estaciones siguientes a la primavera la actividad tiroidea decae progresivamente hasta su mínimo valor en invierno, lo cual puede ser un indicio del antagonismo que existe entre la metamorfosis y la reproducción, la cual se verifica en esta estación. Los criterios cualitativos a nivel histológico para valorar la actividad tiroidea coinciden con estos resultados en que en verano y sobre todo en primavera la glándula tiroidea de los adultos neoténicos se muestra muy activa.

La actividad de las salamandras se muestra en términos generales en niveles intermedios y muy constante durante el año lo cual indica que ya pasó el "climax" metamórfico y la actividad ha disminuido. Sin embargo, el análisis puramente cualitativo parece indicar en algunas estaciones una glándula activa al juzgar por el tamaño de los folículos y la altura epitelial. La aparente contradicción de estos resultados nos confirman la necesidad de utilizar una relación basada en criterios morfométricos para apoyar los resultados morfológicos y hacer una interpretación más adecuada de la actividad tiroidea.

Según las observaciones hechas, la metamorfosis pueden experimentarla tanto larvas tardías como adultos neoténicos en cualquiera de las estaciones. No obstante en primavera, al juzgar por la actividad tiroidea este evento está facilitado en adultos neoténicos y en larvas tardías, así como en adultos neoténicos de verano y en invierno en las larvas tardías. En el otoño, la propensión a la metamorfosis pareciera ser muy baja, de hecho en el campo, en esta estación no se encontraron ejemplares metamorfoseados.

El análisis histológico parece indicar que en el momento en que hay folículos parcialmente vacíos y con gotas endocíticas de coloide, como en el caso de adultos neoténicos de primavera, la glándula está muy activa (lámina 3, figura 1 y 2), además de encontrar solo 5 folículos por unidad de área y una gran vascularización, en contraste con larvas tempranas de la misma estación (lámina 2, figura 3 y lámina 3, figura 3), donde hay una gran cantidad de folículos por unidad de área ($n=24$), y menor actividad, considerando la presencia de un epitelio folicular bajo con muy escasa vascularización y los folículos llenos de coloide, lo que indica que no se está utilizando.

El hecho de que los adultos neoténicos presenten el mayor índice de actividad en primavera, puede deberse a que en ellos los procesos de crecimiento están acentuados, declinando dicha actividad en invierno, debido al evento reproductivo, además de que han llegado al punto más alto de su desarrollo, lo que conlleva que estén listos, bien sea para afrontar un cambio en las condiciones del ambiente (transformándose en salamandras) o para la reproducción.

En invierno se encontró que los individuos de *Ambystoma tigrinum* estaban en su etapa de reproducción; en el campo se observaron huevecillos y organismos recién eclosionados y en el laboratorio todos los adultos (neoténicos y salamandras) presentaron gónadas maduras, esto es importante ya que se ha indicado que no hay una actividad importante de la tiroides, durante la etapa de reproducción; Grant (1966) señala la posibilidad de que una hormona antagónica a la hormona tiroidea, la prolactina (PRL) participe en el comportamiento sexual de algunas salamandras y tritones; Romer y Parsons (1987) señalan el efecto de la PRL sobre los órganos y funciones sexuales, haciendo que algunos urodelos entren nuevamente al agua para efectuar la reproducción, fenómeno conocido como *water drive*.

VI CONCLUSIONES

1. *Ambystoma tigrinum* es un organismo que presenta una gran plasticidad de su fenotipo para responder a cambios ambientales, ya que .
2. En su hábitat natural, (Laguna de Totolcingo, Tlax.) no requieren de experimentar metamorfosis dada la estabilidad del sistema, por lo que no es muy frecuente encontrar el fenotipo de salamandra.
3. Los adultos neoténicos presentan en general los mayores valores para amplitud de la aleta caudal, longitud de las branquias y extremidades anteriores, parámetros que son distintivos del fenotipo larval.
4. El mayor índice de condición física es para los adultos neoténicos, lo que les permite canalizar recursos energéticos a eventos reproductivos o metamórficos
5. No hubo diferencias significativas en el tamaño de la glándula tiroides derecha respecto a la izquierda.
6. No puede tomarse un solo parámetro de los componentes estructurales de la glándula tiroides para evaluar su actividad por lo que proponemos una relación matemática que trate de integrar dichos parámetros, considerándola como apropiada para evaluar la actividad de la glándula tiroides, dicha relación es:

$$\frac{\sum AF \times NF^{-1} \times AE}{AT}$$

Donde:

