

00377

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO



**POSGRADO EN CIENCIAS
BIOLÓGICAS**

FACULTAD DE CIENCIAS

**CAMBIOS CICLICOS ESTACIONALES DEL APARATO REPRODUCTOR
MASCULINO Y DEL COMPLEJO GLANDULAR CLOACAL DEL ANFIBIO
CAUDADO *Ambystoma dumerilii*, ESPECIE ENDEMICA NEOTENICA DEL
LAGO DE PATZCUARO, MICH.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGIA EXPERIMENTAL)**

**P R E S E N T A
VICTOR ANTONIO MEJIA ROA**

**DIRECTORA DE TESIS
DRA. MARIA DEL CARMEN URIBE ARANZABAL**

MEXICO, D. F.

DICIEMBRE, 2004



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.



POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS COORDINACIÓN

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 16 de agosto del 2004, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el examen de grado de Maestría en Ciencias Biológicas (Biología Experimental) del(a) alumno(a) **Mejía Roa Víctor Antonio**, con número de cuenta 88173339 con la tesis titulada: **"Cambios Cíclicos Estacionales del Aparato Reprodutor Masculino y del Complejo Glandular Cloacal del Anfibio Caudado *Ambystoma dumerilii*, Especie Endémica Neoténica del Lago de Pátzcuaro, Mich."**, bajo la dirección del(a) **Dra. María del Carmen Uribe Aranzábal**.

Presidente:	Dra. Maricela Villagrán Santa Cruz
Vocal:	Dr. Gustavo Casas Andreu
Secretario:	Dra. María del Carmen Uribe Aranzábal
Suplente:	Dr. Aurelio Ramírez Bautista
Suplente:	Dra. Gabriela Parra Olea

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F. a, 25 de octubre del 2004


Dr. Juan José Morrone Lupi
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente del interesado

Hago un reconocimiento y agradezco el apoyo brindado al CONACYT para la realización de esta tesis, mediante el otorgamiento de la beca # 158333.

Igualmente agradezco a los miembros del Comité Tutorial, formado por

Dra. María del Carmen Uribe Aranzábal

Dr. Aurelio Ramírez Bautista y

Dr. Gustavo Casas Andréu

por su supervisión y apoyo en la realización del proyecto de investigación que presento en esta tesis.

Besar el fuego, abrazar el mar; el deseo no se equivoca, no miente jamás, esta pasión se desborda en ti. La luna llena es la oportunidad, cómplice cuando te invoca; ser viento del sur, romper la tristeza, engañar al azar; naces para vivir, semilla, latido, corazón de abril, sí... sigue siendo así. En la cuerda floja de la soledad, único dueño de ti; eres blanco contra gris, ese es el precio de ser feliz; ni ayer ni porvenir; sueñas despierto, prohibido prohibir, sí... sigue siempre así, sí... libertad sin fin; sí, ¿quién vivirá por ti?

Casal

Dedicatoria

a Victoria Roa López y Cristóbal Mejía Hernández

Agradecimientos

a María del Carmen Uribe, Maricela Villagrán, Gustavo Casas, Aurelio Ramírez, Gabriela Parra; a

Ruth, Nancy, Gladis, Miriam, Julio, Patricia, América, Cristóbal, Karen; y a

Karla, Pola, Ingrid, Susana, Quique, Juan, Vicky, Beto, Aldo, Luisa, Alejandro, Ameriquita, Mariana, Karina, Mario, Erica, Carlos, Lalo, Manuel, a

Minerva Bautista, Rocío López, Eva González, Miguel Verde, Martha Márquez, Virginia Garibay, José Luis Rosales, Fernando Villegas, Irma González, Adriana García, Gabino de la Rosa, Norma Manríquez, Sandra Guerrero, Patricia Rivas, Luz María Lazcano. María Lucrecia Trejo, María Elena Calderón, Gerardo Gómez, Marcela E. Aguilar Morales, Juana Hernández; a

Laboratorio de Biología de la Reproducción Animal, a la Facultad de Ciencias, a la UNAM, al Conacyt

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Biología de la Reproducción Animal a cargo de la Dra. María del Carmen Uribe Aranzábal de la Facultad de Ciencias de la UNAM

INDICE

I. INTRODUCCION	1
I.1 Características Generales de Anfibios Caudados	1
I.2 Reproducción en Anfibios Caudados	2
I.2.1 Anatomía del Aparato Reproductor	4
I.2.2 Espermatogénesis	4
I.2.3 Características de las Células Germinales	7
I.2.4 Tejido Intersticial	9
I.2.5 Complejo Glandular Cloacal	10
I.3 Fertilización en Caudados	12
II. ANTECEDENTES	14
II.1 Clasificación Taxonómica	14
II.2 Características de la Anatomía Externa de <i>A. dumerilii</i>	14
II.3 Neotenia	14
III. PLANTEAMIENTO DEL TEMA	16
IV. OBJETIVOS	18
IV.1 Objetivo General	18
IV.2 Objetivos Particulares	18
V. MATERIAL Y METODO	18
V.1 Trabajo de Campo	18
V.2 Trabajo de Laboratorio	19
VI. AREA DE ESTUDIO	20
VII. RESULTADOS	22
VII.1 Descripción de la Anatomía del Aparato Reproductor Masculino de <i>A. dumerilii</i>	22
VII.2 Descripción de la Estructura Microscópica del Aparato Reproductor de <i>A. dumerilii</i>	22
VII.2.1 Características Histológicas del Avance de la Espermatogénesis y del Tejido Intersticial	22
VII.2.2 Cambios Estacionales del Avance de la Espermatogénesis y del Tejido Intersticial	23
VII.3 Conductos del Sistema Reproductor Masculino	27
VII.4 Complejo Glandular Cloacal	27
VII.4.I Morfología del Complejo Glandular Cloacal	27
VIII. DISCUSION	61
IX. CONCLUSIONES	68
X. BIBLIOGRAFIA	70

RESUMEN

En el presente trabajo, se analizan aspectos de la biología del aparato reproductor masculino del ajolote *Ambystoma dumerilii*; especie endémica del lago de Pátzcuaro, Michoacán, mediante el análisis histológico de las células germinales, del tejido intersticial y del complejo glandular cloacal, a través del ciclo anual.

El interior de los testículos de *A. dumerilii* está formado por lobulillos que contienen células germinales en quistes sincrónicos. En sentido cefalocaudal, las células germinales están en una etapa similar de desarrollo. Hacia el final del ciclo reproductivo, los espermatozoides son expulsados y sólo las células de Sertoli permanecen en el lobulillo, éstas pronto se hipertrofian, cambiando a formas irregulares. La regeneración de los lobulillos y el reinicio de la espermatogénesis da inicio al siguiente ciclo reproductor.

En los testículos de los machos de *A. dumerilii*, la conformación histológica del tejido intersticial, que contiene a las células intersticiales esteroideogénicas o células de Leydig, varía de acuerdo con las fases del ciclo espermatogénico. El mayor desarrollo de este tejido está relacionado con las fases tardías de la espermatogénesis o con la espermiación. Durante los estadios iniciales de la espermatogénesis, las células de Leydig son de forma alargada y muy delgadas. Estas células se incrementan en número con el avance de la espermatogénesis, cuando los espermatozoides comienzan a ser desalojados del lobulillo; posteriormente, se tornan de forma irregular, incrementan su tamaño y acumulan secreciones. Las células de Leydig hipertrofiadas, son el resultado de una modificación temporal de las células estromáticas que se desarrollan en asociación con lobulillos espermatogénicos en regresión. Más tarde, hacia el cierre del ciclo reproductivo anual, las células de Leydig cambian de forma, disminuyen de diámetro y sus núcleos se tornan picnóticos.

En *A. dumerilii*, el complejo glandular cloacal está directamente relacionado con los eventos fisiológicos de la espermatogénesis y el desarrollo del tejido intersticial. El complejo glandular produce secreciones que forman parte del espermatóforo, estructura que contendrá y transportará a los espermatozoides hacia el medio externo. Así, el complejo se ve directamente afectada por los cambios que suceden en el testículo y se desarrolla de

manera paralela con otras estructuras del organismo como los conductos deferentes o de Wolff y con las glándulas adyacentes al riñón.

I. INTRODUCCION

I.1 Características Generales de Anfibios Caudados

Ambystoma dumerilii es un anfibio caudado endémico de México, perteneciente a la fauna del Eje Neovolcánico Mexicano; habita en el lago de Pátzcuaro, en el estado de Michoacán, y forma parte de un conjunto de 18 especies de caudados que vive a lo largo de este Eje (Smith y Smith, 1969) (Fig. 1). Esta especie tiene gran interés biológico debido a su condición neoténica; esto es, en ella no se lleva a cabo la metamorfosis, por lo cual, toda su vida, y en consecuencia, su reproducción, ocurren en condición acuática y en estadio larvario. De manera similar a lo que ocurre en el resto de los caudados, la fecundación es interna, carácter que implica adaptaciones específicas en los espermatozoides, desde la forma de espermiación hasta su salida al exterior del cuerpo (Baker, 1965; Duellman y Trueb, 1989).

En nuestro país, las especies del género *Ambystoma* son conocidas popularmente con el nombre de ajolotes (axolotl), palabra de origen náhuatl, que significa “monstruo de agua”. Desde épocas prehispánicas han tenido gran aprecio por parte de las poblaciones humanas cercanas a sus hábitats. Los ajolotes han sido vinculados con varios usos; utilizándose principalmente como alimento, considerado como un platillo de gran valor. Igualmente son ampliamente conocidas sus propiedades curativas en el humano, en particular en el tracto respiratorio, aplicándose en forma de jarabes y elixires (Smith y Taylor, 1948).

Durante los últimos treinta años varias especies de ajolotes han disminuido considerablemente sus poblaciones (Duellman y Trueb, 1989). Esta reducción se debe principalmente a la destrucción de sus hábitats naturales; esto se ve mayormente reflejado en especies endémicas como es el caso de *A. dumerilii* (Armstrong, 1989; Joly et al., 1994, Huacuz, 2001). La legislación internacional a través de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Flora y Fauna Silvestres [CITES], apéndice II (Internet, CITES, 2004) otorga protección a esta especie enlistada como *especie amenazada*. Mientras que la legislación nacional, según la NOM-ECOL-059-2003 le otorga el grado de *especie sujeta a protección especial* (Internet, CONABIO, 2004).

La pérdida mundial de especies de anfibios podría tener un impacto importante en otros organismos. Los anfibios son componentes integrales de ecosistemas muy diversos; son principalmente carnívoros que se ubican en la cadena trófica como grandes consumidores de invertebrados, especialmente de insectos. Su disminución generalizada puede ocasionar serios problemas ambientales. Por razones morfofisiológicas, los anfibios encuentran grandes dificultades para permanecer en su hábitat; ya que sus movimientos se hallan restringidos por necesidades de termorregulación y por el peligro de la desecación corporal (Joly et al., 1994).

Las principales causas de la disminución de la población de ajolotes para el caso particular del lago de Pátzcuaro, son la sobreexplotación que se ha hecho del recurso a través de los años por su uso como alimento y por sus propiedades curativas, así como por el deterioro ecológico del lago (Smith y Taylor, 1948; Huacuz, 2001).

En comparación con otros vertebrados pequeños como reptiles, aves o pequeños mamíferos, los anfibios se desplazan a velocidades y distancias menores. El ámbito hogareño (área en la que un animal lleva a cabo normalmente sus movimientos de búsqueda de alimento o de pareja, y en la cual cuida a sus crías) de pequeños mamíferos, como roedores, abarca varias hectáreas (Lofts, 1984), al igual que el de serpientes (Rastogi e Iela, 1992), o lagartijas, los cuales se pueden trasladar en áreas de kilómetros cuadrados (Duellman y Trueb, 1989). En cambio, el ámbito hogareño de los caudados está entre 0.02 y 0.20 Km² (Norris, 1997).

Asimismo, muchas especies de anfibios, al igual que otros vertebrados, muestran gran fidelidad al sitio retornando a su lugar original después de haberse desplazado de él (Houck, 1977). La restricción de sus movimientos, su fidelidad al sitio y las limitaciones morfofisiológicas representan grandes dificultades en la recolonización a corto plazo por parte de este grupo animal.

I.2 Reproducción en Anfibios Caudados

El estudio de la reproducción en el mundo animal es de suma importancia, ya que este proceso natural es el medio por el cual, las especies se multiplican y dejan descendencia, manteniendo sus poblaciones o colonizando hábitats de generación en generación. Así, la reproducción es un proceso fundamental de los seres vivos (Duellman y Trueb, 1989).

Los caudados exhiben varios patrones reproductivos. Los ajolotes inician su actividad reproductora en respuesta a las lluvias, al incremento en la temperatura y a los cambios en el fotoperíodo, factores que definen los controles hormonales. En zonas templadas, la reproducción es cíclica o estacional, excepto para algunas especies reproductoras oportunistas de áreas de lluvias erráticas (inciertas) como *Hydromantes italicus* e *H. shastae*. Un patrón reproductivo predominante para ajolotes es aquél en que la espermatogénesis y la ovogénesis son completadas en otoño-invierno, temporada en la cual, los animales pueden hibernar hasta que las condiciones ambientales sean las óptimas para continuar los procesos reproductivos en la primavera. Posteriormente, la oviposición y la espermiación ocurren en la primavera o al inicio del verano (Pudney y Callard, 1981; Norris et al., 1985; Armstrong, 1989; Joly et al., 1994).

En zonas templadas la temperatura juega un papel importante en la regulación de los ciclos reproductores de anfibios, pero el efecto disparador de las lluvias sobre los individuos adultos, a menudo es también definitivo, y puede ayudar a sincronizar los eventos reproductivos (Duellman y Trueb, 1989; Romo et al., 1996).

En las zonas tropicales, sin embargo, aunque algunas especies son cíclicas, la mayoría de ellas se reproduce continuamente, o bien, en la máxima temporada de lluvias. Houck (1977), describió especies de ajolotes tropicales (*Dendrotriton bromeliacia*, *Hydromantes shastae*, *Pseudoeurycea rex*) con esperma viable y fisiológicamente preparados para el cortejo en cualquier época del año. Sin embargo, en estas especies y en la mayoría de los anfibios coincide la época de nacimiento de las crías con las mejores condiciones ambientales y la abundancia de alimento para incrementar sus posibilidades de sobrevivencia (Tso y Lofts, 1977; Lofts, 1984; Armstrong, 1989; Norris, 1997).

En algunas especies de caudados, el patrón reproductivo es similar al de anuros, donde la espermatogénesis ocurre en julio-agosto, poco antes del apareamiento en septiembre-octubre; en otras especies, los machos transfieren los espermatozoides a las hembras en el otoño o invierno, y la oviposición y la fertilización ocurren en la siguiente primavera cuando los machos ya no están presentes o están fuera de época reproductiva (Russell et al., 1981). Los individuos hembras y machos pueden reproducirse más de una vez en su vida; de 1 a 6 veces en promedio (Pudney, 1995).

I.2.1 Anatomía del Aparato Reproductor

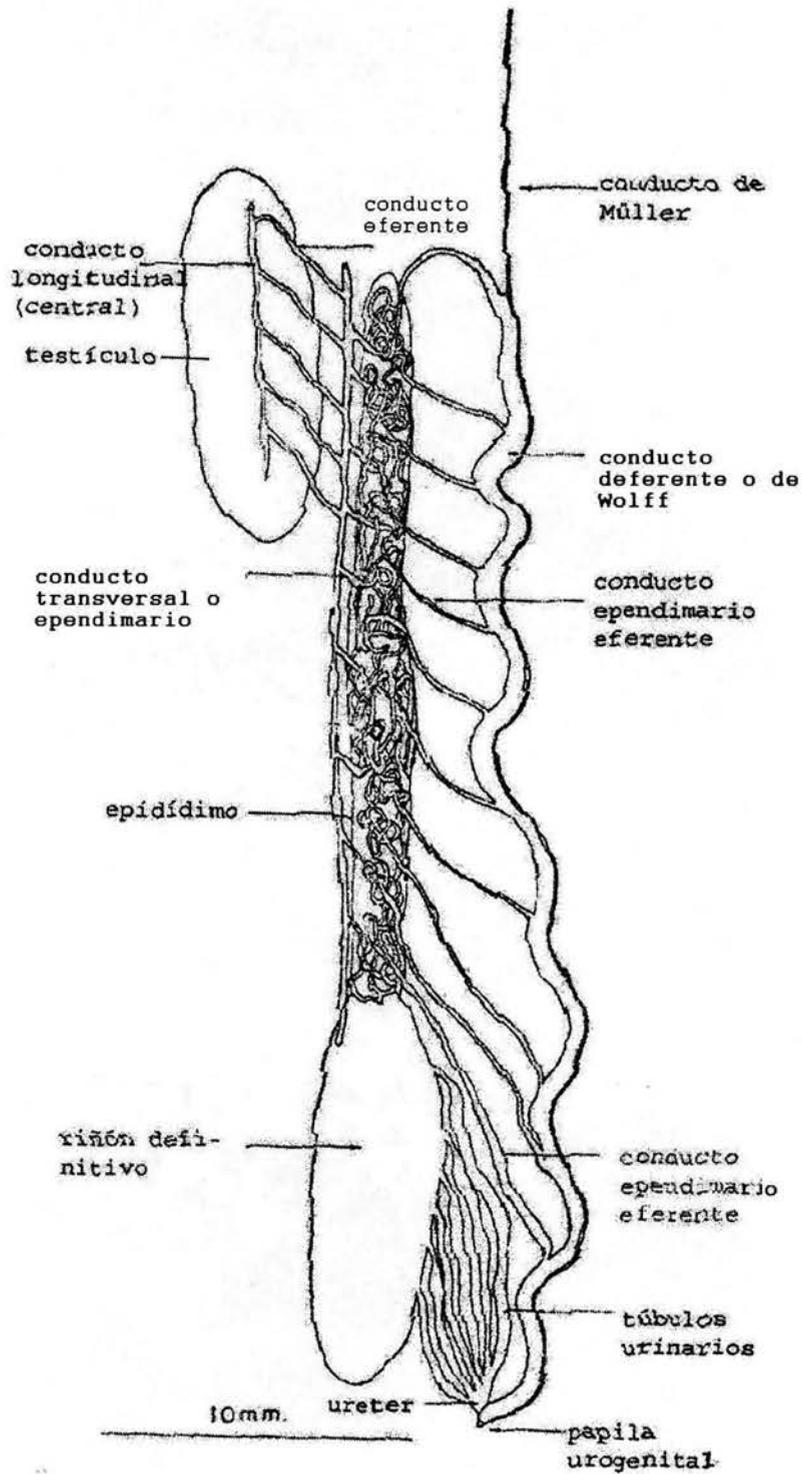
El aparato reproductor masculino en anfibios caudados se compone de: 1) un par de testículos elongados y paralelos que se encuentran unidos a la pared dorsal del cuerpo en posición retroperitoneal mediante el mesenterio dorsal o mesorquio; están cubiertos por la túnica albugínea y carecen de pigmentación; 2) el sistema de conductos eferentes; 3) los conductos transversales también llamados epidídimo; 4) el conducto de Wolff, que es paralelo al testículo (Baker y Taylor, 1964; Bergmann, 1994) y 5) el complejo glandular cloacal, contenido en la cloaca. Los cuerpos grasos están situados paralela y ventralmente a los testículos (Bergmann, 1994) (Esquema 1).

Morfológicamente, durante el ciclo reproductivo anual, los testículos muestran cambios estacionales muy evidentes, en los que se observa diversas etapas: 1) recrudescencia o activación, 2) máxima actividad espermatogénica, 3) espermiación, y 4) regresión. En cada una de estas etapas del ciclo anual, se observan variaciones en la abundancia y actividad de sus tipos celulares somáticos y germinales (Baker y Taylor, 1964; Moore, 1975; Lazard, 1979; Bergman et al., 1983; Shindelmeiser et al., 1985; Uribe et al., 1991).

I.2.2 Espermatogénesis

Diversos autores han observado y descrito la espermatogénesis en caudados (Humphrey, 1921; Carrick, 1934; Moore, 1975; Houck, 1977; Tanaka e Iwasawa, 1979; Miltner y Armstrong, 1983; Pudney et al., 1983; Pudney y Callard, 1984; Gómez-Ríos, 1989; Duellman y Trueb, 1989; Uribe et al., 1991, 1994; Uribe, 2001, 2003) y han coincidido en la descripción de diversas características morfológicas de este proceso. Los testículos de los caudados muestran espermatogénesis longitudinal, en lobulillos y quística. Características que se describen a continuación.

a) **Longitudinal.** La espermatogénesis en caudados se lleva a cabo en zonas sucesivas a lo largo del eje cefalocaudal del testículo. Existe sincronía por zonas del testículo; de manera que en una zona particular, todos los quistes al interior de los lobulillos están aproximadamente en el mismo estadio; esta disposición recibe el nombre de zonación. Hacia la zona cefálica externa del testículo están presentes estadios tempranos de la espermatogénesis, mientras que en la zona caudal e interna están presentes estadios más



Esquema 1. Anatomía del sistema urogenital masculino del género *Ambystoma*.

avanzados. En consecuencia, la región cefálica del testículo contiene espermatogonias primarias y secundarias, listas para continuar el proceso espermatogénico que se encuentra más avanzado en la zona caudal (Lofts, 1974; Moore, 1975; Miltner y Armstrong, 1983; Pudney et al., 1983; Norris et al., 1985; Schindelmeiser et al., 1985; Uribe et al., 1994). Esta distribución define una clara zonación en la distribución de las células germinales al interior de los testículos; difiriendo de los testículos de vertebrados amniotas que cuentan con espermatogénesis radial y tubular.

b) en **Lobulillos**. Los lobulillos espermatogénicos son estructuras que se encuentran al interior de los testículos; los lobulillos están conectados con el conducto de Wolff o con una de sus grandes ramificaciones, mediante los conductos eferentes. Cada lobulillo está separado de un lobulillo vecino por trabéculas de tejido conjuntivo, en el que se encuentran células de Leydig tempranas, fibras reticulares, fibras elásticas, vasos sanguíneos y matriz extracelular (Humphrey, 1921; Carrick, 1934; Moore, 1975; Miltner y Armstrong, 1983; Uribe et. al., 1991).

c) **Quística**. Las células germinales se encuentran al interior de quistes y se desarrollan sincrónicamente, y éstos a su vez, se desarrollan al interior de los lobulillos espermatogénicos. La estructura y función de un quiste se inician cuando una espermatogonia es rodeada por una célula somática, la célula folicular que forma parte del epitelio germinal en la periferia del testículo y que es homóloga a la célula de Sertoli de otros vertebrados (Humphrey, 1921; Carrick, 1934; Moore, 1975; Miltner y Armstrong, 1983; Fraile, 1989, 1990; Pudney, 1995). Rodeada por la célula de Sertoli, la espermatogonia continúa dividiéndose mitóticamente. Enseguida, los espermátocitos primarios resultantes de esta proliferación entran en fase meiótica; mismos que al dividirse en la primera fase de este proceso forman espermátocitos secundarios, los que a su vez, se dividen en la segunda fase de la meiosis constituyendo a las espermátidas, que son células haploides. Las espermátidas se diferencian morfológicamente mediante el proceso de espermiogénesis formando espermatozoides. Así, todo el proceso espermatogénico se lleva a cabo dentro de los quistes. Los quistes, entonces, están formados y delimitados por las células de Sertoli, mismas que están funcionalmente involucradas en proveer una barrera de permeabilidad para las células germinales; así como en dirigir su diferenciación y maduración (Humphrey, 1921; Carrick, 1934; Moore, 1975; Miltner y Armstrong, 1983;

Fraile, 1989, 1990; Pudney, 1995). Durante la espermatogénesis, los quistes se desplazan dentro del lobulillo seminífero desde la zona periférica externa del testículo hacia la zona proximal al conducto de Wolff. Posteriormente ocurre la espermiación. Al final del proceso espermatogénico, las células de Sertoli generalmente degeneran (Moore, 1975; Armstrong, 1989; Fraile, 1990; Pudney, 1995); aunque ocasionalmente pueden ser expulsadas junto con los espermatozoides (Joly, 1994; Pudney, 1995); o bien, integrarse como células epiteliales a los lobulillos en hipertrofia o a los conductos eferentes (Franchi et al., 1982; Fraile, 1989; Grier, 1993).

I.2.3 Características de las Células Germinales

Espermatogonias. Son células muy grandes comparadas con las de la mayoría de los vertebrados; miden 50 μm de diámetro en promedio. Al inicio de la espermatogénesis, la región cefálica testicular contiene espermatogonias primarias, situadas de manera aislada o en forma de pequeños grupos, rodeadas por tejido conjuntivo y células de Sertoli. Cuando una espermatogonia es rodeada por una célula de Sertoli del epitelio germinal, se forma la estructura de un quiste. Las espermatogonias son células esféricas con núcleos igualmente esféricos. Una interesante característica de estas espermatogonias, es que durante el estadio temprano de la formación de quistes, desarrollan abundantes proyecciones membranales hacia su periferia que se invaginan con la membrana de la célula de Sertoli. Se asume que esto representa una estructura de anclaje que mantiene a la espermatogonia individual fuertemente asociada con la célula de Sertoli durante el desarrollo del quiste (Miltner y Armstrong, 1983; Armstrong, 1989; Grier, 1993; Joly et al., 1994). Las espermatogonias se dividen mitóticamente produciendo espermatogonias secundarias; estas células son más pequeñas, miden 40 μm de diámetro en promedio, con grandes núcleos esféricos.

Se ha reportado que conforme el quiste madura, la célula germinal pierde contacto estrecho con la célula de Sertoli (Miltner y Armstrong, 1983; Pudney et al., 1983; Norris, 1985; Armstrong, 1989). Además, hacia este tiempo, las células germinales desarrollan filopodios y el espacio intercelular entre la células de Sertoli y las células germinales se ensancha. Se sugiere que esto permite el movimiento de las células en proliferación al interior del quiste (Miltner y Armstrong, 1983; Pudney et al., 1983; Pudney, 1985; Armstrong, 1989). Las espermatogonias secundarias dan origen a los espermatoцитos

primarios, los cuales se preparan para la primera división meiótica (Humphrey, 1921; Carrick, 1934; Miltner y Armstrong, 1983; Norris et al., 1985; Armstrong, 1989).

Espermatocitos primarios y secundarios. Los espermatocitos primarios son células esféricas de 37 μm de diámetro promedio, en diferentes estadios de la profase I de la meiosis que contienen cromosomas duplicados y condensados (cromátidas hermanas que se han apareado con sus homólogos). Después de la primera división meiótica, de cada uno de los espermatocitos primarios se separan los cromosomas homólogos, formándose dos espermatocitos secundarios, que miden 27 μm de diámetro promedio; el núcleo contiene cromatina fibrilar y ocurre la segunda división de la meiosis con la separación de las cromátidas hermanas. Después de esta división se forman dos espermátidas haploides (Humphrey, 1921; Carric, 1934; Miltner y Armstrong, 1983; Norris et al.; Armstrong, 1989).

Espermátidas y espermatozoides. Las espermátidas son células de forma esférica con un diámetro promedio de 17 μm . Las espermátidas se transforman en **espermatozoides** a través del proceso de espermiogénesis.

