

00343  
5



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
FACULTAD DE CIENCIAS

CORRELACION MORFOMETRICA DE LAS  
GLANDULAS PINEAL, TIROIDES E HIPOFISIS CON  
LA MORFOLOGIA GONADAL DE *Ambystoma tigrinum*  
(AMPHIBIA: CAUDATA) DURANTE UN CICLO  
ANUAL

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE  
**MAESTRO EN CIENCIAS**  
**(BIOLOGIA ANIMAL)**  
**P R E S E N T A :**  
**JORGE MONTAÑO AMAYA**

DIRECTOR(A) DE TESIS: DRA. PATRICIA RIVAS MANZANO

Autorizo a la Dirección General de  
UNAM a difundir en formato electrónico  
contenido de mi trabajo

NOMBRE: MONTAÑO AMAYA  
MEXICO, D. F. JORGE

JUNIO 2003

FECHA: 12/06/03  
FIRMA: [Signature]

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

**TESIS  
CON  
FALLA DE  
ORIGEN**

# **PAGINACIÓN DISCONTINUA**

Este trabajo es la suma del esfuerzo de mucha gente, a mí, sólo me toca presentarlo.

Con gran cariño para mis Papás, por haber sido escogidos para darme la vida.

A Alicia, Martha, Teresa y Rosa, que juntos hemos hecho y aprendido tantas cosas.

A Ian que nos ha sido gran alegría.

Al buen Zam por haberse cruzado con nosotros.

A Jesús y su Papá, por que nos han sostenido hasta ahora.

A Caro, por haber caminado conmigo, por largo trecho.

A todos ustedes, muchas gracias por creer en mí.

## AGRADECIMIENTOS

A mi amiga, Paty Rivas, por su apoyo, ayuda...y sobre todo paciencia para conmigo, sin ella, no hubiera llegado a este momento. Gracias Paty.

Al sínodo, Paty Rivas, Maricela Villagrán, Marcela Aguilar, Lety Parra, Rosario Ortiz, José R. Latournerié y a Manuel Miranda, por haberse tomado el tiempo de leer y comentar este trabajo.

A la raza de la calle 8 de diciembre, al Guicho, Arturo, Alfredo, Gerardo Facio, a Guillermo e Israel Arroyo, porque hemos compartido mucho y hemos construido una amistad muy, muy chida.

Al laboratorio de Biología de la Reproducción Animal, Adrianita, Lupita, Yuriri, Gloria, Gabino, por haber compartido ese espacio de la Universidad.

A la banda que conocí e hice una bonita amistad durante la estancia en la Facultad, Magali, Z., Alicita M., Sergio A., Beto G., Julio A., Elma H., Laura, v.

A la gente que conocí en el Museo de las Ciencias, porque es parte importante, no los menciono porque son hartos, pero no los olvido.

A Caro G., Elsa E., Vicky H., al Animalito, a Bernardo, a José Cosme, Rocío P. Angélica R. a la Peque, a Maru por reírnos tanto.

No quiero dejar fuera a mis amigas de siempre, Lulú Barbosa, Xóchitl Ontiveros, Claudia Palma, Rocío Rodríguez, a quien tuve la fortuna de encontrar en la carrera.

A la banda de San Fer, comandada por Miguel y Alma

Si he olvidado a alguien, discúlpennme, pero si mencionara a la gente que ha cruzado mi camino y que ha forjado algo en mí, necesitaría un apéndice, de cualquier forma se los agradezco, de corazón.

Me faltó el buen Max, ichulo mi perro!

**CORRELACIÓN MORFOMÉTRICA DE LAS GLÁNDULAS PINEAL,  
TIROIDES E HIPÓFISIS CON LA MORFOLOGÍA GONADAL DE  
*Ambystoma tigrinum*  
(AMPHIBIA: CAUDATA) DURANTE UN CICLO ANUAL**

**BIOL. JORGE MONTAÑO AMAYA**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**RESUMEN**

La neotenia facultativa dota a *Ambystoma tigrinum* de una gran plasticidad adaptativa, que se demuestra por la amplia gama de respuestas fisiológicas ante las condiciones cambiantes de su entorno.

En el presente estudio se hizo una correlación morfométrica entre algunos parámetros de las glándulas pineal, hipófisis y tiroides con el testículo de *A. tigrinum* durante un ciclo anual. Para tal efecto se coleccionaron machos adultos neoténicos en la mitad de cada estación del año. Se llevó a cabo el procesamiento histológico de las glándulas endocrinas y del testículo. Se realizó la morfometría de algunos parámetros de las unidades secretoras de cada glándula (número de pinealocitos endocrinos, área de las células gonadotrópicas, altura del epitelio folicular e índice de la actividad tiroidea; así como el área de los estadios de la espermatogénesis). A cada resultado morfométrico se le aplicó un análisis de correlación con los demás parámetros en las cuatro estaciones del año.

La población de *A. tigrinum* analizada, no presentó el patrón reproductor estacional típico para los urodelos y mostró una potencialidad reproductora que tiende a ser continua durante el año.

La morfometría de los parámetros señalados anteriormente, la correlación de las glándulas pineal, hipófisis, tiroides y la histología del testículo corroboran esto, al mostrar que, a lo largo del año hay organismos con todos los estadios de la línea espermática y las células gonadotropas de la hipófisis correlaciona positivamente con el testículo en promedio durante todo el año.

Otras correlaciones importantes se dan en primavera-verano entre el número de pinealocitos endocrinos con, la altura del epitelio folicular (pineal-tiroides) y entre el número de pinealocitos endocrinos con el porcentaje de espermatozoides (pineal-testículo); histomorfológicamente, la glándula pineal está más desarrollada y la tiroides mostró también una mayor actividad en estas estaciones. Se propone una doble función para la pineal: progonádica en primavera-verano y antigonádica en otoño-invierno. Un resultado importante es una variante al patrón histológico del testículo descrito para los ambystómidos, en donde se ha descrito que la espermatogénesis es en sentido cefalocaudal. En *A. tigrinum* de la localidad de Totolcingo, Tlax., se encontró además un patrón latero-medial de la espermatogénesis.

El encontrar un patrón continuo de la actividad espermatogénica, refleja la potencialidad de esta especie para responder con éxito a las diferentes presiones ambientales, entre ellas, la disponibilidad de alimento y la desecación de la laguna donde se desarrollan, entre otras.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b>	<b>i</b>
<b>TÍTULO</b>	
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	
<b>I.1 Glándulas asociadas con la reproducción y su control hormonal</b>	<b>1</b>
<b>I.2 Histología de las glándulas pineal, hipófisis y tiroides</b>	
I.2.1 Glándula pineal	5
I.2.2 Glándula hipófisis	5
I.2.3 Glándula tiroides	6
<b>I.3 Aspectos reproductores de los anfibios</b>	<b>6</b>
<b>I.4 Ciclo gonádico de <i>Ambystoma tigrinum</i></b>	<b>8</b>
<b>I.5 <i>Ambystoma tigrinum</i> (Green, 1825)</b>	<b>9</b>
<b>I.6 El complejo <i>Ambystoma tigrinum</i></b>	<b>11</b>
<b>I.7 Justificación</b>	<b>14</b>
<b>II. OBJETIVOS</b>	
<b>II.1 Objetivo general</b>	<b>15</b>
<b>II.2 Objetivos particulares</b>	<b>15</b>
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	
<b>III.1 Colecta</b>	<b>16</b>
<b>III.2 Climograma</b>	<b>16</b>
<b>III.3 Índices</b>	<b>16</b>
<b>III.4 Obtención de Muestras (Glándulas pineal, hipófisis, tiroides y testículo) y su histología</b>	<b>17</b>
<b>III.5 Análisis morfométricos</b>	<b>18</b>
<b>III.5.1 Glándula Pineal</b>	<b>16</b>
<b>III.5.2 Glándula hipófisis</b>	<b>18</b>
<b>III.5.3 Glándula tiroides</b>	<b>19</b>
<b>III.5.4 Testículo</b>	<b>19</b>
<b>III.5.5 Correlación morfométrica</b>	<b>21</b>
<b>III.6 Pruebas estadísticas</b>	
<b>IV. RESULTADOS</b>	
<b>IV.1 Climograma</b>	<b>23</b>
<b>IV.2 Índices</b>	<b>25</b>
<b>IV.3 Histología y morfometría</b>	<b>25</b>
<b>IV.3.1 Glándula pineal</b>	<b>25</b>
<b>IV.3.2 Glándula hipófisis</b>	<b>27</b>
<b>IV.3.3 Glándula tiroides</b>	<b>29</b>
<b>IV.3.4 Testículo</b>	<b>31</b>
<b>IV.3.5 Correlación de las glándulas respecto a las estaciones del año</b>	<b>35</b>

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

---

<b>V. DISCUSIÓN</b>	
<b>V.1 Condiciones ambientales</b>	<b>39</b>
<b>V.2 Actividad Gonadal</b>	<b>40</b>
<b>V.3 Histología y morfometría</b>	<b>44</b>
<b>V.4 Eje endocrino</b>	<b>46</b>
<b>V.5 Correlación</b>	<b>50</b>
<b>VI. CONCLUSIONES</b>	<b>51</b>
<b>VII. LITERATURA CITADA</b>	<b>52</b>

111

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## I. INTRODUCCIÓN

La reproducción, es un aspecto fundamental del ciclo de vida de cualquier ser vivo, que requiere de una serie de eventos como la maduración de las gónadas y de los órganos copuladores, además de una época en la que exista una receptividad de la hembra hacia el macho (Shepherd, 1994). Estos eventos están regulados de manera endógena por los propios organismos y por las condiciones ambientales (Rastogi, 1980; Jørgensen, 1988, Méndez de la Cruz, 1989). En la regulación del ciclo de maduración testicular de los anfibios se observa esta interacción del *status* endocrino con los factores ambientales, tales como la temperatura ambiental y la precipitación, presentándose como consecuencia una ciclicidad en la espermatogénesis; así como algunos cambios conductuales, como por ejemplo, la vocalización, los movimientos migratorios (*water drive*), y el cortejo (Stebbins y Cohen, 1995).

### I.1 Glándulas asociadas con la reproducción y su control hormonal

El hipotálamo y la glándula hipófisis, son las principales estructuras involucradas en el control de la respuesta reproductora, éstas actúan sobre las gónadas para que produzcan células sexuales y en la producción de hormonas esteroides (progesterona,  $17\beta$ -estradiol, testosterona y  $5\alpha$ -dihidrosterona) las que a su vez retroalimentan el sistema hipotálamo-hipófisis-gónada (Randall y cols., 1997). El hipotálamo, es estimulado por el ambiente y produce neuropéptidos reguladores, para la elaboración de las hormonas: liberadora de gonadotropinas (GnRH), liberadora de la tirotropina (TRH), liberadora de corticotropina (CRH), y liberadora de somatotropina (GHRH), las que estimulan a la hipófisis, en particular la *pars*

*distalis* de la adenohipófisis para que secreta varias hormonas, entre ellas la adenocorticotropina (ACTH), la foliculo estimulante (FSH), la luteinizante (LH), la estimulante de la tiroides (TSH), la del crecimiento (GH) y la prolactina (PRL) (Licht, 1990; Randall y cols., 1997). Estas hormonas, son muy parecidas en todos los vertebrados. Por ejemplo, se ha corroborado que existe una estrecha relación entre las GnRH del hipotálamo de peces, aves y mamíferos, y se ha demostrado que éstas son equipotenciales, es decir, que todas ellas provocan una respuesta en la liberación de LH en la hipófisis de anfibios y reptiles *in vitro*, lo que posiblemente contrasta el hecho de que los receptores de las células hipofisarias de especies no mamíferas son menos específicas o son menos estrictas en cuanto a la composición de aminoácidos de las moléculas de GnRH, (Licht y cols., 1987). Licht y Porter (1987) describen que los neuropeptidos del hipotálamo de *Rana catesbeiana* son muy parecidos -en su estructura molecular- a los mamíferos. Dores y cols. (1989) describen en *Ambystoma tigrinum* que la ACTH que se produce durante su ciclo de vida, parece ser semejante a la ACTH producida por los mamíferos.

En términos evolutivos, la estructura de estos neuropeptidos ha sido altamente conservada, y responden de manera semejante en los diferentes grupos de vertebrados, no obstante que durante su síntesis haya variantes a nivel molecular, en su estructura, que puedan jugar un papel diferente en diversos organismos (Andersen y cols., 1992).

En el caso particular del testículo de anfibios urodelos, el control hormonal está influenciado por el ambiente, por lo que se puede observar una estacionalidad en los componentes estructurales de la gónada, lo cual va acorde con el ciclo

reproductor de estas especies, en especial en organismos de zonas templadas, lo que se manifiesta en las características sexuales secundarias (Armstrong, 1989).

El control hormonal de la función testicular, como en el resto de los vertebrados se da a través de las gonadotropinas hipofisiarias parecidas a la FSH y a la LH de mamíferos. La espermatogénesis está influenciada por la FSH, mientras que la LH regula la síntesis de esteroides por parte de las células intersticiales (*lobule boundary cells*); y la secreción de estas gonadotropinas está regulada por factores liberadores del hipotálamo (Armstrong, 1989).

La hormona prolactina, en urodelos de la familia Salamandridae, promueve un cambio conductual, permitiendo el regreso de los organismos adultos al medio acuático para la reproducción (Jameson, 1988). En el caso de la hormona prolactina, se ha postulado que posiblemente tenga un efecto progonádico en urodelos como *A. tigrinum*; al tratarlos *in vivo* con esta hormona, se observó que se facilitaba la ovulación.