AF= área foliular;

AT= área total;

NF= número de folículos y

AE=altura promedio del epitelio. .

7. Se encontró una correlación positiva entre la altura del epitelio foliular y la actividad tiroidea.
8. Los adultos neoténicos presentaron una mayor actividad tiroidea en la estación de primavera, declinando gradualmente hasta su menor valor en invierno y en general poseen la mayor actividad respecto de los demás estadios.
9. Los menores valores de actividad tiroidea correspondieron a las larvas tempranas, sobre todo en primavera.
10. Las larvas tardías presentan su mayor actividad tiroidea en primavera, y la menor en otoño.
11. Las salamandras mantuvieron durante el año una actividad tiroidea relativamente constante.

12. La mayor actividad reproductora para esta especie en la laguna de Totolcingo, Tlax. se verifica en la estación de invierno por lo que los valores de menor actividad tiroidea se presentan en esta estación.
13. De la descripción de la estructura de la glándula tiroides, mediante la histología, se dió la pauta para la obtención de nueva información, que llevó al desarrollo de una fórmula matemática que surge como una alternativa al uso de estudios con radioinmunoensayos para evaluar la actividad de dicha glándula, cuando no se cuenta con este recurso o cuando la información que brinda es insuficiente.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez, V.J. 1987., **Los Cordados**. C.E.C.S.A., México. 372 pp.
- Andrew, W. and Hickman, C.P. 1974. **Histology of the Vertebrates**. C.V. Mosby Co. U.S.A. 439 pp.
- Amstrong, B.J. and M.G Malacinski, 1989. **Developmental Biology of the Axolotl**. Oxford University Press New York 280pp. U.S.A.
- Ashley, M.A.; Reilly, S.M. and Lauder G.V. 1991. Ontogenetic scaling of hindlimbs muscles across metamorphosis in the tiger salamander, *Ambystoma tigrinum*. **Copeia** 3: 767-776.
- Balinsky, B.I. y B.C Fabian, 1983. **Introducción a la Embriología**. Omega, España. 727 pp.
- Barrington, E.J.W. and L. Franchi, 1956. Organic Binding of Iodine in the Endostyle of *Cionia intestinalis*. **Nature** 177: 432
- Barrington, E.J.W., 1975. **Introducción a la Endocrinología General y Comparada**. H. Blume Ed. España. 303 pp.
- Bizer, J.R., 1978. Growth rates and size at metamorphosis of high elevations populations of *Ambystoma tigrinum*. **Oecologia** 34: 175-184.
- Brandon, R.A. 1976. Spontaneous and induced metamorphosis of *Ambystoma dumerilii* (Dugès), a paedogenetic mexican salamander; under laboratory Conditions **Herpetologica**. 32: 429-438.
- Burggren, W. and J. Roberts. 1993. Respiration and metabolism. In: **Environmental and Metabolic Animal Physiology**. Ed. Prosser, C.L. Wiley-Liss. U.S.A. 353-435 pp.
- Capula, M., 1990. in **Mc. Donald Encyclopedia of Amphibians and Reptiles**. Mc. Donald Orbis. U.S.A. 256 pp.
- Cervantes, G.D. 1992. **Engorda del ajolote (*Ambystoma tigrinum velasci*) en estanquería rústica, en la localidad de la colonia Mazatepec, Municipio del Carmen Tequexquitta**. Gobierno del Estado de Tlaxcala. S.E.P.E.S.C.A. México. 35 pp.
- Chan, A.S., 1983. The immunoocytochemical localizaton of pituitary somatotrops in the genus *Oncorhynchus* using an antiserum to growth hormone of chum salmon (*Oncorhynchus keta*). **Cell Tissue Res**. 233: 693-698.
- Dibble, Ch. E. and A. J. O. Andersons (eds), 1979. In: **Florentine Codex. General history of the things of New Spain**. Fray Bernardino de Sahagún. Santa Fe New Mexico. The School of American Research. Vol. 11, f. 68r, ilustr. 57.
- Duellman y Trueb y Trueb, W.E. and L. Trueb, 1986. **Biology of Amphibians**. Mc. Graw Hill. New York. U.S.A., 670 pp.