Durante otoño e invierno los lobulillos que contienen espermatozoides se encuentran ubicados en la parte caudal del testículo, desde donde los espermatozoides serán descargados hacia los conductos eferentes y posteriormente hacia los conductos transversales o epididimarios y finalmente hacia el conducto deferente o de Wolff. Cuando los quistes se abren, los espermatozoides salen del mismo; la célula de Sertoli permanece y desarrolla breve actividad endocrina (Miltner y Armstrong, 1983; Armstrong, 1989; Fraile et al., 1990; Grier, 1993); y posteriormente degenera (Carrick, 1934; Lazard, 1979). Durante la fase final de la época reproductiva anual se observan pocas espermatogonias, situadas en la periferia del testículo (Tso y Lofts, 1977; Miltner y Armstrong, 1983; Armstrong, 1989).

La espermatogénesis se reinicia en el siguiente verano. Los nuevos lobulillos se desarrollan a partir de elementos de tejido conjuntivo y de espermatogonias asociadas a las células de Sertoli situadas en el epitelio germinal cercano a la túnica albugínea (Norris et al., 1985).

I.2.4 Tejido Intersticial

Durante la fase final de la máxima actividad espermatogénica y durante la espermiación, se desarrolla abundantemente el tejido intersticial, formado por la transformación morfológica y fisiológica de las células de Leydig tempranas que rodean los lobulillos, estimuladas por la gonadotropina LH. Inicialmente, las células de Leydig tempranas se encuentran situadas entre los lobulillos espermatogénicos, a la vez que los delimitan. Completado el proceso de espermatogénesis, estas células se hipertrofian, transformándose en células de Leydig esteroidogénicas (Humphrey, 1921; Pudney et al., 1983; Pudney y Callard, 1984; Norris et al., 1985; Fraile et al., 1989, 1990; Norris, 1997). La función esteroidogénica de estas células ha sido descrita en varios anfibios caudados mediante demostraciones histoquímicas de la enzima 3 β -hidroxiesteroideshidrogenasa (3 β -HSD) (Tso y Lofts, 1977a; 1977b; Imai y Tanaka, 1978; Bergman et al., 1983; Fraile et al., 1989, 1990; Bergman, 1994). En estadios tempranos, cuando las células de Leydig que forman lobulillos contienen espermatogonias y espermatoцитos, son negativas a la enzima 3 β -HSD. Muestran una débil reacción cuando contienen espermatozoides morfológicamente maduros; pero muestran una fuerte reacción cuando están totalmente hipertrofiadas y los espermatozoides son desalojados del lobulillo (Imai y Tanaka, 1978, en *Cynops pyrrhogaster*; Fraile et al., 1989, 1990). Estas células exhiben un marcado patrón estacional de esteroidogénesis con acumulación y liberación de lípidos. Las células de Leydig se vuelven intensamente lipídicas y positivas al colesterol durante la máxima etapa reproductiva; y se convierten en poco lipídicas fuera de la época reproductiva, cuando las estructuras dependientes de andrógenos están en regresión (Pudney et al., 1983; Fraile, 1989; Norris, 1997). Las células que conforman al tejido intersticial durante la época de máxima actividad, sintetizan y secretan testosterona (Humphrey, 1921; Lofts, 1974; Lazard, 1979; Miltner y Armstrong, 1983; Pudney y Callard, 1984; Fraile et al., 1989).

Al final de la temporada de cortejo y apareamiento, el tejido intersticial entra en regresión. Este tejido ha sido descrito como cíclico, estrechamente relacionado con el ciclo estacional espermatogénico (Humphrey, 1921; Tso y Lofts, 1977; Lazard, 1979; Bergman, 1983; 1994; Lofts, 1984; Schindelmeiser et al., 1985; Fraile et al., 1989, 1990; Norris, 1997). Sin embargo, no se cuenta con un estudio que integre y defina las transformaciones morfológicas cíclicas del tejido intersticial.

La estrecha relación de las células de Leydig con los quistes espermatogénéticos es necesaria para alcanzar elevados niveles de testosterona; dado que el estímulo de la testosterona producida por las células de Leydig sobre las células de Sertoli y la de naturaleza paracrina; esto es, que la testosterona actúa como mediador local que difunde al líquido extracelular y afecta a células de Sertoli vecinas que están formando los quistes, promoviendo y dirigiendo la espermatogénesis (Pudney et al., 1983; Pudney y Callard, 1985).

Los patrones de secreción de testosterona han sido reportados para caudados como *Botiglosa rostrata* (Houck, 1977); *Trituroides hongkongensis* (Tso y Lofts, 1977a; 1977b) *Cynops pyrrhogaster pyrrhogaster* (Imai y Tanaka, 1978); *Necturus maculosus* (Pudney et al., 1983; 1984) *Salamandra salamandra* (Lecouteux et al., 1985); *Pseudoeurycea goebeli* (Lofts, 1987); *Ambystoma tigrinum* (Tanaka e Iwasawa, 1979) y *Triturus marmoratus* (Fraile et al., 1989, 1990); en donde se describe que los niveles de testosterona son bajos previamente a la época reproductiva; mientras que los niveles altos están relacionados con el desarrollo y mantenimiento de los conductos deferentes, los cuales almacenan los espermatozoides hasta la época de apareamiento. La testosterona también estimula el desarrollo de las glándulas cloacales que producen secreciones que forman parte de los espermátóforos y posiblemente de la producción de feromonas usadas en el cortejo y el apareamiento (Carrick, 1934; Sever, 1980, 1981, 1985; Licht y Sever, 1990; Norris, 1997).

I.2.5 Complejo Glandular Cloacal

La cloaca es una región compleja de los vertebrados, debido a que es el sitio donde desembocan los extremos caudales de los tubos digestivo, excretor y reproductor (Carrick, 1934; Sever, 1980, 1981, 1991; Norris et al., 1985; Licht y Sever, 1990). La fisiología reproductora de los caudados tiene como característica propia, la presencia de numerosas glándulas cloacales agrupadas en zonas específicas de la cloaca, que en conjunto forman el complejo glandular cloacal (Sever, 1980; 1981; 1983, 1991; 2003; Williams et al., 1984; 1985). La cloaca de los Ambystómidos está conformada por: 1) la porción tubular anterior, 2) el tubo cloacal, y 3) la región tubular posterior o cámara cloacal que contiene al complejo glandular cloacal y al orificio anal. Ontogénicamente, las glándulas cloacales

surgen a partir de modificaciones del epitelio de la pared cloacal (Norris et al., 1985; Williams et al., 1985; Malacarne y Vellano, 1987).

La fecundación interna en caudados requiere de adaptaciones únicas por parte de este grupo de anfibios, que le permitan el depósito de los espermatozoides en el exterior y su tránsito hasta el oviducto (Sever, 1981; 1991; 2003). Por ello, la cloaca masculina en caudados tiene una importante función reproductora (Kikuyama et al., 1975; Sever, 1983; 2003); ya que sus glándulas secretan glicoproteínas (mucinas) que forman la cubierta y la base del espermatóforo, mismo que está involucrado en los procesos de desalojo de espermatozoides y de fertilización (Russell et al. 1981; Sever 1981; 1991; Romo et al., 1995). Un espermatóforo mide 1 cm en promedio; tiene una base gelatinosa compuesta de una matriz de glicoproteínas, secretada por las glándulas de la cloaca, suministrando a los espermatozoides las secreciones necesarias para permanecer empaquetados, formando la base y la cubierta del espermatóforo (Williams et al., 1985; Norris, 1997).

Las glándulas cloacales tienen además función hedónica, mediante la secreción de feromonas que contribuyen al reconocimiento hembra-macho (Sever, 1978, 1991; Tanaka e Iwasawa, 1979; Malacarne y Vellano, 1987). El término feromona se refiere a la sustancia química que viaja a través del agua o el aire, y que es secretada externamente por el animal en la orina, en las heces o por glándulas cutáneas, y causa una reacción específica en el individuo receptor de la misma especie; que puede ser un cambio de conducta y/o endocrino, que en consecuencia desencadena diversas reacciones en el sistema reproductivo del organismo receptor (Tanaka e Iwasawa, 1979; Sever, 1981; Williams, 1985; Malacarne y Vellano, 1987).

La cloaca en caudados es una estructura que muestra cambios fisiológicos y estructurales muy evidentes durante la época reproductiva (Tso y Lofts, 1977; Norris et al., 1985; Sever, 1991). Las glándulas cloacales de caudados presentan variaciones cíclicas estacionales de recrudescencia y regresión, y alcanzan su máximo desarrollo en los meses correspondientes a la época reproductiva (Norris et al., 1985; Williams et al., 1985; Licht y Sever, 1990); y están bajo control hormonal (Tso y Lofts, 1977; Russell et al., 1981; Russell, 1981; Williams et al., 1985). Cada tipo de glándula está caracterizado por su morfología y su producto secretorio.

La actividad histoquímica de los epitelios glandulares y la presencia de secreciones en los lúmenes de los conductos durante la época reproductiva, confirman el control de estas glándulas por las hormonas sexuales reproductivas, testosterona y dihidrotestosterona, principalmente (Tso y Lofts, 1977a; 1977b; Imai y Tanaka, 1978; Sever, 1996; 2003). Los datos histoquímicos indican que la cubierta del espermátforo es producida por las glándulas de Kingsbury del complejo glandular; y la base, por las glándulas pélvicas y ventrales (Russell et al., 1981; Miltner y Armstrong, 1983; Malacarne y Vellano, 1987; Norris, 1997).

El complejo glandular cloacal muestra características histológicas diversas de los tipos de glándulas exocrinas en cada una de las especies en las que se ha estudiado, lo que indica gran variabilidad de esta estructura, relacionada con la especie y su hábitat (Sever, 1981; Williams et al., 1985). En los machos sexualmente activos, se puede distinguir cinco tipos de glándulas: 1) **pélvicas dorsales**, 2) **pélvicas dorsolaterales**, 3) **de Kingsbury**, 4) **ventrales**, 5) **anales**. En época reproductiva, las glándulas cloacales muestran una alta actividad secretora, así como grandes reacciones enzimáticas. El máximo desarrollo de las glándulas cloacales corresponde al pico de actividad de cortejo y apareamiento. Mientras que en los machos sexualmente inactivos, todas las glándulas cloacales se encuentran muy reducidas y sin actividad aparente (Romo et al., 1996). Cuando las glándulas cloacales están secretando, porciones del epitelio cloacal son ciliadas y corresponden a sitios de secreción de los tipos específicos de glándulas. Cuando las glándulas están inactivas, la ciliación cloacal no es evidente (Sever, 1980, 1981, 1991).

Fuera de la época reproductiva, las glándulas cloacales tienen una actividad enzimática muy baja, de manera que esta actividad es casi nula (Carrick, 1934; Houck, 1977; Sever, 1980, 1981, 1983; Licht y Sever, 1990).

I.3 Fertilización en Caudados

En la mayoría de especies de caudados, la fertilización es interna; observándose que, el macho deposita sobre el substrato paquetes con espermatozoides llamados espermátforos, y la hembra los lleva al interior del oviducto mediante los labios cloacales. Una vez dentro del oviducto, los espermatozoides son desplazados hacia la espermateca, que es un grupo

de cámaras cefálicas a la cloaca con amplia presencia de glándulas, donde serán almacenados hasta que la hembra ovule (Sever, 1981; 1991; Norris, 1997).

II. ANTECEDENTES

II.1 Clasificación Taxonómica

Reino: Animalia
Phylum: Vertebrate
Clase: Amphibia
Orden: Caudata
Familia: Ambystomatidae
Género: Ambystoma
Especie: *Ambystoma dumerilii* (Dugès, 1870)

II.2 Características de la Anatomía Externa de *A. dumerilii*

El macho adulto de *A. dumerilii* tiene 26 cm de longitud promedio; es de color oscuro en la mayor parte del cuerpo (café-gris); algunas zonas, principalmente la ventral, son de tonos más claros (gris claro-café claro). La mayor parte de la región dorsal es lisa, aunque la zona baja es moteada por puntos de pigmento negro de tamaño variable. En las partes laterales medias se encuentran definidas líneas laterales formadas por puntos de pigmentación alineados. La hembra es más grande y pesada que el macho, alcanzando 28 cm en promedio (Dugès, 1870).

II.3 Neotenia

La neotenia es la prolongación de la vida larval, reteniendo las características jóvenes durante toda la vida. La neotenia se relaciona con la insensibilidad de los tejidos a la hormona tiroidea (Duellman y Trueb, 1986). Tratamientos con hormona tiroidea en *A. mexicanum* provocan metamorfosis en los individuos (Taurog, 1974). Se ha considerado que el factor ambiental más importante promotor de la prolongación del estado larvario, es la baja temperatura (Lofts, 1974; Moore, 1975; Licht y Sever, 1990; Norris, 1997). Los organismos neoténicos a menudo son hallados en aguas de bajas temperaturas de lagos y estanques a altas elevaciones o latitudes (Norris et al., 1985; Licht y Sever, 1990; Norris, 1997). La baja temperatura no sólo retarda el crecimiento e inhibe la liberación de la tiroxina por la tiroides, esencial para la metamorfosis, sino que también inhibe la capacidad

de los receptores de los tejidos corporales para responder a la tiroxina (Taurog, 1974; Moore, 1975; Duellman y Trueb, 1989; Licht y Sever, 1990).

III. PLANTEAMIENTO DEL TEMA

De manera similar a lo descrito para otras especies de caudados como *Necturus maculosus*, *Desmognathus fusca*, *Diemyctylus viridiscens*, *Cryptobranchus alleghaniensis*, *Plethodon erythronotus* (Humphrey, 1921); *Ambystoma tigrinum* (Carrick, 1934; Norris et al., 1985); *Bolitoglossa franlini*, *Pseudotriton ruber* (Baker y Taylor, 1965); *Botiglossa rostrata* (Houck, 1977); *Cynops pyrrhogaster pyrrhogaster* (Imai y Tanaka, 1978); *Salamandra salamandra* (Bergman et al., 1983, 1994); *Ambystoma mexicanum* (Miltner y Armstrong, 1983); *Ambystoma tigrinum*; *Triturus cristatus* (Malacarne y Vellano, 1987); *Triturus marmoratus* (Fraile et al., 1989); y *Mertensiella sp* (Joly et al., 1994), *A. dumerilii* es una especie de alto interés científico, debido a que cuenta con diversas estrategias biológicas, como su condición neoténica, sus características reproductivas como la espermatogénesis longitudinal y quística, el gran diámetro de sus células germinales, el desarrollo del tejido intersticial y del complejo glandular cloacal y su alta capacidad regeneradora de distintos tejidos corporales. De manera general, la clase Amphibia tiene importancia biológica debido a que es el grupo filogenético que muestra el modo de reproducción intermedio entre los vertebrados de vida y reproducción acuática, en los que ocurre la espermatogénesis longitudinal y quística, y los vertebrados terrestres, con espermatogénesis tubular radial (Carrick, 1934; Duellman y Trueb, 1989; Sever, 1991). Otro aspecto importante es el hecho de que *A. dumerilii* se encuentra enlistada junto con otras especies de este género bajo protección especial de los órganos oficiales encargados de cuidar la biodiversidad (CITES, 2004; CONABIO, 2004); en referencia directa a la gran disminución de sus poblaciones naturales.

La estacionalidad observada en la estructura testicular en especies de la familia Ambystomatidae debe ser la consecuencia de los cambios estacionales en el medio. Los anfibios caudados presentan un ciclo reproductor durante el cual, las células germinales en diferentes estadios de desarrollo son segregadas en los testículos (Humphrey, 1921; Carrick, 1934; Miltner y Armstrong, 1983; Armstrong, 1989; Rastogi e Iela, 1992). Más aún, el mismo patrón de espermatogénesis es reflejado en el grado de desarrollo del tejido intersticial adyacente, lo que hace particularmente importante el análisis de la relación entre

la espermatogénesis con los cambios estructurales que ocurren en el tejido intersticial y la relación de uno con el otro en *A. dumerilii*.

En el presente estudio examinamos las variaciones estacionales del avance de la espermatogénesis, de la histología del tejido intersticial y del complejo glandular cloacal de *A. dumerilii* para documentar las variaciones estacionales de las células germinales en relación con el tejido intersticial y con el complejo glandular cloacal, elementos del sistema reproductor masculino. Este estudio incluye la primera descripción histológica estacional del tejido intersticial del testículo y del complejo glandular cloacal de *A. dumerilii*.

Son escasos los estudios sobre reproducción en este grupo de anfibios realizados hasta ahora; en particular, en relación con los cambios cíclicos de su morfología microscópica; siendo más escasos aún los referentes a poblaciones naturales (Uribe et al., 1991 y 1994). Algunos estudios en *A. dumerilii* actualmente en proceso, se refieren a aspectos de su ecología y reproducción en acuarios o criaderos (Aguilar, 2004, com. pers). Tomando en cuenta lo anteriormente mencionado, el presente estudio contribuye con el conocimiento de la biología de la especie, particularmente con la biología reproductiva de *A. dumerilii*, especie neoténica y endémica de México, ya que no se conoce la estructura histológica y los cambios estacionales del tejido intersticial y del complejo glandular cloacal. Por lo previamente mencionado, se plantean los siguientes objetivos.

IV. OBJETIVOS

IV.1 Objetivo General. Identificar los cambios histológicos estacionales, durante primavera, verano, otoño, invierno, del avance del proceso espermatogénico, del tejido intersticial y del complejo glandular cloacal del sistema reproductor masculino de *A. dumerilii*.

IV.2 Objetivos Particulares

- a) Describir el avance de la espermatogénesis por estación del año en el testículo.
- b) Analizar los cambios estacionales del tejido intersticial, desde su activación hasta su regresión.
- c) Describir los tipos glandulares presentes en el complejo glandular cloacal.
- d) Comparar las características del complejo glandular cloacal durante las estaciones.
- e) Relacionar los cambios estacionales (primavera, verano, otoño, invierno) del avance de la espermatogénesis con los del tejido intersticial y del complejo glandular cloacal.

V. MATERIAL Y METODO

V.1 Trabajo de Campo

Se recolectaron 31 ejemplares machos adultos de la especie *A. dumerilii* en el lago de Pátzcuaro, en el estado de Michoacán; cuatro en el mes de febrero, uno en marzo, cuatro en abril, cuatro en mayo, tres en junio, tres en julio, dos en agosto, cuatro en septiembre, dos en octubre y cuatro en diciembre. Se registró la longitud hocico-cloaca (LHC) y el peso total (PT) de cada ejemplar con el objeto de obtener la relación de la talla con el peso. Se realizó un corte longitudinal ventral a cada organismo para obtener los testículos, los conductos deferentes y la cloaca, órganos que fueron medidos (Lg) y pesados (Pg). Posteriormente fueron fijados en Bouin durante 10 hs para conservar sus características histológicas para su posterior análisis microscópico.

Adicionalmente, se utilizaron nueve ejemplares previamente recolectados (tres de marzo, tres de septiembre y tres de diciembre), fijados y procesados histológicamente en el laboratorio Biología de la Reproducción Animal de la Facultad de Ciencias de la UNAM.

V.2 Trabajo de Laboratorio

A los órganos fijados se les aplicó la técnica histológica de preparación fija para microscopía óptica con el siguiente procedimiento:

1. Deshidratación en alcoholes graduales (50%, 70%, 80%, 96% y 100%).
2. Aclaración en xileno.
3. Inclusión en paraplast (índice de fusión: 56° a 58° C).
4. Cortes longitudinales en sentido cefalocaudal de 7 μm de grosor, en un microtomo de rotación.
5. Aplicación de cuatro tinciones: 1) Hematoxilina-Eosina (panorama general del tejido, núcleos y límites celulares, contraste entre basofilia y acidofilia); 2) tricrómica de PAS-Gallego (diferenciación entre tejido conjuntivo, epitelios y fibras musculares; definición de fibras colágenas y vasos sanguíneos, contraste de los eritrocitos); 3) azul alciano-PAS (glándulas exocrinas, sustancias de secreción específicas como glucógeno, fibras reticulares y láminas basales); y 4) doble impregnación argéntica (células adiposas, sustancias intercelulares).
6. Observación y análisis en microscopio óptico de los cortes obtenidos.
7. Morfometría. Se midió el diámetro de las células de Leydig y las células de Sertoli, las glándulas exocrinas en el complejo glandular cloacal y la altura de sus epitelios.
8. Se tomaron fotomicrografías de los campos seleccionados en un fotomicroscopio Zeiss III, utilizando película Kodak 100 ASA.

VI. AREA DE ESTUDIO

La especie *A. dumerilii* tiene una distribución muy restringida, habitando únicamente en el lago de Pátzcuaro, Michoacán.

Polígono: Latitud 20°20'24'' - 19°04'48''N

Longitud 101°55'48'' - 100°48'36''W

Limnología básica: Pátzcuaro: área 9000 ha.; vol. $500 \times 10^6 \text{ m}^3$; prof. máx. 12.3 m, prof. media 4.9 m; conductividad 800 $\mu\text{mhos/cm}$; Temp. X= 15-25 °C; pH=8.9-9; O₂=4-7.3 mg/l; alcalinidad de 10 meq/l; visibilidad 0.2 a 0.5 m; eutroficado. Por tratarse de una cuenca endorreica, el agua que llega al lago proviene únicamente de la precipitación pluvial, de las escorrentías superficiales y los manantiales que afloran en su interior; las pérdidas de agua son debidas a la evaporación, transpiración de las plantas y a las extracciones.

Geología/edafología: zona de origen volcánico, con rocas predominantemente basálticas y andesíticas, pertenecientes al Eje Neovolcánico Transversal. Características varias. El clima es templado subhúmedo con lluvias en verano. La temperatura media anual es de 14-20 °C. La precipitación total anual es de 700-1400 mm; evapotranspiración 800 mm.

La actividad económica principal es forestal, agricultura de temporal y de humedad, industrial, de turismo, ganadería, pesca y manufactura del cobre. Indicadores de calidad de agua: eutrófico.

Tipos de vegetación: bosques mixtos de pino-encino, de pino, de encino, de oyamel, tropical caducifolio, pastizales, matorral subtropical, matorral desértico micrófilo, especialmente asociaciones con vegetación halófila. Existe gran diversidad de hábitats: lagos, reservorios, cuerpos acuáticos someros, ríos, arroyos, lagos salinos, lagunas y humedales.

Aspectos económicos: pesca artesanal de pescado blanco, charal prieto, charal blanco, charal, charal pinto, tiro, chegua, choromu, lobina o trucha, carpa, tilapia, carpa dorada, mojarra, barrigones; ajolote *Ambystoma dumerilii*; el crustáceo *Cambarellus*. Existe además la captura de “mosco” que incluye a un conjunto de crustáceos y larvas de insectos.

El agua es un recurso estratégico del cual dependen los asentamientos humanos y las actividades antropogénicas regionales, se usa para abastecimiento, riego, acuicultura, ganadería, generación de energía eléctrica, actividades turísticas y transporte.

Modificación del entorno: cuerpos de agua impactados por altas densidades de población humana y actividades productivas de la región. Extracción de mantos acuíferos, deforestación intensiva y construcción de carreteras. El lago de Pátzcuaro presenta un continuo asolvamiento del vaso lacustre por aportes de sedimentos producto de la deforestación y erosión severa de los suelos, presencia de vegetación acuática así como de descargas de basura, aguas negras, fertilizantes y biocidas.

Contaminación: por agroquímicos, aguas residuales domésticas y desechos sólidos.

Hay especies de peces introducidas resistentes y de amplia distribución como *Cyprinus carpio*, *Oreochromis niloticus*, *O. mossambicus*, *O. aureus*, *Carasius auratus* y *Xiphophorus helleri*, *Micropterus salmonides*, *Chirostoma humboldtianum* y *C. lucius*. No hay observancia de las vedas, manejo inadecuado de la cuenca, sobreexplotación de mantos acuíferos y artes de pesca inadecuadas como chinchorros (red de arrastre), agalleras y atarrayas, así como sobreexplotación por grandes pesquerías.

Extracción de tule para artesanía del empajado. El uso de suelo es forestal y agropecuario.

Conservación; preocupa la deforestación, erosión y asolvamiento de cuerpos de agua; la introducción de especies exóticas; vertimiento de aguas residuales y extracción de mantos acuíferos. Bosque mesófilo de montaña en riesgo. Se necesita reforestación, acuicultura de especies nativas para repoblar el lago; tratamiento y reciclamiento de aguas residuales; saneamiento ambiental (manejo adecuado de los contaminantes) e instalación de letrinas.

Grupos e instituciones que participan en el rescate del lago de Pátzcuaro: UNAM, CRIP-Pátzcuaro, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Existen proyectos de colaboración con la FES Iztacala, UAM Iztapalapa y otras (Internet, CONABIO, 2003).

VII. RESULTADOS

VII.1 Descripción de la Anatomía del Aparato Reproductor Masculino de *A. dumerilii*

El aparato reproductor masculino de *A. dumerilii* se compone de un par de testículos paralelos elongados; al interior de ellos se encuentran los conductos eferentes, mismos que se conectan con el sistema de conductos transversales o epididimarios, los que a su vez se conectan posteriormente con el conducto de Wolff. Los testículos y los conductos de Wolff penden de un mesenterio o mesorquio que los adhiere a la pared dorsal del cuerpo. El conducto de Wolff desemboca en la cloaca (Fig. 2 A).

Los cuerpos grasos adyacentes a los testículos se sitúan en disposición paralela a éstos (Fig. 2 B).

Los testículos de *A. dumerilii* variaron en longitud y peso a lo largo del año, siendo el otoño la época de mayores valores, y la primavera la de menores valores (ver tabla 1).

VII.2 Descripción de la Estructura Microscópica del Aparato Reproductor de *A. dumerilii*

VII.2.1 Características Histológicas del Avance de la Espermatogénesis y del Tejido Intersticial

En *A. dumerilii* los testículos están recubiertos por una delgada túnica albugínea carente de pigmentación. A partir de la túnica albugínea y hacia la médula del testículo, se encuentran los lobulillos espermatogénéticos que contienen quistes con células germinales en su interior. Un lobulillo es el espacio que se forma entre las trabéculas de tejido conjuntivo que parten de la zona periférica del testículo en dirección al conducto deferente o de Wolff. Analizando los componentes del tejido conjuntivo, encontramos vasos sanguíneos, fibroblastos, fibras de colágena, células mioides, y en particular, células interlobulares, también llamadas células de Leydig tempranas o intersticiales (Fig. 3 A, D). La estructura del testículo en su conformación histológica muestra una clara zonación, derivada del acomodo de los diferentes estadios de desarrollo de las células germinales en su interior. Así, se observa que en la región cefálica, se localizan los estadios tempranos de la espermatogénesis; mientras que en la región caudal, se observan los estadios más avanzados (Fig. 2 C).

Los quistes formados en el extremo cefálico se desplazan caudalmente conforme maduran; por lo tanto, se produce una onda espermatogénica que se extiende longitudinalmente a través del testículo; así, el testículo puede ser dividido en zonas de diferentes estadios espermatogénicos.

La estructura de un quiste se forma por la asociación de una célula folicular o de Sertoli del epitelio germinal con una espermatogonia, rodeándola. La espermatogonia se divide varias veces por mitosis antes de iniciarse la meiosis. Así, el quiste contendrá a las células germinales en proceso de espermatogénesis en estadios sincrónicos de desarrollo; esto es, espermatogonias, espermatocitos primarios, o secundarios; espermátidas tempranas, o avanzadas; o espermatozoides (Fig. 4 A, B, C, D). De manera que en el interior de un lobulillo espermatogénico se encuentran los quistes que van siendo desplazados por los quistes nacientes en dirección al conducto de Wolff.

De acuerdo con los datos anteriores, la espermatogénesis de *A. dumerilii* es cafalocaudal, longitudinal, en lobulillos y quística (Fig. 5 A).