En sapos, la prolactina promueve el desarrollo de las gónadas en las hembras (Mazzi y Vellano, 1987)

Otra glándula importante es la tiroides, sus hormonas, además de influir en la metamorfosis, juegan un papel significativo en la reproducción; se ha demostrado que niveles mínimos de tiroxina ( $T_4$ ) en plasma de *Ambystoma tigrinum* se corresponden con el aumento del índice gonadosomático en machos y hembras, así mismo se describe que al disminuir los niveles de  $T_4$  se aumenta significativamente la concentración de los niveles de esteroides gonadales (Norman y Norris, 1987), por lo que podemos observar una retroalimentación negativa de la función de la tiroides con la función gonádica.

Werner (1969) indica que es en 1932 cuando se tienen los primeros registros del efecto de la temperatura y el fotoperiodo sobre la espermatogénesis de anfibios, estos dos factores tienen un efecto significativo en el estado endocrino, bien sea por una sensibilidad de la hipófisis a factores ambientales, a través de los centros hipotalámicos o la sensibilidad del epitelio germinal del testículo a las hormonas gonadotrópicas.

Se ha sugerido que la glándula pineal, afecta algunas actividades fisiológicas de los organismos (Maestroni, 1993); la melatonina, principal producto de esta glándula, se sintetiza en ausencia de luz; interviene en los ciclos diarios de actividad, por lo que se ha demostrado influye en la estacionalidad de un organismo si se altera el fotoperiodo (Hadley, 1996). Se ha demostrado también que en *A. tigrinum* se incrementa significativamente el nivel de melatonina en plasma durante la noche (Gern, y cols. 1983); y que en altas temperaturas se disminuye el nivel de melatonina circulante en el plasma (Gern y Norris, 1979). La secreción de melatonina puede retardar el desarrollo gonadal en algunos anfibios, como el caso de *Ambystoma tigrinum* (Jameson, 1988). Warburg (1997) confirma que la melatonina suprime la actividad gonadal durante días cortos y en condiciones de luz constante.

## **1.2 Histología de las glándulas pineal, hipófisis, tiroides**

### **1.2.1 Glándula pineal**

Embriológicamente la pineal deriva de una evaginación de la región dorsal del diencefalo (Shepherd, 1994). En urodelos, es una pequeña estructura sacular revestida por una o más capas de células que se pliegan y forman estructuras parecidas a folículos. Células fotorreceptoras forman el componente estructural básico de la pineal (Korf, 1976).

### **1.2.2 Glándula hipófisis**

Estructura cuyo origen embriológico doble asocia estrechamente a la superficie ventral del diencefalo y el techo de la cavidad bucal (Duellman y Trueb, 1986). Esta formada por dos porciones de estructura y función diferentes; la *neurohipófisis* y la *adenohipófisis*, esta última dividida en tres partes:

La *pars distalis*, envuelta en una cápsula fibrosa, posee un parénquima que forma cordones y grupos de células epiteliales sostenidas por fibras reticulares.

El parénquima está formado por células cromófilas secretoras, (que a su vez se subdividen por la tinción de sus gránulos en acidófilas y basófilas) y por células cromófobas no secretoras, pequeñas, esféricas o piramidales que carecen de gránulos (Leeson y cols. 1987).

La *pars intermedia* está formada por una delgada capa de células y por vesículas que contienen coloide, que tienen forma piramidal y tamaño variado, células secretoras con gránulos basófilos. En anfibios esta estructura está bien desarrollada (Leeson y cols. 1987).

La *pars tuberalis*, forma un collar de células de forma cúbica alrededor de tallo infundibular, éstas se disponen en grupos o cordones (Leeson y cols. 1987).

La neurohipófisis, que es la porción de origen diencefálico. En los anfibios urodelos contienen los axones de las células neuroendócrinas del núcleo preóptico del hipotálamo, que terminan y vacían sus secreciones cerca de los vasos sanguíneos neurohipofisarios. En anfibios esta porción está poco desarrollada (Pisano y Barbieri, 1967).

### **1.2.3 Glándula tiroides**

Estructura pareada, embriológicamente deriva a partir del epitelio faríngeo (Shi, 2000). Se encuentra rodeada por una cápsula de tejido conjuntivo, por debajo de ella se encuentra otra cápsula más delgada, que se adhiere a la glándula con prolongaciones delgadas que se extienden formando tabiques que dividen a la glándula en lóbulos, éstos formados por los folículos, unidades estructurales que varían dependiendo del momento funcional de la glándula. Un folículo consta de una capa de epitelio simple que rodea una cavidad, que puede o no estar llena de coloide, la forma de las células varía, pasando de plano, a cilíndrico, regularmente su estado es de células cúbicas (Leeson y cols. 1987).

### **1.3 Aspectos reproductores de los anfibios**

Los anfibios, como todos los vertebrados, exhiben una ciclicidad en sus funciones reproductoras; en el caso de los urodelos, pueden presentarse dos grandes patrones: el CICLO ANUAL como organismos de los géneros, *Ambystoma*, *Rhyacotriton*, *Pleurodeles*, entre otros; y el CICLO BIANUAL sobre todo en salamandras pletodontidas (Duellman y Trueb, 1986). El desarrollo de la actividad gonádica de machos y hembras se encuentra bajo control directo de la adenohipófisis, que a su vez es regulada por el hipotálamo, por medio de la vía de neurosecreciones hipotalámicas que son transportadas a la hipófisis mediante los



vasos portales (Jørgensen, 1974). Se ha encontrado una correlación positiva entre la secreción de gonadotropinas y cambios estacionales en el epitelio germinal testicular y características sexuales secundarias en machos de anuros y salamandras. Una ablación total de la hipófisis o de la *pars distalis* resulta en la atrofia de las gónadas (Duellman y Trueb, 1986).

La temperatura, la temporada de lluvias, la disponibilidad de alimento y la luz son los factores extrínsecos involucrados en la actividad reproductora, (Salthe y Mecham, 1974), los cuales facilitan ciertos eventos, como pueden ser la ovoposición, el apareamiento y la propia regulación cíclica de la formación de las células sexuales (Gern y cols. 1987).

Rastogi y cols. (1976) encontraron para *Rana esculenta* que el fotoperiodo influye en la espermatogénesis, el incremento en la temperatura ambiental, el aumento en las horas de luz y la secreción de gonadotropinas facilita la proliferación de espermatogonias, la formación de espermatoцитos primarios y secundarios, mientras que la formación de espermátidas se favorece con la disminución en la temperatura. Se demostró también que la luz actúa facilitando la respuesta del eje hipotálamo-hipófisis-gónada a la temperatura, que es el principal modificador de la actividad testicular.

En el caso del urodelo *Plethodon cinereus*, el fotoperiodo juega un papel de suma importancia, se observó que a 20° C y en fotoperiodos largos (18 h luz y 6h oscuridad) aumenta el estado de madurez del testículo (Werner, 1969). Se ha demostrado también, que el fotoperiodo influye en los ciclos anuales de prácticamente todos los vertebrados, sobre todo, en aquellos que viven en lugares de grandes altitudes; para vertebrados ectotermos el fotoperiodo tiene un efecto

notable en el estado y en la actividad gonadal (Hoffmann, 1981). Stebbins y Cohen (1995) han propuesto que la cantidad de luz recibida y la temperatura del flujo de agua tiene efectos diferenciales en la biología reproductora de anfibios, aún en lugares adyacentes de un mismo cuerpo de agua.

Otros factores importantes relacionados con la actividad reproductora son la latitud y la altitud ya que afectan los periodos de reproducción y la tasa de crecimiento de los anfibios. Brattstrom (1968) encontró que en anfibios anuros se incrementó la tolerancia de climas fríos, conforme aumentaba la altitud.

#### **1.4 Ciclo gonádico de *Ambystoma tigrinum***

Los testículos de los urodelos muestran una marcada regionalización en la distribución de la población celular a lo largo de la gónada; en general, son estructuras pareadas y de forma alargada, formada por túbulos seminíferos, cada uno de ellos, en un mismo corte transversal, muestra diferentes estados de la espermatogénesis, distribuidos en *quistes*, es decir, grandes grupos de células que maduran sincrónicamente. Otra característica general de la gónada de urodelos es la falta de células intersticiales secretoras o éstas no son evidentes con técnicas generales; y en los intersticios entre los lóbulos se observan sólo elementos de tejido conjuntivo (Lofts, 1984; Paniagua y Nistar, 1983).

El testículo de *A. tigrinum*, presenta similitudes y diferencias con los testículos de otros vertebrados, consta de túbulos seminíferos; sin embargo, las células germinales están arregladas en quistes, éstos contienen células espermáticas en el mismo estadio de desarrollo. En organismos de género *Ambystoma dumenilii* se ha descrito la espermatogénesis en sentido antero-posterior del testículo o

cefalocaudal, en donde las células inmaduras están en la región cefálica y los espermatozoides en la región caudal del testículo (Uribe y cols. 1994).

En muchos urodelos, la espermatogénesis es un evento sincrónico que está estrechamente relacionada con las estaciones del año. Norris y cols. (1985) describieron que en *A. tigrinum*, la renovación del tejido germinal, la espermatogénesis y la actividad copulatoria comienzan en primavera, en mayo y junio comienza una nueva generación de espermatocitos primarios, a principios de julio comienza la meiosis, y en agosto encontraron espermatozoides, los cuales fueron liberados hacia el invierno, para continuar con un nuevo ciclo gonádico.

Establecer el ciclo gonádico de las especies del género *Ambystoma* conlleva como en otros anfibios algunos problemas, dada la propia estructura del testículo, por lo que se han propuesto diversas metodologías para describirlo: en ranas del género *Telmatobius*, Montero y Pisanó (1990) cuantificaron los estadios de la línea germinal tomando como unidad de conteo el quiste, en diversos etapas del desarrollo, sin importar el número de células espermatogénicas presentes. Con las observaciones histológicas por mes estos autores construyeron fenogramas para hacer una agrupación de los componentes germinales por mes. También se han propuesto técnicas de autoradiografía con timidina tritiada en *Ambystoma mexicanum*, para hacer un seguimiento celular de la espermatogénesis (Miltner y Armstrong, 1983).

### **1.5 *Ambystoma tigrinum* (Green, 1825)**

Anfibio urodelo, perteneciente a la familia Ambystomatidae (Hallowell, 1856 en: Duellman y Trueb, 1986), es el ambystómido más grande y presenta un cuerpo vigoroso y surcos visibles sobre los costados (Matz y Vanderhaege, 1979); las

larvas poseen una cabeza ancha y un pliegue caudal, que corre a lo largo del dorso y termina a nivel de la cloaca, presenta tres pares de branquias filamentosas (fig. 1), y tiene un número de cromosomas de  $56n$  (Duellman y Trueb, 1986).

Dentro del grupo de los anfibios, la metamorfosis juega un papel importante en su ciclo de vida, ya que el organismo experimenta toda una serie de cambios anatómicos, fisiológicos, bioquímicos y conductuales para enfrentar el cambio del hábitat acuático al terrestre; y con ello, se alcanza la madurez sexual y se continua con el ciclo vital (Duellman y Trueb, 1986). Sin embargo, existen casos en los que puede ser prescindible; en este caso, las larvas de *Ambystoma tigrinum* retienen sus branquias y permanecen en el hábitat acuático y se pueden reproducir sin la necesidad de experimentar la metamorfosis, fenómeno conocido como neotenia, permaneciendo con el fenotipo larval pero alcanzando la madurez del aparato reproductor (Conant, 1986). No obstante su neotenia es facultativa, ya que si existe un cambio ambiental, como por ejemplo, que el cuerpo de agua se seque o aumente la temperatura ambiental entonces se desencadena la metamorfosis, lo que permite que los organismos enfrenten las presiones ambientales, colonizando el medio terrestre para reproducirse como adulto terrestre (salamandra) en cuanto las condiciones ambientales sean favorables (Stebbins y Cohen, 1995).

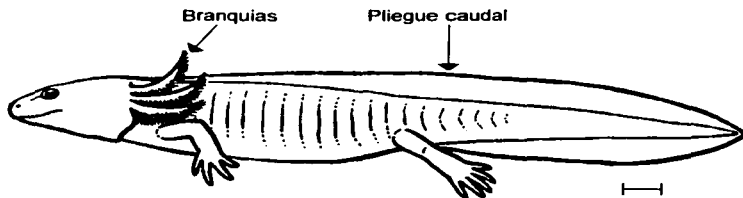


Fig 1. Larva de un adulto neoténico de *Ambystoma tigrinum*, barra de referencia 1 cm (Tomado y modificado de Stebbins y Cohen, 1995).

### 1.6 El complejo *Ambystoma tigrinum*

En México desde hace tiempo se han tenido problemas con la taxonomía de las especies del género *Ambystoma*, por existir al parecer, procesos de especiación en los diferentes cuerpos de agua de la parte Centro y Este de la República Mexicana. Brandon (1989), ha indicado que esto puede deberse a que existe un potencial de hibridación interespecífico; aunado a su aparente separación ecológica y geográfica, que da como consecuencia un aislamiento reproductor. Además los grandes cambios en los hábitats de estos organismos en el pasado geológico, ha dado como resultado la gran variabilidad de fenotipos de este género. Se dará a continuación una posición reciente del estado taxonómico de *Ambystoma tigrinum*.

Hasta hace poco se mencionaba la distribución de *Ambystoma tigrinum* desde el Norte de los Estados Unidos, hasta la región de la meseta de México, y se le reconocía como el único anfibio politípico distribuido continentalmente (Stebbins, 1985; Conanat y Collins, 1991). No obstante, recientemente se ha discutido sobre

este tópico y se ha puesto en duda si esta especie es realmente politípica; sobre todo en las especies mexicanas de este complejo, ya que presentan una serie de particularidades que hacen a las poblaciones del centro de México muy especiales (Shaffer, 1993).