- Eagleson, G. W. and B. A. McKewn, 1978. Changes in thyroid activity of *Ambystoma gracile* (Baird) during different larval, transforming, and postmetamorphic phases. **Can. Jour. Zool.** 56: 1377-1381.
- Eckert, R. , D. Randal and G. Augustine, 1993. **Fisiología animal. Mecanismos y adaptaciones.** Interamericana. Madrid, España. 683 p.
- Ericson, L.E., 1983. **Endocrinol. Invest.** 6: 311-323.
- Ericson, L.E. 1985. Ultrastructural localization of the iodination centre in the endostyle of the adult amphioxus (*Branchiostoma lanceolatum*). **Cell. Tissue Res.** 241: 267-273.
- Ericson, L.E. and G. Fredriksson, 1990. Phylogeny and Ontogeny of the Thyroid Gland. In Monte A. Greor. **The Thyroid Gland.** Raven Press. Ltd. New York. U.S.A. pp 3-4.
- Estrada, F.E; Z.L Peralta y M.P Rivas. 1982. **Manual de técnicas histológicas.** AGT Ed. México, 140 pp.
- Fujita, H. 1988. Functional Morphology of the thyroid. In: **International Review of Cytology.** Academic Press. U.S.A. Vol. 113: 145-185 pp.
- Fox, H. 1981. Cell Changes during metamorphosis. In **Metamorphosis. A problem in developmental biology.** Eds. Gilbert, L. I. and Frieclen, E. Plenum Press, New York. U.S.A. 343-346 pp.
- Fredriksson, G., E. Ericson and R. Olsson. 1984. Iodine Binding in the endostyle of larval *Branchiostoma lanceolatum* (Cephalochordata). **Gen. Comp. Endocrinol.** 56: 177-184.
- Fredriksson, G.; T. Öfverholm and E. Ericson. 1985. Ultrastructural demonstration of iodine binding and peroxidase activity in the endostyle of *Oikopleura dioica* (Appendicularia). **Gen. Comp. Endocrinol.** 58: 319-327.
- Gatti, L. M., 1985. Serie : **Los pescadores de México.** Cuadernos de la Casa chata No. 116. Centro de Invest. y Estudio en Antropología Social. Museo Nal. de Culturas Populares. México. Vol. 7 142 pp.
- Goin, C.J., O.B. Goin, and G.R. Zug. 1978. **Introduction to Herpetology.** 3rd Ed. Freeman. San Fransisco. U.S.A. 378 pp.
- Grant, Jr. W. C. 1966. Endocrine induced courtship in tree species on European newts. **Am. Zool.** 6:585.
- Hassinger, D.D., J.D. Anderson, and G.H Dalrymple. 1970. The early life history and ecology of *Ambystoma tigrinum* and *Ambystoma opacum* in New Jersey. **Amer. Midl. Nat.** 84: 474-495.
- Hilfer, S.R. 1964. Follicle formation in the embrionic chick thyroid. Early morfogenesis. **J. Morphol.** 115: 135-152.
- I.N.E.G.I., 1993. **Tlaxcala. Anuario Estadístico del Estado de Tlaxcala.** México. 6p.

- Jacobs, G.F.M.; R.P.A. Michielsien, and E.R. Kühn, 1988. Thyroxine and triiodothyronine in plasma and thyroids of the neotenic and metamorphosed axolotl *Ambystoma mexicanum*: Influence of TRH injections. **Gen. Comp. Endocrinol.** 70: 145-151.
- Kaltenbach, J.C. 1968. Nature of hormone action in amphibian metamorphosis. In **Metamorphosis** Eds. Etkin, W. and L.I. Gilbert. Appleton-Century-Crofts. New York. U.S.A. 399-442 pp.
- Larras-Regard, E., A. Taurog and M. Dorris, 1981. Plasma T₄ and T₃ levels in *Ambystoma tigrinum* of various stages of Metamorphosis. **Gen. Comp. Endocrinol.** 43: 443-450.
- Latimer, H.B. and P. G Roofe. 1964. Weights and linear measurements of the body and organs of the tiger salamander, before and after metamorphosis, compared with the adult. **Anat. Rec.** 148: 139-147.
- Leal, A. D. S G.; 1978. Agua y Suelos en Tlaxcala, México. Tesis Doctorado. Fac. de Filosofía y Letras. Colegio de Geografía, U.N.A.M.. 241 pp.
- Leatherland, J.F. 1987. Thyroid hormones and reproduction. In: **Hormones and Reproduction in Fishes, Amphibians and Reptiles**. Eds. David O. Norris and Richard E. Jones. Plenum Press, N.Y. pp 411-431.
- Maher, M.J. 1967. Response to thyroxine as function of environmental temperature in the toad, *Bufo woodhousii*, and the frog, *Rana pipiens*. **Copeia**. 2: 361-365.
- Malacinski, G.M. and A.J. Brothers. 1974. Mutant Genes in the Mexican axolotl. **Science**. 184: 1142-1147.
- Marusic, E.; R. Martínez and J. Torretti. 1966. Unresponsiveness of the adult toad to thyroxine administration. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.** 122: 164-167.
- Marshall, P. T. and G. M. Hughes, 1980. **Physiology of mammals and other vertebrates**. Cambridge University Press. U.S.A. 343 pp.
- Méndez-de la Cruz, F. R. y G. Gutiérrez-Mayén, 1991. Variación de la robustez física de *Sceloporus torcuatus* (Sauria:Iguanide) y sus implicaciones sobre la temporada de reproducción. **Acta Zoologica Mexicana**. 46: 1-12.
- Méndez-de la Cruz, F. R.; G. Casas-Andreu, y M. Villagrán-Santa Cruz, 1992. Variación anual en la alimentación y condición física de *Sceloporus mucronatus* (Sauria:Iguanide) en la Sierra del Ajusco, Distrito Federal, México. **The Southwestern Naturalist**. 37(4): 349-355.
- Nicoll, C.S. 1974. **Physiological actions of prolactin. Handbook of physiology. Sec.7 Endocrinology**. William and Wilkins, Baltimore, U.S.A. Vol. 4 part. 2 pp 253-292.
- Norman, M.F. and D.O. Norris, 1987. Effects of Metamorphosis and Captivity on the *in vitro* Sensitivity of Thyroid Glands from the Tiger Salamander *Ambystoma tigrinum* to Bovine Thyrotropin. **Gen Comp. Endocrinol.** 67: 77-84.