VII.2.2 Cambios Estacionales del Avance de la Espermatogénesis y del Tejido

Intersticial

Durante el ciclo anual, el testículo de *A. dumerilii* muestra cambios morfológicos muy evidentes. La recrudescencia ocurre en verano. El testículo alcanza su máximo desarrollo durante otoño y la mayor parte del invierno, iniciando su regresión hacia finales de invierno. En la primavera el testículo muestra su longitud y actividad mínimas.

De manera general, la histología de las células germinales permaneció sin cambios durante cada una de las estaciones del año, primavera, verano, otoño, invierno. Esto es, que durante cada uno de los distintos estadios del proceso espermatogénico, las células germinales permanecieron morfológicamente iguales. Las espermatogonias independientemente de la estación del año mantuvieron el mismo diámetro (50 μm) y la misma estructura cromatínica. Las espermatogonias B promediaron en cada estación 40 μm . Los espermatocitos primarios fueron apreciados como células esféricas de 37 μm promedio. Los espermatocitos secundarios promediaron en cada estación 27 μm . Las espermátidas en cada estación se mostraron como células esféricas con un diámetro promedio de 17 μm . Igualmente en las estaciones en que se encuentran espermatozoides,

éstos conservan sus características y su tamaño (5 μm promedio en núcleo). Sin embargo, donde se aprecia variación estacional, es en la cantidad y el área que ocupa cada uno de los estadios espermatogénéticos a lo largo del testículo. Así, las características microscópicas estacionales del avance de la espermatogénesis y los cambios del tejido intersticial en el testículo se describen a continuación, iniciando esta secuencia en la estación en que ocurre la recrudescencia.

Verano

A finales de junio se reactiva el proceso espermatogénético. Por lo tanto, en este tiempo es posible observar gran cantidad de espermátocitos primarios; así como lobulillos que contienen espermátidas en estadios tempranos y avanzados; sin embargo, aún son escasos los espermatozoides diferenciados (Fig. 5 A).

El tejido intersticial y los demás elementos del tejido conjuntivo, aún se encuentran muy reducidos. Las células de Leydig tempranas son delgadas y alargadas, con núcleos igualmente ahusados u ovalados (Fig. 5 A).

Otoño

Al inicio del otoño, las células de Leydig tempranas que conforman el tejido intersticial, mantienen forma delgada y aplanada, similar a la observada en verano (Fig. 5 B). Sin embargo, conforme avanza el otoño, la espermatogénesis avanza y en el testículo se aprecian cambios histológicos. La espermatogénesis muestra gran actividad, por lo que es posible observar prácticamente todos los estadios de desarrollo de las células germinales. Las espermatogonias primarias y secundarias son escasas; los espermátocitos primarios son abundantes; los espermátocitos secundarios son menos abundantes, mientras que las espermátidas tempranas y avanzadas son más numerosas. Sin embargo, el estadio más abundante es el de espermatozoides, ocupando la mayor área del testículo (Figs. 5 B; 6 A).

En algunos lobulillos en los que el proceso de espermatogénesis se ha llevado a cabo y las espermátidas han alcanzado el estadio de espermatozoides, la espermiación es evidente. Se encuentran numerosos lobulillos en los que se han liberado los espermatozoides, mismos que son muy abundantes en el extremo proximal al conducto de Wolff y en los conductos eferentes (Fig. 6 A). Los conductos eferentes, conteniendo abundantes espermatozoides, se alargan (Fig. 6 A).

Durante septiembre, la transformación de las células de Leydig tempranas en tejido intersticial hipertrofiado, comienza cuando la mayoría de los espermatozoides son desalojados de los lobulillos; esta transformación se manifiesta con la hipertrofia del volumen citoplasmático de la célula de Leydig, pasando de formas delgadas y alargadas, con núcleos alargados, a células de gran diámetro (70 μm promedio), con formas irregulares y núcleos centrales y redondos. Así, las células de Leydig forman paredes muy gruesas alrededor de los lobulillos (Fig. 6 B, C, D, E). Cuando adquieren este estadio histológico, las células de Leydig se encuentran localizadas en la zona proximal al conducto de Wolff (Fig. 6 D, E). Igualmente, durante el proceso de hipertrofia el tejido intersticial se vuelve ricamente vascularizado, lo que irriga ampliamente a las células de Leydig (Fig. 6 E).

Avanzado el proceso de hipertrofia del tejido intersticial y poco antes de que comience su regresión, es posible observar la hipertrofia de las células somáticas que se encuentran al interior del lobulillo, las células de Sertoli que conformaban el quiste espermatogénico; formando con su hipertrofia un epitelio al interior del lobulillo.

Situadas en la periferia del lobulillo, antes y durante la hipertrofia de las células de Leydig, se observa a unas pequeñas células de 15 μm de largo promedio, de forma aplanada con núcleo piramidal, ovalado o irregular y citoplasma hialino, son las células foliculares o de Sertoli (Fig. 7 A, B). Cuando el remanente de espermatozoides ha sido desalojado o reabsorbido del lumen del lobulillo por estas células de Sertoli, comienza a observarse una capa de células epiteliales, que conforme crecen ocluyen la luz del lobulillo (Fig. 7 A, B). Esta capa de células epiteliales se desarrolla a partir de las pequeñas células foliculares o de Sertoli situadas en la periferia del lobulillo. Cuando se hipertrofian, adquieren un gran tamaño (60 μm en promedio), aunque son más pequeñas que las de Leydig (70 μm de diámetro promedio). Las células de Sertoli son de forma irregular, citoplasma hialino y con núcleos basales basófilos y de forma irregular. Al centro de estos lobulillos, es posible observar algunas espermatogonias (Fig. 7 E, D), que se distinguen por sus características como talla (50 μm de diámetro), forma (esférica y citoplasma hialino) y núcleo esférico con cromatina fibrilar en su interior. En la base de la capa de células de Sertoli se distingue una membrana basal PAS+. Subyacente a esta membrana hay tejido conjuntivo vascularizado, entre el cual se localizan las células de Leydig (Figs. 6 C, D; 7 A).

Posteriormente, al final de la máxima actividad reproductiva, las células de Sertoli que conformaban el epitelio inician y completan su regresión al interior del lobulillo, tornándose irregulares, con pérdida de límites celulares, núcleos picnóticos y vacuolas citoplasmáticas; en tanto que las células de Leydig situadas al exterior del lobulillo permanecen hipertrofiadas y aparentemente estratificadas durante este tiempo (Fig. 7 C, D, E). En la luz de los lobulillos en regresión, rodeados por las células de Leydig hipertrofiadas, puede encontrarse restos de células de Sertoli, y espermatozoides que aún no han sido desalojados hacia los conductos deferentes (Figs. 6 D, E; 7 A, B).

Invierno

Durante esta estación, las características histológicas de los testículos son semejantes a las descritas para el otoño, al mantenerse la actividad espermatogénica desde inicios del otoño y hasta finales del invierno. Las espermatogonias secundarias y los espermatoцитos primarios y secundarios son muy escasos; siendo los espermatozoides los más abundantes, ocupando la mayor parte del testículo. Las células de Leydig en la zona más proximal al conducto de Wolff, mantienen la morfología del otoño, hipertrofiadas, estratificadas y delimitando al lobulillo, manteniendo así, desarrollado al tejido intersticial.

Desde finales de invierno, cuando la máxima actividad reproductiva ha concluido, al interior del testículo ya no se observa proliferación de elementos germinales ni somáticos; por lo que a partir de febrero se concluye el desalojo total de espermatozoides e inicia el proceso de regresión del tejido intersticial. Las células de Leydig que limitan el lobulillo, muestran vacuolas citoplasmáticas, núcleos picnóticos, pérdida de límites celulares y disminución de su basofilia. Estas células continúan progresivamente su regresión durante el resto de la primavera, alcanzando la longitud y peso mínimos (22.72 mm y 0.46 gr promedio respectivamente) (Fig. 8 A).

Primavera

Los testículos de *A. dumerilii* en primavera continúan y mantienen el proceso de regresión iniciado a finales de invierno, permaneciendo con las mismas características histológicas el resto de la primavera.

VII.3 Conductos del Sistema Reproductor Masculino

En *A. dumerilii* los conductos que contienen y transportan a los espermatozoides una vez alcanzada su madurez morfológica, son los conductos eferentes (intratesticulares), los conductos transversales o también llamados epididimarios y el conducto deferente o de Wolff. Estos conductos también varían en su diámetro dependiendo del momento del ciclo reproductivo en que se encuentran. Así, el diámetro de su luz es mucho más grande en época reproductiva (otoño-invierno), cuando contienen en su interior a los espermatozoides (Fig. 9 A, B, C, D, E, F), y en época no reproductiva (primavera-verano) los diámetros permanecen muy pequeños, al mantenerse la luz casi cerrada y sin espermatozoides.

VII.4 Complejo Glandular Cloacal

VII.41 Morfología del Complejo Glandular Cloacal

La cloaca de *A. dumerilii* es ventral, muestra simetría bilateral y se ubica donde comienza la cauda del ajolote (Fig. 2 A).

De manera interna a la cloaca en la sección correspondiente a la cámara cloacal, el complejo glandular cloacal ocupa una gran área caudal de la región pélvica del organismo. Todas las glándulas que conforman el complejo glandular cloacal son del tipo tubular no ramificado (sencillo), mostrando diversas características morfológicas en sus tipos epiteliales. De acuerdo con la nomenclatura que describe Sever (1981, 1983), en *A. dumerilii*, se observaron los siguientes cinco tipos de glándulas: 1) pélvicas dorsales, 2) pélvicas dorsolaterales, 3) de Kingsbury, 4) ventrales, y 5) anales (Fig. 10 A). en todos los casos, las glándulas que componen el complejo glandular cloacal están rodeadas por tejido conjuntivo, compuesto de fibroblastos, vasos sanguíneos, fibras de colágena y reticulares, entre otros elementos. En el límite del tejido conjuntivo y el epitelio glandular existe una membrana basal, y alrededor de ésta se observa células mioepiteliales (Fig. 14 A, B, C, D, E).

Complejo glandular cloacal en otoño-invierno

En otoño-invierno, durante la época reproductiva, es evidente la hipertrofia de la cloaca (Fig. 2 A). Internamente, todas las glándulas cloacales se hipertrofian gradualmente conforme la época reproductiva se aproxima. Esta hipertrofia coincide con la acumulación de espermatozoides en los conductos eferentes y deferentes. Durante este tiempo, los

conductos glandulares contienen abundantes secreciones acidófilas o basófilas (Fig. 10 A), con excepción de las secreciones en los conductos de las glándulas ventrales, que resultaron negativas para las tinciones utilizadas. La máxima hipertrofia y actividad secretora de las glándulas cloacales se observó en los meses de septiembre a enero; coincidiendo con los conductos deferentes cuando alcanzaron su máxima distensión y el máximo empaquetamiento de espermatozoides (Figs. 9 C; 10 A).

De forma particular, las características de cada tipo glandular en otoño-invierno, durante la época reproductiva son:

Glándulas Pélvicas Dorsales. Son glándulas tubulares sencillas; sus conductos son largos. Sus diámetros luminales son de 105 μm promedio. Las células epiteliales son columnares (15-17 μm de altura). El citoplasma es acidófilo y contiene muchas vacuolas claras o ligeramente teñidas; la superficie luminal de cada célula epitelial es irregular. Los lúmenes de estos conductos muestran secreción finamente granulosa de dos tipos, apreciados por diferencias en su afinidad tintórea basófila y eosinófila (Figs. 9 A, 11 A).

Glándulas Pélvicas Dorsolaterales. Glándulas tubulares sencillas cuyos conductos se extienden hacia la porción tubular posterior. Sus diámetros luminales son de 115 μm promedio. Las células epiteliales son cúbicas o bajas con una altura de 8-10 μm . Tienen grandes núcleos ovoides, el citoplasma es acidófilo y ligeramente granular, conteniendo abundantes vacuolas. Los lúmenes de los conductos contienen abundante secreción acidófila finamente fibrosa (Figs. 10 A, 11 B).

Glándulas de Kingsbury. Glándulas tubulares sencillas. Sus diámetros luminales son de 75 μm promedio. Las células epiteliales de los conductos son de 10-15 μm de altura; su citoplasma contiene gránulos gruesos de secreción acidófila. El extremo apical del epitelio es liso con algunas irregularidades en el lumen (Figs. 10 A; 11 C, 12 A).

Glándulas Ventrales. Glándulas tubulares sencillas. Son las más numerosas y de mayor diámetro; su lumen promedia 130 μm ; ocupan el área más ventral del tubo cloacal. Las células epiteliales son muy bajas (5-6 μm de altura), con núcleo alargado. Los extremos apicales de las células glandulares muestran abundantes glóbulos de secreción azul alciano +. En el resto de la luz del conducto glandular la secreción es negativa a la tinción azul alciano y hematoxilina-eosina (Figs. 10 A; 12 A, B).

Glándulas Anales. Se localizan en el extremo caudal de los labios cloacales. Sus diámetros lumbinales son de 30 μm en promedio. La altura de las células epiteliales es de 11 μm promedio. Su citoplasma es acidófilo. Los lúmenes de las glándulas contienen secreción acidófila homogénea (Figs. 10 A; 12 C).

De manera paralela al desarrollo del complejo glandular cloacal y al conducto deferente, las glándulas adyacentes al riñón muestran un patrón de hipertrofia y regresión similar. La hipertrofia de estas glándulas se hace evidente en otoño-invierno, durante la época reproductiva. Así, en los meses de septiembre a enero alcanzan su máximo desarrollo, evidenciado por las abundantes secreciones al interior de sus numerosos conductos glandulares (Fig. 13 A, B, C, D), tiempo en que es posible observar numerosos espermatozoides en los conductos deferentes o de Wolff (Fig. 13 B, C).

Complejo glandular cloacal a finales de invierno

Todas las glándulas del complejo se fueron reduciendo gradualmente durante los meses de enero a febrero. Esta regresión es evidente por las modificaciones histológicas de las glándulas. Los conductos glandulares redujeron la cantidad de secreciones y su luz se observó reducida; también se redujo la altura de los epitelios glandulares que delimitan los conductos; y se hace cada vez más abundante y evidente el tejido conjuntivo alrededor de las glándulas en regresión (Fig. 14 A, B, C, D, E).

Complejo glandular cloacal en primavera-verano (época no reproductiva)

Durante la época no reproductiva, en la primavera y la mayor parte del verano, las glándulas alcanzaron la máxima reducción en diámetro, espacio luminal y altura de sus células. Rodeando al epitelio de la mayoría de las glándulas se observan algunas células mioepiteliales y abundante tejido conjuntivo con vasos sanguíneos (Fig. 15 A, B, C, D, E). Los lúmenes de las glándulas contienen escasas secreciones y sus células tienen reacciones negativas a las tinciones de PAS y azul alciano. Sólo las glándulas de Kingsbury y ventrales tuvieron reacciones positivas débiles en la porción apical de las células glandulares.

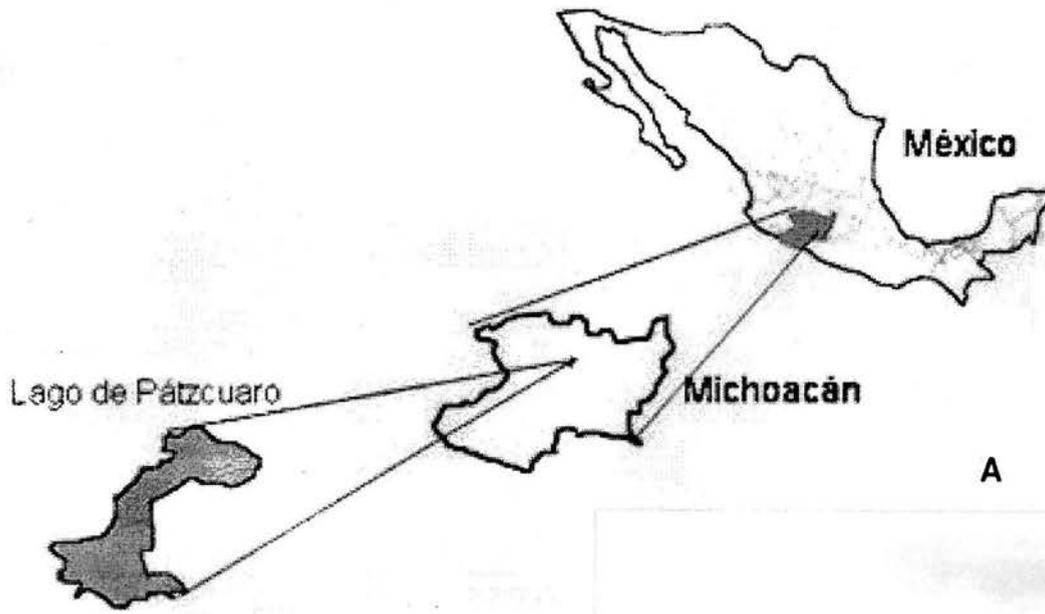
Tabla 1. Datos numéricos sobre mediciones macroscópicas en *A. dumerilii*

Estación	Individuo (n)	Invierno				Primavera				Verano				Otoño				Inv DICIEMBRE n=4
		ENERO n=4	FEBRERO n=4	MARZO n=1	ABRIL n=4	MAYO n=4	JUNIO n=3	JULIO n=3	AGOSTO n=2	SEPTIEMBRE N=4	OCTUBRE n=2	NOVIEMBRE						
Longitud total (cm)	1		25.0	26.5	26.1	27.0	25.5	26.0	26.56	26.50	26.51				26.65			
	2		27.5		25.1	27.0	26.0	25.9	26.60	26.54	26.55				26.65			
	3		25.0		26.5	25.0	26.5	26.1		26.49					27.0			
	4		29.0		27.0	26.5				26.55					25.0			
	X		26.625±2		26.6±1	26.34±1	26.59±1	26.6±1		26.52±0.5					26.652±1			
Peso total (gr)	1		170.0	160.0	130.0	160.0	140.0	140.0	160.0	200.0	190.5				175.0			
	2		200.0		130.0	155.0	120.0	140.0	170.0	200.0	185				180.0			
	3		170.0		120.0	150.0	120.0	140.0		150.0					195.0			
	4		220.0		120.0	150.0				190.0					195.0			
	X		190.0±10		125.5±0.5	153.5±0.5	127.5±10	140.0±0.5		185.0±15					186.25±8.5			
Longitud gonadal (mm)	1		27.0	22.75	20.0	30.0	30.0	30.0	27.0	29.0	29.5				30.0			
	2		30.0		22.0	25.0	30.0	25.0	25.0	28.0	29.0				30.0			
	3		28.0		25.0	29.0	30.0	29.0		30.0					32.0			
	4		31.0		25.0										30.0			
	X		29.0±1.5		23.0±2.5	28.5±0.5	30.0±0.2	28.5±3		29.25±1.5					30.5±1.5			
Peso gonadal (gr)	1		1.5	0.40	0.44	0.60	0.55	0.55	0.60	1.0	1.38				1.55			
	2		1.4		0.40	0.50	0.44	0.50	0.57	0.99	1.30				1.4			
	3		1.38		0.55	0.45	0.40	0.60		1.1					1.55			
	4		1.30		0.50	0.50	0.46±0.8	0.585±2.5		0.75					1.55			
	X		1.395±0.2		0.47±0.5	0.5125±1	0.46±0.8	0.585±2.5		0.96±0.03					1.51±0.3			

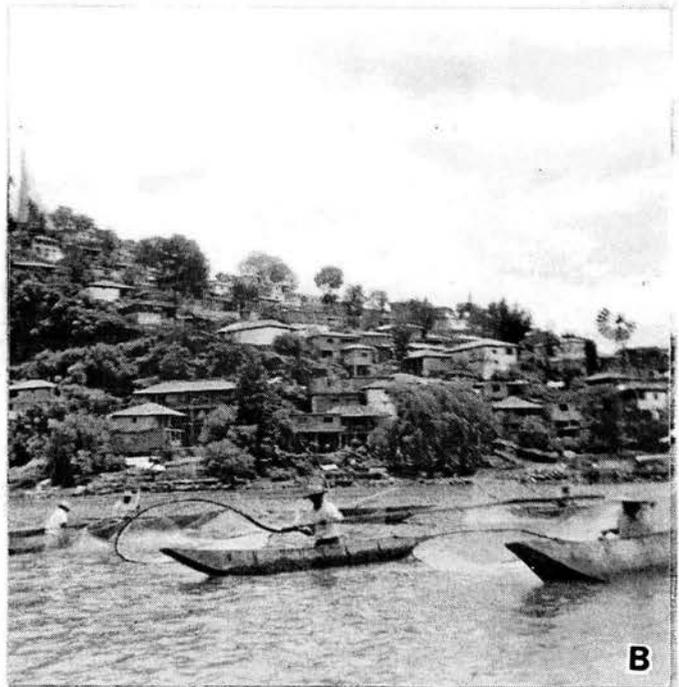
Fig. 1. A) Mapa de localización geográfica del lago de Pátzcuaro en la República Mexicana. B) Panorama del lago de Pátzcuaro. C) Ejemplar macho del ajolote *A. dumerilii*.

FIGURA 1

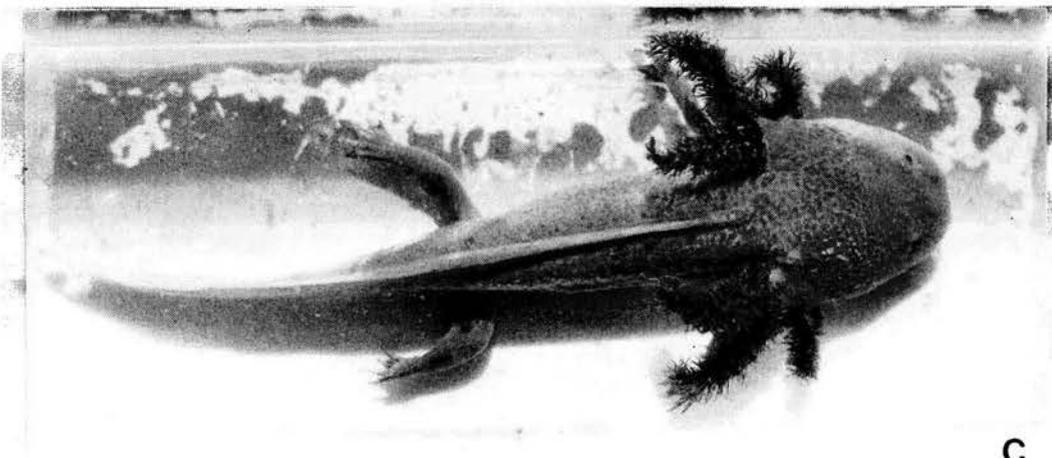
Lago de Pátzcuaro, Michoacán



A



B



C

Fig. 2. Disección y panorama histológico del aparato reproductor masculino de *A. dumerilii*. **A)** Testículos paralelos y elongados (T). Aspecto macroscópico de la cloaca hipertrofiada (C) en otoño-invierno, en época reproductiva. **B)** Aparato urogenital disectado; testículos (T), cuerpos grasos (g) y conducto de Wolff (W). **C)** Zonación interna del testículo, con células germinales en estadios tempranos (1) en la región cefálica periférica; células germinales en estadios avanzados (2) en la región caudal interna. C) H-E; 78X.

FIGURA 2

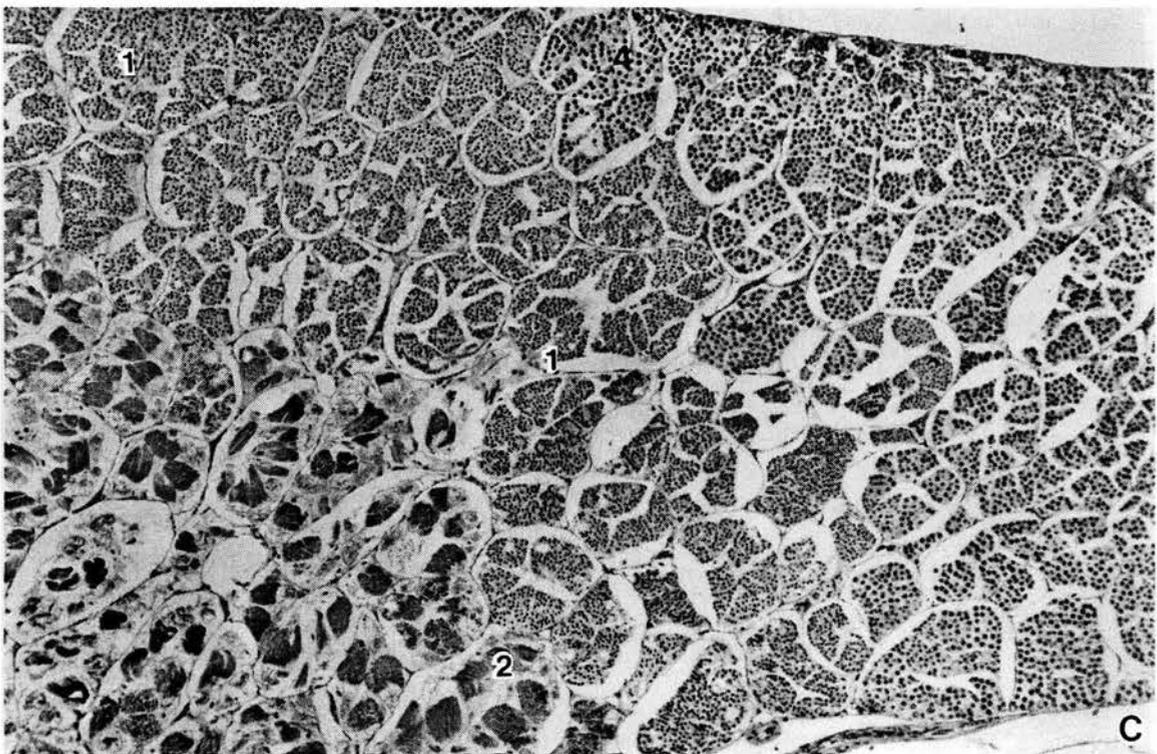
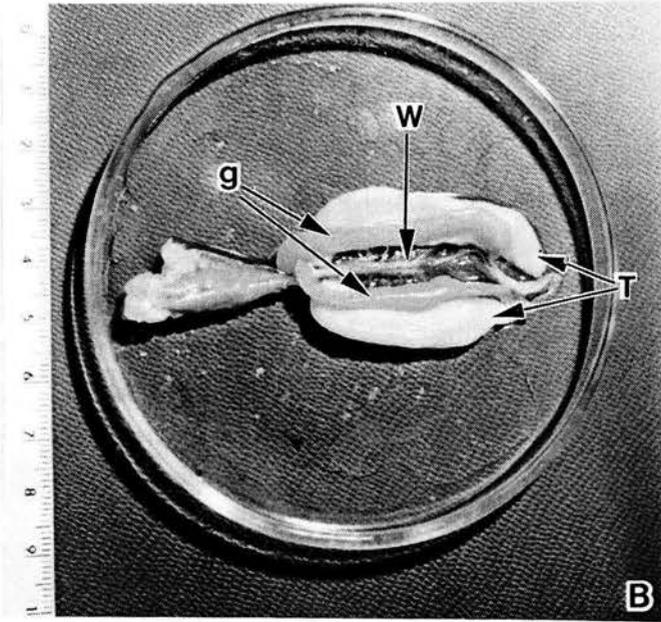
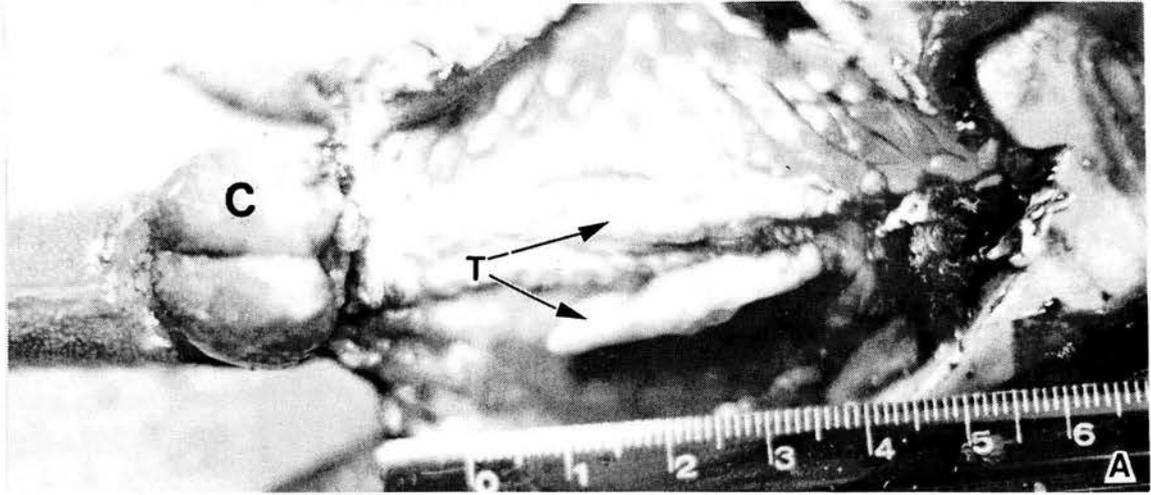


Figura 3. Estructura de los lobulillos espermato genéticos de *A. dumerilii*. **A, B)** Lobulillos que contienen células germinales (Cg). Trabéculas de tejido conjuntivo interlobular con vasos sanguíneos (V), fibroblastos (F), fibras de colágena (FC). **C)** Células germinales en forma de grupos sincrónicos llamados quistes (Q); lobulillos con quistes de espermato citos primarios (Ec1) y espermátidas (Ed) cercanas a la zona cefálica del testículo. **D)** Lobulillos con quistes de espermatozoides (Ez) en la zona caudal del testículo. A) H-E, 200X; B) PAS-Gallego, 200X; C) PAS-Gallego, 500X; D) PAS-Gallego, 200X.