En México se encuentran 15 especies de salamandras de la familia Ambystomatidae, distribuidas en el centro del país y están estrechamente relacionadas con *Ambystoma tigrinum* (Routman, 1993). Mediante análisis de aloenzimas y patrones morfológicos de diversidad, se ha propuesto la hipótesis de que hubo una especiación, la cual estuvo en función, en primera instancia, de una diferenciación alopátrica, determinada por la geología y la hidrología de la parte Centro de México. Por la edad geológica aproximada del eje neovolcánico mexicano, se encontró una consistencia en que la divergencia de los *taxa* mexicanos se dio en un periodo de no más de 10 millones de años, y muchas especies derivaron, al parecer en un tiempo menor a éste (Shaffer y McKnight, 1996).

En la actualidad se reconocen al menos siete grupos monofiléticos, con base en el análisis de aproximadamente 840 pares de bases de una secuencia de DNA mitocondrial, para sugerir la monofilia del complejo *A. tigrinum*. Para las especies del centro de México se ha propuesto su ubicación taxonómica como *Ambystoma velasci*, los muestreos se realizaron hasta el estado de Puebla, (cerca de donde se colectaron los organismos para este estudio) Fig 2. Aunque resulta difícil interpretar las poblaciones de Ambystomidos de la parte Este de la meseta de México, dados los antecedentes ya mencionados, aunados con situaciones ambientales diferentes al resto de las especies de Norte América, hacen que estas

poblaciones presenten particularidades muy marcadas no sólo en la cuestión taxonómica, sino también en la biológica (Shaffer y McKnight, 1996), lo que permite sugerir el alto éxito que han tenido para establecerse en esta región.

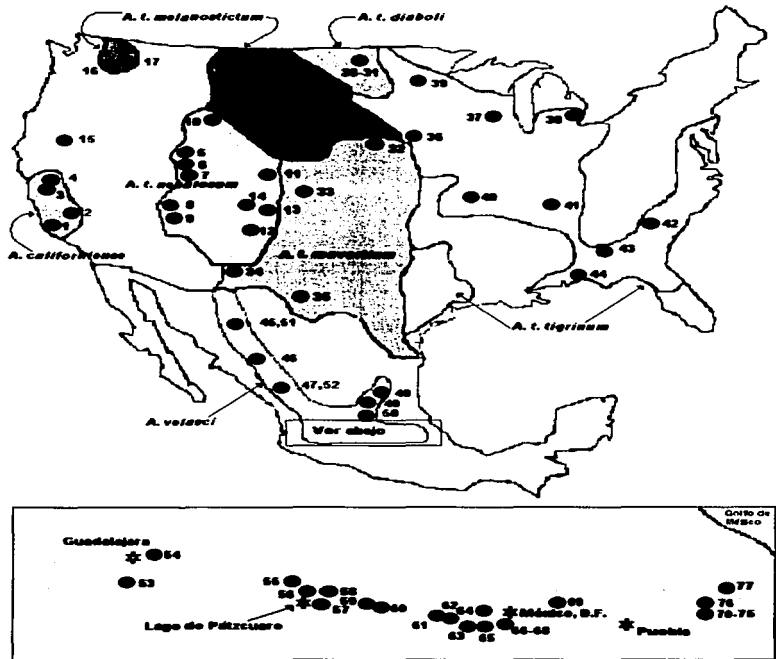


Fig. 2. Distribución de las especies del complejo *Ambystoma tigrinum*, en Estados Unidos y en México, la parte del Centro de México se observa en el recuadro inferior (Tomado de Shaffer y McKnight, 1996).



### 1.7 Justificación

Es necesario considerar que los anfibios están afectados por los cambios climáticos globales como Harte y Hoffman (1989) lo describen: una población de *Ambystoma tigrinum* mostró una disminución del 65% en los adultos con al menos un año de edad en un periodo de 6 años.

Nuestro interés particular se debe a que *A. tigrinum* es una especie explotada de manera intensiva por parte de los pobladores del lugar y no existe una reglamentación sobre su uso, y en la medida que se conozca su biología reproductora se podrá maximizar el aprovechamiento de este recurso, sin comprometer las poblaciones naturales.

Por lo anterior resulta importante conocer el ciclo gonádico de esta especie, en la población natural, ya que la mayoría de este tipo de estudios se hace a nivel de laboratorio (Norris y cols., 1985).

En anfibios urodelos, como *Ambystoma tigrinum* se han hecho pocos estudios en relación con el ciclo gonádico, el cual lo podemos definir como la serie de cambios que experimenta la estructura morfológica de la gónada (ovario o testículo) durante un ciclo reproductor.

## II. OBJETIVOS

### II.1 Objetivo general

Relacionar morfofuncionalmente las glándulas pineal, tiroides e hipófisis con la estructura testicular de adultos neoténicos de *Ambystoma tigrinum*, durante un ciclo anual.

### II.2 Objetivos particulares

1. Describir histológicamente el testículo de *A. tigrinum* y determinar su ciclo gonádico de acuerdo con el análisis histológico y morfométrico de cada estadio de la espermatogénesis de la Laguna de Totolcingo, Tlax. durante un ciclo anual.
2. Correlacionar algunos parámetros morfológicos de las glándulas pineal, hipófisis y tiroides con el ciclo gonadal, y determinar su control hormonal.
3. Determinar la posible influencia de los factores ambientales (temperatura y precipitación) de la localidad en donde habita esta especie sobre el ciclo gonádico de *A. tigrinum*.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### III.1 Colecta

El presente estudio se llevó a cabo con machos adultos neoténicos de *A. tigrinum* de la laguna de Totolcingo, Tlax., localizada en el municipio "El Carmen Tequexquilita". La colecta se realizó para cada estación del año (primavera, verano, otoño e invierno), ésta se hizo con una técnica rústica de captura. La selección de los organismos se realizó con base en su peso y tallas corporales promedio, siendo sus medias:  $133.42 \pm 5.61$  gramos de peso húmedo,  $25.36 \pm 0.38$  centímetros de longitud total y  $12.77 \pm 0.20$  centímetros de longitud hocico-cloaca.

#### III.2 Climograma

Para determinar la influencia del ambiente sobre la actividad reproductora, se obtuvieron los registros de temperatura ambiental y precipitación del municipio de "El Carmen Tequexquilita", los registros fueron para los años de 1992-1993, y además se hizo una revisión de un periodo de nueve años, de 1985 a 1994; estos datos fueron obtenidos del Servicio Meteorológico Nacional.

#### III.3 Índices

Se analizaron los índices gonadosomático y hepatosomático.

El índice gonadosomático calculado como:

(El peso de la gónada/el peso corporal) x 100 (Rodríguez, 1992); este índice nos representa el estado de la gónada respecto al peso del organismo y el índice hepatosomático, calculado como: (el peso del hígado/el peso corporal) x 100 (Rodríguez, 1992).

#### **III.4 Obtención de Muestras (Glándulas pineal, hipófisis, tiroides y testículo) y su histología.**

Se escogieron para cada una de las estaciones del año tres adultos neoténicos machos, a los cuales se les sacrificó por decapitación, se realizó la disección del encéfalo junto con las glándulas pineal y la hipófisis, se fijaron en formol amortiguado al 10%. La mandíbula inferior fue removida para disecar la glándula tiroides, y ésta fue fijada en líquido de Zenker, después de 24 horas se pasaron a una postfijación en formol amortiguado al 10%. El testículo derecho se pesó y fue fijado en formol amortiguado al 10%.

Todas las muestras fueron procesadas mediante la técnica histológica de rutina, deshidratación en alcoholes graduales y aclaramiento, para su inclusión en parafina y cortes seriados de 5µm de grosor. A partir de la línea media de cada glándula, se hicieron 30 cortes en una distancia de 150 µm para hacer los análisis morfológicos. Los cortes fueron teñidos con las técnicas histológicas de Hematoxilina-Eosina, Tricrómica de Masson y Ácido Periódico Schiff (PAS). Posteriormente se hizo el análisis microscópico de todos los cortes del testículo y de las glándulas endocrinas, finalmente se tomaron fotomicrografías en un fotomicroscopio Zeiss II.

### **III.5 Análisis morfométricos**

#### **III.5.1 Glándula Pineal**

Por cada estación, la glándula pineal se analizó de la siguiente manera: en tres cortes sagitales no consecutivos, separados  $50\mu\text{m}$  desde la mitad de cada glándula se contó el número de folículos y el número de células endocrinas, en un área de  $0.44\text{ mm}^2$  a  $16x$ , y con el promedio del número de células endocrinas se determinó su densidad (Número de células / unidad de área). Debido a que se contabilizó el número de células, para efecto de ingresar los datos al análisis estadístico se transformaron los datos a logaritmo natural. Para establecer posibles diferencias, se hizo un análisis de varianza (ANOVA) con diseño de bloques al azar con  $p(<0.05)$ , donde el número de cortes fue utilizado como bloques, ya que éstos fueron seriados no consecutivos.

#### **III.5.2 Glándula hipófisis**

Por cada estación, se eligieron de todos los cortes sagitales seriados tres cortes mediales no consecutivos de cada glándula, es decir, que los cortes analizados tuvieron una separación de  $50\mu\text{m}$  uno con respecto del otro, para medir y contar las células gonadótropas en un área de  $0.44\text{mm}^2$  a  $16x$ . Se midieron los diámetros mayores y menores de todas las células gonadótropas identificadas en el corte para calcular su área, considerando el área de una elipse. A las medias se les aplicó un análisis de varianza con diseño de bloques al azar ( $p<0.05$ ).

#### **III.5.3 Glándula tiroides**

La glándula fue cortada de manera longitudinal en dirección ventro-dorsal, los análisis se hicieron en tres cortes no consecutivos, con una separación de  $50\mu\text{m}$

entre cada uno, en la mitad de la glándula. En un área de  $0.44\text{mm}^2$  a  $16\times$  se evaluó la actividad tiroidea aplicando el índice:

$$\frac{\sum AF}{AT} \times NF^{-1} \times AE \text{ (Montaño, 1995).}$$

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

Se tomó además en consideración la altura del epitelio secretor, el cual se midió con un objetivo micrométrico C: REICHERT BPK  $10\times$ , este valor se consideró también como indicativo de actividad tiroidea; a estos resultados se les aplicó la prueba estadística de análisis de varianza con dos criterios de clasificación y con un diseño de bloques al azar ( $p < 0.05$ ).

#### III.5.4 Testículo

De cada testículo se hicieron cortes seriados de manera longitudinal en dirección ventro-dorsal de  $5\mu\text{m}$  de grosor (fig. 3). Se determinó para cada testículo la localización de cada tipo celular del linaje espermático y en tres cortes no consecutivos de la zona media de cada gónada se midió el área en  $\mu\text{m}^2$  de

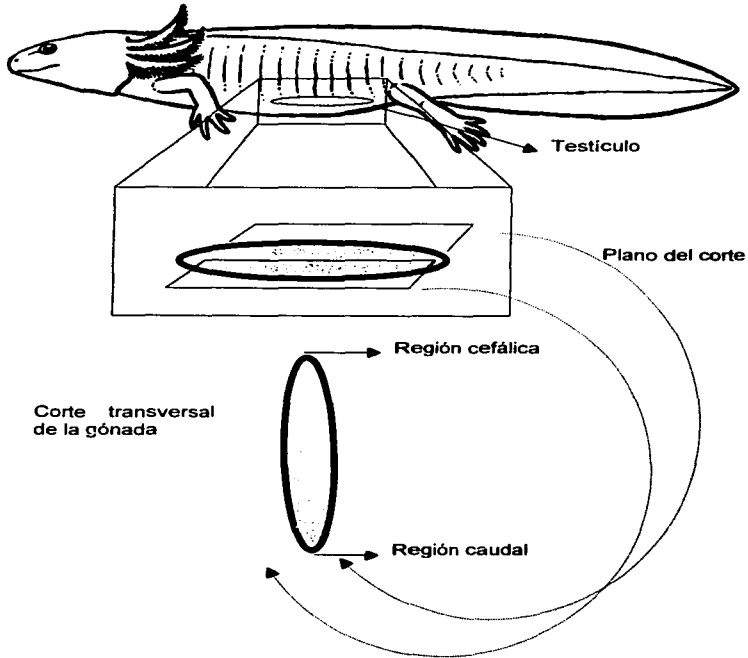


Fig. 3 Descripción del plano de corte del testículo de *Ambystoma tigrinum*

cada estadio celular de la espermatogénesis, de acuerdo a las observaciones de Uribe y cols. 1994): espermatogonias, espermatocitos primarios, espermatocitos secundarios, espermatidas y espermatozoides en todo el corte, con un digitalizador de imágenes Hamamatsu ARGUS-20 Modelo No. C5510-01.

Dado que se encontró una diferencia en tamaño de los testículos, debido a las diferentes tallas de los organismos, las áreas de cada estadio celular de la espermatogénesis se expresaron en porcentaje respecto al área total del corte, y con estos valores se realizó un análisis de varianza con dos criterios de clasificación. Y se escogió el área ocupada por los espermatozoides para aplicarle la prueba de análisis de varianza con diseño de bloques al azar  $p(<0.05)$ .

### **III.5.5 Correlación morfométrica**

Una vez obtenidos los resultados estadísticos por separado, se realizó una prueba de correlación, entre los parámetros medidos de cada glándula, y del estado testicular, respecto a las cuatro estaciones del año, mediante las pruebas de: *Wilk's Lambda*, *Pillai's Trace*, *Hotelling-Lawley* y *Roy's Max Root*, todas ellas con una  $p<0.05$ .