- Norris, D.O.; D. Duvall; K Greendale and W.A. Gern, 1977. Thyroid function in Pre- and Postspawning neotenic tiger salamanders (*Ambystoma tigrinum*). **Gen. Comp. Endocrinol.** 33: 512-517.
- Norris, D.O., 1985. **Vertebrate Endocrinology**. Lea and Febiger, Philadelphia. U.S.A. 505 pp.
- Norris, D.O., 1989. Neuroendocrine Aspects of Amphibian Metamorphosis. In **Development Maduration and Senescence of Neuroendocrine Systems. A Comparative Approach**. Ed M.P. Sahereibman. Academic Press. inc. U.S.A. p 63-90.
- Olin, P.; R. Eklom, S. Almquist. 1970. Biosynthesis of Thyroglobulin Related to the Ultrastructure of the Human Fetal Thyroid Gland. **Endocrinology** 87: 1000.
- Pestarino, M. 1981. Protease in ascidian endostyle **Experientia**, 37: 1079-1080.
- Rodríguez, G.M. 1992. **Técnicas de evaluación cuantitativa de la madurez gonádica en peces**. AGT Editor. México. 79 pp.
- Rogers, K.L. 1985. Facultative metamorphosis in a series of high altitude fossils populations of *Ambystoma tigrinum* (Irvingtonian: Alamosa County, Colorado). **Copeia**. (4) : 926-932.
- Romer, A.S. and T.S. Parsons. 1987. **Anatomía Comparada**. Interamericana. México. 458 pp.
- Scott, D.E. 1993. Timing of reproduction and metamorphic *Ambystoma talpoideum*. **Am. Midl. Nat.** 129: 397-402.
- Scott, F.G., 1988. **Biología del Desarrollo**. Omega, Barcelona, España.
- Secretaría de Gobernación, 1987. **Los Municipios de Tlaxcala**. Colección Enciclopedia de los municipios de México. México. Vol. 29, 51-52.
- Secretaría de Pesca, 1994. **Carpetas Tlaxcala**. Centro de Documentación y Biblioteca. Documento No. 3. 1-6 pp.
- Shain, W.G.; S.R. Hifer; V.C. Fonte. 1972. Early organogenesis of the embryonic chick thyroid. **Dev. Biol.** 28: 202-218.
- Shephard, T.H., 1968. Development of the human fetal thyroid. **Gen. Comp. Endocrinol.** 10: 174-181.
- Smith- Gill, S. and Craver, V. 1981. Biochemical characterization of metamorphosis. In **Metamorphosis. A problem in developmental biology**. Eds. Gilbert, L. I. and Frieclen, E. Plenum Press, New York. U.S.A. 492-512 pp.
- Sprules, W.G. 1974. The adaptative significance of Paedogenesis in North American species of *Ambystoma* (Amphibia: Caudata): an hipotesis. **Can. Jour. Zool.** 52: 393-400.
- Sterling, K. and J.H. Lazarus. 1977. The Tyroid and its control. **Annu. Rev. Physiol.** 39: 349-372.

- Thomas, I.M., 1956. The accumulation of radioactive iodine by *Amphioxus*. **J. Marine Biol. Assoc. U.K.** 35: 203-210.
- Trotter, W.R., 1964. Historical Introduction. In **The Thyroid Gland**, eds. R. Pitt-Rivers and W.R. Trotter, Butterworths, London. Vol 1 pp 1-8.
- Welsh, J.H. and R.E. Loveland. 1968. 5-Hydroxytryptamine in the ascidian *Ciona intestinalis* L. **Comp. Biochem. Physiol.** 27: 719-723.
- Wilbur, H.M. and J.P. Collins. 1973. Ecological aspects of Amphibian Metamorphosis. **Science**. 182: 1305-1314.
- Wright, G.M. and J. Youson. 1980. Transformation of the endostyle of anadromous sea lamprey *Petromyzon marinus* L., during Metamorphosis II. Electron microscopy. **J. Morphol.** 166: 231-257.
- Zuber-Vogeli, M. 1968. Les variations cytogénétiques de l'hypophyse distale des femelles de *Nectophrynoides occidentalis*. **Gen. Comp. Endocrinol.** 11: 495-514.

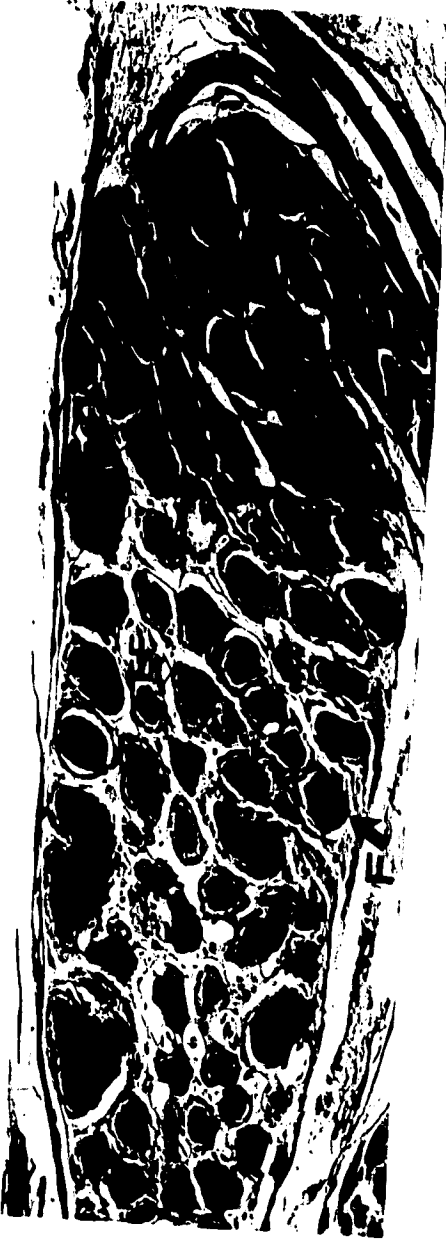
LÁMINA 1. LOCALIZACIÓN DE LA GLÁNDULA TIROIDES DE *Ambystoma tigrinum*

Fig. 1 La glándula tiroides (T) de *A. tigrinum* es una estructura pareada, formada por típicos folículos tiroideos (F). No se encontraron diferencias significativas en el tamaño entre la glándula derecha (dr) y la izquierda (iz).

Localizada entre los músculos(M) intermandibulares.

Técnica H-E 31.25x.

Fig. 2 y 3 Las glándulas tiroides de esta especie en las diferentes estaciones y estadios varían en tamaño, número tamaño y forma de los folículos (F), cantidad de tejido conjuntivo interfolicular (TC), cantidad y reacción del coloide (C) y la altura del epitelio folicular (EF), Fig.2 Glándula tiroides de una larva tardía de primavera H-E 78.75x; Fig.3 Glándula tiroides de una salamandra de otoño. Técnica PAS 78.5x.



**LÁMINA 2 PARÁMETROS MORFOMÉTRICOS
EVALUADOS EN UN ÁREA DE APROX. 0.4 mm²
Y COMPARACIÓN DE DIFERENTES
CONDICIONES.**

Se evaluaron el número de folículos (1, 2, 3...), los ejes mayor (MA) y eje menor (ME) y la altura del epitelio folicular (EF)

Fig. 1 Salamandra de otoño 200x Técnica. PAS.

Fig. 2 Salamandra de primavera 200x Técnica H-E.

Fig. 3 Larva temprana de primavera 200x Técnica H-E.

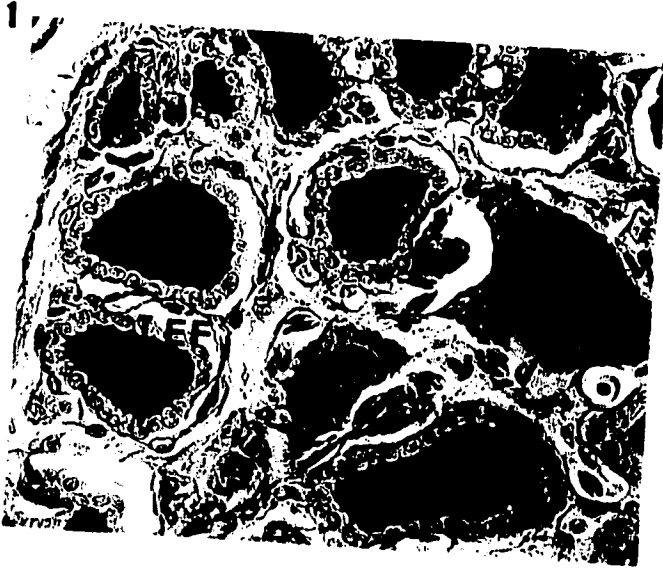


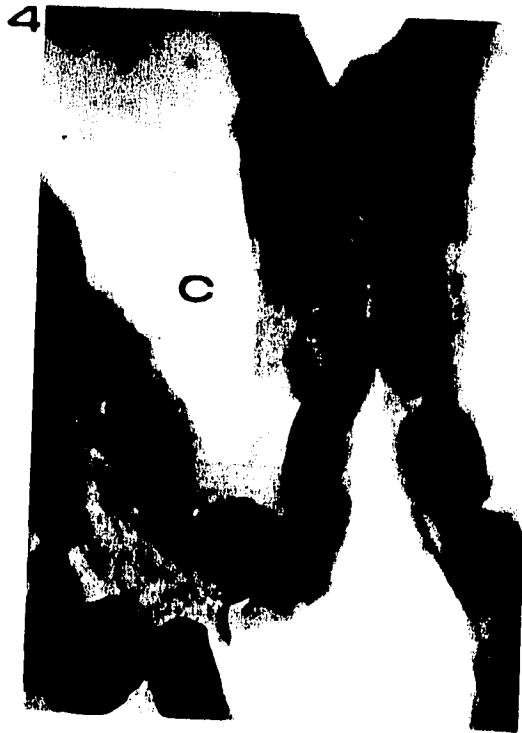
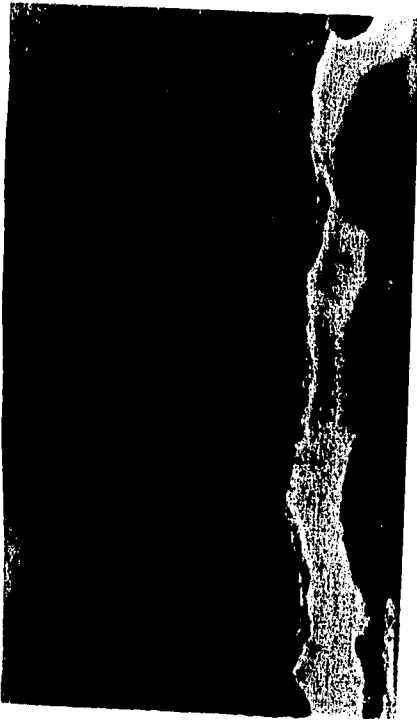
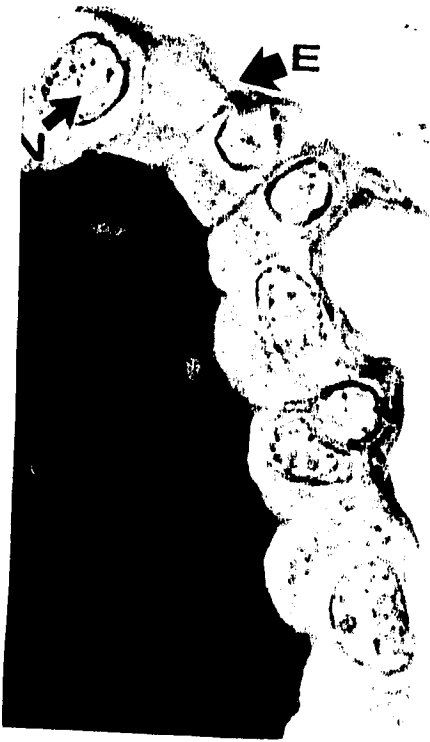
LÁMINA 3. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LOS FOLÍCULOS TIROIDEOS INDICATIVOS DE ACTIVIDAD.

Fig. 1 Neoténico de primavera, el coloide (C) está siendo utilizado, ya que se observan gotas endocíticas de coloide (GC), el epitelio (E) cilíndrico y el núcleo (N) con eucromatina son también indicios de gran actividad. 500x Técnica PAS.

Fig. 2 Neoténico de primavera, el coloide (C) se ha agotado en muchos folículos lo que indica que se está utilizando rápidamente. 500x Técnica H-E.

Fig. 3 Larva temprana de primavera, el coloide (C) ocupa totalmente la cavidad folicular, se observa homogéneo sin gotas de coloide endocítico, el epitelio (E) es aplanado y la cromatina en el núcleo (N) tiende a condensarse, estos datos indican poca actividad. 500x Técnica H-E.

Fig. 4 Salamandra de primavera, el coloide (C) se encuentra en "reposo" no se observa actividad en el epitelio folicular como lo indican las células del epitelio en forma cúbica baja y sobre todo el núcleo con heterocromatina muy condensada. 500x Técnica H-E.



**LÁMINA 4 VARIACIÓN POR ESTADIO DE
DESARROLLO DE LAS CARACTERÍSTICAS
MORFOLÓGICAS DE LA GLÁNDULA
TIROIDES**

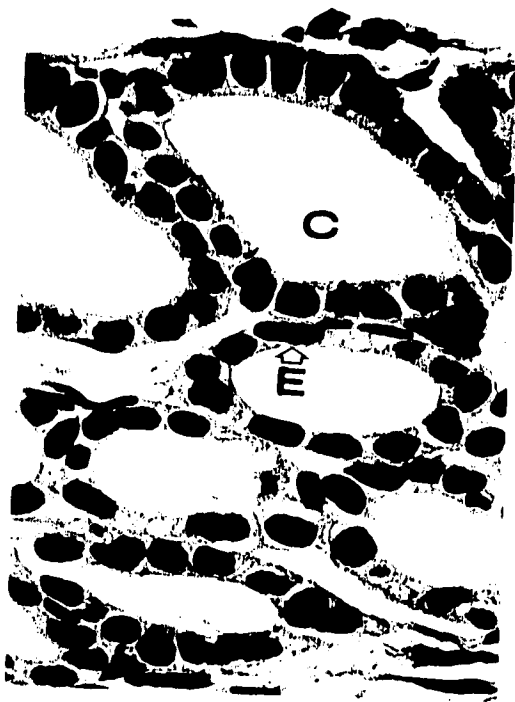
Fig. 1 Larva temprana de primavera. Se observan signos de poca actividad tiroidea, el epitelio folicular (E) es plano con un núcleo con heterocromatina. Se ve el coloide (C) tiroideo llenando completamente la cavidad folicular. 1250x Técnica H-E.

Fig.2 Larva tardía de primavera. Se observan signos de actividad tiroidea, el epitelio folicular (E) es cúbico, el coloide tiroideo (C) está llenando la cavidad folicular. 1250x Técnica H-E.

Fig. 3 Adulto neoténico de primavera. Se observan datos de gran actividad tiroidea con núcleos (N) con eucromatina. Células del epitelio folicular (E) cilíndrico con coloide (C) tiroideo llenando la cavidad folicular y gotas de coloide (GC), se observa la presencia de un vaso sanguíneo (V) y tejido interfolicular (TC) 1250x Técnica PAS.

Fig. 4 Salamandra de primavera. se observa una regresión de la altura de las células del epitelio folicular (E) y el núcleo (N) se ve con cromatina muy densa sin actividad y el coloide está ocupando toda la cavidad folicular. 1250x Técnica H-E.

2



4



LÁMINA 5. GLÁNDULAS EN LA QUE POR LA RELACIÓN (*) Y LA MORFOLOGÍA LAS UBICA COMO POCO ACTIVAS A PESAR DE SU GRAN TAMAÑO.

$$* \frac{\sum AE \times NF^{-1} \times AE}{AT}$$

Fig. 1 y 2 Adulto neoténico de invierno, folículos tiriodeos (F) y epitelio folicular (E) sin evidencias de actividad, posiblemente debido a la época de reproducción donde se mantiene inactiva la glándula tiriodea. Fig. 1 200x Técnica PAS. Fig. 2 1250x Técnica H-E.

Fig. 3 y 4 Salamandra de invierno, tanto los folículos (F) como el epitelio folicular (E) no presentan signos de actividad Fig.3 78.75x Técnica H-E., Fig. 4 1250x Técnica H-E.