FIGURA 3

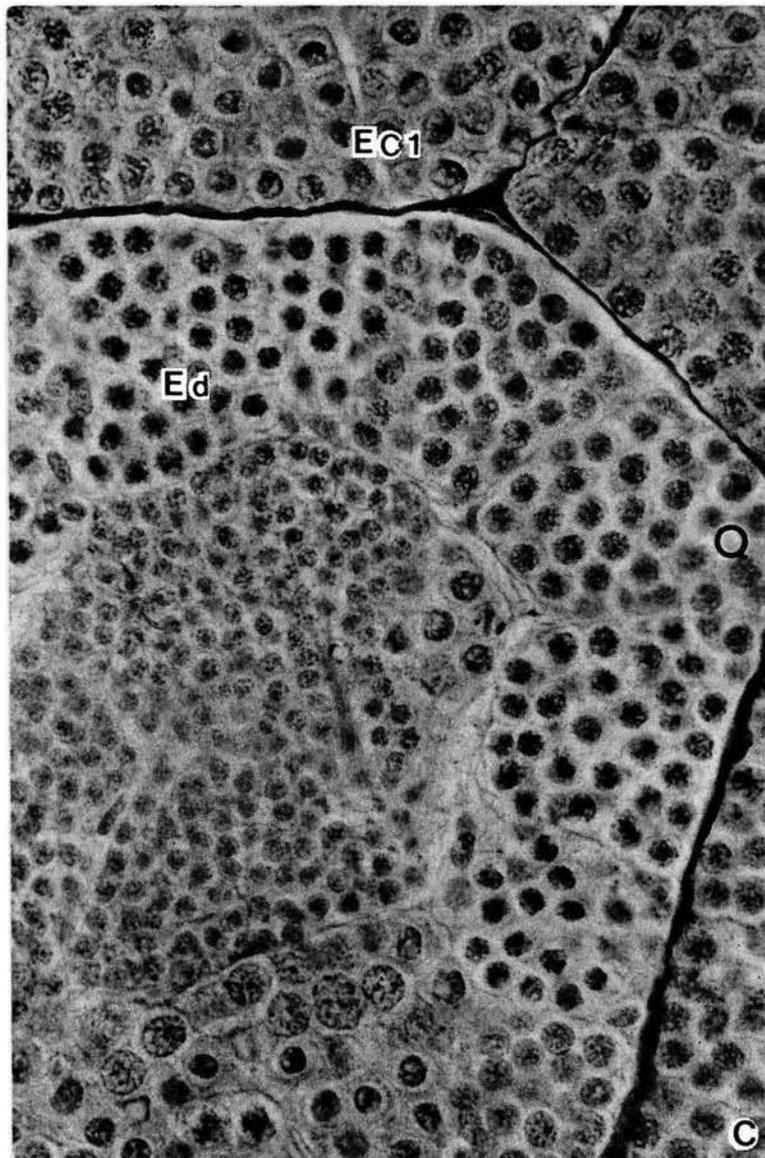
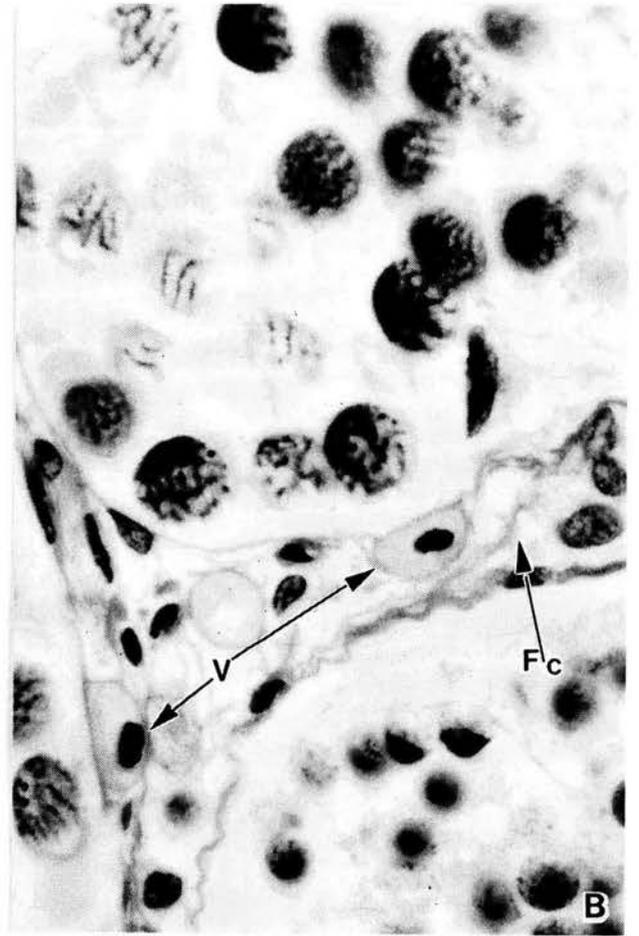
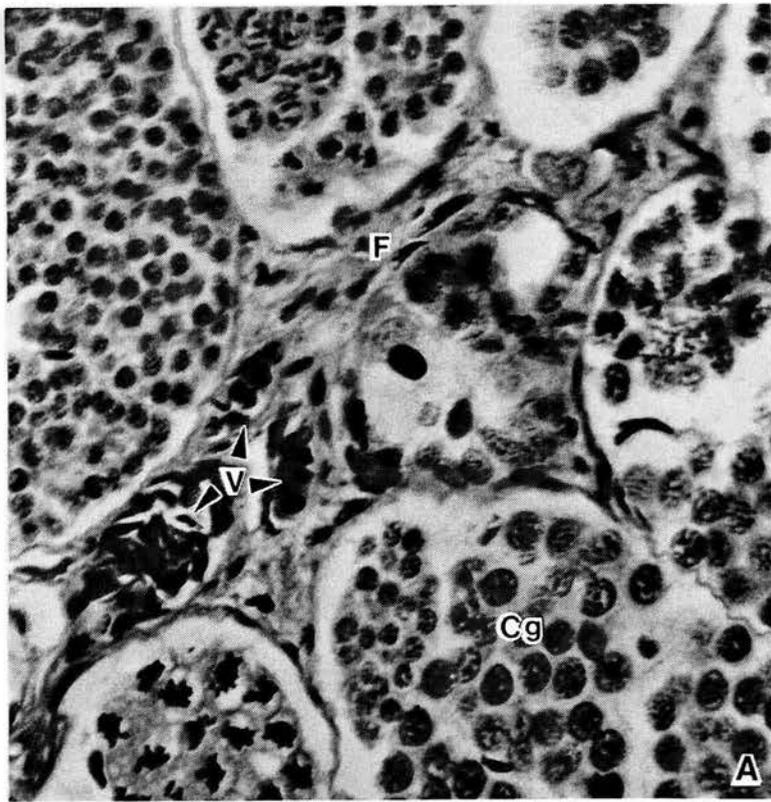


Fig. 4. Quistes espermato genéticos en *A. dumerilii*. **A)** Espermatogonia primaria (E1) rodeada de tejido conjuntivo (TC); espermatogonias secundarias (E2) al interior de lobulillos; células de Sertoli (S) rodean a las espermatogonias. **B)** Espermatocitos primarios en fases meióticas, en paquíteno (p), en diplóteno (d). **C)** Espermatocitos secundarios (Ec2); espermátidas tempranas (Ed1); espermátidas avanzadas (Ed2). **D)** Quiste de espermatozoides arreglados en forma espiral (Ez). A) azul alciano, 500X; B) doble impregnación argéntica, 500X; C) azul alciano, 500X; D) azul alciano, 500X.

FIGURA 4

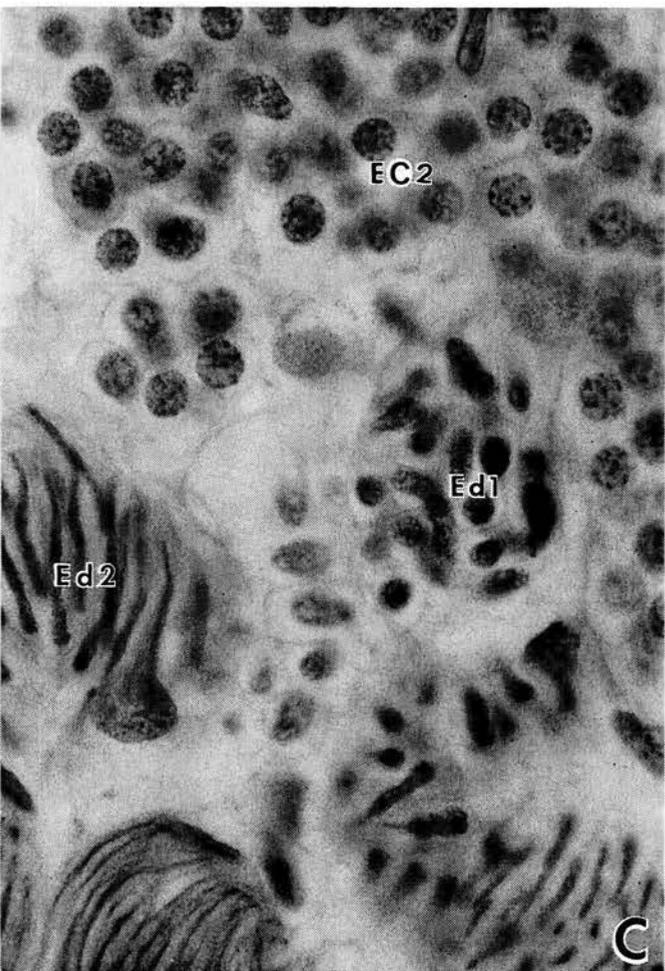
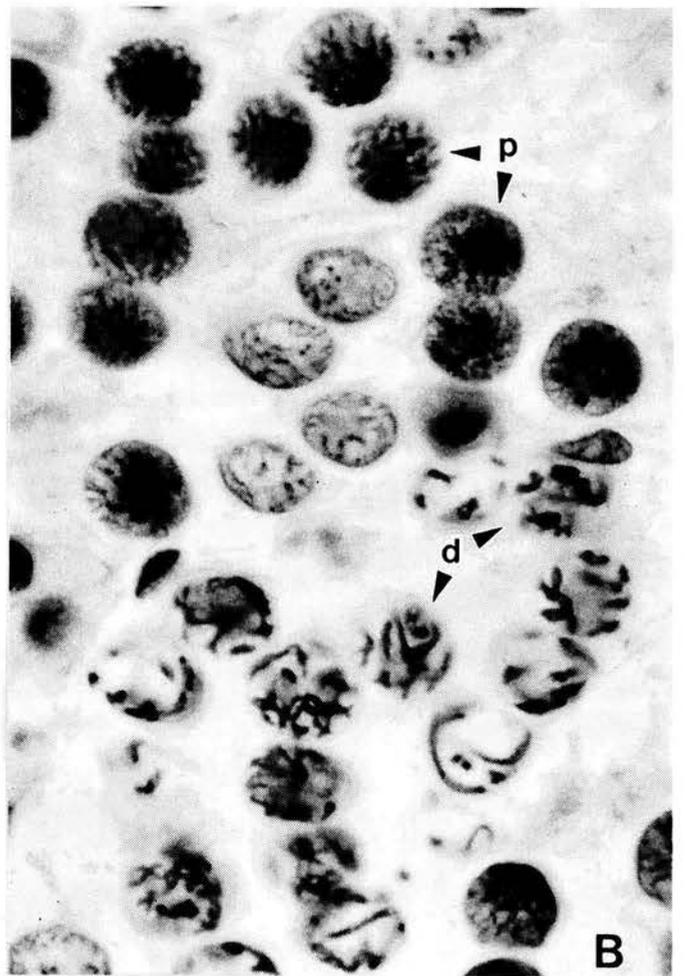
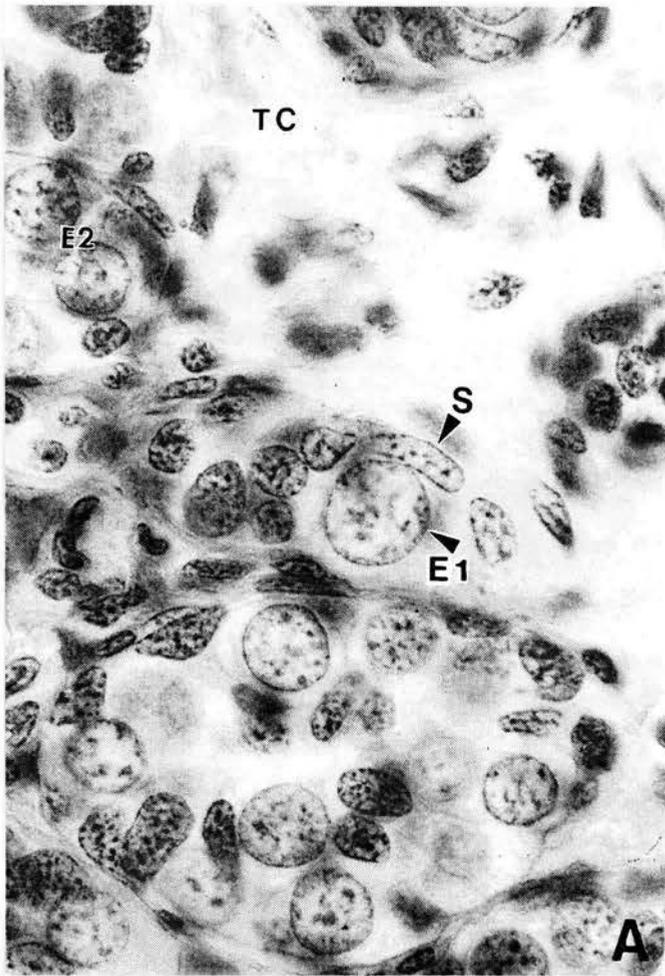


Fig. 5. Panorama del testículo de *A. dumerilii* en verano (**A**) y en otoño (**B**). En **A**) son muy abundantes los quistes de espermatocitos primarios (Ec1), espermatidas tempranas (Ed1) y espermatidas avanzadas (Ed2). **B**) Escasos quistes con espermatocitos primarios (Ec1) y abundantes quistes con espermatozoides (Ez). Note que se ha iniciado la espermiación en lobulillos donde se observa menor número de quistes. En A y B el tejido intersticial (TI) es escaso. A) H-E, 32X; B) H-E, 32X.

FIGURA 5

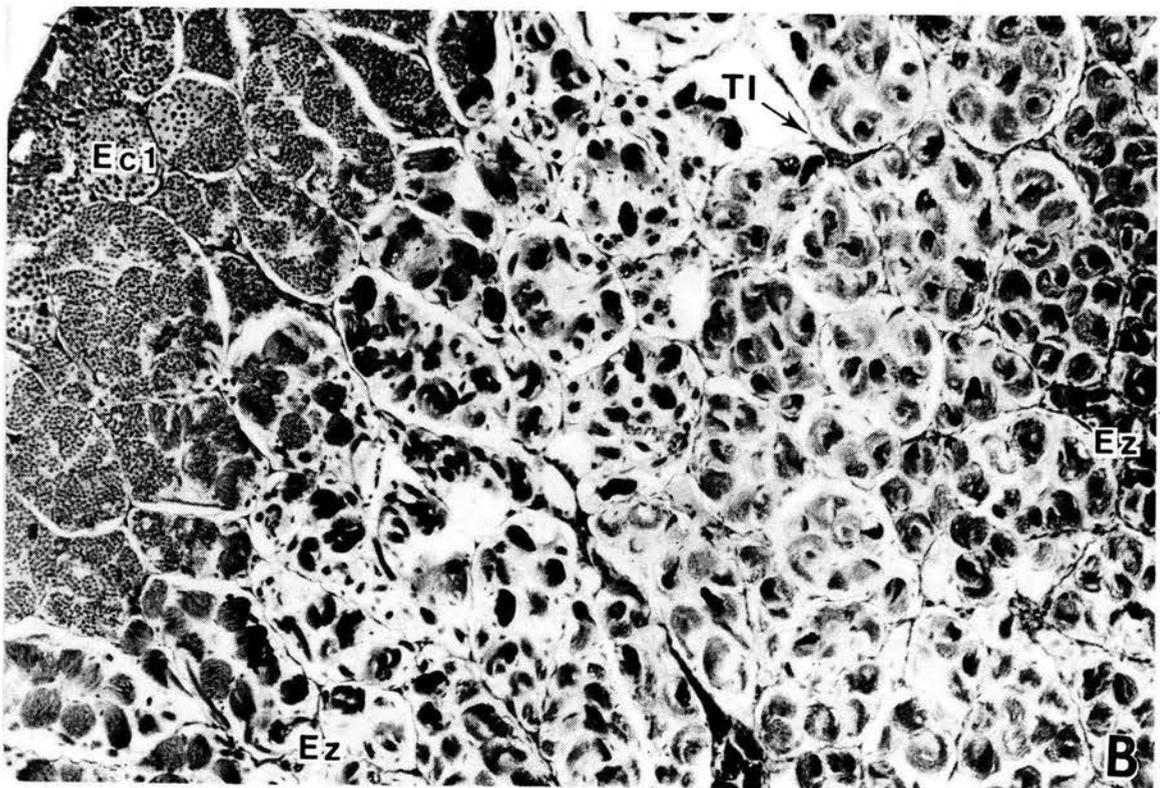
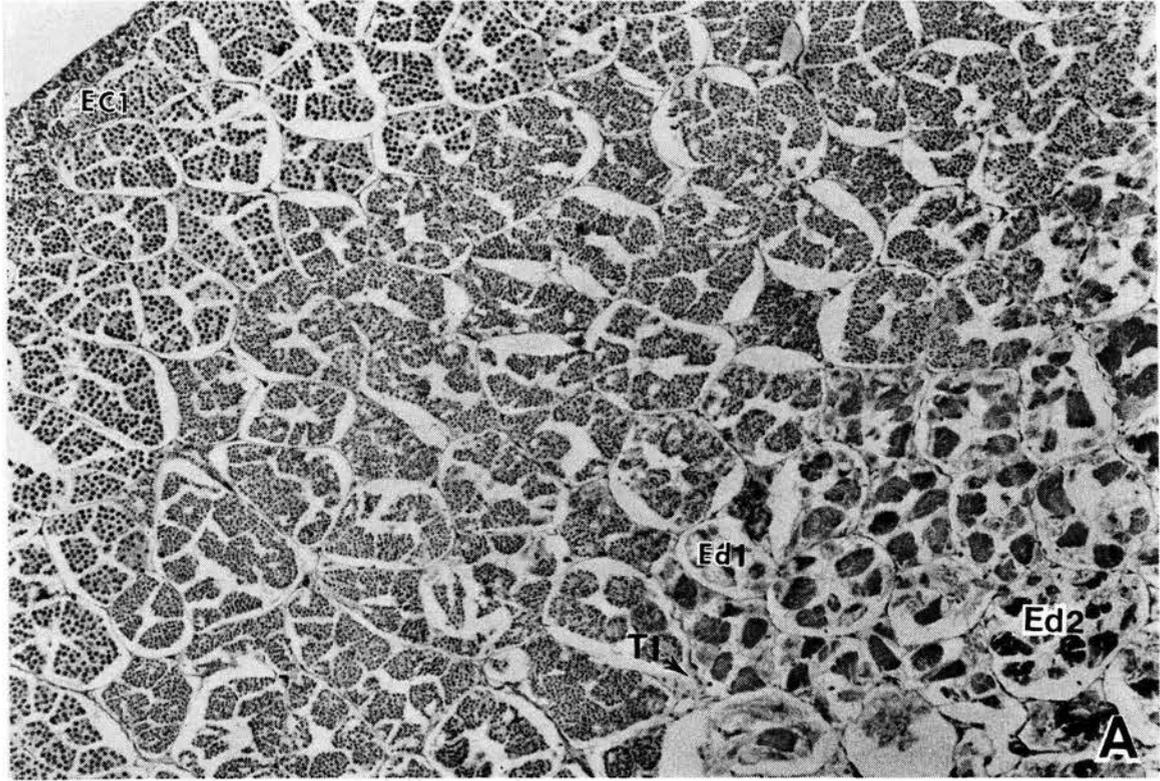


Fig. 6. Transformación de células de Leydig tempranas en células de Leydig hipertrofiadas en *A. dumerilii*, en otoño. **A)** Panorama histológico del testículo. Se observan lobulillos espermatogénéticos conteniendo quistes de espermatozoides (Ez) durante la espermiación. Lobulillos con escasos espermatozoides en el extremo derecho y lobulillos con abundantes espermatozoides en la región media de la imagen; abundante tejido intersticial formado por células de Leydig hipertrofiadas (L2); conductos eferentes (Ce) conteniendo espermatozoides. **B, C)** Células de Leydig en etapas tempranas de su hipertrofia (L1); son delgadas, cúbicas bajas o ligeramente irregulares, con núcleos irregulares o esféricos. **C, D, E)** Abundantes células de Leydig hipertrofiadas (L2) rodeando a los lobulillos en regresión con restos de células de Sertoli, o en regresión (S) en su interior. Entre las células de Leydig se observa vasos sanguíneos (V). A) PAS-azul alcianol, 32X; B) tricrómica de Cajal, 200X; C) PAS- azul alciano, 500X; D) tricrómica de Cajal, 500X; E) H-E, 200X.

FIGURA 6

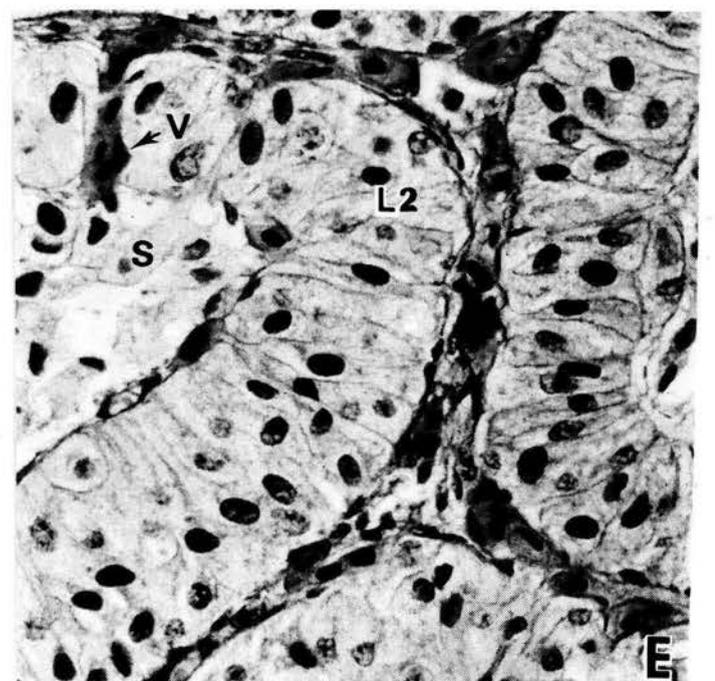
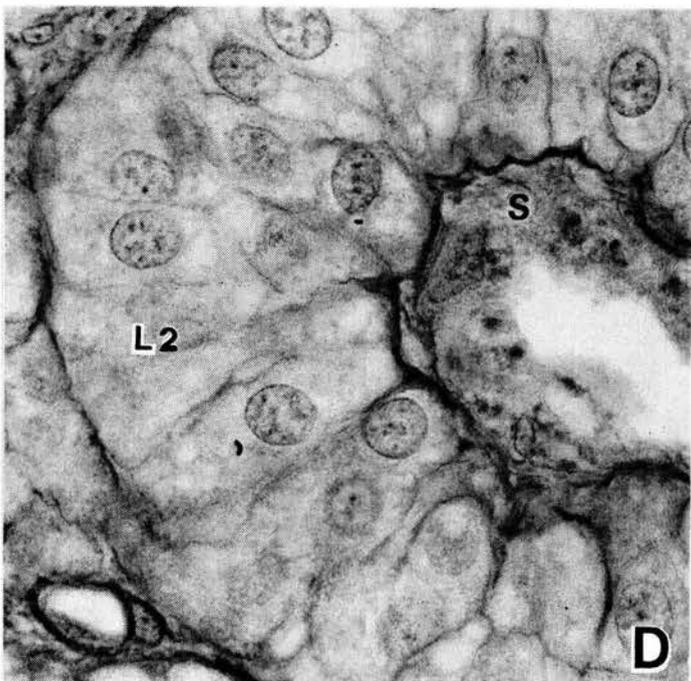
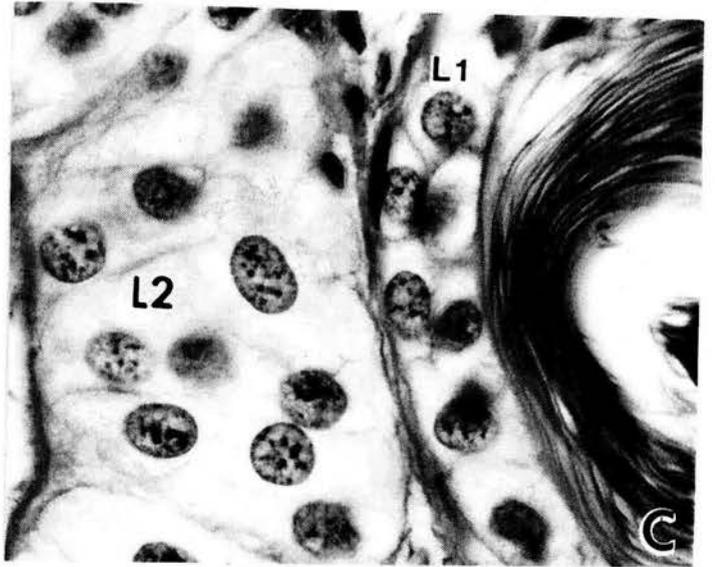
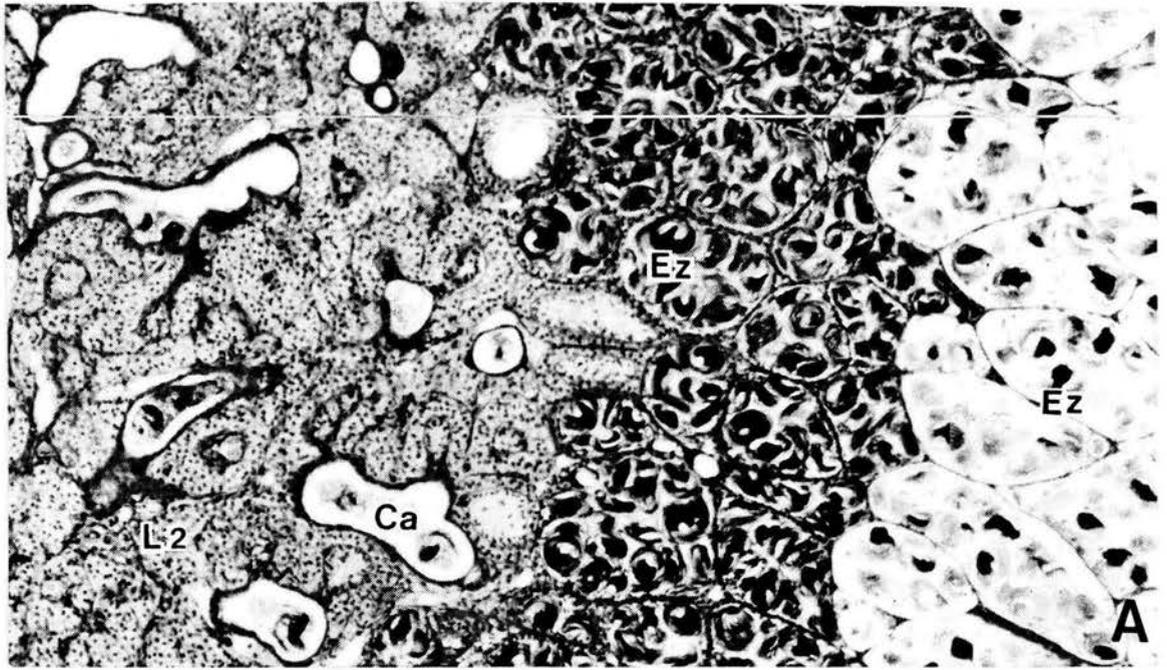


Fig. 7. Proceso de regresión de los lobulillos espermatogénéticos en *A. dumerilii* a finales de invierno. **A)** En la parte derecha de la imagen se aprecia un lobulillo conteniendo quistes de espermatozoides (Ez) y es rodeado por células de Leydig (L1) en etapa inicial de su hipertrofia; en la periferia interna del lobulillo se observan núcleos de células de Sertoli (S) con forma piramidal, ovalada o irregular. El lobulillo del lado izquierdo contiene en el centro restos de espermatozoides (Ez), y alrededor, se aprecian los núcleos de formas piramidales e irregulares de las células de Sertoli (S), cuyos citoplasmas ocupan toda la luz del lobulillo. Las células de Leydig (L2) que rodean el lobulillo se aprecian en estado más avanzado de hipertrofia. **B, C, D, E)** Las células de Sertoli en regresión (S) disminuyen su diámetro, en tanto que las células de Leydig (L2) lo mantienen. Se observan vasos sanguíneos (V) entre ambas capas celulares. Se observan algunas espermatogonias (Eg) entre las células de Sertoli. Al interior del lobulillo se observa restos de quistes (Q) después de la salida de los espermatozoides. A) PAS-azul alciano, 500X; B) tricrómica de Cajal, 200X; C) PAS, 200X; D) PAS, 500X; E) H-E, 200X.