El diseño metodológico se muestra en la fig 4



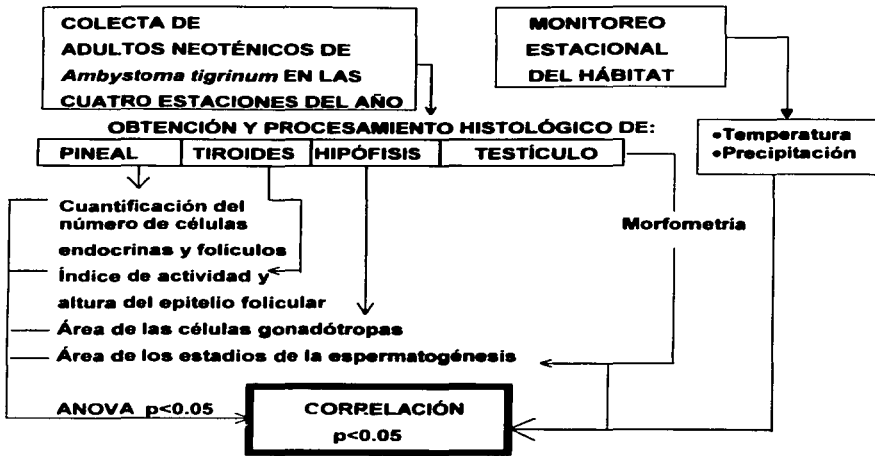


Fig. 4 Diagrama experimental de la metodología empleada en este trabajo.

### III.6 Pruebas estadísticas

Para hacer comparaciones entre cada una de las características morfométricas de las diferentes glándulas contra la época del año se hizo un análisis de varianza (ANOVA), con un grado de confiabilidad del 95%.

Para contrastar las diferentes glándulas con respecto a la época del año se uso una prueba de correlación que hace las siguientes pruebas:

*Wilks' Lambda, Pillai's Trace, Hotelling-Lawley y Roy's Max Root*, con una  $p < 0.05$ . Con estas pruebas se comparó la estación contra los parámetros medidos en los cortes de las glándulas pineal, hipófisis, tiroides y testículo para las cuatro estaciones del año.

#### **IV. RESULTADOS**

##### **IV.1 Climograma**

La laguna de Totolcingo se encuentra ubicada a los 2380 m.s.n.m. (I.N.E.G.I., 1993), con un clima seco frío, con un patrón de lluvias en verano (BS<sub>1k4</sub>) y para los años de la colecta 1992-1993 se observó un patrón de distribución variable (Fig. 5), en cuanto a la temperatura y la precipitación, factores que están afectando el desempeño de este individuo en su ambiente natural. Sin embargo, al revisar el patrón acumulado de nueve años 1985-1994 (Fig.6) se observa un patrón uniforme de máximas lluvias en los meses de mayo a septiembre (los máximos valores son de 69.9 mm de precipitación, y el menor de 1.6 mm; los cuales corresponden a las mayores temperaturas ambientales (la máxima temperatura registrada es de 16°C, la menor de 10.9°C). Y de menor precipitación y temperatura en los meses de octubre-abril cuyos valores máximo y mínimo van de 28-2 mm de precipitación y 0.5-7°C respectivamente.

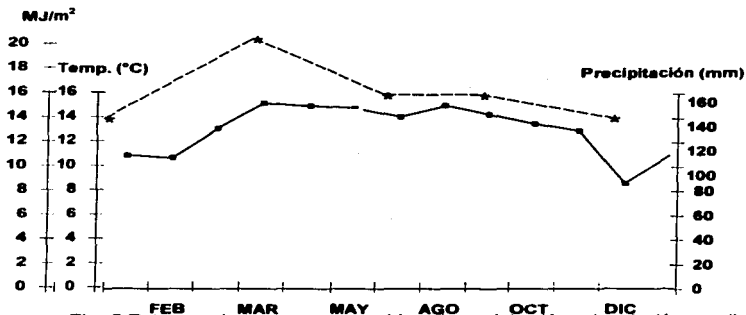


Fig. 5 Patrones de temperatura ambiental, precipitación e insolación; medias de los años 1992-1993 para el Municipio "El Carmen Tequexquitta", Tlaxcala. . precipitación (mm); ■, temperatura (°C); \* insolación (MJ/m²). Datos obtenidos del Servicio Meteorológico Nacional (SMN) y del Instituto de Geografía, UNAM.

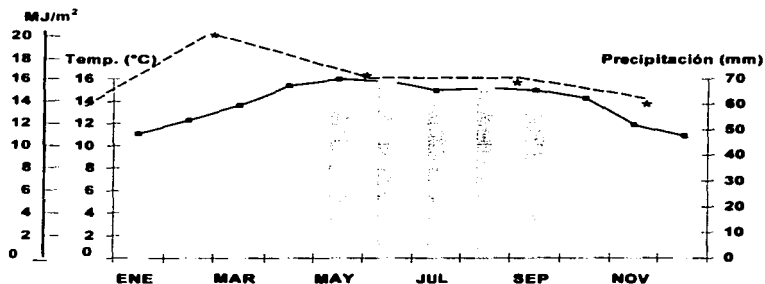


Fig. 6 Patrones de temperatura ambiental, precipitación e insolación medias de los años 1985-1994 para el Municipio "El Carmen Tequexquitta", Tlaxcala. . precipitación (mm); ■, temperatura (°C); \* insolación (MJ/m²). Datos obtenidos del SMN y del Instituto de Geografía de la UNAM..

## IV.2 Índices

El análisis del índice gonadosomático (IGS), mostró el valor mayor IGS ( $3.38 \pm 1.7$ ) en la estación de otoño y el menor en la estación de invierno ( $0.67 \pm 0.09$ ). Los valores del IGS pueden observarse en la tabla 1:

El análisis del índice hepatosomático presentó el mayor valor en primavera ( $8.9 \pm 1.7$ ) y el menor valor en invierno ( $4.09 \pm 0.2$ ). Los resultados pueden observarse en la tabla 1:

ÉPOCA \ ÍNDICE	PRIMAVERA	VERANO	OTOÑO	INVIERNO
IGS	$2.1 \pm 1.2$	$0.71 \pm 0.12$	$3.38 \pm 1.7$	$0.67 \pm 0.09$
IHS	$8.9 \pm 1.7$	$6.3 \pm 0.2$	$5.5 \pm 1$	$4.9 \pm 0.2$

Tabla 1. Valores del IGS e IHS de *Ambystoma tigrinum*, expresado como el promedio  $\pm$  el error estándar, durante las estaciones del año.

## IV.3 Histología y morfometría

### IV.3.1 Glándula pineal

La glándula pineal ofrece un patrón histológico particular que no corresponde al descrito por otros autores, (Korf, 1976). La glándula presenta dos porciones, una sacular en posición dorsal y una folicular endocrina en posición ventral, la primera está revestida por un epitelio cúbico que muestra cambios poco aparentes durante las diferentes estaciones, sin embargo, la porción ventral muestra cambios importantes en relación con las estaciones y con el estado gonadal.

En la porción ventral, en las diferentes estaciones se observan además de folículos, células de "tipo endocrino" basófilas y Ácido Periódico Schiff positivas en arreglo no folicular, las cuales pueden ser escasas o abundantes según la estación, (fig. 7, tabla 2).

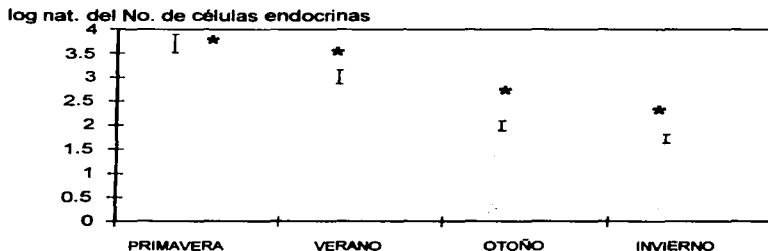


Fig. 7. Gráfica del ln del número de células endocrinas de la glándula pineal en las cuatro estaciones del año, los valores representan el promedio  $\pm$  el error estándar, \*: diferencias estadísticamente significativas  $p < 0.05$ ).

En el siguiente cuadro se observa el número de células endocrinas y folículos por estación del año.

ESTACIÓN	NÚMERO DE FOLÍCULOS/ÁREA	NÚMERO DE CÉLULAS ENDOCRINAS POR UNIDAD DE ÁREA
Primavera	9.5 $\pm$ 1.5	41.25 $\pm$ 5.02
Verano	7.5 $\pm$ 2.96	23.86 $\pm$ 10.48
Otoño	14.83 $\pm$ 2.61	8 $\pm$ 2
Invierno	15.25 $\pm$ 1.4	5.1 $\pm$ 1.04

Tabla 2. Número de folículos y de células endocrinas de la glándula pineal de *A. tigrinum*. Se presentan las medias  $\pm$  el error estándar.

**Primavera - Verano**

Se observaron células endocrinas y folículos, no obstante que las primeras se encontraron significativamente en mayor número (figs. A y B). Lo que sugiere una mayor actividad de la glándula. El mayor número de células endocrinas se encontró en individuos cuyos testículos mostraron una evidente actividad espermatogénica.

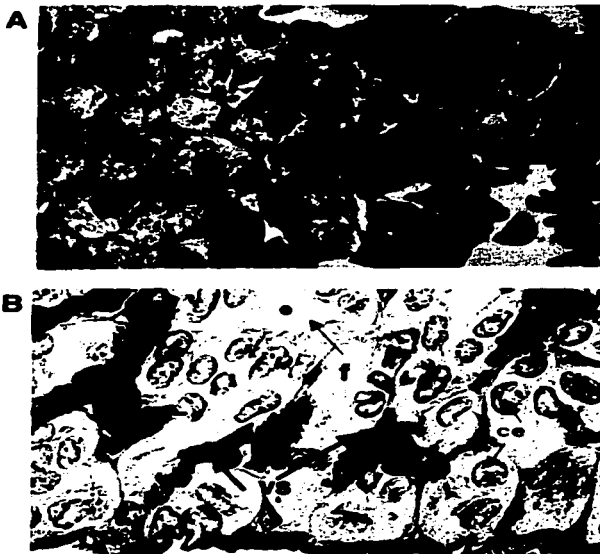


Fig A y B Glándula pineal de adultos neoténicos de *A. tigrinum* de primavera (A) y verano (B); ce: células endocrinas; f: folículos; va: vasos sanguíneos. 500x, técnica H-E.

**Otoño - Invierno**

Las células de tipo endocrino son escasas o no están presentes. En estas estaciones se observó una predominancia de folículos (Figs. C y D). La glándula presentó una tendencia a la involución funcional. Los signos morfológicos de involución fueron: disminución significativa de células endocrinas y de la vascularización capilar, crecimiento de los folículos con aplanamiento de sus células y condensación de la cromatina. La involución fue mayor en invierno.

Estadísticamente, los datos se ajustaron al modelo en un 95.32% y se encontraron diferencias significativas en las diferentes épocas del año ( $D-W=0.79$ , 109,  $p<0.05$ ).

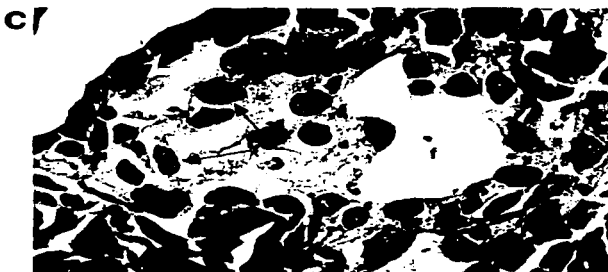


Fig. C Glándula pineal de adultos neoténicos de *A. tigrinum* de otoño; **f**: folículos; **vs**: vasos sanguíneos, **ce**: células endocrinas. 500x, técnica H-E.





Fig. D Glándula pineal de adultos neoténicos de *A. tigrinum* de invierno; f: folículos; vs: vasos sanguíneos. Es notable la ausencia de células endocrinas. 500x, técnica H-E.

#### IV.3.2 Glándula hipófisis

La *pars distalis* de la adenohipófisis se encontró formada por células cromófilas, con gránulos de secreción acidófilos y basófilos, y células cromófobas sin gránulos de secreción. Las células gonadótropas son células basófilas que se encontraron cerca de vasos sanguíneos, y su forma fue variada, desde ovoide o esférica hasta piramidal, presentaron un núcleo central o apical y gránulos citoplasmáticos con una intensa reacción PAS positiva.

### Primavera

Las células gonadótropas se presentaron ovoides, con un núcleo central y citoplasma con reacción PAS positiva (Fig. E).

### Verano

Células de forma elíptica y reacción PAS positiva (Fig. F).

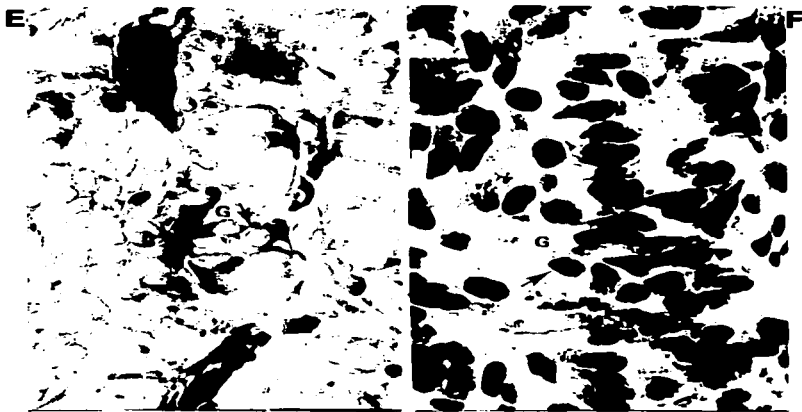


Fig. E Glándula hipófisis de adultos neoténicos de *A. tigrinum* de primavera; G: células gonadótropas. 500x, técnica PAS.

Fig. F Glándula hipófisis de adultos neoténicos de *A. tigrinum* de verano; G: células gonadótropas. 500x, técnica PAS.

**Otoño**

Los gonadótropos son cualitativamente más grandes, de forma casi esférica con reacción PAS positiva (Fig. G).

**Invierno**

Células cuya forma varía de ovoide a piramidal, con reacción PAS positiva (Fig.H).

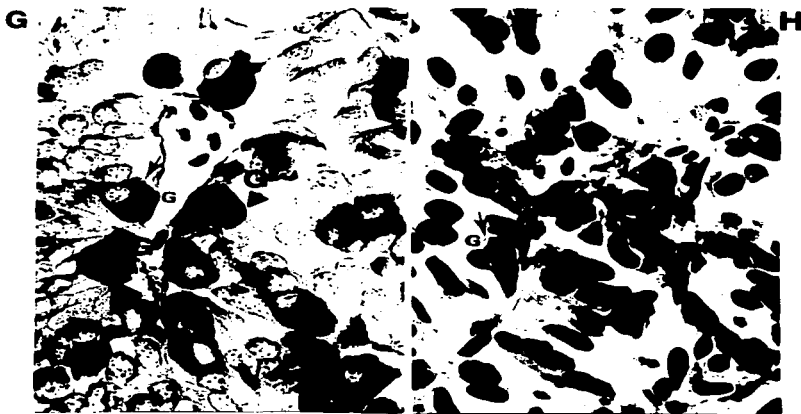


Fig. G Glándula hipófisis de adultos neoténicos de *A. tigrinum* de otoño; G: células gonadótropas. 500x, técnica PAS.

Fig.H Glándula hipófisis de adultos neoténicos de *A. tigrinum* de invierno; G: células gonadótropas. 500x, técnica PAS.

Los resultados morfométricos (área de las células gonadótropas) pueden observarse en la fig 8.

Se encontraron diferencias estadísticas en el área de las células gonadótropas de la estación de otoño, no hubo diferencias estadísticas en el número de ellas (S-W=0.98, 0.845,  $p<0.001$ ).

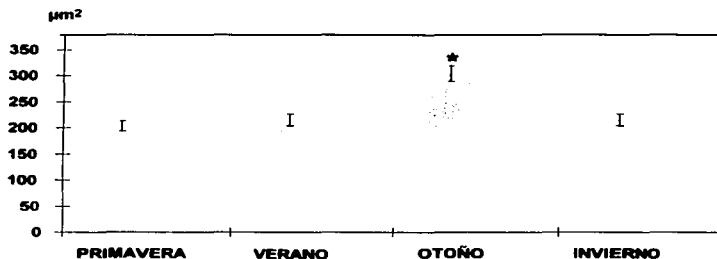


Fig. 8 . Gráfica del área de las células gonadótropas, valores dados en promedio  $\pm$  error estándar ; \* : diferencias estadísticas ( $p<0.05$ ).

#### IV.3.3 Glándula tiroides

Esta glándula se presentó como una estructura pareada, con típicos folículos rodeados de un epitelio, que varió de ser plano, cúbico a cilíndrico, la forma del folículo fue variable, desde esférica hasta irregular, el lumen del folículo se presentó vacío, parcialmente lleno o lleno de coloide con reacción PAS positiva.

La tiroides presentó una abundante cantidad de vasos sanguíneos, y el tejido conjuntivo también fue variable en cantidad.

### Primavera

En esta estación, la glándula tiroides se encontró más desarrollada, sobre todo en la altura de las células foliculares, que se presentaron de forma cilíndrica, con cromatina laxa y núcleos basales, presentó folículos vacíos de coloide, en otras ocasiones llenos del mismo, y se pudieron apreciar vesículas endocíticas de coloide hacia el borde celular (Fig. I).

### Verano

El epitelio folicular presentó una forma cúbica, y folículos llenos de coloide, no se apreció tejido conjuntivo entre los folículos (Fig. J).

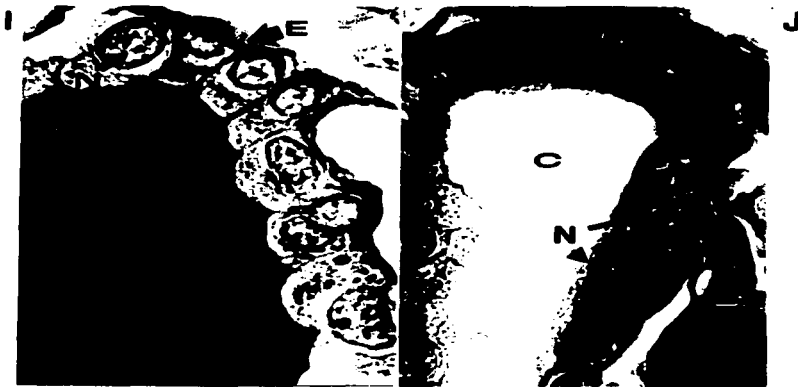


Fig I Glándula tiroides de *A. tigrinum* de organismos de primavera. E: epitelio tiroideo; N: núcleo celular; C: coloide tiroideo; GC: Gotas de coloide tiroideo que esta siendo endocitado por las células tiroideas. 500x Técnica PAS.

Fig J Glándula tiroides de *A. tigrinum* de organismos de verano. E: epitelio tiroideo; N: núcleo celular; C: coloide tiroideo. 500x Técnica H-E.

**Otoño**

Se observaron folículos parcialmente llenos de coloide, células epiteliales cúbicas y se apreció tejido conjuntivo entre los folículos (Fig. K).

**Invierno**

Los folículos se presentaron llenos de coloide, sin tejido conjuntivo apreciable y sus células epiteliales fueron planas y con cromatina condensada (Fig. L).

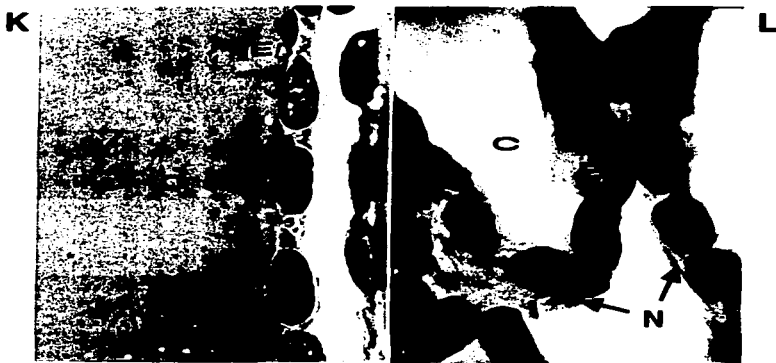


Fig K Glándula tiroidea de *A. tigrinum* de organismos de otoño. E: epitelio tiroideo; N: núcleo celular; C: coloide tiroideo. 500x Técnica PAS.

Fig L Glándula tiroidea de *A. tigrinum* de organismos de invierno. E: epitelio tiroideo; N: núcleo celular; C: coloide tiroideo. 500x Técnica PAS.

En el caso de la actividad tiroidea, el mayor índice de actividad se encontró en la primavera (1.72) y la menor actividad en el invierno (0.43), lo cual se ve corroborado por la altura del epitelio folicular, donde se encuentra para la primavera una altura de  $13.52 \pm 2.85 \mu\text{m}$  y en invierno una altura de  $6.36 \pm 2.3 \mu\text{m}$ . ( $27.47, 6.22, p < 0.001$ ) (fig 9).

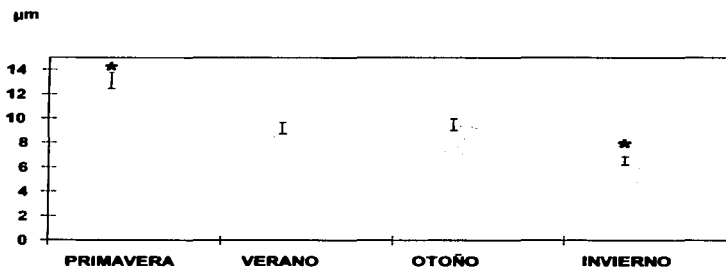


Fig. 9. Altura del epitelio folicular de la glándula tiroidea. Valores dados en promedio  $\pm$  el error estándar; \*: diferencias estadísticas ( $27.47, 6.22, p < 0.001$ ).

#### IV.3.4 Testículo

El testículo es una estructura pareada de forma alargada y ovoide. Los túbulos seminíferos tienen un arreglo en quistes, los cuales presentaron células germinales en el mismo estadio de desarrollo. Se pudieron diferenciar **espermátogonias, espermátocitos primarios, espermátocitos secundarios, espermátidas y espermatozoides**. Sin embargo el patrón de maduración de

estas células de acuerdo al avance de la espermatogénesis no es únicamente en sentido cefalocaudal, sino que además se presentó un patrón también en sentido lateromedial (Fig. M).

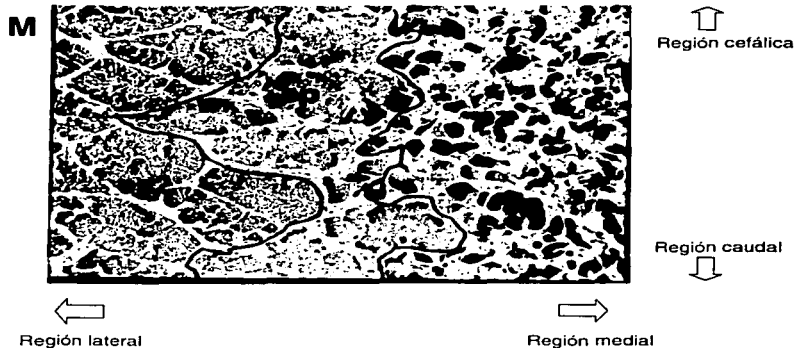


Fig. M Testículo de adultos neoténicos de *A. tigrinum* que muestra espermatogénesis en sentido lateromedial. **es2**: Espermatoцитos secundarios; **ep**: Espermátidas; **ez**: Espermatozoides. 78.75 x Técnica de PAS.

### Primavera

En esta estación se observó que una mínima parte del testículo estuvo conformado por espermatoцитos primarios (4.13%) dispuestos lateralmente al testículo, de forma esférica con cromatina granulosa, la mayor proporción de los quistes en sentido lateromedial estuvieron ocupados por espermatozoides (64.01%), asimismo se encontraron abundantes espermatozoides en los



conductos eferentes y no hubo espermatoцитos secundarios ni espermátidas abundantes .

Los resultados morfométricos se muestran en la tabla 1 y fig 10, y se refieren al porcentaje de los estadios celulares en el testículo (Fig. N).



Fig. N Testículo de primavera, donde se observan **es**: espermatoцитos secundarios; **ep**: espermátidas; **ez**: espermatozoides. 200x. Técnica de H-E.

### Verano

En esta estación se encontraron las mayores variaciones, los estadios de desarrollo del ciclo espermatogénico fueron los espermatoцитos primarios (43.76%), seguido los espermatoцитos secundarios (34.02%). Sin embargo se encontraron espermatozoides (29.13%), y el estadio que presentó un menor porcentaje fueron las espermátidas (1.14%), células con núcleo esférico y conforme avanza la espermiogénesis las células se van alargando cada vez más.

Los resultados morfométricos indicados en los paréntesis se observan en la tabla 3 y fig 10 (Fig. O).

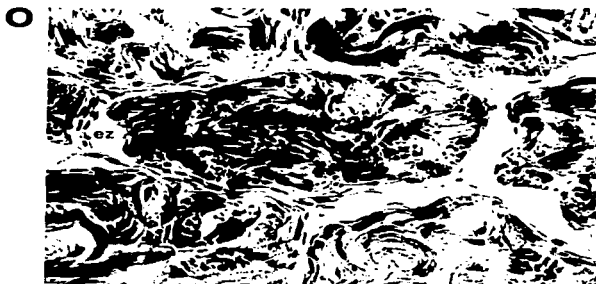


Fig. O Testículo de verano, donde se observan ez: espermatozoides. 200x. Técnica de H-E.

#### Otoño

La mitad medial del testículo en sentido longitudinal presentó espermatozoides (56.21%), la mitad lateral estuvo compuesta por espermatoцитos primarios (20.77%). En menor abundancia las espermatogonias (2.56%) (Fig. P).



Fig. P Testículo de otoño, **es**:espermaticitos; **ep**: espermátidas; **ez**:Espermatozoides. 200x. Técnica H-E.

#### Invierno

En el 77.18% del testículo se encontraron espermatozoides, y solo la región lateral en sentido longitudinal presentó espermaticitos primarios (8.55%). Los conductos eferentes no tuvieron espermatozoides en su luz.

Al analizar el ciclo espermático, estadísticamente hubo diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre la época y el estadio, no así en su interacción ( $p > 0.05$ ). Para la época la estación de verano es diferente de las demás, y en cuanto a los estadios, los espermatozoides fueron diferentes del resto de los estadios, y entre éstos no hubo diferencia (Tabla 3; fig 10 y 11) (Fig. Q).