FIGURA 7

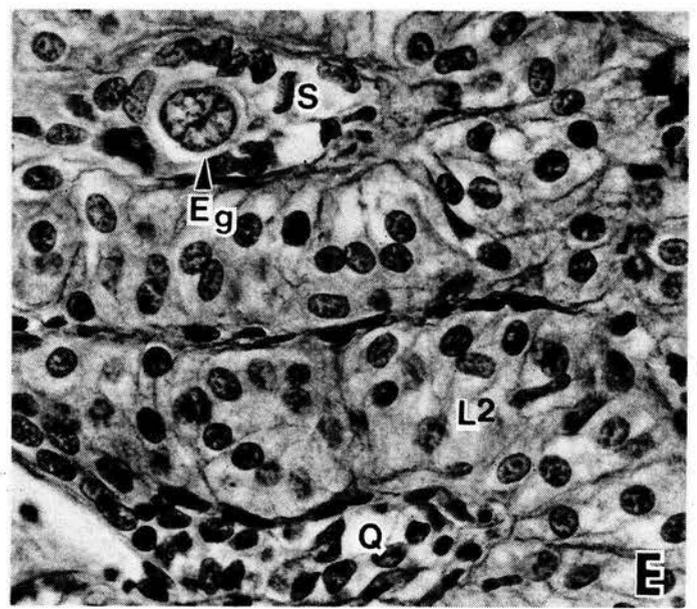
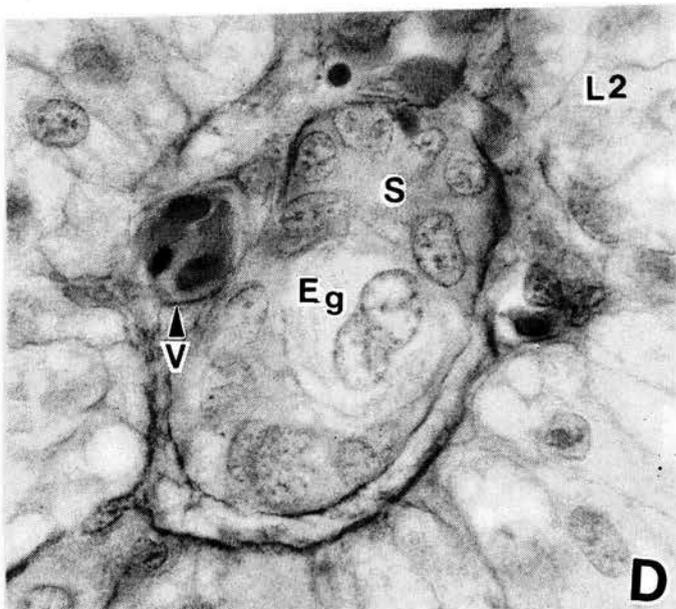
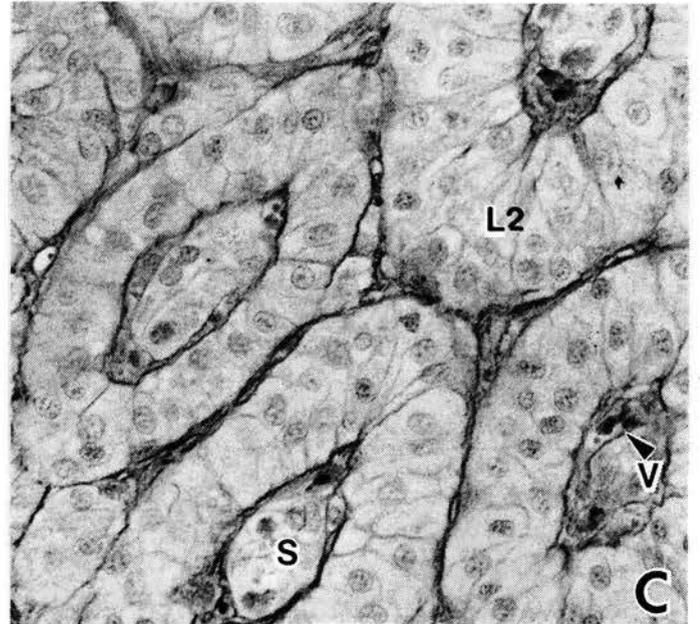
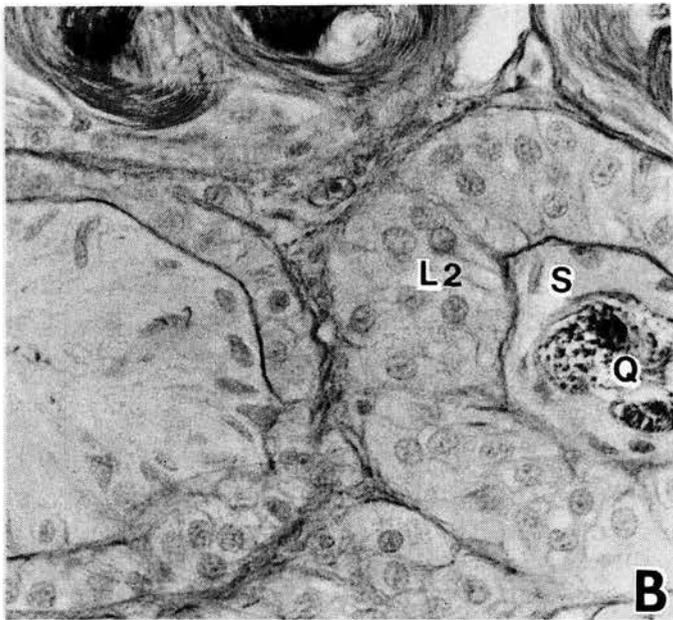
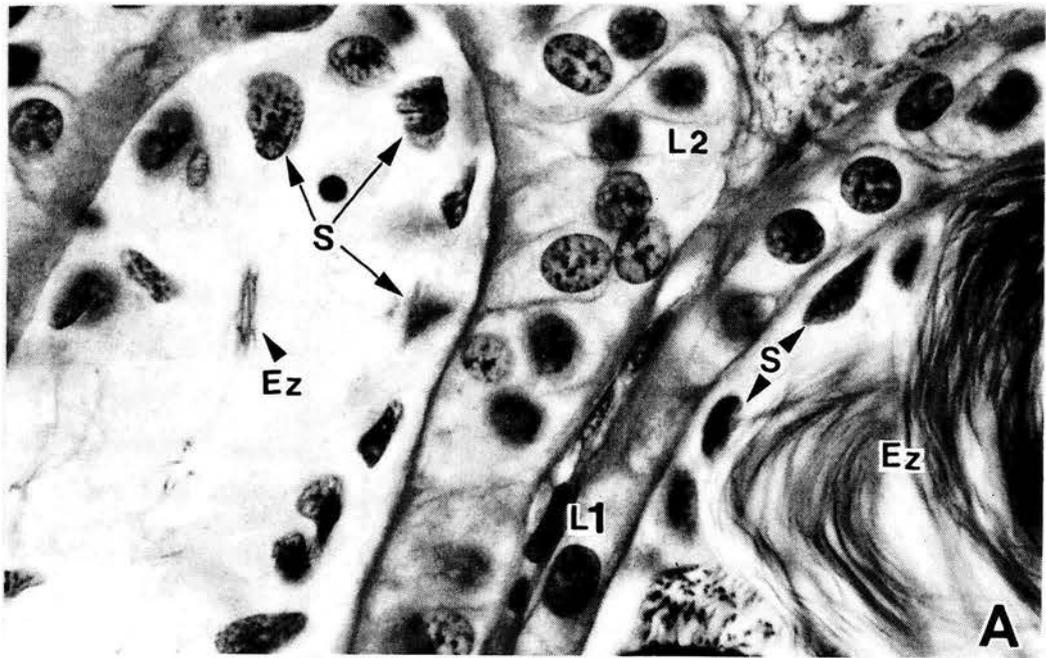


Fig. 8. Aspectos del testículo de *A. dumerili* en regresión, en primavera. **A, B)** Panorama del testículo con lobulillos con escasos conjuntos de espermatozoides (Ez) que se ubican en la periferia interna del testículo, hacia la zona proximal al conducto de Wolff y hacia la zona caudal, próximos a ser expulsados. Separadas de los lobulillos de espermatozoides del ciclo anterior por una amplia zona de tejido intersticial en regresión (TI), se encuentran espermatogonias (Eg) cercanas a la zona cefálica y periférica externa del testículo, células que formarán parte del siguiente ciclo anual. **C, D)** Detalle del tejido intersticial (TI) en regresión. Se observan núcleos picnóticos, pérdida de límites celulares y entre ellas, espermatogonias (Eg). A, B) H-E, 32X; C) H-E, 78X; D) PAS, 200X.

FIGURA 8

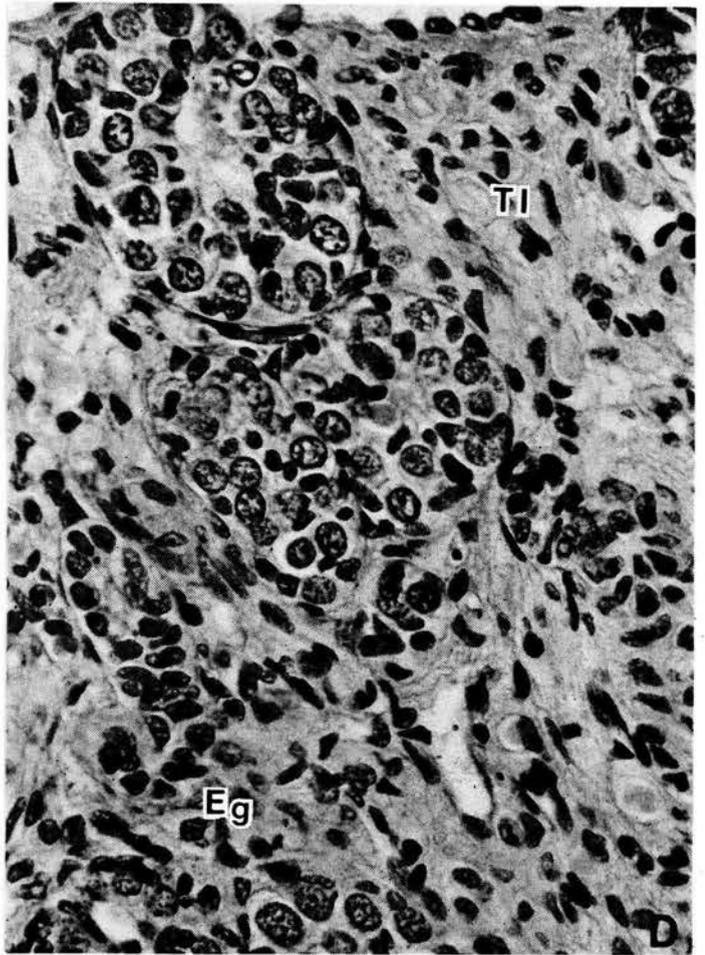
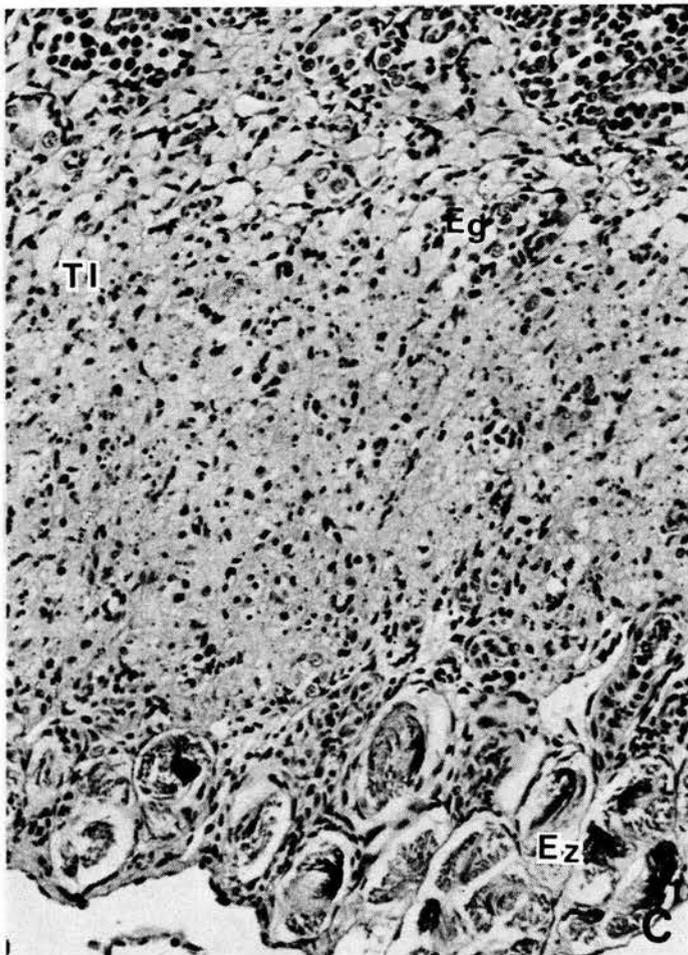
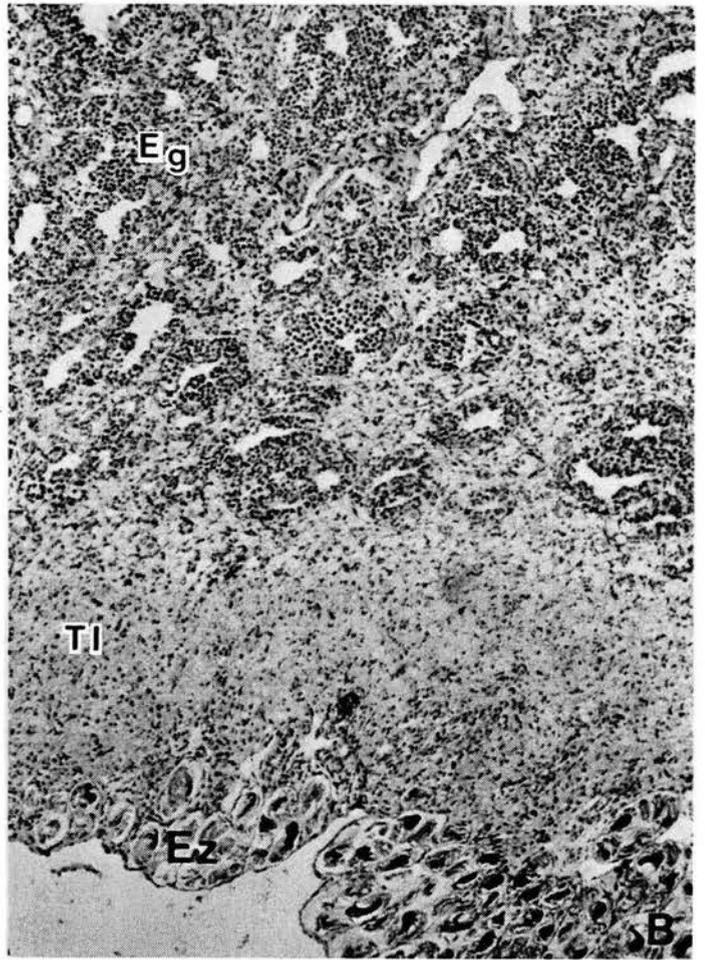
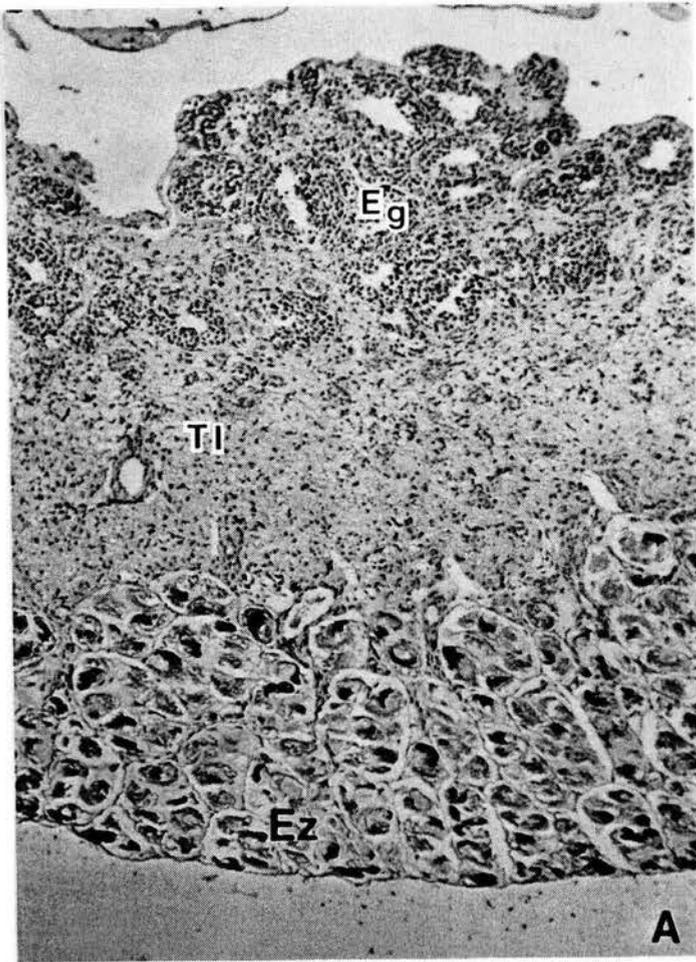


Fig. 9. Conductos del sistema reproductor masculino de *A. dumerilii* en otoño-invierno, en época reproductiva. **A)** Conducto eferente intratesticular (Ce). En su interior se observa espermatozoides (Ez) morfológicamente maduros, libres. Lobulillos espermatogénicos con quistes (Q) de espermatozoides contenidos por las células de Sertoli. **B, D)** Conductos transversales o epididimarios. En B), se observa conductos delimitados por epitelio cúbico mediano con microvellosidades (mv) abundantes y muy amplias que abarcan toda la luz del conducto. Se observa conductos entrando en regresión (Ct) con diámetro más pequeño y muy pocas microvellosidades. En D), los espermatozoides en su mayoría ya fueron desalojados de los conductos de los conductos (Ct), quedando sólo algunos restos de ellos (Ez). **C, E, F)** Conducto deferente o de Wolf (W) contorneado y su lumen ocupado por espermatozoides (Ez) muy abundantes. E) Detalle de C) donde se observa la periferia del conducto; tejido conjuntivo (TC) con vasos sanguíneos (v); epitelio columnar (Ep) alto con células apicales. En la luz del conducto se observa gran cantidad de espermatozoides libres (Ez). En F) se observa un detalle de C); zona periférica donde se observa abundante tejido conjuntivo (TC). El epitelio (Ep) del conducto se observa columnar muy alto, con núcleos basales columnares altos y células apicales con núcleo apical. En la luz del conducto se observa grupos de espermatozoides libres.

FIGURA 9

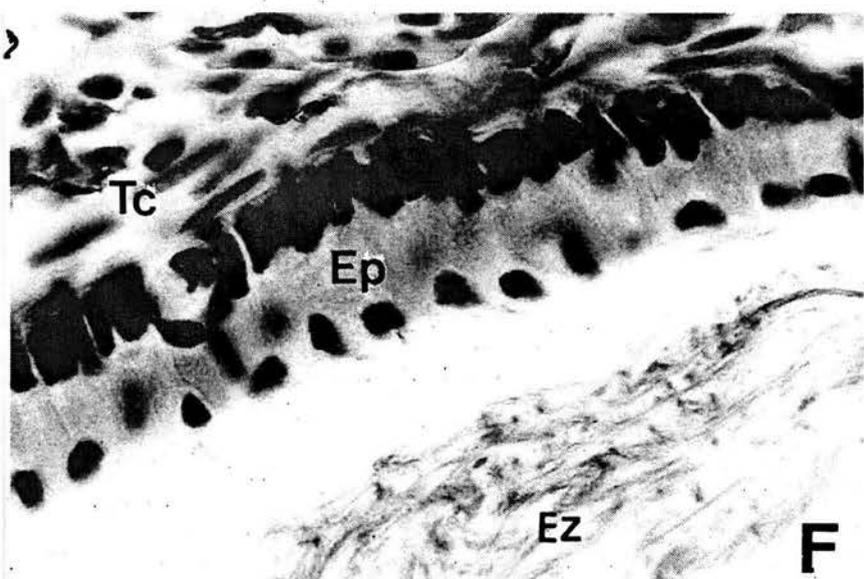
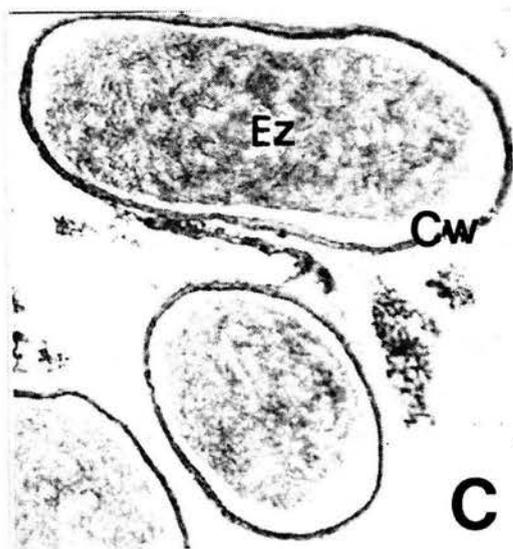
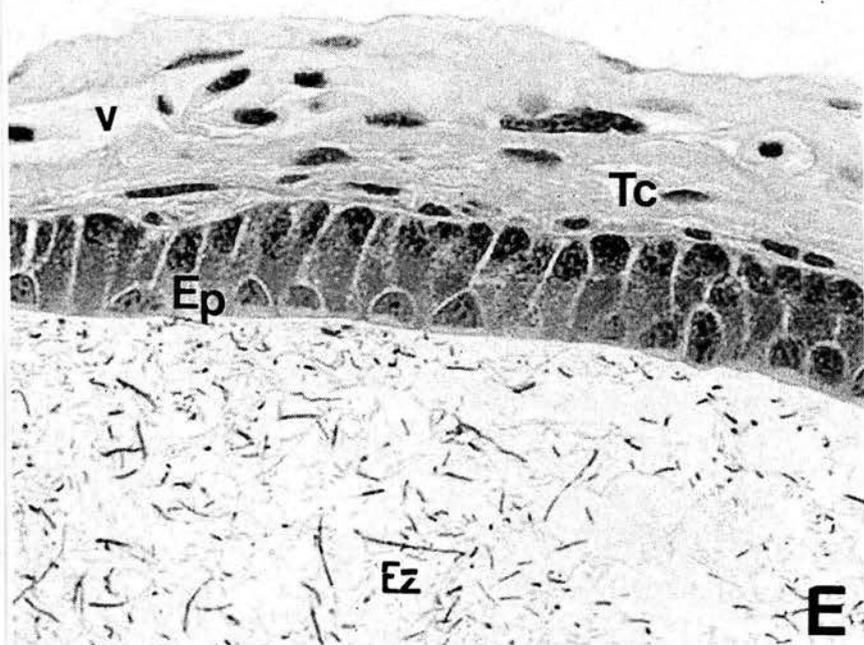
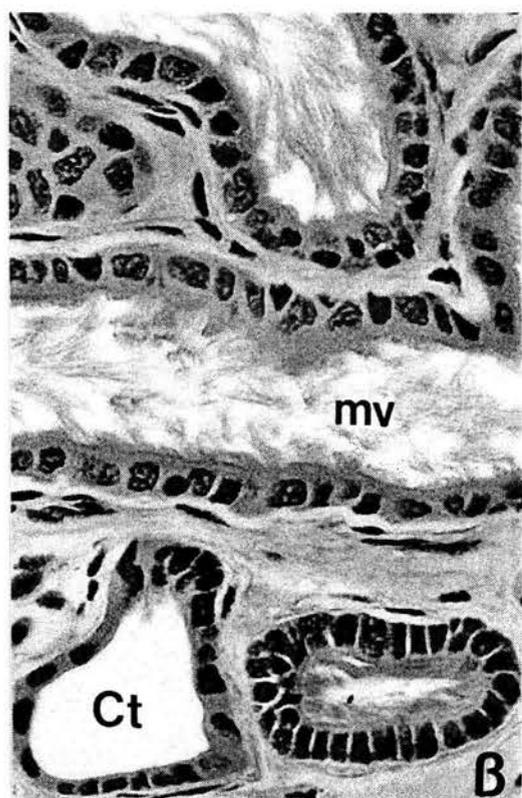
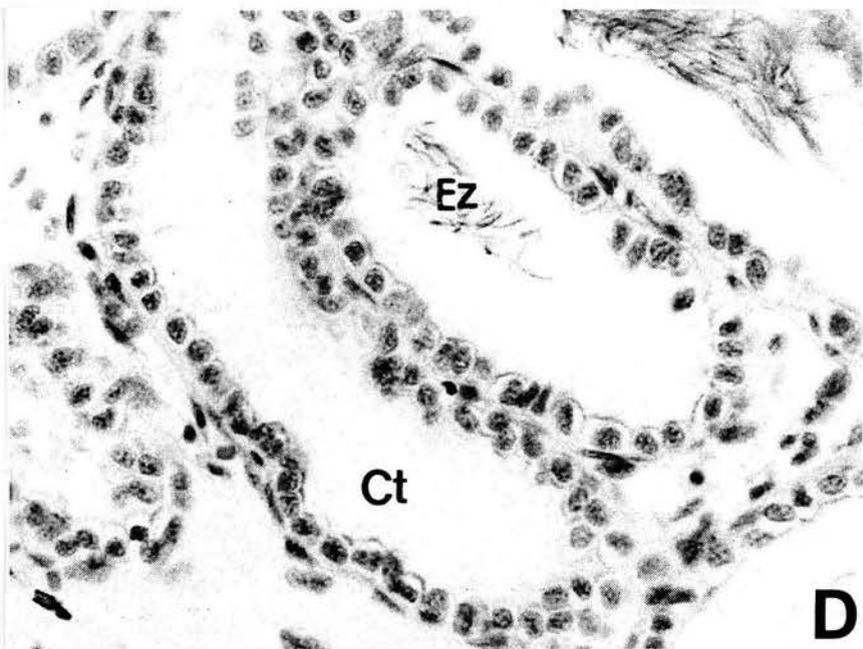
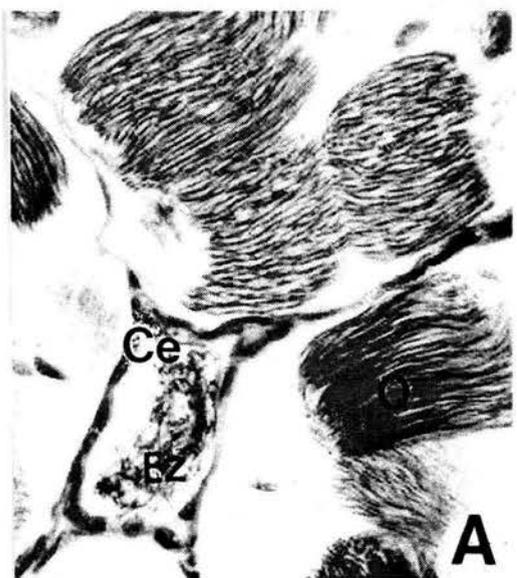


Fig. 10. Panorama del complejo glandular cloacal de *A. dumerilii* en otoño-invierno. **A)** Se distinguen cinco tipos de glándulas cloacales: 1) pélvicas dorsales (D); 2) pélvicas dorsolaterales (Dl); 3) de Kingsbury (K); 4) ventrales (Vt); 5) Anales (An); se observa el epitelio (Ep) que limita la luz de la cloaca. **B)** Detalle del epitelio (Ep) que limita la luz de la cloaca; células epiteliales columnares altas y ciliadas, con núcleos basales alargados y basófilos. A) H-E, 32X; B) H-E, 200X.