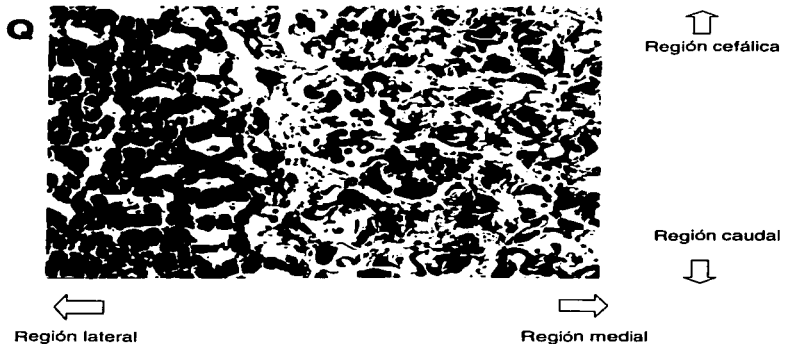
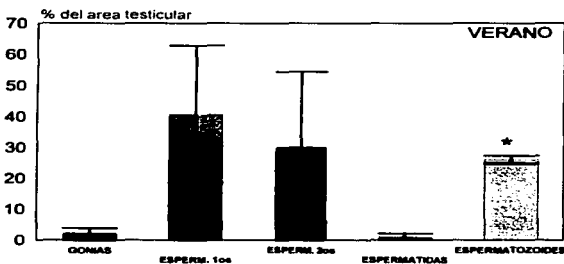
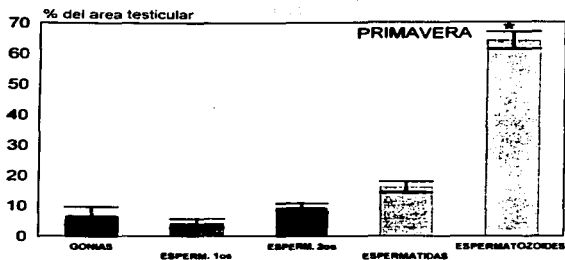


Fig Q. Testículo de invierno, **ep1**: espermatoцитos primarios; **ez**: espermatozoides. 5x Técnica H-E.

EPOCA/EST.	GONIAS	ESP 1	ESP 2	ESPERM	EZ
PRIMAVERA	6.65±2.95	4.13±1.44	9.2±1.38	16.05±1.8	64.01±2.8
VERANO	2.15±1.65	40.76±22.08	30.02±24.42	1.14±0.92	26.13±1.25
OTOÑO	2.56±0.92	20.77±0.23	10.57±3.46	9.83±1.96	56.21±4.48
INVIERNO	11.59±1.21	8.54±2.30	1.2±0.57	1.37±0.51	77.18±3.57

Tabla 3 Porcentaje del área de los estadios de la espermatogénesis de *Ambystoma tigrinum*. Los datos muestran los promedios ± el error estándar. Notación: GONIAS, espermatozonias; ESP1, espermatoцитos primarios; ESP2, espermatoцитos secundarios; ESPERM, espermátidas y EZ, espermatozoides.



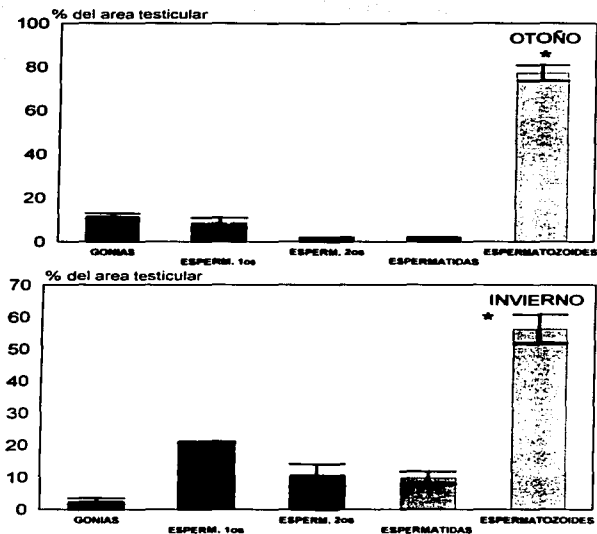


Fig. 12. Porcentaje del área de los espermatozoides. Valores dados como el promedio  $\pm$  error estándar. \*: diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ).

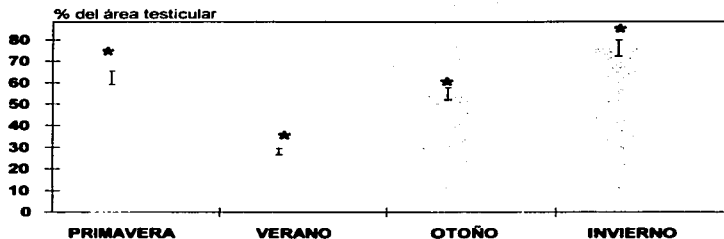


Fig. 11. Porcentaje del área de los espermatozoides. Valores dados como el promedio  $\pm$  error estándar. \*: diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ).

#### IV.3.5 Correlación de las glándulas respecto a las estaciones del año

Al hacer las pruebas de correlación promedio de cada par de glándulas por época del año, podemos notar que la mayor correlación estadísticamente significativa, se da entre el testículo (porcentaje del área de los espermatozoides, (% de ez) y la hipófisis (área de los gonadótropos) en las estaciones de verano, otoño e invierno (0.58, 0.44 y 0.74 respectivamente). El testículo (% de ez) y la pineal (número de células endocrinas) están correlacionadas en la estación de verano (0.67), y la pineal (número de células endocrinas) con la tiroides (altura del epitelio folicular) en primavera y verano (0.73 y 0.95 respectivamente). Los resultados se presentan en la tabla 4 y fig 11.

INTERACCIÓN/ ÉPOCA	PRIMAVERA	VERANO	OTOÑO	INVIERNO
TEST-HIPO	0.264	0.583 *	0.44 *	0.734 *
TEST-PIN	0.19	0.67 *	0.075	0.025
TEST-TIR	0.3	0.01	0.093	0.093
HIPO-TIR	0.44	0.095	0.097	0.092
HIPO-PIN	0.19	0.39	0.46	0.17
PIN-TIR	0.73 *	0.95 *	0.094	0.079

Tabla 4. Índices de coeficientes de correlación de las glándulas respecto a las diferentes épocas del año. \*representa diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ , 3.03, 27, 0.05).

Notación; TEST, testículo; HIPO, hipófisis; PIN, pineal y TIR, tiroides.

Cuando se hizo el promedio anual de los parámetros cuantificados en cada glándula, se mostraron diferencias estadísticamente significativas en la interacción testículo-hipófisis e hipófisis-pineal. Fig 13.

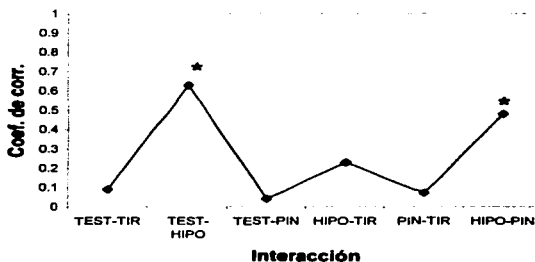


Fig. 13. Coeficiente de correlación del promedio anual. \* diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ , 3.03, 27, 0.05).

Notación: TEST-TIR, testículo-tiroides; TEST-HIPO, testículo-hipófisis; TEST-PIN, testículo-pineal; HIPO-TIR, hipófisis-tiroides; PIN-TIR, pineal-tiroides; HIPO-PIN, hipófisis-pineal.



Las células gonadótropas de la hipófisis presentan en promedio anual un coeficiente de correlación de 0.63 con el testículo; de 0.23 con la tiroides y de un 0.48 con la pineal, los coeficientes de correlación se muestran en la tabla 5.

<b>% de correlación</b>	<b>TESTÍCULO</b>	<b>TIROIDES</b>	<b>HIPÓFISIS</b>	<b>PINEAL</b>
<b>TESTÍCULO</b>	1.0	0.09	0.63	0.04
<b>TIROIDES</b>		1.0	0.23	0.07
<b>HIPÓFISIS</b>			1.0	0.48
<b>PINEAL</b>				1.0

Tabla 5 Coeficientes de correlación entre las glándulas.

## V. DISCUSIÓN

La reproducción sexual es uno de las funciones más conservadas y constantes en la escala filogenética; al mismo tiempo puede variar dadas condiciones específicas (Hiriart, 1998). La actividad reproductora es reflejo de una amplia variedad de mecanismos fisiológicos que han evolucionado para maximizar la contribución genética de los individuos a la siguiente generación, es decir, para dejar representado el genotipo de cualquier especie a través del tiempo, y estos mecanismos son influenciados por presiones ambientales. A estos mecanismos tienen que asociarse los costos energéticos, que incluyen demandas y riesgos de mortalidad por depredación durante el cortejo o el apareamiento, complicaciones del desarrollo de los huevos y la eclosión de los mismos, y el agotamiento de recursos alimentarios (Whitter y Crews, 1987), también el gasto energético en la producción de células sexuales (Randall, Burggren y French, 1997). Por lo que los patrones de reproducción maximizan los beneficios de la reproducción, minimizando los costos energéticos (Whitter y Crews, 1987). En el caso particular de *Ambystoma tigrinum* es probable que los gastos energéticos que implicaría la metamorfosis (al ser neoténicos facultativos) pueden ser canalizados a la reproducción. De hecho, sólo experimenta metamorfosis al haber una presión ambiental severa, como la desecación de la laguna o el hacinamiento (Marshall y Huges, 1980). Consideramos que si las presiones ambientales no son tan severas, *Ambystoma tigrinum* tiene un alta probabilidad de reproducirse con éxito, gracias a que existen organismos neoténicos con capacidad reproductora a lo largo del año.

### V.1 Condiciones ambientales

Aún cuando se hace la descripción de una especie en un rango geográfico determinado, y se describen sus características biológicas de manera general, las respuestas reproductoras, entre otras, están influenciadas además por variaciones locales en la temperatura, la latitud, la altitud y las variaciones climáticas propias de la localidad. Esto hace que dentro de una misma especie haya diferencias biológicas particulares (Whittier y Crews, 1987; Stebbins y Cohen, 1995), como es el caso de *Ambystoma tigrinum* de la localidad de El Carmen Tequexquilla, Tlax. que responde de manera particular a estas condiciones.

Al observar el patrón de temperaturas y precipitación de esta localidad podemos darnos cuenta que cuando se realizaron las colectas (1992-1993) hubo una variación de estos parámetros, pero haciendo una retrospectiva de lo que ha pasado en la laguna durante los últimos nueve años (hasta 1994), podemos distinguir un patrón, donde existe una época de lluvias (mayo-septiembre) y de mayores temperaturas (abril-septiembre), esto permite considerar que el desempeño del organismo se ve reflejado por la historia ambiental de la laguna, pero es claro que los individuos pueden responder a cambios súbitos en las condiciones ambientales, (por ejemplo la desecación) (Marshall y Huges, 1980), que es un fenómeno que se presenta frecuentemente en este cuerpo de agua en algunas temporadas.

## V.2 Actividad Gonadal

En especies del género *Ambystoma dumerilii*, investigadores como Uribe y cols., (1994) han descrito una regionalización cefalo-caudal en la espermatogénesis, que va de células menos desarrolladas (espermatogonias y espermaticitos primarios) en la región cefálica de la gónada, a células completamente desarrolladas (espermatozoides), en las regiones más caudales de la misma. Sin embargo, para *A. tigrinum* se observó una variante a este patrón, al encontrar además una regionalización en sentido lateromedial, acentuada en las estaciones de otoño e invierno: en otoño, la gónada presentó diferentes tipos celulares en posición lateral (espermaticitos primarios, secundarios y espermátidas), y espermatozoides en diferentes grados de maduración en posición medial a todo lo largo del testículo. En invierno se presentó una organización de los espermaticitos como una pequeña banda en posición lateral y en el resto del testículo se encontraron espermatozoides en todos los quistes. Es posible que la onda espermatogénica en algunos *Ambystómidos* sea helicoidal, más que cefalo-caudal, lo cual explicaría el patrón encontrado en *Ambystoma tigrinum* y los observados en poblaciones de *Ambystoma dumerilii* y en *A. jeffersonianum* de la localidad del Lago de Pátzcuaro, Mich. (Huacuz, com. pers.), lo que es un indicio de que en las poblaciones de la parte central de México, y en altitudes mayores a los 2000 msnm, presentan particularidades muy marcadas, que no han sido descritas para otras especies del mismo género.

En la localidad de estudio se describió el invierno como la época en la que se encontraron puestas de huevecillos y organismos recién eclosionados coincidiendo con Miller (1994) y Montaña (1995) y en las imágenes histológicas

del testículo se observa la presencia de cerca del 80% de espermatozoides en la gónada, mientras que los conductos eferentes se encontraron vacíos y en otros casos llenos con espermatozoides, lo que posiblemente sugiere que las células sexuales maduras fueron liberadas para fecundar a los ovocitos, o están próximos a ser expulsados. No obstante, de que el índice gonadosomático presentó un mayor valor en la estación de otoño, y su menor valor en el invierno, lo que permite pensar que el mayor grado de actividad testicular se da en otoño, aunque también se observa un pico del IGS en primavera, lo que nos sugiere dos posibilidades: por un lado que existen dos picos de actividad reproductora, en los que la espermatogénesis pueda ser sincrónica o asincrónica, o bien que la actividad reproductora fuese constante. Sin embargo, la estación de verano presenta una particularidad, si bien es cierto que hay individuos con testículos en plena actividad reproductora, en promedio, fue en esta estación en la que se encontró el porcentaje menor de espermatozoides (29.13%), y el linaje más abundante en promedio fue de espermatozitos primarios (43.76%), lo que posiblemente este indicando que se está reactivando la espermatogénesis.

La estructura gonadal encontrada en *Ambystoma tigrinum* de este estudio coincide con lo registrado por Norris y cols. (1985) para *A. tigrinum* de una localidad de Colorado a 1700 msnm, en la que encontraron espermatozoides en prácticamente todas las estaciones del año. Miltner y Armstrong (1983) encuentran algo similar en *A. mexicanum*, describiendo que a partir del verano comienza la maduración de espermatozoides, los cuales se retienen por cerca de seis meses para la época de reproducción. Uribe y cols. (1991) afirman para *A. dumerilii* de la región de Pátzcuaro, Michoacán, que en primavera comienza la espermatogénesis,

encontrando espermatoцитos primarios y secundarios; en verano, comienza la espermiogénesis y para otoño ya encuentran espermatozoides que duran hasta el invierno, resultados que contrastan con lo encontrado en el presente trabajo.