FIGURA 10

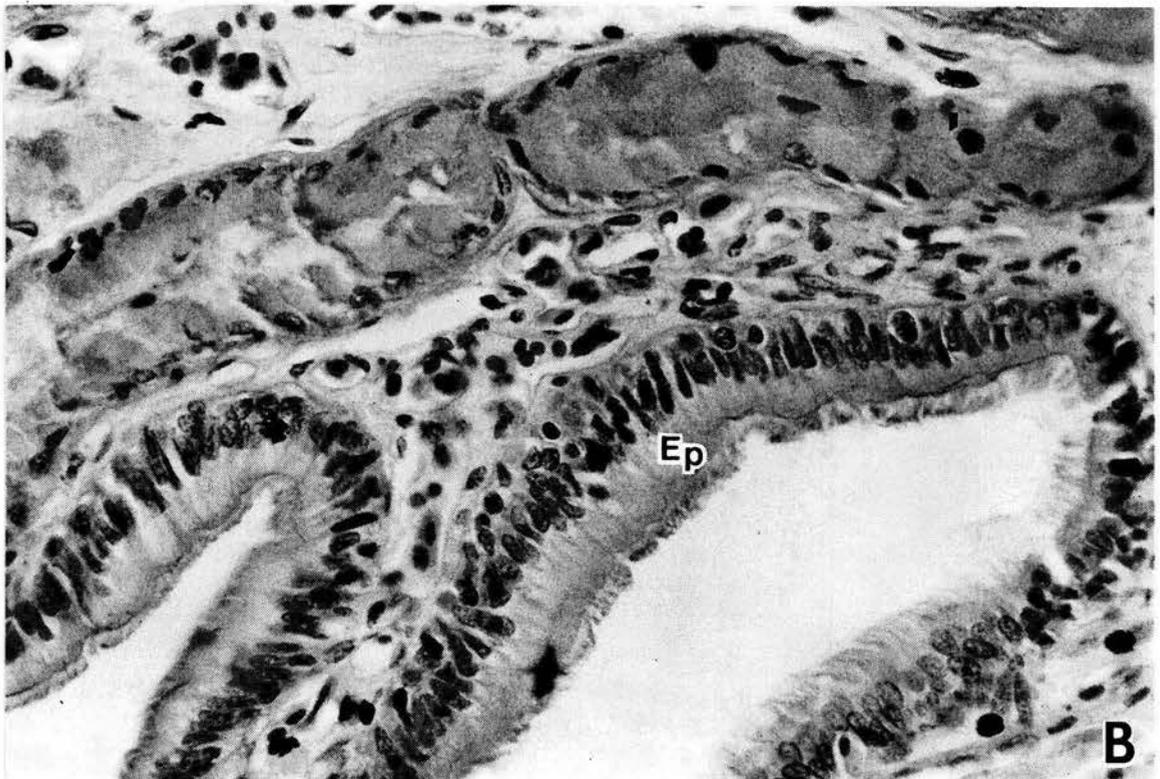
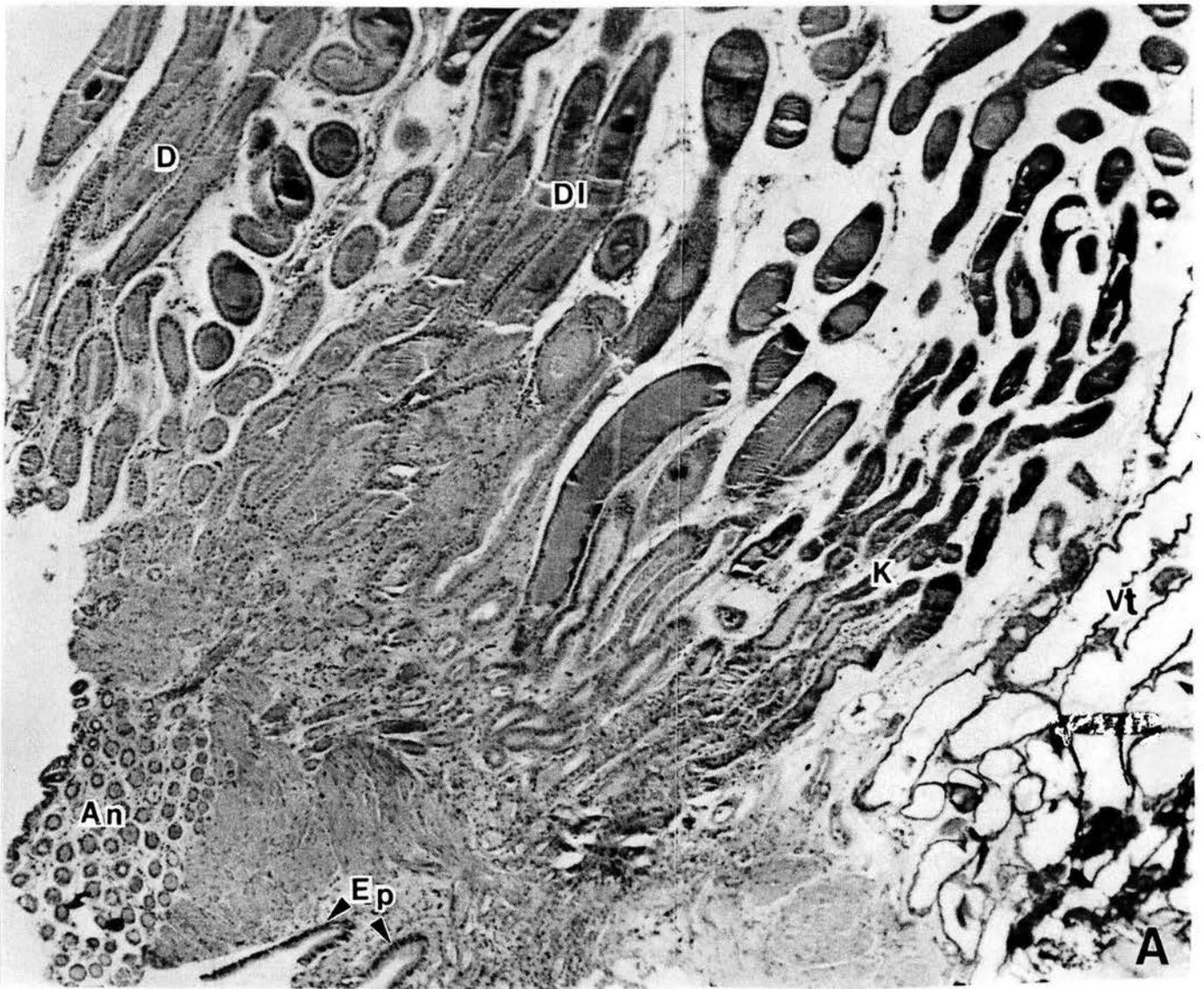


Fig. 11. Detalle de las glándulas pélvicas dorsales, pélvicas dorsolaterales y de Kingsbury del complejo glandular cloacal de *Ambystoma dumerilii* en otoño-invierno. **A)** Glándulas pélvicas dorsales (D); muestran epitelio columnar muy alto, núcleos esféricos basales y finos gránulos acidófilos apicales; la luz contiene secreción acidófila de apariencia homogénea. **B)** Glándulas pélvicas dorsolaterales (Dl); su epitelio es cúbico o bajo con núcleos ovalados; la secreción es acidófila y fibrosa. Glándula de Kingsbury (K) con secreción granulosa intensamente acidófila. **C)** Detalle de la glándula de Kingsbury (K) formada por células columnares con núcleos esféricos basales y globulillos de secreción. A) H-E, 200X; B) H-E, 200X; C) H-E, 500X.

FIGURA 11

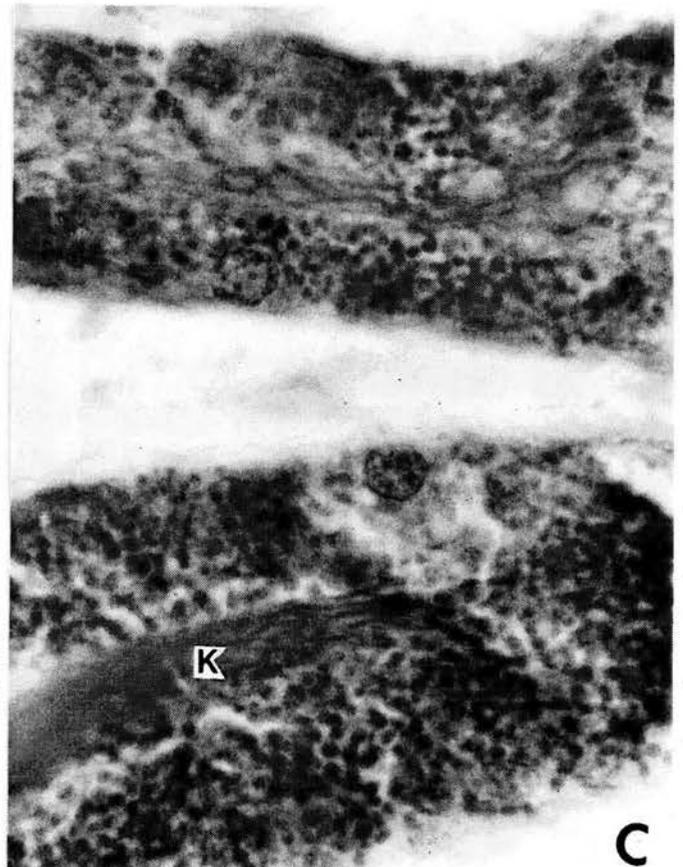
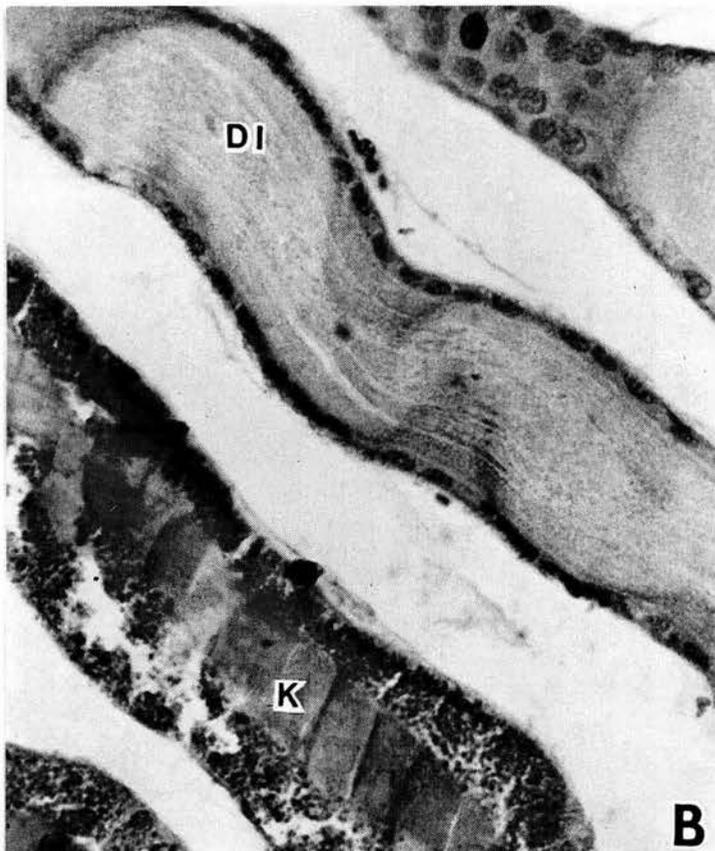
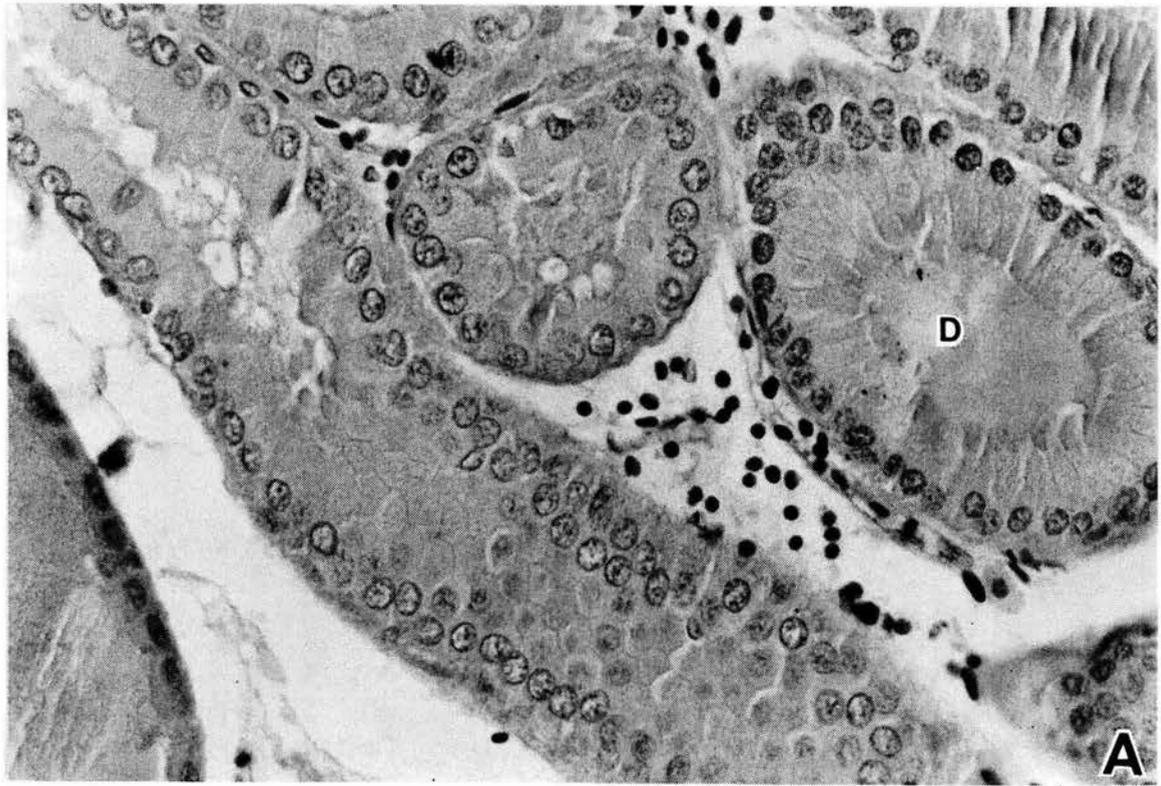


Fig. 12. Detalle de las glándulas de Kingsbury, ventrales y anales del complejo glandular cloacal de *A. dumerilii* en otoño-invierno. **A)** Glándulas de Kingsbury (K) rodeadas de tejido conjuntivo (TC) con vasos sanguíneos (V). Glándulas ventrales (Vt) con amplia e irregular luz; epitelio plano. **B)** Glándulas ventrales (Vt). El epitelio plano libera globulillos de secreción azul alciano +; tejido conjuntivo (TC) alrededor de las glándulas; epitelio (Ep) que limita la luz de la cloaca. **C)** Glándulas anales (An). Glándulas tubulares en cortes transversales con epitelio plano, rodeadas de abundante tejido conjuntivo. A) H-E, 200X; B) azul alciano, 200X; C) H-E, 78X.

FIGURA 12

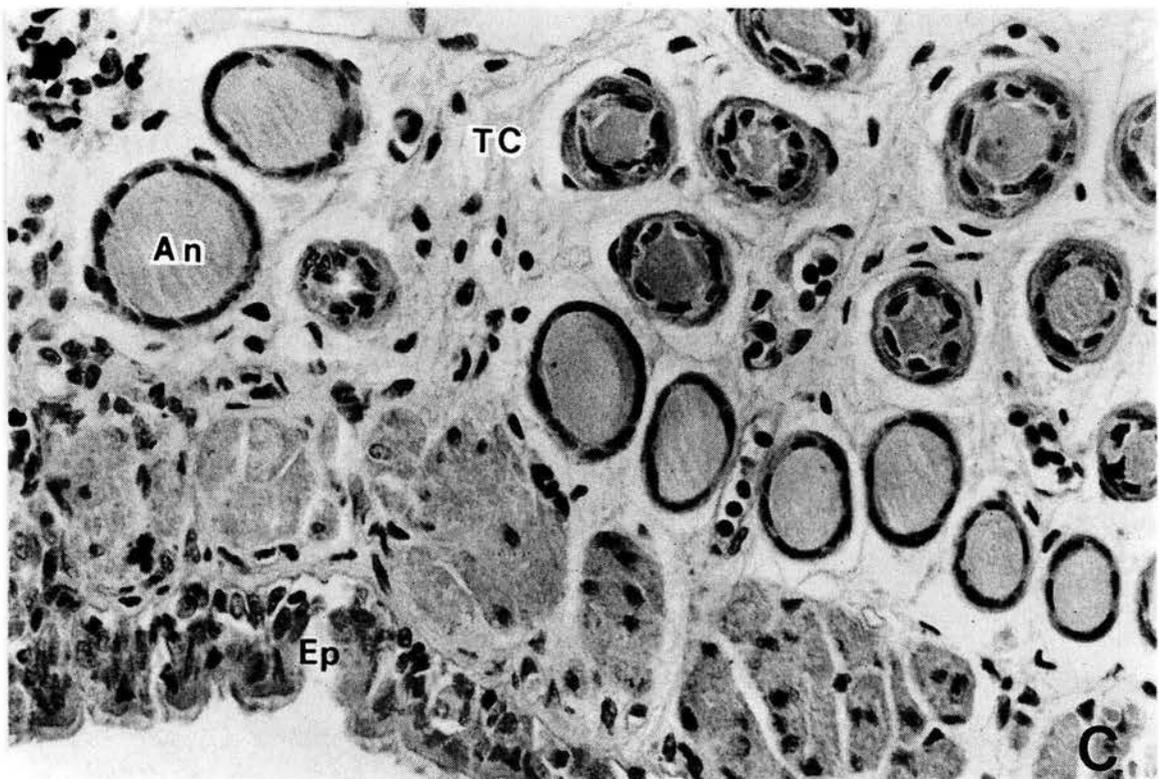
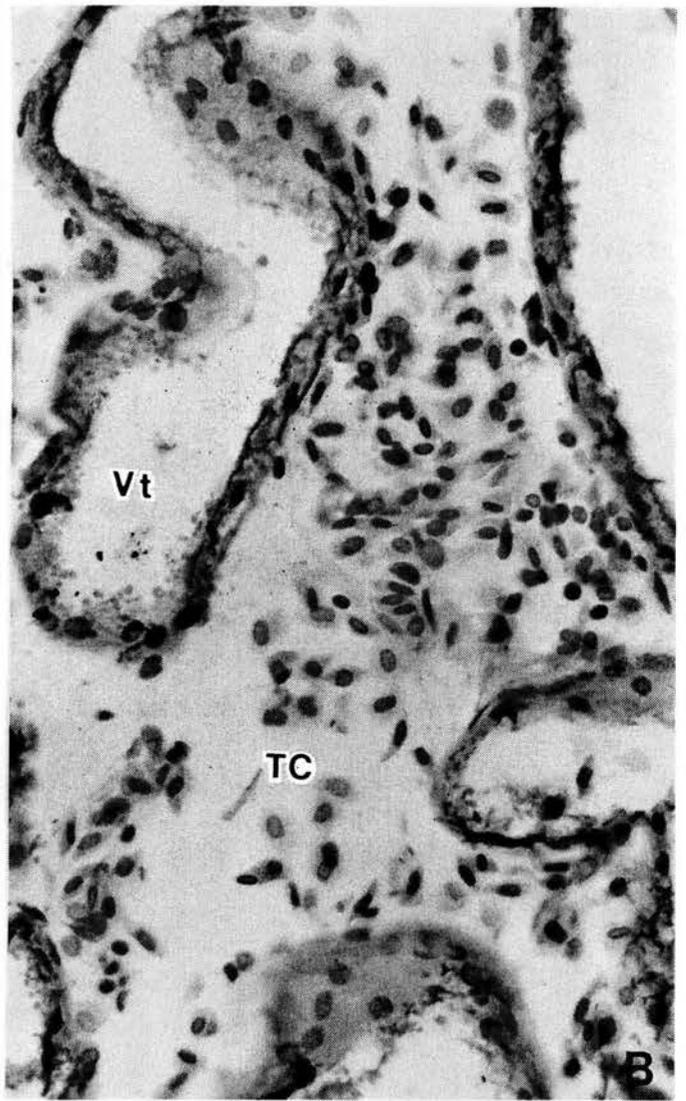
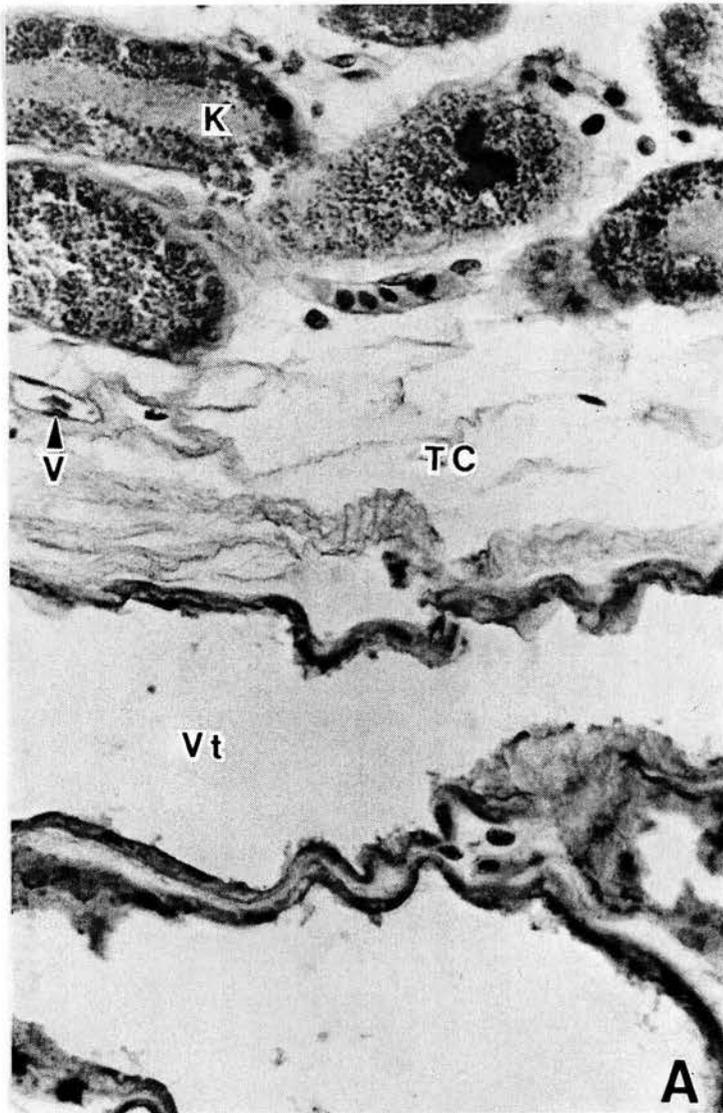


Fig. 13. Panorama del complejo glandular cloacal de *A. dumerilii* a finales de invierno, al inicio de la regresión. **A, B)** Glándulas pélvicas dorsales (D) en corte transversal con abundantes secreciones en su luz. Glándulas pélvicas dorsolaterales (Dl) en cortes longitudinales y tinción en azul alciano+; glándulas de Kingsbury (K); abundante tejido conjuntivo (TC) rodea y sostiene a las glándulas. Algunas glándulas se van retrayendo y perdiendo límites celulares. **C)** Detalle de glándulas pélvicas dorsolaterales (Dl); muestran epitelio cúbico bajo (Ep) y abundantes secreciones en su lumen. Las glándulas de Kingsbury (K) muestran pérdida de límites celulares y poca secreción en su luz. A) azul alciano, 32X; B) H-E, 78X; C) H-E, 78X.

FIGURA 13

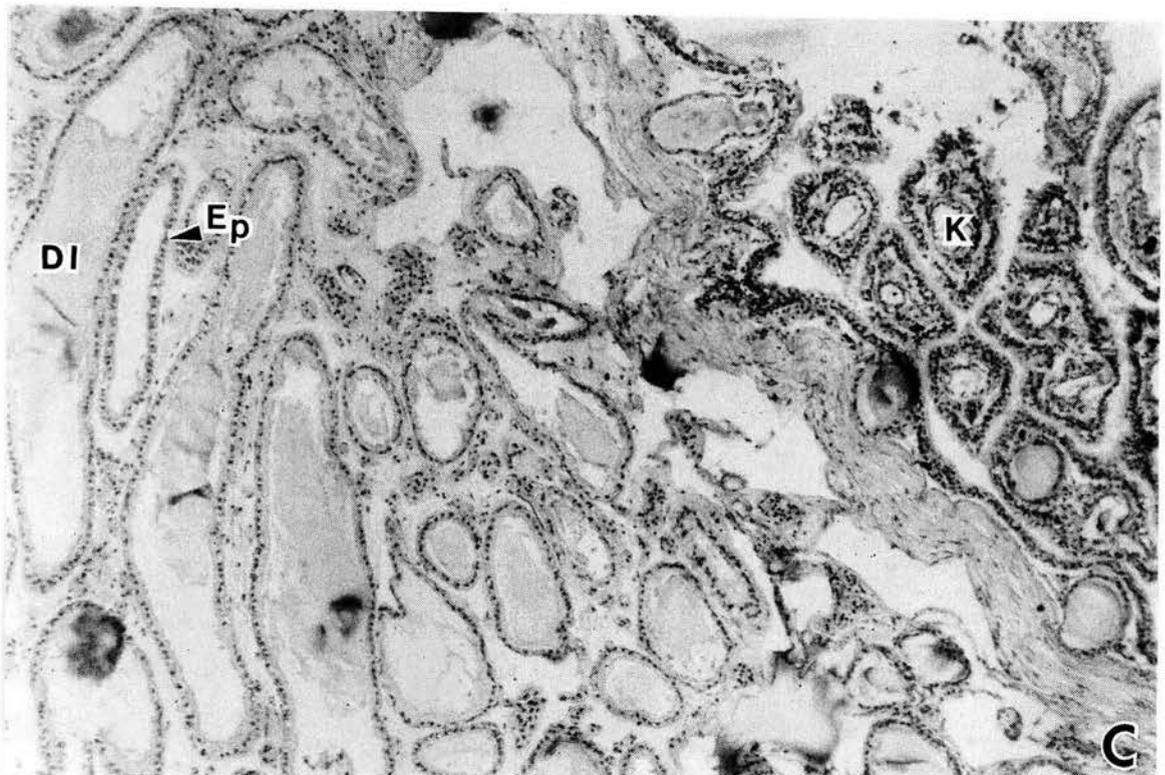
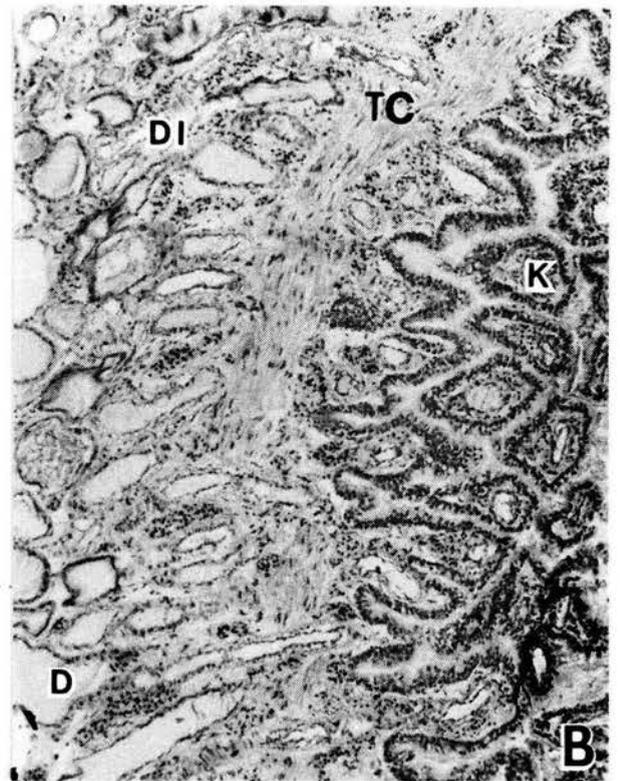
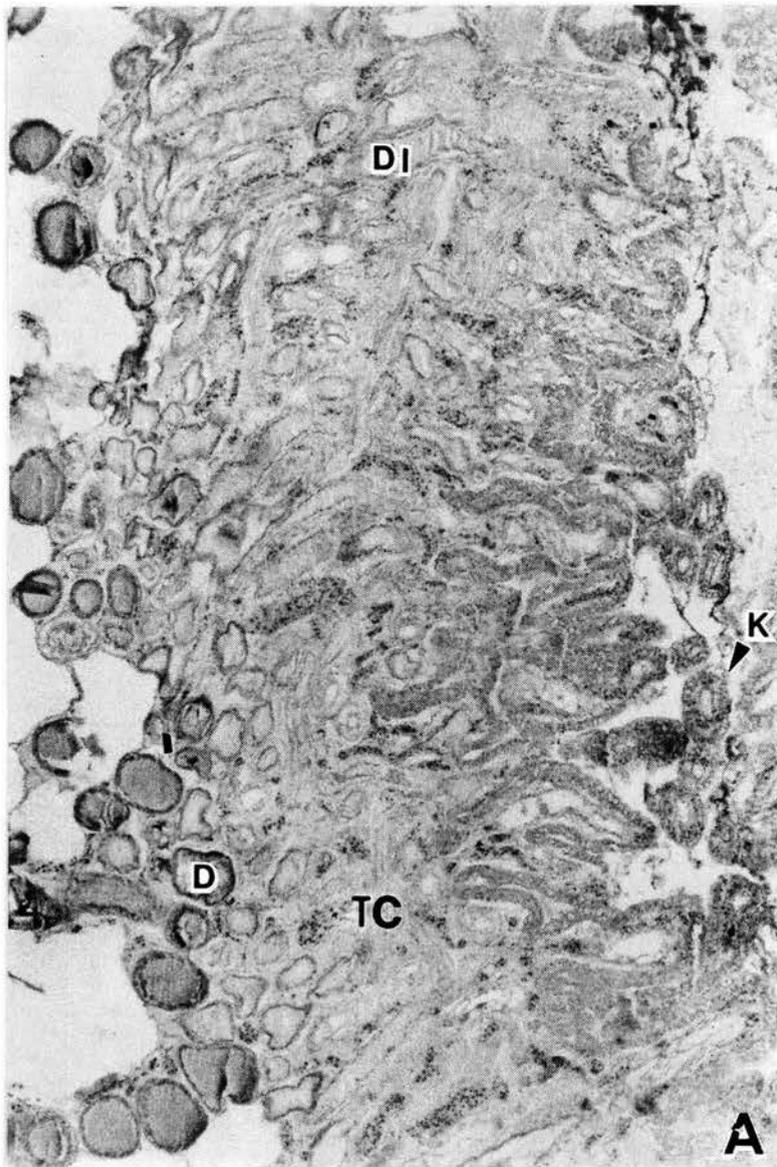
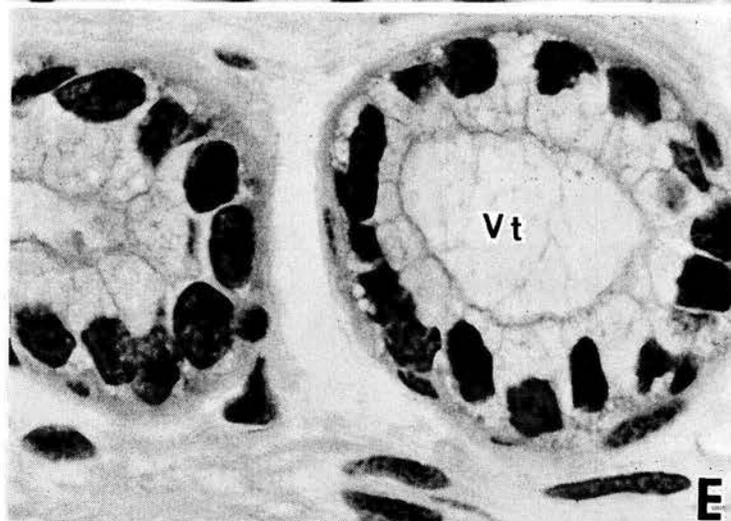
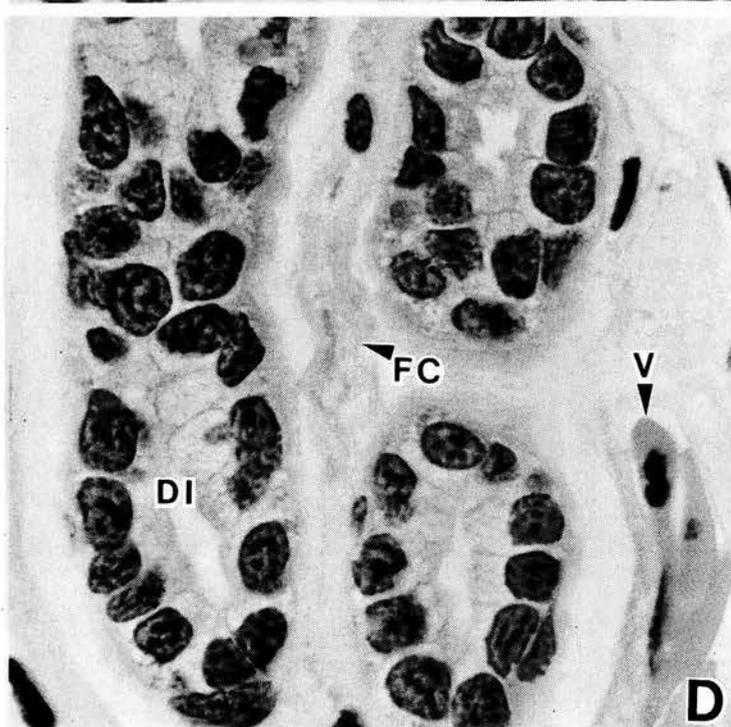
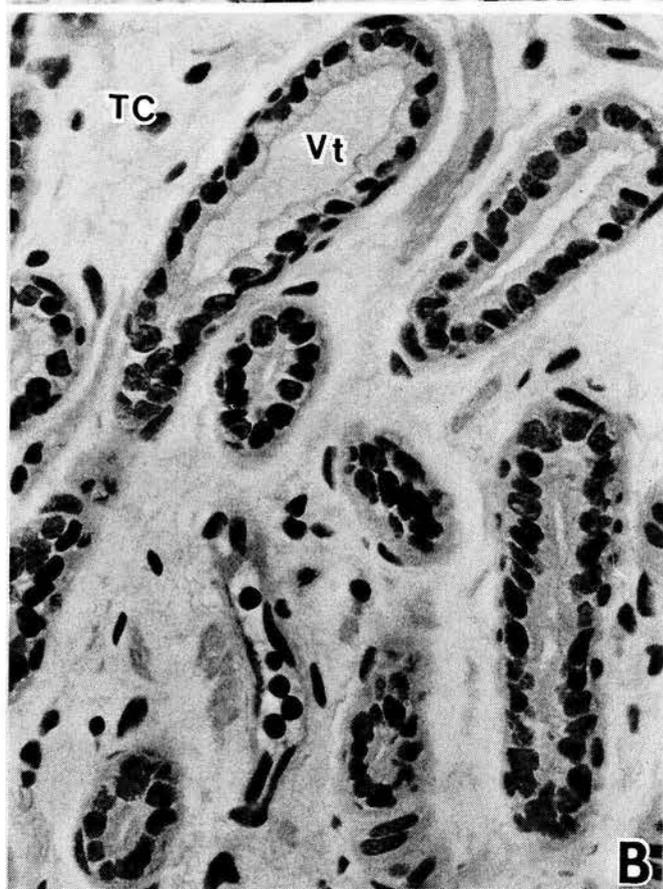
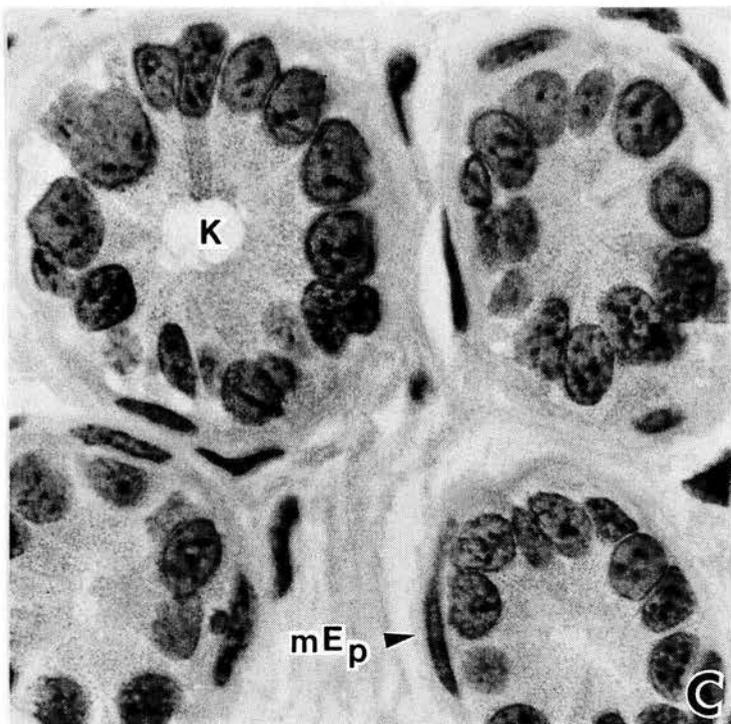
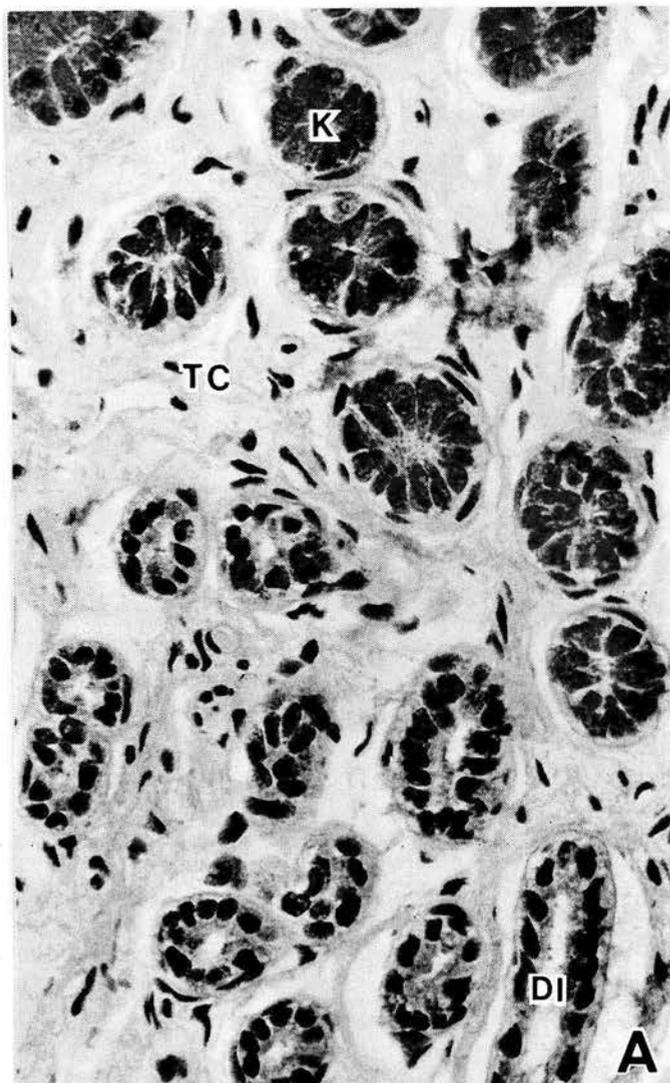


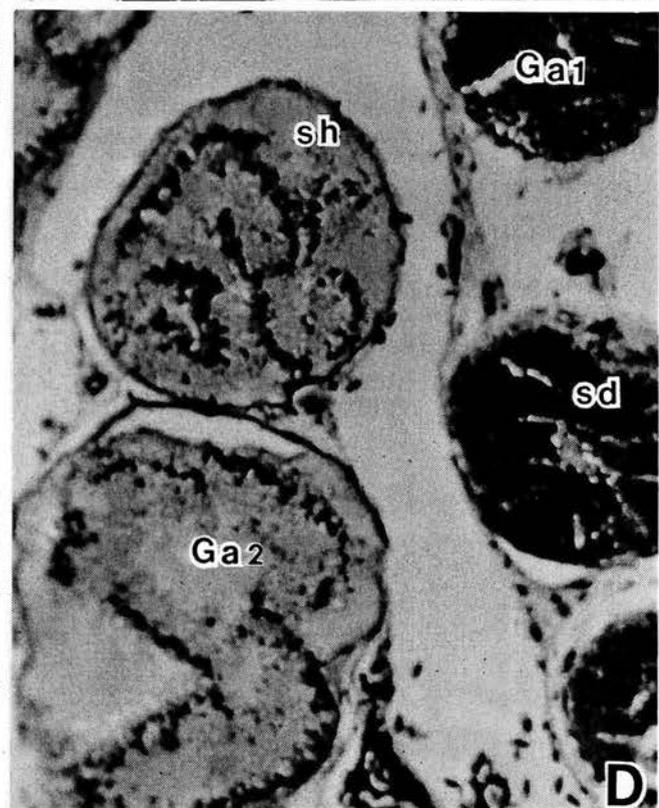
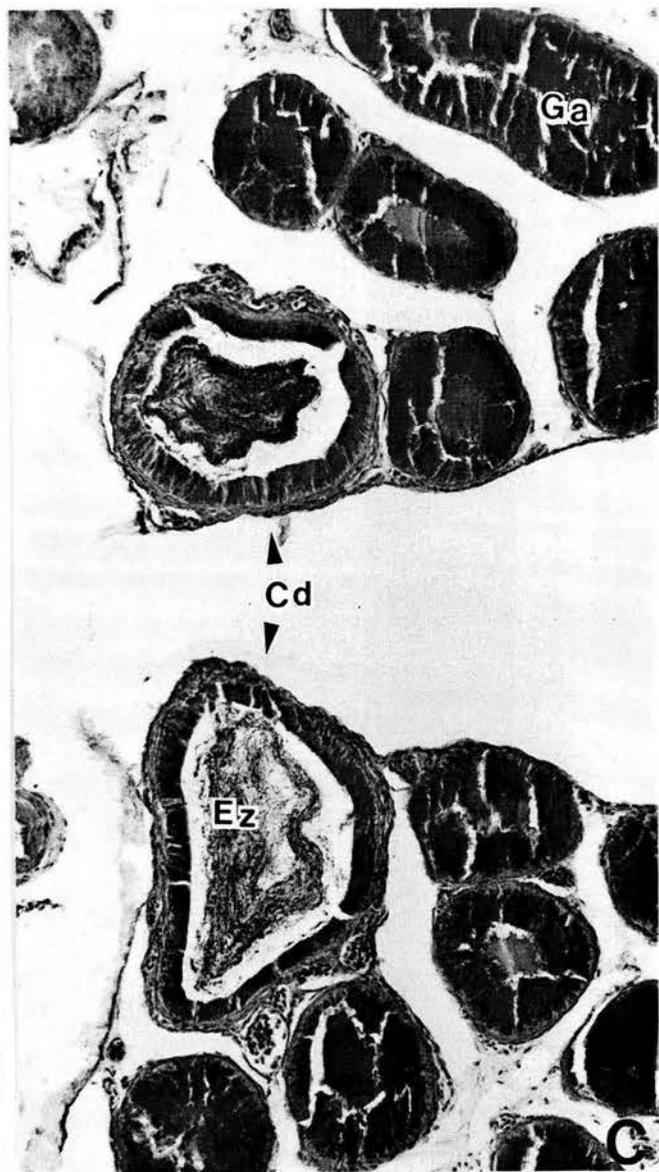
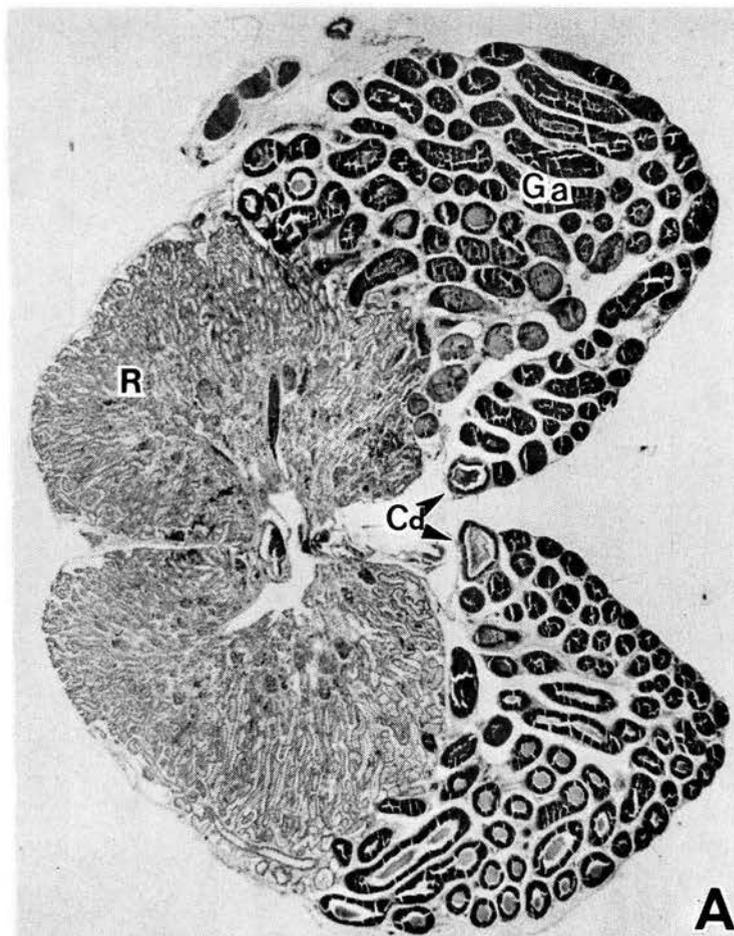
Fig. 14. Detalle de las glándulas del complejo glandular cloacal en regresión en *A. dumerilii* en primavera-verano. **A, B)** Conjuntos de glándulas del complejo glandular cloacal; glándulas de Kingsbury (K); glándulas pélvicas dorsolaterales (Dl) y ventrales (Vt); las glándulas se encuentran en reducción; las de Kingsbury contienen sustancia de secreción; las pélvicas dorsolaterales y las ventrales sin secreciones aparentes. Las glándulas aparecen rodeadas de tejido conjuntivo (TC). **C, D, E)** Mayor detalle de las glándulas de Kingsbury (K), pélvicas dorsolaterales (Dl) y ventrales (Vt). Las de Kingsbury con finos gránulos de secreción en el lumen; las dorsolaterales y las ventrales sin secreciones. Entre las cinco micrografías de esta figura las glándulas aparecen rodeadas de un mioepitelio (mEp) plano muy bajo, y rodeando a éste, tejido conjuntivo, conteniendo vasos sanguíneos (V), fibroblatos (Fb), fibras colágenas (Fc) y fibras reticulares (Fr). A) H-E, 200X; B) H-E, 200X; C, D, E) H-E, 500X.

FIGURA 14



**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

Fig. 15. Panorama histológico de la región donde coinciden los riñones, el complejo glandular anexo a los riñones y los conductos deferentes de *A. dumerilii* en otoño-invierno. **A)** Panorama de los riñones (R), el complejo glandular anexo (Ga) y los conductos deferentes (Cd). **B, C, D)** Detalles de A), donde se muestra la estrecha relación del riñón (R) con los conductos deferentes (Cd) y las glándulas anexas (Ga) y los tipos glandulares que conforman el complejo glandular anexo (Ga) y las abundantes sustancias de secreción en su lumen en esta época. Espermatozoides (Ez) en los conductos deferentes. En D) se observan dos tipos de secreciones glandulares con secreción densa (sd) y secreción hialina (sh) en dos distintos tipos de glándulas (Ga1 y Ga2). A) PAS, 32X; B) doble impregnación argéntica, 78X; C) PAS, 200X; D) doble impregnación argéntica, 500X.



VIII. DISCUSION

Analizando los aspectos histológicos del avance de la espermatogénesis, del tejido intersticial, los conductos y el complejo glandular cloacal durante el ciclo anual del aparato reproductor del ajolote macho de la especie *A. dumerilii*, se observa que la espermatogénesis se inicia con la formación de quistes y la proliferación de células germinales al interior de los lobulillos y de los testículos, al final de la primavera o al inicio del verano; coincidiendo estas observaciones con las de Carrick, 1934 (*Ambystoma tigrinum*); Miltner y Armstrong, 1983 (*Ambystoma mexicanum*); Pudney et al., 1983 (*Necturus maculosus*); Norris et al., 1985 (*Ambystoma tigrinum*); Pudney et al., 1995 (*Cryptobranchus alleganiensis*); Rastogi e Iela, 1992 (*Triturus carnifex*), quienes afirman que en estas especies la espermatogénesis es iniciada en los testículos en regresión con la formación de quistes espermatogénéticos.

Los testículos de *A. dumerilii* muestran una marcada diferencia histológica cefalocaudal que indica el avance del proceso espermatogénético; apreciándose una zonación al interior de éstos. De manera que en la zona cefálica es posible observar células germinales de gran talla (50 µm en promedio) con citoplasma halino, y conforme se avanza en la observación del testículo hacia la parte caudal y en dirección al conducto de Wolff, se encuentra células que disminuyen de diámetro y aumentan su afinidad tintórea, células con cromatina más densa. Este proceso es similar a lo descrito para otros caudados como *Necturus maculosus*, *Desmognathus fusca*, *Diemyctylus viridescens*, *Cryptobranchus alleghaniensis* y *Plethodon erythronotus* (Humphrey, 1921); *Amblystoma tigrinum* (Carrick, 1934); *Pseudoeurycea rex*, *Eurycea lucifuga* y *Eurycea longicauda* (Houck 1977); *Necturus maculosus*, *Trituroides hongkongensis* (Tso y Lofts, 1977); *A. tigrinum* (Armstrong, 1989) y *Triturus marmoratus* (Fraile et al., 1989, 1990); en los que la espermatogénesis se inicia en la periferia del extremo cefálico de los testículos, en tanto que las etapas avanzadas de diferenciación espermatogénética, como espermatocitos, espermátidas y espermatozoides, se localizan progresivamente en dirección caudal hacia el conducto de Wolff. Nuestras observaciones coinciden con los resultados de estos autores, y en particular, confirmamos la observación realizada previamente en *A. dumerilii* por Uribe et al. (1994, 2001, 2003), al identificar en esta especie, espermatogénesis de tipo longitudinal, lobular y quística, que igualmente avanza en dirección al conducto de Wolff.

En *A. dumerilii*, el avance de la espermatogénesis a través de las estaciones del año, se muestra a manera de cambios citológicos de forma sincrónica de las células germinales al interior de quistes. Así, los quistes en períodos sucesivos sólo contendrán un estadio espermatogénético, como espermatogonias, espermatocitos, espermatidas o espermatozoides. Igualmente a lo descrito en otras especies como *Necturus maculosus*, *Desmognathus fusca*, *Diemyctylus viridescens*, *Cryptobranchus alleghaniensis* y *Plethodon erythronotus* (Humphrey, 1921); *Amblystoma tigrinum* (Carrick, 1934); *Ambystoma mexicanum* (Houck, 1977); *Necturus maculosus* (Pudney et al., 1983); *Eurycea lucifuga*, *Eurycea longicauda* (Williams et al., 1985); *Trituroides hongkongensis* (Armstrong, 1989); *Triturus marmoratus* (Fraile et al., 1989, 1990); confirmando también lo descrito anteriormente por Uribe et al. (1994, 2001, 2003) en *A. dumerilii*, quienes afirman que todo el proceso espermatogénético que llevan a cabo las células germinales se realiza al interior de espermatoquistes formados por la asociación de células de Sertoli que engloban a las células germinales y controlan el proceso de espermatogénesis.

Una vez llegado el fin del proceso espermatogénético en *A. dumerilii*, cuando los espermatozoides morfológicamente maduros son desalojados del quiste y del lobulillo espermatogénético y son depositados en los conductos eferentes, se desarrolla una capa de células foliculares o de Sertoli que recubren internamente la luz del lobulillo desalojado, y más tarde estas células aumentan de volumen y ocluyen totalmente la luz del lobulillo. Esta capa de células de Sertoli hipertrofiadas ha sido descrita por Humphrey (1921) y Carrick (1934), quienes afirman que estas células cumplen funciones de espermatofagia; Tso y Lofts (1977a), Fraile et al. (1989, 1990) y Pudney (1995), le asignan una función endocrina y afirman que las células de Sertoli pueden producir pequeñas cantidades de hormona testosterona, que ejerce un control local sobre la sincronización de la espermatogénesis en un mismo quiste; Grier (1983) y Pudney et al. (1995) le asignan una función como barrera de permeabilidad; mientras que Franchi et al. (1982) mencionan que esta capa cumple con el suministro de nutrientes que requieren las células germinales. En *A. dumerilii* la capa de células de Sertoli hipertrofiadas se desarrolla ampliamente cuando la mayoría de los espermatozoides ha sido desalojada de los quistes, quedando sólo restos de algunos de ellos; así como algunos restos de células de Sertoli que ya han terminado su función, algunas secreciones y algunos espermatozoides con forma anormal. Con base en lo descrito

por los autores antes mencionados y lo observado en nuestras preparaciones, proponemos que las células de Sertoli hipertrofiadas en *A. dumerilii* llevan a cabo la misma tarea de fagocitosis, encargándose de eliminar los restos citológicos del ciclo espermatogénico que termina; ya que es posible observar al centro del lobulillo en regresión células libres de 20 μm de diámetro promedio, de forma semiesférica y núcleo basófilo. Estas células pueden corresponder a células de Sertoli que se desprenden del epitelio y forman fagocitos; de manera que se sugiere que ambos elementos celulares, las células epiteliales y las células libres realicen funciones de eliminación de residuos tisulares.

De forma casi simultánea con la hipertrofia de las células de Sertoli al final del proceso espermatogénico, cuando los espermatozoides son desalojados del quiste y del lobulillo, las células de Leydig delgadas y alargadas que delimitan el lobulillo, se hipertrofian de manera notable, formándose así el tejido intersticial. Las células de Leydig permanecen hipertrofiadas más tiempo que las células de Sertoli, ya que se observó que estas últimas entran en regresión mientras las células de Leydig permanecen más tiempo hipertrofiadas.

Con base en lo afirmado en los autores anteriormente citados (Humphrey, 1921, Carric, 1934, Tso y Lofts, 1977a, Franchi et al, 1982, Grier, 1983, Fraile et al, 1989, 1990, Pudney, 1995), proponemos que los cambios observados en las características histológicas del tejido intersticial en *A. dumerilii* sean una respuesta temporal a las condiciones fisiológicas del testículo; igualmente que sean una modificación temporal en respuesta a las condiciones del medio. Pues mientras las células germinales en estado avanzado de maduración permanezcan en el interior del quiste y dentro del lobulillo, las células de Leydig que delimitan los lobulillos muestran poca hipertrofia y por lo tanto, baja acumulación de secreciones; sin embargo, en otoño, cuando el quiste de espermatozoides llega a la fase final de la espermatogénesis y comienza la espermiación, se observa una gran transformación histológica de las células de Leydig; principalmente la hipertrofia del volumen citoplasmático, formas de irregulares a cúbicas con núcleos centrales y redondos; lo que sugiere el aumento en la producción de andrógenos; esto es, que la modificación morfológica del tejido intersticial ocurre en relación con los cambios al interior del lobulillo, que son progresivos durante el ciclo reproductor. En este sentido, los cambios más notables del testículo a través del ciclo reproductivo son la hipertrofia y aparente

estratificación de las células de Leydig, la hipertrofia de la capa epitelial de células de Sertoli al interior del lobulillo, que ocurre al final de la espermiación obliterando la luz, formándose un lobulillo ocupado por las células de Sertoli y delimitado por su membrana basal y las células de Leydig hipertrofiadas, y los cambios en proporción de los distintos estadios de las células germinales conforme avanza la espermatogénesis y el ciclo reproductivo a través del año. A este respecto, descripciones realizadas por Humphrey (1921) en *Necturus maculosus*, *Desmognathus fusca* y *Diemyctylus viridescens*, Carrick (1934) en *Amblystoma tigrinum*, Baker y Taylor (1964) en *A. mexicanum*, Houck (1977) en *Taricha granulosa*, Pudney et al. (1983) en *Necturus maculosus*, Williams et al. (1985) en *Eurycea lucifua*, *Eurycea longicauda*, Fraile et al. (1989, 1990) en *Triturus marmoratus*, demuestran que el tejido intersticial sintetiza grandes cantidades de andrógenos y estrógenos como respuesta temporal a las condiciones fisiológicas del testículo, coincidente con la transformación de las células intersticiales, de Sertoli y la progresión de la espermatogénesis observada en esas especies.

Los cambios estacionales del tejido intersticial muestran que los cambios morfológicos de las células de Leydig en *A. dumerilii* ocurren con mayor notoriedad en los meses correspondientes a otoño-invierno, durante la espermiación. La región del testículo donde este proceso ocurre, está constituida por grupos de células de Leydig asociadas con vasos sanguíneos. A este respecto, Humphrey (1921) y Carrick (1934) sugieren que las células de Leydig hipertrofiadas forman la unidad funcional secretora de esteroides, a la que además contribuyen ampliamente las células de Sertoli que se desarrollan al interior del lobulillo. Los resultados obtenidos por Tso y Lofts (1977a), demuestran que el citoplasma de las células de Sertoli se llena de un lípido positivo al colesterol después de la espermiogénesis.

En *A. dumerilii*, al final del ciclo reproductivo anual ocurren cambios fisiológicos y estructurales como el cese del proceso de espermatogénesis, la disminución masiva de los lobulillos espermatogénicos, la disminución de la hipertrofia de las células de Leydig y la regresión del tejido intersticial formado por las células de Leydig hipertrofiadas. Diversos autores (Moore, 1975; Rastogi et al., 1976; Sever, 1980, 1981; Franchi et al., 1982; Pudney y Callard, 1984; Duellman y Trueb, 1989; Guarino et al., 1993; Fraile et al., 1990; Romo et al., 1996) han demostrado que los andrógenos, básicamente la testosterona y la

dihidrotestosterona, pueden dirigir los cambios morfológicos del sistema reproductor como los observados en los testículos de *A. dumerilii*, que muestra grandes diferencias durante el ciclo espermatogénico, entre activación (recrudescencia), máximo desarrollo, espermiación y regresión. Estos cambios estacionales ponen en evidencia la relación directa entre la espermatogénesis y el desarrollo del tejido intersticial; ambos procesos controlados hormonalmente. A juzgar por la localización, la morfología y los cambios cíclicos de las células de Leydig observadas en el presente estudio, éstas corresponden a las células intersticiales glandulares descritas por Humphrey en 1921, que se desarrollan justamente antes de que los espermatozoides abandonen completamente el lobulillo. Las evidencias histológicas de este estudio, en conjunto con los hallazgos histoquímicos previamente reportados (Tso y Lofts, 1977a; 1977b; Fraile et al., 1990; Romo et al., 1996), proveen evidencia de que el sitio de mayor producción de hormonas esteroides reside en las células de Leydig; aunque es probable que éstas no sean el único componente responsable de esta actividad. Tso y Lofts, 1977a; Imai y Tanaka (1978); Williams et al. (1984; 1985), afirman que las *lobule boundary cells* (o células peritubulares) tienen función esteroidogénica y su secreción junto con las de Leydig son las responsables del mantenimiento de los caracteres sexuales secundarios, así como de la conducta de apareamiento en estos organismos.

Rastogi et al., (1976), Williams et al., (1984); Sever (1978, 1990) y Romo et al. (1996), afirman que los cambios estacionales observados en el tejido intersticial del testículo, propiciados por los niveles de andrógenos afectarán otras regiones del organismo, en particular, al sistema de conductos, al complejo glandular cloacal y a las glándulas anexas al riñón. Así, con base en lo descrito por Sever (1978), Rastogi (1976) y Williams et al., (1984), sugerimos que la distensión de las glándulas cloacales y de las glándulas anexas al riñón en *A. dumerilii* durante otoño-invierno dependa de los niveles de testosterona y otros andrógenos; por lo tanto, cuando las células de Leydig entran en regresión en la primavera y parte del verano, los conductos, la cloaca, el complejo glandular cloacal y las glándulas anexas al riñón igualmente entran en regresión, como fue posible observar en *A. dumerilii*.

Kikuyama et al. (1975), Sever (1981) y Licht y Sever (1990), afirman que en especies como *Plethodon dorsalis*, *P. cinereus*, *P. glutinosus* y *Triturus cristatus*, se requiere de bajos niveles de andrógenos al inicio de la espermatogénesis y al inicio de la

hipertrofia cloacal; mientras que se requiere de más altos niveles para su mantenimiento y permanencia activa durante la época reproductiva. Así, la condición macroscópica de la región cloacal en *A. dumerilii* en época reproductiva y no reproductiva puede reflejar los crecientes y decrecientes niveles de andrógenos y, consecuentemente, el avance del ciclo reproductor. Las células del complejo glandular cloacal de *A. dumerilii* en época reproductiva mostraron alta actividad secretora, evidenciada por el aumento en el diámetro de los conductos glandulares, el aumento en diámetro de las células secretoras y las intensas reacciones tintóreas positivas a PAS y azul alciano de las secreciones glandulares. Fuera de la época reproductiva, las células glandulares tuvieron actividad secretora muy baja, observada en el reducido tamaño de las glándulas, la baja altura de las células epiteliales y la reducción de secreciones en general. Así, en el complejo glandular cloacal de *A. dumerilii*, se observa que las modificaciones histológicas más notables, como su hipertrofia y el incremento de sus secreciones, ocurren en otoño e invierno. Nuestros resultados en *A. dumerilii* son similares a los obtenidos por Sever (1980, 1981, 1993) y Williams et al. (1984, 1985), quienes en especies como *Eurycea lucifuga*, *E. longicauda*, *E. Quadridigitata* y *Plethodontus cinereus* encontraron que las glándulas se encontraban alargadas, distendidas y regularmente llenas de secreciones en épocas reproductivas; mientras que en época no reproductiva la mayor parte de las glándulas que conforman el complejo glandular cloacal se encontraba en regresión.

Los datos merísticos como peso y longitud han sido utilizados para determinar la actividad reproductiva, aunque con menor precisión que las observaciones histológicas; así, el peso de los testículos es utilizado como un indicador del estado de avance de la espermatogénesis; pues las divisiones mitóticas y meióticas de las células germinales y el desarrollo del tejido intersticial coinciden con el incremento testicular estacional de peso y longitud. Igualmente, la disminución en el peso y tamaño testiculares reflejan la espermiación, así como el inicio de la regresión del tejido intersticial. En *A. dumerilii* el diámetro de los lobulillos con actividad espermatogénica y de los conductos eferentes y deferentes es mayor durante la época de apareamiento, coincidiendo con la de mayores pesos testiculares; esto es, en las estaciones de otoño e invierno, particularmente en el mes de diciembre. Estas observaciones coinciden con las hechas por Houck (1977) en *Necturus maculosus*, Pudney et al. (1983) en *Taricha granulosa* y Williams et al., (1985) en

Salamandra salamandra, quienes encontraron que en los meses de diciembre y enero se alcanzaban los mayores diámetros de los conductos deferentes. Sin embargo, Lofts (1984), Norris et al. (1985), Norris (1987), Norris y Jones (1987), mencionan que el incremento del peso testicular se debe también a la acumulación de agua como resultado de la acción de las gonadotropinas sobre la captura de agua por el testículo, particularmente en época de máxima actividad reproductiva.

Así, podemos afirmar que las estructuras que conforman el aparato reproductor masculino de *A. dumerilii* tienen un comportamiento cíclico similar a lo descrito por otros autores para otras especies de caudados. Mientras que, de manera particular para *A. dumerilii*, la evolución de tejidos como el intersticial o las células de Sertoli hipertrofiadas, es analizada por primera vez con gran amplitud; ya que se logró la identificación del tejido intersticial en pleno desarrollo, en momentos previos a la espermiación y en época de regresión. De igual manera se integraron las fases de desarrollo de este tejido desde su condición de células planas, la hipertrofia de células de Sertoli y Leydig con los elementos germinales y estromáticos; definiendo la relación del tejido intersticial con los elementos epiteliales y conjuntivos. Se describió la transformación morfológica del tejido intersticial desde su hipertrofia hasta su regresión (aspectos no mencionados anteriormente en otra especie en la literatura consultada). Se ubicó la relación anatómica entre el tejido intersticial y el sistema de conductos deferentes intratesticulares. Se identificó anatómicamente la porción del tejido intersticial en regresión, entre los quistes en espermiación y la región testicular en desarrollo correspondiente a la siguiente onda espermatogénica. Se describió igualmente la relación y transformación histológica de otros componentes del aparato reproductor como la cloaca y el complejo glandular cloacal; así como las glándulas adyacentes al riñón; con énfasis en los momentos de inicio, máximo desarrollo y regresión de estos elementos. En consecuencia, la evolución de estos elementos, corresponde a los procesos y tiempos que rigen a un ciclo espermatogénico anual controlado internamente por hormonas, las que a su vez, son controladas por factores externos como la lluvia, la temperatura y el fotoperíodo, que rigen a todas las especies de caudados de zonas templadas o semitropicales.

IX. CONCLUSIONES

- 1.- El testículo de *Ambystoma dumerilii* está dividido internamente en lobulillos espermatogénéticos, dentro de los cuales ocurre la espermatogénesis. Al interior de los lobulillos se encuentran los quistes, en cuyo interior, el estadio de desarrollo de las células germinales es sincrónico.
- 2.- La espermatogénesis en *A. dumerilii* es de tipo longitudinal y avanza en sentido cefalocaudal.
- 3.- La hipertrofia de las células de Leydig que conforman el tejido intersticial en *A. dumerilii* está correlacionada con la fase final y regresiva del ciclo espermatogénético: a) durante el estado inicial de la espermatogénesis sólo se observa células interlobulares aplanadas en forma de huso; b) estas células proliferan antes de que los espermatozoides hayan abandonado completamente el lobulillo; c) estas células se hipertrofian y se convierten en células secretoras, siguiendo a la expulsión de los espermatozoides,
- 4.- El avance cefalocaudal de la onda espermatogénética resulta en una sucesión de estadios de desarrollo del testículo, cada estadio localizado en una región en la cual las células germinales están en la misma etapa de desarrollo.

Al término del ciclo reproductor, los espermatozoides son expulsados y sólo las células de Sertoli permanecen en el lobulillo y pronto se transforman fisiológicamente para llevar a cabo otras funciones.

Los lobulillos son regenerados a partir de espermatogonias y células de Sertoli persistiendo sólo en la periferia, asociadas con tejido conjuntivo.
- 5.- El tejido intersticial en *A. dumerilii* es el resultado de modificaciones temporales de células estromáticas somáticas, las células de Leydig, las cuales se desarrollan cuando el lobulillo comienza su degeneración. Al final del ciclo reproductivo degeneran y se transforman en células conjuntivas ahusadas.

- 6.- Después de la espermiación, el peso y la longitud de las gónadas declina, y el tejido intersticial se reduce.
- 7.- La cloaca tiene variaciones estacionales en longitud y peso, hipertrofiándose en otoño-invierno, entrando en regresión y permaneciendo así durante primavera y parte del verano.
- 8.- Todas las glándulas del complejo glandular cloacal gradualmente se hipertrofian conforme la época reproductiva se aproxima, en un período de más de cinco meses (de septiembre a febrero). A la hipertrofia de las glándulas precede la acumulación de espermatozoides en los conductos deferentes y de las glándulas anexas al riñón. Las glándulas se mantienen hipertrofiadas hasta después de que los espermatozoides han sido evacuados.
- 9.- Los procesos de espermatogénesis avanzada, el desarrollo del tejido intersticial y la hipertrofia del complejo glandular cloacal están directamente relacionados con la época de mayor actividad reproductiva (otoño-invierno).

X. BIBLIOGRAFIA

- Armstrong JB. 1989.** Spermatogenesis. En Armstrong JB, Malacinski GM (eds): *Developmental Biology of Baker, C. L. 1965. The male urogenital of the axolotl.* New York: Columbia University Press, pp: 36-41.
- Baker CL. 1965.** The male urogenital system of the Salamandridae. *J Tenn Acad Sci* 60:1-5
- Baker CL, Taylor Jr. WW. 1964.** The urogenital system of the male *Ambystoma*. *J Tenn Acad Sci* 39:1-10.
- Bergmann M. 1994.** The morphology of the testis in *Salamandra salamandra* (L). En Greven H, Thiesmeier B. (eds): *Mertensiella, Biology of Salamandra and Mertensiella.* Bonn, pp:75-82.
- Bergmann M, Schindelmeiser J, Greven H. 1983.** The glandular tissue in the testis of *Salamandra salamandra* (L.) (Amphibia, Urodela). *Acta Zool* 64:123-130.
- Carrick R. 1934.** The spermatogenesis of the axolotl (*Ambystoma tigrinum*). *Trans R Soc Edinburgh* 58:63-74.
- Duellman WE, Trueb L. 1989.** *Biology of Amphibians.* New York: McGraw-Hill.
- Fraile B, Paniagua R, Rodríguez M, Saez F, Jiménez A. 1989.** Annual changes in the number, testosterone content and ultrastructure of glandular tissue cells of the testis in the marbled newt *Triturus marmoratus*. *J Anat* 167:85-94.
- Fraile B, Saez F, Paniagua R. 1990.** The cycle of follicular and interstitial cells (Leydig cells) in the testis of marbled newt, *Triturus marmoratus* (Caudata, Salamandridae). *J Morphol* 204:89-101.
- Franchi E, Camatini M, deCurtis I. 1982.** Morphological evidence of a permeability barrier in urodele testis. *J Ultrastruct Res* 80:253-263.
- Gómez Ríos JG. 1989.** Estudio histológico del aparato reproductor masculino del achoque (*Ambystoma dumerilii*, Dugès), Urodelo del lago de Pátzcuaro. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Grier HJ. 1993.** Comparative organization of Sertoli cells including the Sertoli cell barrier. En Russell LD, Griswold MD. (eds): *The Sertoli Cell.* Cache River Press, pp:704-739
- Houck LD. 1977.** Reproductive biology of neotropical salamander *Botiglosa rostrata*. *COPEIA* 70-83.
- Humphrey RR. 1921.** The interstitial cells of the urodele testis. *Am J Anat* 29:213-279.
- Huacuz M, 2001.** Estado actual de los ajolotes del género *Ambystoma* del lago de Pátzcuaro, Michoacán. Editado por la Univ. Autón.de Sn. Nicolás de Hidalgo de Morelia, Mich., pp: 75.
- Imai K, Tanaka S. 1978.** Histochemical and electron microscopic observations on the steroid hormone-secreting cells in the testis of the Japanese red-bellied newt, *Cynops pyrrhogaster pyrrhogaster*. *Develop Growth and Differ Vol.* 20, 2:151-167.
- Joly J, Chesnel F, Boujard D. 1994.** Biological adaptations and reproductive strategies in the genus *Salamandra*. En Greven H, Thiesmeier B. (eds): *Mertensiella, Biology of Salamandra and Mertensiella.* Bonn, pp:255-269.
- Kikuyama S, Nakano R, Yasumasu I. 1975.** Synergetic action of prolactin and androgen on the cloacal glands of the newt. *Comp Biochem Physiol* 51A:823-826.

- Lazard L. 1979.** Steroidogenesis in axolotl testis. Histochemistry of two major enzymes related to cell type, spermatogenesis, and substrate Gen Comp Endocrinol 39:381-387.
- Lecouteux A, Garnier DH, Bassez T, Joly J. 1985.** Seasonal variations of androgens, estrogens, and progesterone in the different lobules of the testis and in the plasma of *Salamandra salamandra*. Gen Comp Endocrinol 58:211-221.
- Licht LE, Sever DM. 1990.** Cloacal anatomy of metamorphosed and neotenic salamanders. Can J Zool 69:2230-2233.
- Lofts B. 1974.** Reproduction. En Lofts B. (ed): Biology of the Amphibia, Vol. 2. New York and London: Ac. Press, pp:107-218.
- Lofts B. 1984.** Amphibians. En Lamming GE. (ed). Marshall's Physiology of Reproduction, Vol. 1. Reproductive Cycles of Vertebrates. Churchill Livingstone. Edinburgh, pp:127-205.
- Lofts B. 1987.** Testicular function. En Norris DO, Jones RE (eds): Hormones and Reproduction in Fishes, Amphibians and Reptiles. New York: Plenum Press, pp:288-298.
- Malacarne G, Vellano C. 1987.** Behavioral evidence of a courtship pheromone in the crested newt, *Triturus cristatus* carnifex Laurenti. COPEIA. 1987:245-247.
- Miller M, Robbins M. 1954.** The reproductive cycle in *Taricha torosa* (*Triturus torosus*). J Exp Zool 125:415-439.
- Miltner MJ, Armstrong JB. 1983.** Spermatogenesis in the Mexican axolotl, *Ambystoma mexicanum*. J Exp Zool 227:255-263.
- Moore FL. 1975.** Spermatogenesis in larval *Ambystoma tigrinum*: Positive and negative interactions of FSH and testosterone. Gen Comp Endocrinol 26:525-533.
- Norris DO. 1997.** Reproduction in Amphibians. Vertebrate Endocrinology. New York, Ac. Press, pp:428-446.
- Norris DO, Norman MF, Pankak MK, Duvall D. 1985.** Seasonal variation in spermatogenesis, testicular weights, vasa deferentia and androgen levels in neotenic tiger salamanders, *Ambystoma tigrinum*. Gen Comp Endocrinol 60:51-57.
- Pudney 1995.** Spermatogenesis in nonmammalian vertebrates. Micros Res Tech 32:459-497.
- Pudney J, Canick JA, Mak P, Callard GV. 1983.** The differentiation of Leydig cells, steroidogenesis, and the spermatogenetic wave in the testis of *Necturus maculosus*. Gen Comp Endocrinol 50:43-66.
- Pudney J, Callard GV. 1984.** Organization of interstitial tissue in the testis of the salamander *Necturus maculosus* (Caudata: Proteidae). J Morphol 181:87-95.
- Rastogi RK, Iela L. 1992.** Spermatogenesis in amphibia: Dynamics and regulation. En Dalli R. (ed), Sex Origin and Evolution. Selected symposia and monographs U. Z. I., 6. Mucchi Modena. pp 231-249
- Romo E, De Miguel MP, Arenas MI, Frago L, Fraile B, Paniagua R. 1996.** Histochemical and quantitative study of the cloacal glands of *Triturus marmoratus marmoratus* (Amphibia: Salamandridae). J Zool Lond 239:177-186.
- Russell LD, Brandon RA, Zalisko EJ, Martan J. 1981.** Spermatophores of the salamander *Ambystoma texanum*. Tissue Cell 13:609-621.
- Schindelmeiser J, Bergmann M, Greven H. 1985.** Cellular differentiation in the Urodele testis. En Duncker and Fleischer (eds): Fortschritte der Zoologie, Band 30, Vertebrate Morphology:445-447.

- Sever DM. 1980.** Cloacal anatomy of male brook salamanders (*Eurycea*). *Herpetologica*. 36:51-60.
- Sever DM. 1981.** Cloacal anatomy of male salamanders in the families Ambystomatidae, Salamandridae and Plethodontidae. *Herpetologica*. 37:142-155.
- Sever DM. 1983.** Cloacal anatomy of the male salamanders in the Pletodontid subfamily Desmognathinea. *Herpetologica*. 39(1):16-27.
- Sever DM. 1991.** Comparative anatomy and phylogeny of the cloacae of salamanders (Amphibia: Caudata). I. Evolution at the family level. *Herpetologica* 47:165-193.
- Sever DM. 2003.** Courtship and mating glands. En: Sever DM (ed). *Reproductive Biology and Phylogeny of Urodela*. Vol. 1 of series: *Reproductive Biology and Phylogeny*. P:323-381.
- Smith H, Smith R. 1969.** Early foundations of mexican herpetology. Univ. of Ill. Press. Urbano, Chicago, London. 85 pp.
- Tanaka S, Iwasawa I. 1979.** Annual change in testicular structure and sexual character of the Japanese red-bellied newt *Cynops phyrrogaster*. *Zool Mag* 88:295-305.
- Tso EC, Lofts B. 1977a.** Seasonal changes in the newt *Trituroides hongkongensis*, testis. I. An histological and histochemical study. *Acta Zool (Stockh)* 58:1-8.
- Tso EC, Lofts B. 1977b.** Seasonal changes in the newt, *Trituroides hongkongensis*, testis, II. An ultrastructural study on the lobule boundary cell. *Acta Zool (Stockh.)* 58:9-15.
- Uribe MCA. 2001.** Chapter 9 "Reproductive Systems of Caudata Amphibians". En: Dutta HM, Datta Munshi JS. *Vertebrate Functional Morphology: A Horizon of New Scientific Approach*. Ed. Science Publishers INC-NH, USA and Plymouth, UK. pp: 267-293
- Uribe MCA. 2003.** Chapter 6 The testes, spermatogenesis and male reproductive ducts. En: Sever DM (ed). *Reproductive Biology and Phylogeny of Urodela*. Ed. Science Publishers, Inc. NH, USA and Plymouth, UK. pp: 183-202.
- Uribe MCA, Gómez-Ríos, López AS. 1991.** Cambios Morfológicos del testículo del Urodelo *Ambystoma dumerilii* durante un ciclo anual. *Bol Soc Herpet Méx* 3(1):13-18.
- Uribe MCA, Gómez-Ríos G, Brandon RA. 1994.** Spermatogenesis in the Urodele *Ambystoms dumerilii*. *J Morphol* 222:287-299.
- Williams AA, Brandon RA, Martan J. 1984.** Male genital ducts in the salamanders *Eurycea lucifuga* and *Eurycea longicauda*. *Herpetologica* 40(3):322-330.
- Williams AA, Martan J, Brandon RA. 1985.** Male cloacal gland complex of *Eurycea lucifuga* and *Eurycea longicauda* (Amphibia: Plethodontidae). *Herpetologica* 41(3):272-281.