El análisis histológico y morfométrico del testículo nos permiten sugerir que en la población de *Ambystoma tigrinum* de la Laguna de Totolcingo, Tlax. no se presenta un ciclo espermatogénico típico, ya que algunos individuos en todas las estaciones no parecen seguir un patrón cíclico estacional. En la estación de primavera y en otoño se puede observar la mayor actividad espermatogénica, en las cuales se encuentran las mayores proporciones de espermatozoides (de más del 60% y cerca del 80% respectivamente), lo que concuerda con el IGS y una menor proporción de espermatoцитos secundarios y espermátidas. La regresión y la quiescencia si existen, no fue posible identificar, probablemente porque los muestreos fueron a la mitad de cada estación del año. Se sugiere hacer muestreos mensuales para comprobar si durante el verano se reactiva la espermatogénesis, y determinar si la presencia de espermatozoides es el resultado de un reposo o un almacenamiento. En la estación de otoño se presentan los signos de una mayor actividad testicular. Sin embargo, a nivel poblacional, puede hablarse de una continuidad reproductora a lo largo del año. Esto último puede sugerirse,

- 1) Al encontrar que en algunos organismos todos los estadios de la línea espermática están presentes a lo largo del año, sugiere que hay individuos reproductores durante todo el año.
- 2) Al observar que dentro de una misma estación hay organismos que presentan una gran variabilidad en cuanto a los porcentajes de los estadios

espermatogénicos, la variabilidad para los espermatozoides es de 0 al 87%, o para los espermatoцитos primarios del 0.91 al 93.79%, espermatogonias, del 0.7 al 6.2%. Armstrong (1989), observó estas mismas variaciones en *Ambystoma mexicanum* del lago de Xochimilco, D.F. En individuos de la misma estación y del mismo estadio de desarrollo, encontró una variación de espermatoцитos primarios del 3 al 75% y en espermatozoides del 0 al 100%, lo cual pareciera ser una inconsistencia al patrón estacional general, no obstante, Armstrong considera que esta respuesta está dada por el propio reloj biológico de cada organismo, lo que podría explicar esta gran variación de los estadios de la espermatogénesis.

El trabajar con poblaciones silvestres enriquece un trabajo ya que puede verse la influencia del ambiente en estas poblaciones. Entre las condiciones ambientales, las más importantes, mencionadas anteriormente y considerados en este trabajo son, la temperatura y la precipitación (Miltner y Armstrong, 1983). Brandon (1970) sugiere que la temperatura y la época de lluvias son los eventos que sincronizan la maduración de gametos y la puesta de huevos en *A. dumerilii* en el Lago de Patzcuaro, Michoacán, nosotros consideramos que en *A. tigrinum* debe tomarse en cuenta además, de manera muy especial el fotoperíodo, ya que se puede observar una variación estacional del ciclo luz:oscuridad, con días largos en primavera-verano y días cortos en otoño-invierno, y esto se ve reflejado en las grandes variaciones morfológicas observadas en la glándula pineal de esta especie.

El IHS, muestra un mayor valor en primavera y uno menor en invierno, lo que sugiere que los recursos energéticos que se almacenan durante la época cálida

del año se están utilizando por lo cual el valor mínimo se alcanza en el invierno. No obstante que la información proporcionada por este índice es más significativa o importante para las hembras que para los machos.

### **V.3 Histología y morfometría**

De acuerdo al análisis histológico de las glándulas Hipófisis, Tiroides y Pineal puede establecerse que la primavera y el otoño son dos épocas que presentan similitudes en términos de funcionalidad o actividad, de acuerdo a las imágenes que presenta el testículo, la hipófisis y el índice gonadosomático, que corresponden a una mayor actividad, esto nos hace pensar en dos picos de máxima actividad, o bien que existe una continuidad en la actividad gonadal, ya que la población de gonadótropos se mantiene constante en las cuatro estaciones del año.

Por su parte la pineal muestra al parecer una gran plasticidad en cuanto a su respuesta morfofisiológica, si bien la función atribuida a la pineal es la de sintetizar melatonina, y ésta presenta una acción antigonaética (Gern, y cols. 1987), la morfología observada no sería congruente con lo que está ocurriendo en esta especie, ya que se han encontrado espermatozoides en todo el año, signo de una actividad constante, lo que indicaría, siguiendo esta línea de pensamiento, que la glándula pineal estaría siempre poco desarrollada o involucionada, pero de acuerdo a las imágenes histológicas, se observa una gran cantidad de células endocrinas, es decir, una actividad importante durante la primavera y el verano, sobre todo en aquellos organismos con clara actividad espermatogénica y en otoño e invierno se vuelve menos activa, con una tendencia hacia la involución. Sin embargo autores como Chanda y cols. (1983) reportan que al inyectar 40µml



de melatonina durante un fotoperiodo de 10.5:13.5 L/O durante la hibernación y a una T°C de 19°C en *Bufo melanostictus* se incrementaba el número de células espermáticas. Por lo que puede observarse también una actividad progonádica de la melatonina, en ciertas circunstancias, como parece ocurrir también en *Ambystoma tigrinum* en la época primavera-verano sobre los adultos reproductores.

Podemos observar una congruencia entre los resultados histológicos y morfométricos de la glándula hipófisis, ya que se observa que en otoño hay un cambio de forma y aumento en el tamaño de los gonadótropos, signo de mayor actividad celular donde las hormonas secretadas estimulan en los testículos de anfibios la espermatogénesis, es en esta estación donde se observó la mayor actividad testicular y también donde el IGS es estadísticamente mayor. La secreción de gonadotropinas responden también eventos de retroalimentación tanto positivos como negativos entre los distintos factores internos y externos (Fox, 1983; Moore y Miller, 1984).

La histología de la tiroides muestra claros signos de actividad durante la primavera, y ésta decrece al alcanzar el invierno; donde presenta una imagen histológica de "reposo", ya que su actividad es opuesta a la reproducción (Duellman y Trueb, 1986); se ha encontrado que en *A. tigrinum* niveles mínimos de tiroxina está relacionado con un máximo en el índice gonadosomático (Leatherland, 1987).

En otoño-invierno, la glándula pineal muestra claros signos de involución funcional, lo que concuerda con la mayor actividad testicular y gonadotrópica dada su función antagonizada. En primavera y verano, la pineal, se encuentra muy

desarrollada, lo que debería interpretarse como una franca actividad antigonádica, sin embargo, al observar espermatozoides en todo el año, podemos sugerir que la pineal pudiera tener también una actividad progonádica (Gern, y cols., 1987) en algunos individuos que se reproducen fuera de la época destinada a ello. Estos resultados indican que la morfofisiología de la pineal es más plástica de lo que se ha postulado. Se ha reportado que la melatonina exhibe una actividad inhibitoria o excitatoria en el sistema reproductor de los anfibios (Filadelfi y Castrucci, 1996).

#### V.4 Eje endocrino

Dados los resultados encontrados, podemos proponer que la integración del eje endocrino gonadal pudiera ser de la siguiente manera: las condiciones ambientales (precipitación, temperatura ambiental y fotoperíodo) están influyendo activamente en el estado endocrino de *Ambystoma tigrinum*, y marcan dos épocas en el año, una época (mayo - septiembre) de mayor temperatura ( $T^{\circ}C$ ), precipitación (pp) y fotoperíodo; y una época (octubre - abril) de menor  $T^{\circ}C$ , pp y fotoperíodo. En la época cálida del año se están almacenando recursos energéticos para la ganancia de biomasa (el IHS muestra en estas épocas valores del  $8.9 \pm 1.7$  y  $6.3 \pm 0.2$ ) lo que indica que se están acumulando reservas en el hígado.

En esta época, las interacciones que se incrementan son entre: pineal-tiroides, testículo-pineal y testículo-hipófisis; en menor medida entre la hipófisis-pineal; las interacciones que disminuyen son: hipófisis-tiroides y testículo-tiroides.

En la época fría del año aumenta la interacción testículo-hipófisis y disminuyen las demás: la pineal y la tiroides experimentaron un decremento gradual de los parámetros morfológicos indicativos de actividad funcional.

Como puede observarse la única interacción que permanece durante la mayor parte del año es la de la hipófisis y el testículo; por otro lado puede observarse que es en la época cálida del año donde se dan las mayores interacciones y disminuyen durante la época fría (fig 11).

El IGS presenta un mayor valor en el otoño, y en esta misma estación se observó la mayor área de las células gonadótropas; y las glándulas pineal y tiroides presentaron una disminución gradual de los parámetros morfológicos indicativos de actividad.

En la fig. 13 se presenta una propuesta esquemática del funcionamiento endocrino de *Ambystoma tigrinum*.

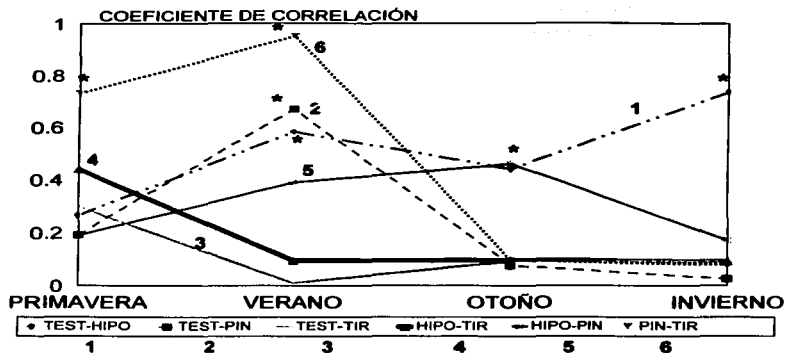


Fig. 11. Interacción entre las diferentes glándulas en las diferentes estaciones del año. Notación: TEST-HIPO, interacción testículo-hipófisis; TEST-PIN, testículo-pineal; TEST-TIR, testículo-tiroides; HIPO-TIR, hipófisis-tiroides; HIPO-PIN, hipófisis-pineal; PIN-TIR, pineal-tiroides. \*: diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

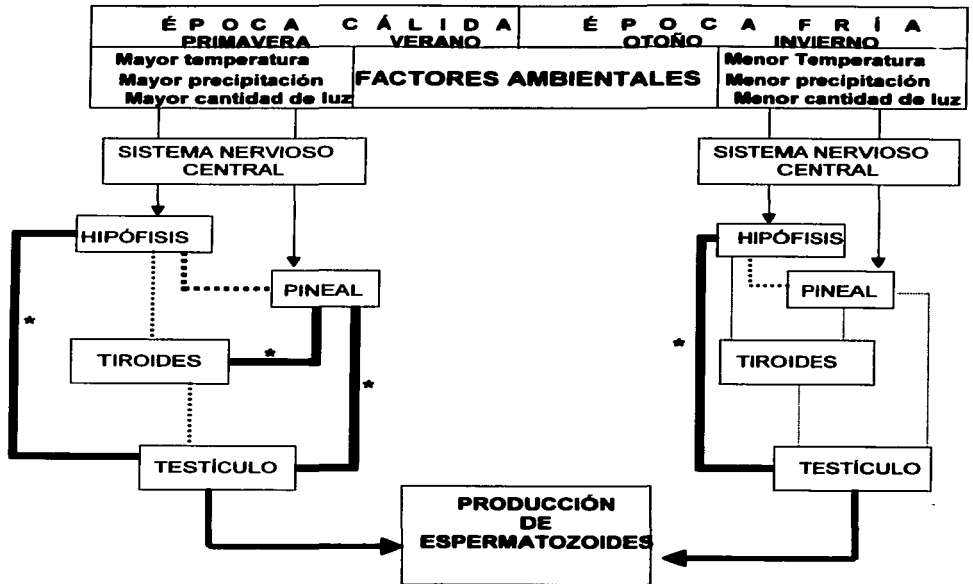


Fig. 13. Propuesta de las interacciones entre las glándulas en las épocas cálida y fría del año en *Ambystom tigrinum*. \*, correlaciones estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).  
Notación:

- Mayor interacción > 50% ( $p < 0.05$ )
- ..... Menor interacción < 50%
- ..... Poca interacción > 25%
- ..... Mínima interacción 0-25%

TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN

### V.5 Correlación

El análisis de correlación, nos permite ver de una manera más integrada el funcionamiento del eje endocrino, y señalar que es en el otoño donde existe el mayor gasto reproductor, sin embargo la potencialidad reproductora se conserva durante todo el año, los coeficientes de correlación hipófisis-testículo son de 0.264, 0.583, 0.44 y 0.73, en primavera, verano, otoño e invierno respectivamente y el promedio anual es del 63%, lo que indica que no existe una correlación significativa, por lo que es posible que la influencia de la hipófisis sobre la gónada tienda a ser constante a lo largo del año.

La pineal presenta una correlación con el testículo de 0.67 en verano, lo que apoya la sugerencia de una actividad pineal progonádica en la época cálida del año.

Como puede observarse, son escasos los resultados significativos al correlacionar el testículo con cada una de las glándulas endocrinas analizadas en cada una de las estaciones del año, lo que sugiere que la actividad espermatogénica obedece mas a un patrón continuo que a uno estacional.

Al correlacionar entre sí las otras glándulas, el único resultado que destaca es el elevado coeficiente de correlación entre las glándulas pineal y tiroides en primavera-verano (0.73 y 0.95 respectivamente), lo cual pudiera estar relacionado con actividades locomotoras y metabólicas asociadas con el funcionamiento pineal y tiroideo (Edwards y Pivorun 1991; Chiba y cols. 1995).

## VI. CONCLUSIONES

- La Laguna de Totolcingo, Tlax. presenta dos patrones ambientales en cuanto a precipitación y temperatura se refiere, primavera - verano y otoño - invierno.
- Los machos neoténicos de *Ambystoma tigrinum* de la Laguna de Totolcingo, Tlax. no presentan un ciclo reproductor anual típico característico del género *Ambystoma*.
- La mayor actividad testicular representada por el IGS se presenta en el otoño, pero la presencia de espermatozoides durante todo el año, sugiere que la actividad testicular es constante, con un pico en el otoño.
- El número de células gonadótropas no varió durante el año, pero presentaron mayor actividad también en el otoño.
- La glándula pineal y la tiroides presentaron su mayor actividad en primavera y la menor en invierno, con un decremento gradual en su actividad conforme avanzó el año.
- El verano es la estación donde hay menor "actividad" reproductora.

**VII. LITERATURA CITADA**

- Armstrong, J. B. 1989. Spermatogenesis. In: **Developmental Biology of the Axolotl**. Eds. Armstrong, J. B. and G. M. Malacinski. Oxford Univ. Press. New York, USA. 320 pp.
- Andersen, A. C.; M. C. Tonon; G. Pelletier; J. M. Conlon; A. Fasolo and H. Vaudry. 1992. Neuropeptides in the Amphibian Brain. **Int. Rev. Cytol.** 138: 89-210.
- Brandon, R. A. 1970. Size range, size at maturity and reproduction of *Ambystoma (Bathysiredon) dumerilii*. (Dugès), a Paedogenic mexican salamander endemic to Lake Patzcuaro, Michoacán. **Copeia**, 1970: 385-388.
- Brandon, R. A. 1989. Natural History of the Axolotl and its Relationship to Other Ambystomatid Salamanders. In: **Developmental Biology of the Axolotl**. Eds. Armstrong, J.B. y G. M. Malacinski. Oxford Univ. Press. New York, USA. 320 pp.
- Brattstrom, B. H., 1968. Thermal acclimation in anuran amphibians as a function of latitude and altitude. **Com. Biochem. Physiol.** , 24: 93-111.



- Conant, R. 1986. **A Field Guide to reptiles and Amphibians. Eastern and Central North America.** Houghton Mifflin, Boston, U.S.A. 429 pp.
- Conant, R., and J. T. Collins. 1991. **A Field Guide to the Reptiles and Amphibians: Eastern and Central North America.** 3d ed. Houghton Mifflin, Boston, MA.
- Chiba A, K. Kikuchi, K. Aoki. 1995. Entrainment of the Circadian Locomotor Activity Rhythms in the Japanese Newt by Melatonin Injections. **J. Comp. Physiol. A.** 176: 473-477.
- Does, R. M.; J. C. Meza; L. H. Schenk; J. A. Carr and D. O. Norris. 1989. Detection of Adenocorticotropin-Related and  $\alpha$ -Melanocyte-Stimulating Hormone-Related Substances in the Anterior Pituitary of Larval and Adult *Ambystoma togrinum* (Class: Amphibia). **Endocrinol.** 124 (2): 1007-1016.
- Duellman, W. E. and L. Trueb. 1986. **Biology of the Amphibians.** McGraw-Hill. New York. U.S.A. 670 pp.
- Edwards, M. L. O., E. Pivorun. 1991. The Effects of Photoperiod and Different Dosages of melatonin on Metaamorphic rate and weight gain in *Xenopus laevis* tadpoles. **Gen. Comp. Endocrinol.** 81: 28-38.

- Filadelfi, A. M. and A. M. Castrucci. 1996. Comparative aspects of the pineal/melatonin sytem of poikilothermic vertebrates. **J. Pineal Res.** 20(4): 175-186.
- Fox, H. 1983. **Amphibian Morphogenesis.** Humana Press. New Jersey, USA. Pp. 61-73.
- Gern, W. A. and D. O. Norris, 1979. Plasma melatonin in the neotenic tiger salamander (*Ambystoma tigrinum*): Effects of Photoperiod and Pinealectomy. **Gen. Comp. Endocrinol.** 38: 393-398.
- Gern, W. A., D. O. Norris and D. Duvall. 1983. The effects of light and temperature on plasma melatonin in neotenic salamander (*Ambystoma tigrinum*) **J. Herpetol.** 17: 228-234.
- Gern, W.A. , J. M. Nervina and S. S. Greenhouse. 1987. Pineal involvement in Seasonality of reproduction. En: **Hormones and Reproduction In Fishes, Amphibias and Reptiles.** Ed. D. O. Norris and R. E. Jones. Plenum Publishing Corporation. New York. USA. pp. 433-460.
- Hadley, M. E. 1996. **Endocrinology.** Prentice Hall, U.S.A. 518 pp.

- Harte, J. and E. Hoffman, 1989. Possible Effects of acidic deposition on a Rocky Mountain population of the tiger salamander, *Ambystoma tigrinum*. **Conserv. Biol.** , 3: 149-158.
- Hiriart, M. 1998. Mensajeros químicos y regulación neuroendocrina. En: **Biología Funcional de los Animales**. Eds. M. L. Fanjul, M. Hiriart y F. Fernández de Miguel. Siglo XXI. México. pp 209-277.
- Hoffmann, K. 1981. Photoperiodism in Vertebrates. En: **Handbook of Behavioral Neurobiology Vol. 4 Biological Rhythms**. Ed. J. Aschoff. Plenum Press. New York. USA. 449-475.
- I.N.E.G.I. 1993. **Tlaxcala. Anuario Estadístico de Tlaxcala**. México. 6p.
- Jameson, E. W., Jr. 1988. **Vertebrate Reproduction**. Wiley Interscience Publ. U.S.A. 526 pp.
- Jørgensen, C. B. 1974. Integrative Functions of the Brain. In: **Physiology of the Amphibia. II** Ed. B. Lofts. Academic Press. New York. USA pp. 1-51.
- Jørgensen, C. B. 1988. The role of endogenous factors in seasonal maturation in temperate zone female toads, *Bufo bufo*. **Jour. Herp.** 22: 295-300.

- Kelly, D. 1965. Ultrastructure and development of Amphibian pineal organ. **Prog. Brain Res.** 10: 270-287.
- Korf H. W. 1976. Histological, Histochemical and Electron Microscopical Studies on the Nervous Apparatus of the Pineal Organ in the Tiger Salamander *Ambystoma tigrinum*. **Cell & Tissue Research.** 174 (4): 475-497.
- Leatherland, J. F. 1987. Thyroid Hormones and reproduction. In: **Hormones and reproduction In Fishes, Amphibians and Reptiles**. Ed. D. O. Norris and R. E. Jones. Plenum Publishing Corporation. New York. USA pp. 411-431.
- Licht, P. and D. A. Porter, 1987. Role of Gonadotropin-Releasing Hormone in Regulation of Gonadotropin secretion from Amphibian and Reptiles Pituitaries. In: **Hormones and Reproduction In Fishes, Amphibians and Reptiles**. Ed. D. O. Norris and R. E. Jones. Plenum Publishing Corporation. New York. USA. Pp. 62-80.
- Licht, P., D. Porter and R. P. Millar, 1987. Specificity of Amphibian and Reptilian Pituitaries for Various Forms of Gonadotropin-Releasing Hormones *in Vitro*. **Gen. Com. Endocrinol.**, 66: 248-255.

- Licht, P. 1990. Hypotalamo-Pituitary Axes and Feedback Control in Amphibians and Reptiles. **J. Exp. Zool.** Supl. 4: 159-160.
- Lofts, 1984. Amphibians. In: **Marshall's Physiology of Reproduction Vol. 1 Reproductive Cycles of Vertebrates**. Ed. G. E. Lamming; Ch. Livingy. U.S.A. pp. 127-205.
- Maestroni, G. J. M. 1993. The Immunoneuroendocrine Role of Melatonin. **J. Pineal Res.** 14: 1-10.
- Mazzi, V. and C. Vellano. 1987. Prolactin and Reproduction. In: **Hormones and reproduction In Fishes, Amphibians and Reptiles**. Ed. D.O. Norris and R.E. Jones. Plenum Publishing Corporation. New York. USA Pp. 87-115.
- Marshall , P. T. and G. M. Hughes, 1980. **Physiology of mammals and other vertebrates**. Cambridge University Press. U.S.A. 343 pp.
- Matz, G. y M. Vanderhaege, 1979. **Guía del Terrario, Técnica/Anfibios/Reptiles**. Omega. Barcelona, España. 338 pp.

- Méndez de la Cruz, F. R. 1989. Estudio comparativo de la reproducción, tipología y aloenzimas de dos poblaciones cercanas de *Sceloporus gramicus* (Reptilia: Iguanidae) de la sierra del Ajusco, México. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. UNAM. México. 90p.
- Miller, P. C. 1994. Ontogenia y Estructura de la Glándula Hipófisis de *Ambystoma tigrinum* a lo largo de un ciclo anual. Tesis Licenciatura. Facultad de Ciencias, U.N.A.M., México, D.F. 50 pp
- Miltner, M. J. and J. B. Armstrong. 1983. Spermatogenesis in the Mexican Axolotl, *Ambystoma mexicanum*. **J. Exp. Zool.** 227: 255-263.
- Moore, F. L. and L. J. Miller, 1984. Stress induced inhibition of sexual behaviour: Corticosterone inhibits courtship behaviours of male amphibian. **Horm. Behav.** 18:400-410.
- Montaña, A. J. 1995. Estructura de la Glándula Tiroidea en los Estadios Larvales y Adultos de *Ambystoma tigrinum* Durante un Ciclo Anual. Tesis Licenciatura. Facultad de Ciencias, U.N.A.M., México, D.F. 58 pp
- Montero, R. y A. Pisanó. 1990. Ciclo Espermatogénico de dos especies de *Telmatobius* del Noreste Argentino. **Amphibia-Reptilia.** 11: 97-110.

- Norman, F. M. and Norris, D. O. 1987. Effects of metamorphosis and captivity on the *in vitro* Sensitivity of Thyroid gland from the tiger salamander *Ambystoma tigrinum* to bovine thyrotropin. **Gen. Comp. Endocrinol.** 67:77-84.
- Norris, D. O., M. F. Norman; M. K. Pancak and D. Duvall. 1985. Seasonal Variations in Spermatogenesis, Testicular Weights, Vasa Deferentia, and Androgen Levels in Neotenic Male Tiger Salamanders, *Ambystoma tigrinum*. **Gen. Comp. Endocrinol.** 60: 51-57.
- Paniagua, G. A. R. Y M. Nistal. 1983. **Introducción a la histología animal comparada.** Labor Universitaria. España. 483 pp.
- Pisanó, A. y F. D. Barbieri. 1977. **Anatomía Comparada de los Vertebrados.** Ed. Unversitaria de Buenos Aires. Argentina. 336 pp.
- Randall, D.; W. Burggren and K. French. 1997. **Eckert Animal Physiology Mechanism and Adaptations.** W.H. Freeman and Co. New York. 727 pp.
- Rastogi, R. K. 1980. Importance of external factors in annual testicular cycles in anuran amphibian. **Gen. Comp. Endocrinol.** 40: 309-310.

- Rastogi, R. K., L. Iela; P. K. Saxena and G. Chieffi, 1976. The Control of Spermatogenesis in the Green Frog, *Rana esculenta*. **J. Exp. Zool.** 196: 151-166.
- Rodríguez, G. M. 1992. **Técnicas de evaluación cuantitativa de la madurez gonádica en peces.** AGT Editor, México. 79 pp.
- Routman, E. 1993. Population structure and genetic diversity of metamorphic and paedomorphic populations of tiger salamander *Ambystoma tigrinum*. **Journal of evolutionary Biology.** 6:359-357.
- Salthe, S. N. and J. S. Mecham. 1974. Reproductive and courtship patterns. En: **Physiology of the Amphibia.** Ed. B. Lofts. Academic Press. New York. USA Pp 309-521.
- Shaffer, H. B. 1993. Systematics of model organisms: the laboratory axolotl, *Ambystoma mexicanum*. **Systematic Biology.** 42: 508-522.
- Shaffer, H. B. and M.L. McKnight. 1996. The polytypic species revisited: Genetic Differentiation and Molecular Phylogenetics of the tiger salamander *Ambystoma tigrinum* (Amphibia:Caudata) Complex. **Evolution.** 50 (1) 417-433.



- Shepherd, G. M. 1994. **Neurobiology**. Oxford University Press. U.S.A. 760 pp.
- Shi, Y-B. 2000. **Amphibian Metamorphosis**. Wiley and Sons. U. S. A. 288 pp.
- Stebbins, R. C. 1985. **A field guide to western reptiles and amphibians**, 2d ed., rev. Houghton Mifflin, Boston, MA.
- Stebbins, R. C. and N. W. Cohen, 1995. **A Natural History of Amphibians**. Princeton Univ. Press. New Jersey. U.S.A. 316 pp.
- Uribe, M. C. A. G. G. Rios y C. L. Arriaga S. 1991. Cambios morfológicos del testículo de *Ambystoma dumerilii* durante un ciclo anual. **Bol. Soc. Herpetol. Mex.** 3:13-18.
- Uribe, M. C. A.; G. G. Rios and R. A. Brandon. 1994. Spermatogenesis in the Urodele *Ambystoma dumerilii*. **J. Morphol.** 222: 287-299.
- Warburg, M. R. 1997. **Ecophysiology of Amphibian Inhabiting Xeric Environments**. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Germany 182 pp.
- Werner, J. K. 1969. Temperature-Photoperiod effects on spermatogenesis in the Salamander *Plethodon cinereus*. **Copeia**. 1969: 592-602.

- Whitter, J. M. and D. Crews. 1987. Seasonal Reproduction: Patterns and Control. En: **Hormones and Reproduction in Fishes, Amphibians, and Reptiles**. Plenum Press, New York. U.S.A. 385-409 pp.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN