



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

TÍTULO DE LA TESIS

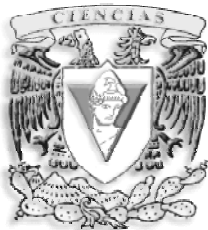
Comparación morfológica de los islotes adrenales de
Ambystoma velasci, *Ambystoma mexicanum* y *Ambystoma dumerilii*.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE BIÓLOGA

P R E S E N T A :

MATILDE ELIZABETH ZAPATA SOSA



TUTORA

DRA. PATRICIA RIVAS MANZANO

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Hoja de datos del Jurado

<p>1. Datos del alumno Apellido paterno Apellido materno Nombres Teléfono Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Ciencias Carrera Número de cuenta</p>	<p>Zapata Sosa Matilde Elizabeth 89 92 90 76 ó 04455 35 73 53 42 Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Ciencias Biología 076461983</p>
<p>2. Datos del tutor Grado Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno</p>	<p>Dra Patricia Rivas Manzano</p>
<p>3. Datos del sinodal 1 Grado Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno</p>	<p>Dr Manuel Miranda Anaya</p>
<p>4. Datos del sinodal 2 Grado Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno</p>	<p>M en C Leticia Parra Gámez</p>
<p>5. Datos del sinodal 3 Grado Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno</p>	<p>Dra Rosario Ortiz Hernández</p>
<p>6. Datos del sinodal 4 Grado Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno</p>	<p>M en C José Román Latournerié Cervera</p>
<p>7. Datos del trabajo escrito Título Subtítulo Número de páginas Año</p>	<p>“Comparación morfológica de los islotes adrenales de <i>Ambystoma velasci</i>, <i>Ambystoma mexicanum</i> y <i>Ambystoma dumerilii</i>” 82 2007</p>

AGRADECIMIENTOS

... y cuando al fin llegamos al término, volvemos la vista atrás y nos damos cuenta de que en el camino no estuvimos solos, que siempre hubo alguien que directa o indirectamente intervino en la realización de este trabajo. Es por ello que no deseo cometer ninguna omisión, y si esto sucediera, pido de antemano una sincera disculpa. Gracias.

Quiero agradecer muy especialmente a mi directora de tesis la Dra. Patricia Rivas Manzano por haberme aceptado como tesista después de tantos años de haber terminado mis estudios en Biología. Además de ser una experta en técnicas histológicas y una gran científica, es una profesora innata la cual sabe dar sus conocimientos con una gran paciencia y cariño, gracias “teachercita” por tu amistad incondicional, apoyo, tiempo, esfuerzo, otorgándome una grata experiencia.

A mi amiga Iris Camacho por ayudarme siempre en el laboratorio, realmente deseo de corazón que sigas en la investigación, porque eres muy inteligente. Créeme que la ciencia te está esperando, vas a ser súper, pero no te has dado cuenta de tu potencial.

A mi amiga y compañera de hace mucho tiempo Lety Parra. Me da mucho gusto que del 605 Área II, seas de los que ha llegado más arriba en investigación, gracias por tu apoyo y tus conocimientos.

A la Dra. Rosario Ortiz, eres “grande” Chayito, gracias por tus consejos y tu amistad. Por tu asesoramiento y ayuda incondicional para la realización de este trabajo.

Al Dr. Manuel Miranda por su tiempo y consejos.

Al M en C. José Latournerié por su apoyo.

Al Dr. Gerardo Rivas Lechuga por su análisis estadístico.

A la Doctora Maricela Villagrán por su apoyo incondicional y a su equipo de trabajo.

A la Dra. Mary Carmen Uribe, a mi profesora de embriología Marcela Aguilar, a Gabino y Adrianita, muchas gracias.

DEDICATORIAS

Esta tesis esta dedicada muy especialmente:

A mi Dios que siempre me cuida y me protege.

A mi mamá Coco por haber peleado por mi vida desde el nacimiento, gracias por no dejarme morir. Por tu amor incondicional de madre, por tu apoyo económico para que terminará mi carrera y esta tesis. Es mas tuya que mía mamá gracias por siempre, te amo muchísimo.

A mi papa Beto que siempre me tuvo fe, aun recuerdo que con tanto orgullo comentaba a sus compañeros de trabajo, que su hija entraba a primero, pero de universidad, “papá por fin terminé”, gracias por cuidarme desde el cielo, te amo por siempre.

A mis hijos Carlos Martín y Pedro Antonio por apoyarme siempre, los amo hijos. Échale ganas Pedro si quieres puedes, solo propóntelo, tienes un gran potencial solo encamínalo por la vía del trabajo duro, el amor y la rectitud. A ti Carlitos porque Dios te mando a mi vida para fortalecer mis principios y carácter, gracias hijo por ser tan especial.

Al ser que me más me ama sobre la Tierra, a mi hijo Mario Eduardo que además, es mi amigo, mi compañero, mi paño de lágrimas, mi apoyo moral, que has ido y venido mi chiquito con tu pobre madre a todos lados. Cuídate siempre y espero que algún día tú también me recuerdes en tu tesis.

A mis hermanos que siempre me han querido y apoyado Betito y Donny, los quiero mucho.

A mis amigas Maricela Martínez, Anayansi Canudas, Lupita Aguilar y Esperanza Urbieta, por su cariño y sus buenos deseos durante todo este trayecto, muchas gracias.

Al Físico José Calvillo por su paciencia y su confianza. Gracias.

INDICE GENERAL

	Páginas
RESUMEN	5
INTRODUCCIÓN	6
ANTECEDENTES	9
NEOTENIA	9
CARACTERÍSTICAS DE LOS AMBYSTÓMIDOS	10
- <i>Ambystoma dumerilii</i>	10
- <i>Ambystoma mexicanum</i>	12
- <i>Ambystoma velasci</i>	15
GLÁNDULAS ADRENALES. Tejido esteroideogénico y tejido cromafín	17
- Anatomía e histología de las glándulas adrenales.....	17
- Función conjunta de los tejidos esteroideogénicos y cromafín.....	20
ESTRÉS	26
- Síndrome de adaptación general en peces y etapas acuáticas de anfibios.....	26
a) Reacción de alarma inicial.....	27
b) Fase de resistencia.....	27
c) Fase de agotamiento.....	28
- Respuesta al estrés.....	28
a) Respuesta primaria.....	28
b) Respuesta secundaria.....	28
c) Respuesta terciaria.....	28
ÁREAS DONDE HABITAN LAS ESPECIES DE <i>Ambystoma</i> EN ESTUDIO	29
- Generalidades sobre el lago de Pátzcuaro.....	29
- Generalidades sobre el lago de Xochimilco.....	31
- Generalidades sobre la laguna de Totolcingo.....	32
OBJETIVO GENERAL	35
HIPÓTESIS	35
JUSTIFICACIÓN	35
MATERIAL Y MÉTODOS	36
RESULTADOS	38
- Descripción general de las glándulas adrenales de <i>Ambystoma</i>	38
- Análisis macroscópico.....	39
- Análisis microscópico.....	40
a) Descripción de las glándulas adrenales en <i>Ambystoma dumerilii</i>	41
b) Descripción de las glándulas adrenales en <i>Ambystoma mexicanum</i>	45
c) Descripción de las glándulas adrenales en <i>Ambystoma velasci</i>	48
- Gráficas con los datos de resultados comparativos.....	51
- Estadística de Kruskal Wallis.....	55
DISCUSIÓN	56
CONCLUSIONES	60
BIBLIOGRAFÍA	62
APÉNDICE 1 (Descripción de las técnicas histológicas).....	72
APÉNDICE 2 (Tablas).....	77
DIRECCIONES ELECTRÓNICAS	82

RESUMEN

La glándula adrenal es un órgano endocrino constituido por dos tejidos, esteroideogénico y cromafín, distintos tanto en su origen embriológico como por su histología y fisiología, que se asocian en la mayor parte de los vertebrados para formar un órgano complejo. En los diferentes grupos de vertebrados la compactación e interrelación de estos dos tejidos y su distribución con relación al sistema renal son datos clave para entender su función y para definir su posición filogenética.

Partiendo de una investigación documental respecto a las adrenales de anfibios en especial de urodelos, se establecieron las bases para realizar el presente trabajo, que tuvo como objetivo analizar las diferencias morfológicas de los tejidos esteroideogénico y cromafín, los cuales participan en la respuesta al estrés, entre tres especies neoténicas del género *Ambystoma* que habitan en diferentes ambientes.

La anatomía e histología de la glándula adrenal de *Ambystoma dumerilii*, *A. mexicanum* y *A. velasci* concuerda en lo general con lo descrito para otros urodelos; pero, nos enfocamos a tratar de responder la pregunta, ¿existen diferencias claras entre las adrenales de estas especies?, considerando que *Ambystoma dumerilii* es neoténico obligado y jamás presenta metamorfosis; *Ambystoma mexicanum* a pesar de ser neoténico obligado, experimentalmente puede transformarse en una salamandra viable; y *Ambystoma velasci* presenta metamorfosis de acuerdo a los cambios medio ambientales. Además de tener en cuenta la perturbación que existe actualmente en los cuerpos de agua que habitan.

Se utilizaron cinco ejemplares machos adultos de cada especie, se anestesiaron y sacrificaron, se hizo una comparación anatómica e histológica de las glándulas adrenales de los tres especies (n=5) utilizando una técnica general (Hematoxilina-Eosina) y dos específicas para evidenciar los tejidos que las conforman (Sudán IV y Llombart). Se tomaron datos morfométricos de los dos tejidos y a los resultados se les aplicó la prueba estadística de Kruskal-Wallis ($p < 0.05$).

Se encontraron diferencias en la abundancia y tamaño de los islotes adrenales, la proporción y tamaño de las células esteroideogénicas y cromafines que forman cada islote, así como en el grado de asociación de los dos tejidos. *A. velasci* presentó la distribución más regular de los islotes, las células más pequeñas; la mayor asociación entre los dos tejidos, lo que sugiere una respuesta más eficiente al estrés que concuerda con su condición de neoténico facultativo y capacidad de explotar los dos ambientes. Las especies que no experimentan metamorfosis en su hábitat natural como *A. dumerilii* y *A. mexicanum* tienen significativamente más desarrollados ambos tejidos, lo cual sugiere una hiperreacción al estrés. *Ambystoma mexicanum* presentó las células esteroideogénicas y cromafines más grandes y abundantes. *Ambystoma dumerilii* presentó los islotes más grandes, además de tejido cromafín extraadrenal y gran densidad de neuronas simpáticas, esto puede relacionarse también con la necesidad de hacer ajustes vasopresores en su hábitat de aguas profundas.

De acuerdo con lo anterior se sugiere la posibilidad que en el nivel interespecífico las diferencias entre las características de la glándula del género *Ambystoma* atiendan, en gran parte, a una respuesta frente al estrés ambiental.

INTRODUCCIÓN

En México están representados el 33% de las familias de anfibios del mundo, el 11% de los géneros y el 8% de las especies; destacando el grupo de las salamandras con el 26% de las especies a nivel mundial. Los anfibios tienen gran importancia en los ecosistemas, fundamentalmente en las cadenas de alimentación, ya que además de mantener estables otras poblaciones de especies de las que se alimentan, a su vez son depredados por otros animales. Existen también especies importantes que son recursos naturales para el hombre, ya que en nuestro país se capturan y se aprovechan 10 especies de anfibios; 4 salamandras, 1 sapo y 5 ranas (Cendrero, 1972; Flores, 1993).

En 1984 Casas-Andréu informa que en nuestro país existen unas 67 especies de anfibios entre las que se encuentran en mayor peligro de desaparecer 5 especies de ajolotes que viven exclusivamente en las lagunas de eje neovolcánico transversal de México, *Ambystoma taylori* de Alchichica, *Ambystoma lermaense* de Lerma, *Ambystoma mexicanum* de Xochimilco, *Ambystoma velasci*, de Zumpango y *Ambystoma dumerilii* de Pátzcuaro. A estas especies se les considera en peligro de extinción, ya que el grado de destrucción que se está ocasionando al ambiente las pone en una situación difícil de sobrevivencia. Sin embargo, no fue hasta 1989 que el estudio de la ecología de los anfibios recibió gran atención, resultado de las conversaciones casuales en el Primer Congreso Mundial de Herpetología realizado en Inglaterra, en donde se habló por primera vez de la declinación global de los anfibios. La hipótesis central de la declinación global de las poblaciones de anfibios se fundamentan en que son susceptibles a cambios ambientales, debido a que tienen piel permeable que los hace vulnerables a la contaminación química y radiación; por otro lado el estilo de vida de la mayoría de éstas especies requiere de dos tipos de hábitat, el acuático y el terrestre, pero al verse afectados por el crecimiento de las poblaciones humanas, la introducción de nuevas especies y el desecho de sustancias a los cuerpos de agua entre otros, se reduce significativamente la disponibilidad de espacio y de recursos alimentarios para estos organismos (Stebbins y Cohen, 1995; Halliday, 2002).

Para febrero de 1990 el Consejo Nacional de Investigación en Biología de Estados Unidos de América realizó un trabajo tratando de encontrar las causas de la declinación global de las poblaciones de anfibios. Ellos encontraron que en muchas partes del mundo, existe una verdadera declinación con posibilidades de llegar a un punto de extinción, debido a la destrucción del hábitat y a la degradación general del ambiente (Cendrero, 1972; Montaña, 1995).

Las salamandras están distribuidas en todas las regiones templadas y tropicales del mundo, sobre todo en la zona neártica la cual penetra en México a través de su frontera norte entre las dos Sierras Madres y se extiende en dirección sur, hasta encontrar la Cadena Volcánica Transversal. La mayoría de las especies de los géneros *Ambystoma* habitan normalmente en las aguas estancadas (charcos, pantanos, canales de riego) y orillas de los ríos con poca corriente. Se sabe que algunas especies que pertenecen al género *Ambystoma* son habitantes de cuerpos lóticos,

llevando a cabo su reproducción en invierno o primavera, aunque el ciclo reproductor puede estar desfasado en ciertas especies a lo largo de año (Cendero, 1972; Montaña, 1995).

Las primeras descripciones impresas sobre ajolotes, aparecen en los trabajos de Ximenes en 1615 y Nieremberg en (1635) basados en los trabajos de Hernández en (1548). Desde Aristóteles la clasificación de las salamandras y demás anfibios comenzó con la inclusión de este grupo con los reptiles, basados en características externas. Pero el naturalista John Ray (1663), consideró a los anfibios como organismos de sangre fría, un corazón con dos aurículas y un ventrículo. Sin embargo fue muy significativo el evento de la metamorfosis para la clasificación y separación del grupo de los anfibios (Adler, 2003).

Actualmente la clase anfibia incluye tres ordenes: Urodela (caudata) con 10 familias (470 spp); anura, con 29 familias (4,380 spp) y Gymnophiona, con 5 familias (170 spp) (Halliday, 2002).

El orden de los urodelos se caracteriza por presentar: Cabeza, tronco, cola y dos pares de extremidades iguales. En particular la familia Ambystomidae con un género: *Ambystoma* incluye 32 especies distribuidas ampliamente desde Canadá hasta México, costas del Pacífico y Atlántico, además de la meseta central de México (Flores, 1993).

Dentro de las características externas, *Ambystoma* presenta un cuerpo robusto y alargado, con cuatro miembros de los cuales las patas son pequeñas, no palmeadas y provistas de cuatro dedos delante y de cinco detrás. Miden en promedio de 18 a 20 centímetros en estado adulto; la coloración de las larvas jóvenes es más clara, con manchas pardas o amarillentas, este tono se hace más oscuro con la edad. La cabeza es aplanada con un hocico obtuso con pocos huesos y pequeños ojos prominentes, surcos costales y línea lateral (Larson, *et al* 2003). Posee una cola con una cresta vertical que corre por el dorso hasta desaparecer a nivel de la cloaca, tiene a ambos lados de la cabeza tres pares de branquias externas y "plumosas". El dimorfismo sexual está poco marcado y se hace aparente sobre todo en el periodo de reproducción; los machos son esbeltos, pero tienen la cloaca más prominente (Humphrey, 1975; Brandon, 1989; Montaña, 1995).

Además de su importancia ecológica y taxonómica, los ejemplares de la familia Ambystomidae, se han utilizado en diferentes líneas de investigación en todo el mundo. Como en las de desarrollo morfológico (Asheley, *et al* 1991); metamorfosis (Duellman y Trueb, 1986; Brandon, 1989; Kuhn y Jacobs, 1989); reproducción (Stebbins y Cohen, 1995); sistemática (Jones, *et al* 1988); evolución (Gould, 1977; Alberch, 1979) y estudios genéticos, relacionados con su biología y desarrollo (Humphrey, 1975; Malacinski, 1978). También son importantes estos organismos como modelo experimental en el estudio del desarrollo y la evolución de las células nerviosas y endocrinas. Las especies de este género resultan muy interesantes ya que poseen todas las propiedades morfológicas y funcionales características de los tetrápodos, sus estructuras nerviosas están simplificadas y sus células nerviosas y endocrinas poseen un gran tamaño durante todos los estadios de su desarrollo (Stebbins y Cohen, 1995); lo que facilita hacer estudios de morfología comparada, citoevolución, citodiferenciación, plasticidad celular, especificación de linajes celulares

en células nerviosas y endocrinas, como las que forman las glándulas adrenales, propósito de nuestro estudio.

Clasificación: (Duellman and Trueb, 1986)

Súper reino: Eucariota
Reino: Animalia
Subreino: Metazoa
Phylum: Chordata
Subphylum: Vertebrata
Clase: Amphibia
Subclase: Lissamphibia
Orden: Urodela (Caudata)
Suborden: Salamandroidea
Familia: Ambystomidae
Género: *Ambystoma*

ANTECEDENTES

NEOTENIA

Muchas salamandras son capaces de retener su forma larvaria durante toda su vida, convirtiéndose en maduras sexualmente sin sufrir metamorfosis: Esta retención de las características juveniles de los individuos sexualmente maduros se denomina NEOTENIA. La forma en que tiene lugar la metamorfosis difiere de especie a especie. El ajolote mexicano, *Ambystoma mexicanum*, no experimenta metamorfosis en la naturaleza porque no libera TSH (hormona estimulante de la tiroides) activa para estimular sus glándulas tiroideas (Amstrong y Malacinski, 1989). Otras especies, como *Ambystoma velasci* y *Ambystoma tigrinum*, se metamorfosean sólo si se dan señales desde el ambiente. De otro modo, se hacen neoténicos, apareándose con éxito como una larva. En parte de su territorio, *Ambystoma tigrinum* es una salamandra neoténica de las lagunas frías de las Montañas Rocosas. Sin embargo, en la porción más cálida de su territorio, la forma larvaria de *A. tigrinum* es transitoria, y conduce a la salamandra tigre habitante de tierra firme. Las poblaciones neoténicas de las Rocosas pueden inducirse a experimentar metamorfosis simplemente colocándolas en agua a mayor temperatura. Parece que el hipotálamo de esta especie no puede producir TSH a baja temperatura (Ezendam, 1994). Sin embargo, algunas salamandras como *Ambystoma dumerilii* son permanentemente neoténicas, la inducción hormonal de la metamorfosis en el laboratorio conduce a un organismo no viable (Kuhn y Jacobs, 1989; Moore, 1994).

Gould (1977) ha especulado que la neotenia es un factor principal en la evolución de los taxones más complejos. Retardando el desarrollo de los tejidos somáticos, se da a la selección natural un sustrato flexible. La neotenia “proporcionaría” un escape a la especialización. Los animales pueden deshacerse de sus formas adultas altamente especializadas, volver a la labilidad del joven, y prepararse a sí mismos para nuevas direcciones evolutivas (Schreckenberg y Jacobson, 1975).

La neotenia facultativa es cuando el organismo puede quedarse en estado larvario toda su vida y reproducirse, pero al haber algún cambio en el medio, falta de alimento o una reducción drástica del cuerpo de agua, puede metamorfosearse y convertirse en terrestre (Brandon, 1993).

- *Ambystoma dumerilii*.

Nombre científico: *Ambystoma dumerilii* (Dugès). Nombre común: Achoque.

Ambystoma dumerilii posee una cabeza redondeada, muy aplanada de arriba hacia abajo y más ancha en su máximo transversal que el tronco, en ambos lados del tronco presenta catorce pliegues costales y según Taylor (1945) y Maldonado-Koerdell (1947) (citado por Brandon, 1970), son únicamente 12, es de color pardo, con un tono mas claro en la parte central del dorso y en el vientre, los costados muestran manchas blanquecinas. Madura sexualmente a los 6 meses. La cola es aplanada lateralmente. Los miembros anteriores y posteriores presentan membranas interdigitales (Imagen 1). Su aleta dorso-caudal comienza en un punto de la línea media dorsal, situada entre los miembros anteriores, extendiéndose sin interrupción hasta la punta de la cola, presentando su altura máxima entre los miembros posteriores. Presentan branquias externas cortas y muy ramificadas (Maldonado-Koerdell, 1947) que se mueven rítmicamente en sentido dorso ventral. La cabeza y el dorso están cubiertos de pequeños puntos hundidos formados por aberturas de glándulas que producen una secreción amarga y de mal olor (Brandon, 1970).

Ambystoma dumerilli es característico del lago de Pátzcuaro; aunque se cree que aun existen en cuerpos de agua cercanos al lago mencionado. Según Bair (1970), los criterios usados para determinar la madurez sexual son: testículos y epidídimo agrandados en los machos y en las hembras, los oviductos están agrandados y enrollados, asimismo, los óvulos son grandes y amarillentos. Las gónadas de los organismos inmaduros son pequeñas y los conductos reproductores son delgados y rectos. La época de crianza, parece ser en primavera (probablemente en los meses de febrero a mayo) y durante el invierno pocos machos con madurez sexual tienen cloaca hinchada, con presencia de espermatóforo (diciembre). El desove puede ocurrir a principios de diciembre y está relacionado con la disminución de la lluvia y el incremento gradual de la temperatura del aire que va de los meses de enero a junio (Brandon, 1969,1970; Baird, 1970).

Con relación a su explotación, la actividad pesquera se realiza en la zona litoral y sublitoral del lago. Generalmente en aguas de 5 a 7 m de profundidad (Bair, 1970). Se capturan durante todo el año con dos jornadas de pesca el mismo día. En la segunda se obtiene la mayor cantidad de organismos; al no existir veda, no se le permite a su población que pueda seguir reproduciéndose adecuadamente. Presenta neotenia obligada debido a que no presenta metamorfosis. Retiene las branquias y otras estructuras larvarias aún cuando madura sexualmente y se reproduce. Si se le induce a la metamorfosis el organismo no sobrevive (Brandon, 1969,1970; Baird, 1970).

Tiene una capacidad regenerativa muy alta. Es considerado un manjar para los Tarascos. También es usado en la farmacología y aún hoy en día, un conocido convento en Pátzcuaro fabrica “el jarabe de

achoque” que según dicen las monjas que lo fabrican, es “muy eficaz” para contrarrestar todo tipo de afecciones respiratorias, como la bronquitis y la laringitis entre otras (Baird, 1970; Brandon, 1993).



Imagen 1. *Ambystoma dumerilii*. Se observan sus branquias que semejan plumas, típicas en esta especie.

- *Ambystoma mexicanum*

Nombre científico: *Ambystoma mexicanum* (Shaw, 1789). Nombre común: ajolote.

Este exótico animal, cuyo nombre proviene del dios Xolotl de México, es uno de los más extraños seres que se puede encontrar (Imagen 2), tiene como ventajas para su estudio, su adaptabilidad a cambios del medio, además de su abundancia en cautividad (Humphrey, 1975; Brandon, 1989).

Antes de convertirse en un animal de acuario y luego en animal de laboratorio, el ajolote constituyó un enigma. Procedente de México (lago de Xochimilco), el ajolote llevó numerosos nombres científicos, entre ellos *Siredon mexicanum* o *Siredon pisciformis*. Era conocido por su facultad de reproducirse sin haber perdido las branquias y fue clasificado entre los anfibios Perennibrancios (junto con el Proteo de las grutas de Istria y el Siren). Pero ya en 1800 Shaw y luego Cuvier, insistieron sobre su semejanza con las larvas de salamandra y en 1825, Latréille (citado en Dumeril, 1872) lo introdujo en la familia de las salamandras. Los primeros ejemplares vivos fueron enviados a Francia por el Cuerpo Expedicionario (cuya misión era instalar al emperador Maximiliano en el trono de México) y se reprodujeron en 1865 en el Museo Nacional de Historia Natural. La controversia pareció solucionarse definitivamente: el ajolote no era una larva pues se reproduce en el agua sin perder sus branquias. Pero dos años más tarde el problema volvió a ser examinado cuando Dumeril (1867) observó que varios de sus ajolotes se metamorfoseaban (pérdida de las branquias, regresión de la aleta caudal, transformación de los ojos y aparición de párpados) en una salamandra parecida a la conocida con el nombre de *Ambystoma*. Este modo de reproducción, por una larva, llamada neotenia por Kollmann (1884), fue señalado, también, en numerosos anfibios y especialmente en los tritones nativos de Europa, en los cuales sólo se produce accidentalmente este fenómeno (Humphrey, 1975; Brandon, 1989).

Este urodelo perteneciente a la familia de los Ambistómidos (salamandra topo), llega a vivir hasta 20 años si se le mantiene en buenas condiciones. En los flancos del animal aparecen bien marcados 12 surcos laterales que recorren de arriba a bajo, perpendiculares a la línea del cuerpo. Las extremidades anteriores como posteriores son pequeñas, y no presentan membrana interdigital. También cuentan con pulmones que se llenan de aire cada dos minutos (Humphrey, 1975; Brandon, 1989).

Como consecuencia de la facilidad que tienen para criarse en cautividad (Imagen 3) y por la necesidad para obtener gran número de ejemplares destinados a la investigación en el laboratorio, han aparecido distintas variedades genéticas a disposición de los investigadores. Como resultado de su neotenia, el ajolote conserva durante toda su vida características propias de las larvas (branquias externas, costumbres totalmente acuáticas, cola como la de los peces, etc.). Estas circunstancias se producen principalmente como consecuencia de que las glándulas tiroideas están subdesarrolladas en estos urodelos, y la secreción de tiroxina resulta del todo insuficiente para provocar la metamorfosis. Esta especie presenta neotenia obligada en su ambiente natural, es decir, se reproduce en estado larvario;

aunque si se induce experimentalmente la metamorfosis llegará a ser una salamandra terrestre, viable. En estados de estrés algunos ejemplares presentan este cambio (Humphrey, 1975; Brandon, 1989).

El ajolote es un animal de vida acuática, que habita en aguas remansadas. En estado natural se encuentra prácticamente extinto debido a la destrucción de su hábitat, siendo mucho más abundante en cautividad, como consecuencia, mucho de su valor actual es como espécimen de laboratorio. Otra de las particularidades de este anfibio que está relacionada con su estado larvario permanente, es la regeneración de las partes del cuerpo. Los anfibios son animales con gran capacidad de regeneración de las partes perdidas o dañadas pero el ajolote las recupera en un tiempo menor y de manera más efectiva. Muchas células de su cuerpo no han alcanzado una diferenciación completa y mantienen su capacidad proliferativa y por lo tanto pueden generar nuevas células y tejidos a partir de ellas. Por esta razón el ajolote ha sido objeto de numerosos estudios científicos sobre el desarrollo embrionario y las células madres embrionarias (Humphrey, 1975; Brandon, 1989).

Con relación al desarrollo embrionario, el huevo etapa 1, es típicamente anfibio. Un embrión de aproximadamente 2 milímetros de diámetro, tiene capas gelatinosas circundantes, la gelatina es el producto de una sustancia secretada alrededor del huevo y que se hidrata en el agua. La etapa 2 es el embrión antes de eclosionar, mide aproximadamente 11 mm de longitud. La etapa 3 es una larva posteclosión, antes del crecimiento de los miembros. Estas larvas tienden a ser transparentes durante sus primeras semanas de vida, hasta que la piel se ha engrosado y las células de pigmento han proliferado sobre el cuerpo, así que los órganos son absolutamente visibles. Después de aproximadamente dos semanas, la larva alcanza la etapa 4. Como el resto de los caudados, aparecen primero las patas delanteras, y en el plazo de una semana o dos las patas traseras. En la etapa 5 el ajolote está completamente desarrollado (Humphrey, 1975; Brandon, 1989). Estudios embrionarios más detallados han descrito 42 estadios de desarrollo (Stephan - Otto y Ensástigue, 2001).

La reproducción del ajolote neoténico no ofrece dificultad alguna en cautiverio. Las larvas alcanzan la madurez sexual a la edad de un año. La puesta tiene lugar de agosto a octubre en el Hemisferio Sur y de febrero a abril en el Hemisferio Norte. Según Schultz (1965) tiene lugar entre fines del invierno y fines de la primavera. Sin embargo se ha podido observar puestas en pleno verano y también en pleno invierno. Descripciones de Benl (1968) y Matz (1971) informan de este comportamiento. Para interpretar este fenómeno hay que considerar que los ajolotes que se reportan en Europa son, por lo general procedentes de importaciones. En sus países de origen los ajolotes mantienen su "reloj biológico" adaptados al clima y condiciones generales del lugar donde fueron criados por muchas generaciones. Al trasladarlos de ciertas condiciones climáticas a otras opuestas, ese "reloj biológico" puede tardar unos meses en adaptarse. La fecundación interna se lleva a cabo por medio de un espermátforo colocado por el macho sobre una roca o incluso sobre la arena. En ese momento se puede reconocer al macho por sus labios cloacales prominentes. El espermátforo es absorbido por la cloaca de la hembra. Por la noche también, tiene lugar la puesta, si bien por la mañana puede

observarse la puesta de los últimos huevos. Bajo los efectos de una contorsión del cuerpo, la hembra deposita los huevos, lo más frecuentemente en grupos que van de 4 a 10, sobre todo encima de las plantas, aunque también sobre las piedras o sobre los cristales, la amplitud de la puesta es muy variable: desde cuarenta que puede deponer un ejemplar joven, hasta 1500 que puede colocar un adulto, ya sea de una vez, ya sea con algunos días de intervalo. El tiempo de incubación estará determinado en gran medida por la temperatura; para una temperatura de 16° C la duración media del desarrollo es de 19 días. Sin embargo este tiempo depende también de la luz, la oxigenación, del tamaño de los huevos, de la altura del agua, (en un mismo acuario, los huevos que han permanecido pegados a las plantas, y por tanto más próximos a la superficie, se desarrollan más rápido que los que caen al fondo) (Humphrey, 1975; Brandon, 1989).

La reproducción es menos frecuente en animales metamorfoseados. Los ejemplares que han tenido una metamorfosis experimental a la edad de seis meses han llegado a la madurez sexual con tres años y medio de retraso las hembras y cuatro los machos. Todos los ejemplares jóvenes que se han obtenido han permanecido en estado larvario, lo cual demuestra que el ajolote es una forma neoténica obligada (Humphrey, 1975; Brandon, 1989).



Imagen 2. Ejemplar de *Ambystoma mexicanum*, se observa con gran claridad su cresta caudal. Una particularidad de este género.



Imagen 3. *Ambystoma mexicanum* en cautiverio.

- *Ambystoma velasci*

Nombre científico: *Ambystoma velasci* (Green, 1825).

Anfibio urodelo, perteneciente a la familia Ambystomatidae, en ocasiones le llaman salamandra tigre por el patrón de las manchas en su piel (Imagen 4) (Duellman y Trueb, 1986). Este ambistómido presenta un cuerpo vigoroso y surcos sobre los costados presenta tres pares de branquias filamentosas (Duellman y Trueb, 1986). La metamorfosis juega un papel importante en su ciclo de vida, ya que el organismo experimenta toda una serie de cambios anatómicos, fisiológicos, bioquímicos y conductuales para enfrentar el cambio del hábitat acuático al terrestre; y con ello, se alcanza la madurez sexual y se continúa con el ciclo vital (Duellman y Trueb, 1986). Sin embargo, la metamorfosis puede ser prescindible. En este caso, las larvas de *A. velasci* retienen sus branquias y permanecen en el hábitat acuático y se pueden reproducir sin la necesidad de experimentar metamorfosis, fenómeno conocido como neotenia, permaneciendo con el fenotipo larval pero alcanzando la madurez del aparato reproductor (Stebbins y Cohen, 1995). No obstante su neotenia es facultativa, ya que si existe un cambio ambiental, como por ejemplo, que el cuerpo del agua se seque o aumente la temperatura ambiental entonces se desencadena la metamorfosis, lo que permite que los organismos enfrenten las presiones ambientales, colonizando el medio terrestre para reproducirse como adulto terrestre, salamandra (Imagen 5) (Stebbins y Cohen, 1995).

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

Hasta hace poco se mencionaba la distribución de *Ambystoma tigrinum* desde el Norte de los Estados Unidos, hasta la región de la meseta de México, y se le reconocía como el único anfibio politípico distribuido continentalmente (Stebbins, 1995). No obstante, recientemente se ha puesto en duda si esta especie es realmente politípica; sobre todo en las especies mexicanas de este complejo, ya que presentan una serie de particularidades que hacen a las poblaciones del centro de México muy especiales (Shaffer, 1996). En México se encuentran 15 especies de salamandras de la familia Ambystomatidae, distribuidas en el centro del país y están estrechamente relacionadas con *Ambystoma tigrinum* (Shaffer, 1996).

Mediante análisis de aloenzimas y patrones morfológicos de diversidad, se ha propuesto la hipótesis de que hubo una especiación, la cual estuvo en función, en primera instancia, de una diferenciación Alopátrica, determinada por la geología y la hidrología y la hidrología de la parte centro de México, por

la edad geológica aproximada del eje neovolcánico mexicano, se encontró consistencia en que la divergencia de los taxa mexicanos se dio en un periodo de no más de 10 millones de años, y muchas especies derivaron, al parecer en un tiempo menor a éste (Shaffer y McKnight, 1996).

En la actualidad se reconocen al menos siete grupos monofiléticos, con base en el análisis de aproximadamente 840 pares de bases de una secuencia de ADN mitocondrial, para sugerir la monofilia del complejo *Ambystoma tigrinum*. Para las especies del centro mexicano, se ha propuesto su ubicación taxonómica como *Ambystoma velasci*. Aunque resulta difícil interpretar las poblaciones de Ambistómidos de la parte Este de la meseta de México, dados los antecedentes ya mencionados, aunados con situaciones ambientales diferentes al resto de las especies de Norte América, hacen que estas poblaciones presenten particularidades muy marcadas no sólo en la cuestión taxonómica, sino también en la biología, lo que permite sugerir el alto éxito que han tenido para establecerse en esta región (Shaffer y McKnight, 1996).



Imagen 4. *Ambystoma velasci* se observa su piel con manchas marrón.



Imagen 5. *Ambystoma velasci* metamorfoseado.

- Anatomía e histología

El tejido esteroideogénico (interrenal en peces o corticosuprarrenal en mamíferos) y el tejido cromafín (médula suprarrenal en mamíferos) constituyen dos tejidos endocrinos muy diferentes que se encuentran separados en los vertebrados no tetrápodos. Pero, suelen asociarse aunque de forma muy variable, en las diferentes clases de vertebrados terrestres y en conjunto forman la glándula adrenal (Leake, 1975; Paniagua, 1983).

La evolución de la glándula va desde la completa separación de los dos tejidos, con una tendencia progresiva a asociarse hasta constituir un órgano independiente, pareado y con organización en zonas. (Imagen 6) (Norris, 1980).

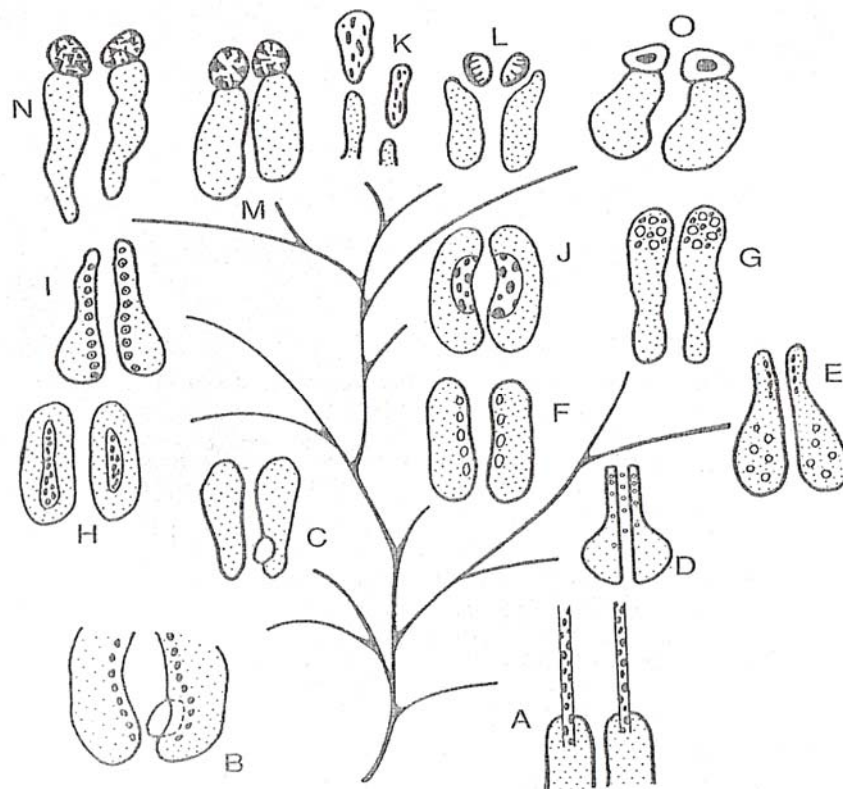


Imagen 6. Anatomía comparada del tejido adrenal. Comparación y distribución de los tejidos cromafín (oscuro) y corticoadrenal (claro) asociados con el riñón (punteado) en vertebrados. (A) ciclóstomos; (B) celacantos; (C) holocéfalos; (D) condrosteos; (E) holosteos; (F) dipnoos; (G) teleósteos; (H) anuros; (I) urodelos; (J) quelonios; (K) serpientes; (L) lagartos; (M) cocodrilos; (N) aves; (O) mamíferos (Norris, 1980).

En peces los tejidos interrenal y cromafín están completamente separados, ambos tejidos están situados en los riñones. Están dispuestos en número par y en forma de agregados dispuestos longitudinalmente, que se localizan en la porción superior de la cavidad corporal, hacia el lado ventral de la columna vertebral y a lo largo de la aorta dorsal, hacia el exterior del peritoneo. Son agregados celulares mixtos, compuestos por elementos endocrinos, hematopoyéticos y fagocíticos entre los componentes excretores renales (Hanke *et al*, 1993).

En los anfibios la glándula adrenal es dispersa, claramente se distingue formada por pequeños islotes compuestos de ambos tejidos, desde la zona cefálica hasta la parte caudal ventral del riñón, y continuando por el borde de las venas cardinales de la región abdominal. En este grupo de vertebrados el tejido cromafín y esteroideogénico se encuentran normalmente asociados (Grassi y Accordi, 1986).

En reptiles la glándula adrenal es compacta y capsulada. Ocupa una posición anteroventral respecto a los riñones y muy próxima a las gónadas, es independiente y pareada. El tejido cromafín aparece recubriendo al esteroideogénico adrenal o entremezclado con éste, las células cromafines forman una masa de cordones irregulares, además se observan pequeños islotes de tejido cromafín dispersos entre las células esteroideogénicas (Leake, 1975; Paniagua, 1983).

En aves la glándula adrenal también es compacta y capsulada, está situada antero-dorsal respecto a los riñones, las células del tejido cromafín quedan entremezcladas con las células del tejido esteroideogénico, en forma de cordones o grupos irregulares (Leake, 1975; Paniagua, 1983).

En los mamíferos la glándula adrenal además de estar compacta y capsulada, muestra un nivel de organización mayor, cada una se localiza sobre un riñón, por lo que se denomina suprarrenal. La corteza está formada por el tejido esteroideogénico y está organizado en tres zonas concéntricas a la médula, esta última formada por el tejido cromafín (Leake, 1975; Paniagua, 1983). Aunque están unidas anatómicamente, la médula y la corteza se desarrollan a partir de dos tipos diferentes de tejido en el embrión y funcionan como glándulas distintas (Solomon, *et al* 1996). Embriológicamente, las glándulas suprarrenales se derivan de dos capas germinales: el mesodermo y la cresta neural ectodérmica. La corteza suprarrenal se desarrolla de un engrosamiento del mesotelio celómico en íntima relación con los riñones y las gónadas. La cresta neural ectodérmica migra a esta región e invade la corteza como tejido suprarrenal medular. El órgano está incluido en una cápsula de tejido conjuntivo fibroso denso (Banks, 1986).

En todos los grupos el tejido esteroideogénico (interrenal o corticoadrenal) está constituido por células claras, escasamente basófilas o ligeramente acidófilas, se caracterizan por poseer abundante retículo endoplásmico liso y en la mayoría de los casos, mitocondrias con crestas tubulares: Como en las restantes glándulas endocrinas, existe una rica vascularización. (Leake, 1975; Paniagua, 1983; Banks, 1986).

En mamíferos la *corteza suprarrenal* corresponde a las células secretoras de hormonas esteroideas (*tejido esteroideogénico*), pero a diferencia de otras clases de vertebrados hay diversidad celular, las células de cada tipo se organizan en la corteza, formando tres zonas que de afuera hacia adentro son las zonas: glomerular, fasciculada y reticular (Banks, 1986).

1) *Zona glomerular*, es subcapsular y consta de cordones curvados o arcadas (carnívoros, caballo, cerdo), o paquetes de glomérulos (hombre, rumiantes). Las células de esta zona son cilíndricas (hombre, carnívoros, caballo, cerdo) o poliédricas (otras especies). El parénquima, independientemente de su disposición espacial, está relacionado en forma íntima con una red vascular extensiva. El citoplasma es aún más acidófilo y menos espumoso que el de las células de la zona adyacente. Los núcleos de la zona glomerulosa son más pequeños y oscuros que los de las células de la zona adyacente. La presencia de inclusiones lipídicas finas, con frecuencia va acompañada de un incremento en la actividad celular. 2) *Zona fascicular* es la más ancha de la corteza. Tiene células cuboidales o poliédrica dispuestas en cordones radiales. Cada cordón consta de una o dos células separadas de los cordones adyacentes por una red sinusoidal extensa. Las células más grandes de las dos terceras partes más externas de esta zona, tienen núcleos vesiculares grandes (las células binucleadas son comunes) dentro de un citoplasma muy espumoso. Estas células con frecuencia son llamadas espongiocitos. El tercio interior de esta zona tiene células con menos lípidos y con citoplasma más basófilo.

3) *Zona reticular* consta de células dispuestas como cordones libremente anastomosados. Las células se parecen mucho a las de la zona fasciculada, y tienen mucho menos lípidos que las más periféricas de la zona adyacente. Sus núcleos y citoplasma se tiñen de oscuro. Casi siempre existe lipofucsina en estas células.

La *médula suprarrenal* esta constituida por el *tejido cromafin*, que consta de dos tipos de células, las secretoras de noradrenalina, con gránulos autofluorescentes que se tiñen con yodatos de plata; y las secretoras de adrenalina, con gránulos que se tiñen con azocarmín y contienen fosfatasa ácida. La secreción de adrenalina y noradrenalina se produce por estimulación del sistema nervioso simpático que inerva éstas células. Además, se observan neuronas del simpático en la médula suprarrenal, aunque en menor proporción. Las células cromafines se denominan así porque al ser fijadas con bicromato de potasio adquieren coloración parda. Esto es debido a que poseen gránulos de secreción que contienen catecolaminas, adrenalina y noradrenalina principalmente (Leake, 1975; Paniagua, 1983).

- Función conjunta de los tejidos esteroideogénico y cromafín

La corteza suprarrenal (tejido esteroideogénico) es indispensable para la vida ya que sus hormonas influyen sobre numerosos procesos somáticos esenciales como la regulación del equilibrio hídrico, suministro de energía adecuada en estados de estrés, movilización de grasas para la conversión de éstas en glucosa, reducción de la inflamación en diversas enfermedades y andrógenos. Aunque se han aislado numerosas hormonas esteroideas de los tejidos corticales, se agrupan en tres familias: mineralocorticoides, glucocorticoides y hormonas sexuales (Leake, 1975; Paniagua, 1983; Banks, 1986).

El nombre de mineralocorticoides se debe a que estas hormonas actúan principalmente sobre los electrolitos de los líquidos extracelulares en particular sodio, potasio y cloruros. Los glucocorticoides fueron llamados así porque uno de sus principales efectos es elevar la concentración de glucosa en la sangre. Sin embargo, los glucocorticoides tienen efectos sobre el metabolismo de grasas y proteínas, tan importantes para el organismo como el metabolismo de los carbohidratos (Guyton, 1963).

Se han aislado más de 30 esteroideos de la corteza suprarrenal; el mineralocorticoide más importante es la aldosterona; no obstante, otros corticosteroides tienen actividad de mineralocorticoides (corticosterona, cortisol, desoxicorticosterona). La actividad más importante de la aldosterona es el aumento tubular de Na^+ por los riñones. La aldosterona ejerce un efecto también sobre las glándulas sudoríparas, salivales e intestinales. Se conocen numerosos efectos secundarios relacionados con la conservación del sodio Na^+ bajo la influencia de la aldosterona. La reabsorción de Na^+ se relaciona a una secreción de K^+ y H^+ , lo cual da por resultado, desecho de potasio y una ligera alcalosis metabólica. La disminución en el K^+ puede originar debilidad muscular y arritmias cardíacas. La alcalosis metabólica que resulta del efecto de la aldosterona, es por lo común transitoria y se corrige por los mecanismos de regulación ácido/básica. El aumento en la retención de Na^+ también incrementa la retención de agua, lo cual aumenta el líquido extracelular y el volumen sanguíneo. La elevación del volumen líquido incrementa la cantidad de esfuerzo que debe realizar el corazón. La poliuria se produce como compensación del aumento de volumen líquido. Los efectos contrarios se producen cuando hay ausencia de aldosterona, como es la hiponatremia y la hiperpotasemia, además de la disminución de líquidos, produciendo a la larga una hipovolemia, la actividad cardíaca disminuye hasta llegar a un "choque hipovolémico", en conclusión la aldosterona es necesaria para este balance, (Imagen 7) (Guyton, 1963; Ham, 1975; Banks, 1986).

HORMONAS CORTICOSUPRARRENALES

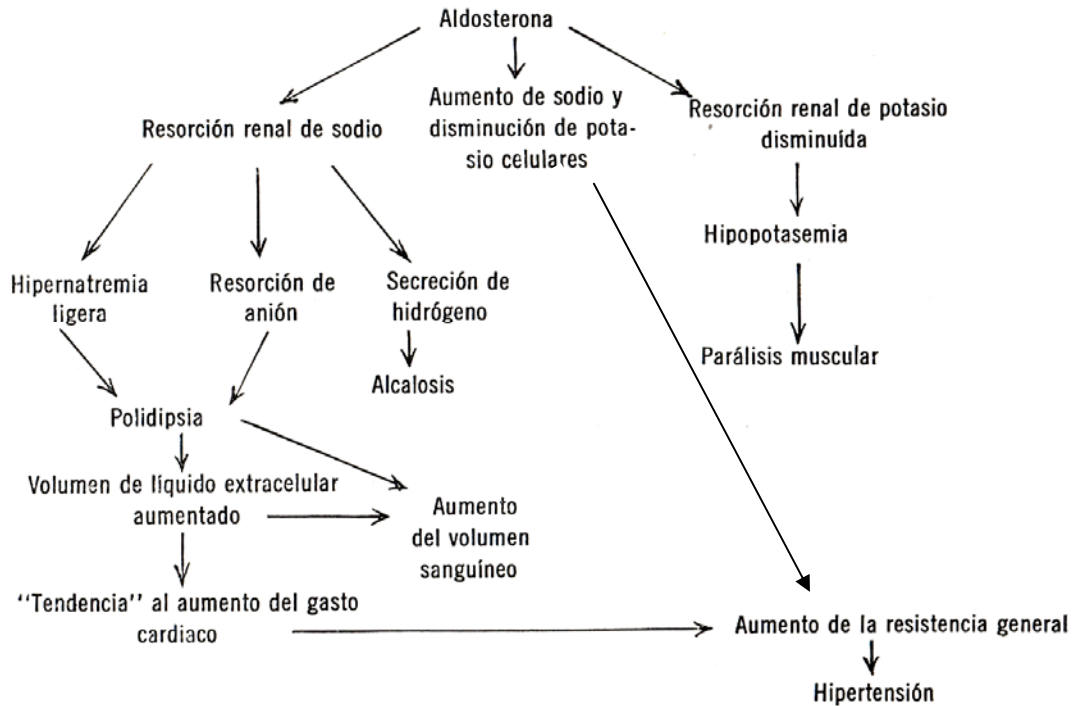


Imagen 7. Efectos fundamentales de la aldosterona (Guyton, 1963)

Los otros corticosteroides poseen efecto glucocorticoide, el más importante es el cortisol. Este es transportado en la sangre en unión con una globulina plasmática, *la transcortina o globulina de unión del corticosteroide* (CBG), la cual tiene efectos diversos sobre los tejidos corporales. El cortisol produce un aumento de la glucosa sanguínea (hiperglucemia) y una disminución de la utilización periférica de la glucosa. La glucogénesis y la gluconeogénesis complementan el aumento en la liberación de glucosa hepática. El cortisol es diabetogénico. En tanto que los glucocorticoides estimulan la síntesis de proteínas hepáticas, se inhibe la síntesis de proteínas en otros tejidos. A medida que el cortisol es lipolítico y aumenta la liberación de ácidos grasos a partir del tejido adiposo, cantidades excesivas de la hormona resultan del exceso en la deposición de lípidos. La estimulación de la liberación de insulina por el cortisol puede determinar el incremento en la deposición lipídica, porque la insulina promueve la lipogénesis y aumenta la cantidad de tejido adiposo. Las propiedades antiinflamatorias de los glucocorticoides son funciones muy significativas, estas hormonas estabilizan las membranas lisosomales, disminuyen la síntesis colágena, aumentan la degradación colágena y también inhiben la proliferación de fibroblastos. Los glucocorticoides ejercen otros numerosos efectos sobre el cuerpo, los cuales se relacionan con la reducción de síntesis proteínica, depresión de la inmunocompetencia, retardo en la cicatrización de heridas, osteopenia cuantitativa. Además, poseen efectos potentes como antiinflamatorio e inmunorregulador, ya que inhibe la producción de interleucina 1. El cortisol evita que el sistema inmunológico reaccione excesivamente ante algún evento adverso y dañe células y tejidos

sanos. Una vez puesto en la circulación, inhibe la secreción de hormona liberadora de corticotrofina (HLC) por el hipotálamo mediante el mecanismo de retroalimentación. La sobreproducción o subproducción de cortisol puede traer consecuencias desastrosas, como hipoactividad o hiperactividad del sistema inmune, respectivamente. De esta forma, la HLC y el cortisol vinculan la respuesta inmune del organismo y la regulación cerebral de la respuesta al estrés (Banks, 1986; Hadley, 1996). El cortisol posee también propiedades permisivas que complementan el funcionamiento de otras hormonas (hormona del crecimiento, glucagon, catecolaminas). Los glucocorticoides manifiestan también propiedades antialérgica al prevenir la liberación de histamina, modulan la expresión génica y la reproducción (Banks, 1983; Hadley, 1996).

La síntesis y liberación de glucocorticoides de la corteza suprarrenal es regulada por la secreción de ACTH de la porción distal de la hipófisis. Los niveles circulantes de glucocorticoides ejercen una retroalimentación negativa sobre el hipotálamo y la porción distal. Sin subestimar la importancia del servomecanismo, la liberación de glucocorticoides, está influida por la actividad del sistema límbico y de la corteza cerebral, por ejemplo el esfuerzo es un estímulo significativo en la secreción de glucocorticoides (Guyton, 1963; Banks, 1986; Hadley, 1996).

La médula suprarrenal (*tejido cromafín*, en no mamíferos); está compuesta principalmente por células cromafines las cuales son productoras de catecolaminas, la adrenalina conocida también como epinefrina y la noradrenalina también llamada norepinefrina, son producidas en respuesta a una situación estresante como es el ejercicio físico o un peligro inminente. Cualquier estímulo estresante puede determinar un aumento en la descarga del nervio esplénico y un aumento de éstas hormonas, la adrenalina y noradrenalina tienen efectos metabólicos sobre órganos y sistemas porque en estos existen receptores adrenérgicos de diferente tipo. La estimulación de los nervios simpáticos en la médula suprarrenal tiene por consecuencia que se liberen grandes cantidades de noradrenalina y adrenalina, que pasan a la sangre circulante. En promedio, el 25 %, aproximadamente, de la secreción es de noradrenalina y el 75% de adrenalina, aunque las proporciones relativas de estos dos productos pueden cambiar considerablemente según las condiciones fisiológicas y los grupos de animales; en el hombre, durante la niñez predomina la noradrenalina. Los animales que tienden a ser presas secretan sobre todo adrenalina y los predadores noradrenalina, lo cual posibilita a cada organismo a cumplir con su función según sea el caso (Guyton, 1963; Hoar, 1978; Hadley, 1996).

La adrenalina se sintetiza en el tejido cromafín (médula suprarrenal), en tanto que la noradrenalina no sólo se encuentra en el tejido cromafín, sino también en el sistema nervioso central y nervios simpáticos periféricos. La dopamina, precursora de la noradrenalina, se encuentra en la médula suprarrenal y neuronas noradrenérgicas; en concentraciones altas en el cerebro, neuronas especializadas de los ganglios simpáticos y el cuerpo carotídeo, donde sirve como neurotransmisor; también en células cebadas especializadas y enterocromafines (Besedovsky, *et al* 1991).

Las catecolaminas se producen a partir de la tirosina, de la cual se forma un catecol y da lugar a la DOPA (dihidroxifenilalanina) mediante la tirosina hidroxilasa, se descarboxila la DOPA a través de la

dopadescarboxilasa y da lugar a la dopamina. La dopamina- β -hidroxilasa hidroxila la dopamina y da la noradrenalina y para dar lugar a la adrenalina le falta un grupo metilo que se lo proporciona la N-metiltransferasa. La enzima limitante de este proceso es la tirosina hidroxilasa y en segunda instancia la cantidad de cortisol (Besedovsky, 1991; Musselman y Nemeroff, 1995).

Desde 1948, Ahlquist describió un método de clasificación de los agentes adrenérgicos según su capacidad para activar un mecanismo receptivo adrenérgico dual. Esta clasificación implica el concepto de que hay dos receptores adrenérgicos diferentes llamados alfa (α) y beta (β). La adrenalina y los compuestos relacionados producen efectos adrenérgicos que son tanto excitadores como inhibidores. Aquellas respuestas atribuidas a la activación de un receptor *alfa* son excitadores, con la excepción de la relajación intestinal. Aquellas respuestas atribuidas a la activación de un receptor *beta* son inhibidoras, con la excepción de los efectos estimulantes miocárdicos (Ritter, *et al* 1978; Besedovsky, *et al* 1991; Hadley, 1996).

Se puede resumir de la siguiente manera las funciones asociadas a cada uno de los receptores adrenérgicos: (Ritter, *et al* 1978; Besedovsky, *et al* 1991; Hadley, 1996).

Receptor alfa

- Vasoconstricción (cutánea, renal).
- Contracción de la cápsula esplénica.
- Contracción del miocardio.
- Contracción del dilatador del iris.
- Contracción de la membrana nictitante.
- Relajación intestinal.
- Contracción pilomotora.
- Aumento del Ca^+ (contracción del músculo liso).
- Inhibe la adenilciclase (efecto presimpático)

Receptor beta

- Vasodilatación (en músculo esquelético).
- Cardioaceleración.
- Aumento de la fuerza de la contracción del miocardio.
- Relajación del miometrio.
- Relajación bronquial.
- Relajación intestinal.
- Glucogenólisis.
- Lipólisis.
- Calorigénesis.
- Estimula la adenilciclase (efectos metabólicos, cardiacos, relajación del músculo bronquial, vasodilatación del músculo e hígado).

La noradrenalina y la adrenalina actúan según el tipo de receptor adrenérgico al que se unen. La adrenalina provoca tres respuestas distintas al corazón: 1) aceleración cardiaca a través del nodo sinoauricular (efecto cronotrópico); 2) aumento en la fuerza de contracción (efecto inotrópico);

3) alteraciones en la función rítmica del ventrículo (extrasístoles ventriculares, taquicardias y fibrilación potencial), las pruebas para valorar estas respuestas son separadas y distintas. Sin embargo, si la frecuencia aumenta demasiado, el gasto puede disminuir debido a un tiempo insuficiente para el llenado ventricular. En el hombre, la adrenalina incrementa el gasto cardíaco debido al aumento en el retorno venoso y la noradrenalina puede disminuirlo, en otras palabras la noradrenalina es vasoconstrictor más fuerte que la adrenalina (Ritter, *et al* 1978; Besedovsky, *et al* 1991; Hadley, 1996).

En la piel, la adrenalina es un vasoconstrictor al igual que en ciertas vísceras, la noradrenalina produce vasodilatación significativa pero aumenta la resistencia (Ritter, *et al* 1978; Besedovsky, *et al* 1991; Hadley, 1996).

La adrenalina y la noradrenalina aumentan la resistencia total del flujo a través del riñón por una acción directa. En el hombre, la adrenalina reduce el flujo sanguíneo renal desde 1,500 hasta 90 ml por minuto, mientras que la noradrenalina lo reduce hasta 1,200 ml por minuto. Además, hay cambios en la excreción del sodio y potasio, siendo disminuidas ambas. También hay datos de que la adrenalina puede producir antidiuresis por un efecto central mediado por la hipófisis posterior (Ritter, 1978; Besedovsky, 1991; Hadley, 1996).

En el sistema respiratorio hay receptores β_2 que ocasionan una broncodilatación y se favorece el intercambio de gases bajo la acción de la adrenalina, en el sistema digestivo la estimulación adrenérgica provoca una disminución de las secreciones, contracción de los esfínteres y descenso en la liberación de acetilcolina. Por lo tanto disminuye la motilidad, otros efectos de entre tantos es la midriasis, la cual facilita la visión, disminuye la secreción de insulina porque provoca la hipoglucemia y puede provocar piloerección (Ritter, *et al* 1978; Besedovsky, *et al* 1991; Hadley, 1996).

Cuando ocurre un traumatismo importante, al principio la percepción del dolor queda inhibida porque en la médula adrenal se secretan sustancias opioides. La percepción del dolor se inhibe por mecanismos centrales o periféricos. Los centrales disminuyen la sensibilidad de las terminaciones nerviosas sensitivas.

Estas sustancias son dimorfinas y encefalinas. Pueden mimetizar algunas acciones de los alcaloides. Pueden disminuir la excitabilidad de las neuronas sensitivas. Estas sustancias opioides participan en el control de la secreción de la propia médula, actúan sobre receptores presinápticos del nervio esplácnico y disminuyen la liberación de la acetilcolina, modulan y limitan el impacto de la adrenalina y noradrenalina por segundos, también pueden actuar sobre terminaciones nerviosas periféricas, de inmediato las neuronas hipotalámicas secretan CRH vía nerviosa, porque además de ser hormonas también son neurotransmisores, estimulan las neuronas de la médula espinal que activan al nervio esplécnico, aumentando la secreción de adrenalina y noradrenalina (Ritter, *et al* 1978; Besedovsky, *et al* 1991; Hadley, 1996).

En forma resumida: el tejido cromafín da el estado de alarma por medio de la adrenalina. El tejido esteroideogénico, a través de sus hormonas (glucocorticoides y mineralocorticoides) sostiene el estado de emergencia, y el tejido cromafín, a través de la noradrenalina, lleva al organismo a conseguir nuevamente la homeostasis (Grassi y Accordi, 1986).

ESTRÉS

Entre los conceptos de estrés que se emplean con mayor frecuencia se tienen los siguientes: a) “ El estrés es un estado producido por un factor ambiental el cual extiende la respuesta adaptativa del animal mas allá del rango normal, y así perturba el funcionamiento al punto que las oportunidades de sobrevivencia se reducen significativamente”, b) “el estrés es la suma de todas las respuestas fisiológicas por medio de las cuales un animal trata de mantener o restablecer un metabolismo normal frente a una fuerza física o química”, c) “el estrés representa la suma de cambios, fisiológicos, bioquímicos y de comportamiento en el individuo, los cuales resultan de la acción de estresantes”, d) “el estrés es la serie de reacciones las cuales se desvían cualitativa o cuantitativamente de la normalidad (Selye, 1950 ;Matty, 1985; Pickering, 1981), y e) Tave en 1994, define al estrés como “un conjunto de condiciones fisiológicas que ocurren como reacción a un evento”. De este modo, el animal responde mediante una serie de reacciones de comportamiento y fisiológicas con el objeto de compensar y adecuarse a la nueva situación. En esta respuesta, el organismo activa tanto el eje hipotálamo-simpático-cromafín como el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (Mazeaud y Mazeaud, 1981).

Desde un punto de vista fisiológico, una activación puntual del sistema de estrés es beneficiosa para el animal, pues le permite recuperar la homeostasis alterada por un agente estresante. Sin embargo, si la situación de estrés se convierte en crónica, la respuesta al estrés puede perder su valor adaptativo y originar problemas al animal. Así, la situación continuada de estrés origina problemas en los procesos de crecimiento, reproductivos, osmorreguladores e inmunitarios. Estos problemas se reflejarán a nivel del organismo, la población y la comunidad (Schreck, 2000).

- Síndrome de adaptación general en peces y etapas acuáticas de anfibios.

El organismo responde a una situación de estrés con el llamado *síndrome de adaptación general*, en el que intervienen el sistema hipotálamo-simpático-cromafín y el sistema hipotálamo-hipofisiario-tejido esteroideogénico adrenal. El síndrome de adaptación general presenta, según sea la duración del agente estresante, distintas etapas: a) reacción de alarma inicial, b) fase de resistencia, y c) fase de agotamiento (Wendelaar, 1997; Schreck, 2000).

a) Reacción de alarma inicial

En los primeros momentos el animal reacciona con una rápida activación del eje hipotálamo-simpático-cromafín, originándose un incremento de la liberación de catecolaminas (adrenalina/noradrenalina) en el tejido adrenal cromafín y de noradrenalina en las terminaciones nerviosas simpáticas. Estas sustancias presentan un amplio rango de funciones fisiológicas, originando incrementos en:

1) actividad motora, ritmo cardíaco, flujo sanguíneo hacia los órganos fisiológicamente más activos (cerebro, corazón y músculo esquelético).

2) flujo sanguíneo hacia las branquias y estimulación de la captación/transporte de oxígeno.

3) tasa metabólica basal, metabolismo intermedio de modo que se aumenta la glucosa plasmática a partir del glucógeno del hígado (glucogenólisis) y la síntesis de nueva glucosa a partir de ácidos grasos libres en tejido adiposo (lipólisis y gluconeogénesis) (Mazeaud y Mazeaud, 1981; Pickering, 1981; Schreck, 2000).

b) Fase de resistencia

Si la situación de estrés continúa, el animal terminará por aclimatarse a la nueva situación y los niveles de catecolaminas volverán a sus valores normales. Durante esta fase se activa el eje hipotálamo-hipofisario-tejido esteroidogénico adrenal y, por este motivo, la liberación de corticoides adrenales. Las acciones de los corticoides adrenales son más lentas que las acciones iniciales de las catecolaminas y permiten mantener la fase de resistencia del síndrome de adaptación general. Además, tanto el cortisol como la ACTH hipofisaria estimulan la síntesis de catecolaminas a nivel del tejido cromafín, con lo cual se pueden mantener valores de catecolaminas superiores a los niveles basales durante esta fase de resistencia. En mamíferos los papeles fisiológicos de los corticoides adrenales están perfectamente delimitados. De este modo, se puede distinguir entre glucocorticoides (cortisol) con una función metabólica y mineralcorticoides (aldosterona) con una función osmorreguladora. Sin embargo, esta distinción no puede ser trasladada a peces y anfibios, y así el cortisol funciona como glucocorticoide y mineralcorticoide. Las acciones fisiológicas del cortisol son variadas, originando a nivel metabólico un aumento de las reservas energéticas del animal en plasma (hiperglucemia) (Mazeaud y Mazeaud, 1981; Pickering, 1981; Schreck, 2000).

c) Fase de agotamiento

Si la situación de estrés se mantiene el organismo entra en la tercera fase del síndrome de adaptación: fase de agotamiento, los altos niveles de cortisol mantenidos durante un largo periodo, así como la activación del metabolismo para superar la situación de estrés interfieren con otros procesos fisiológicos del animal (crecimiento, reproducción, sistema inmunitario, etc.), originan situaciones letales para el animal (Mazeaud y Mazeaud, 1981; Pickering, 1981; Schreck, 2000).

- Respuestas al estrés

En el análisis de las respuestas de estrés en los animales, se distinguen tres tipos de respuestas que se han clasificado también como primaria, secundaria y terciaria (Wendelaar, 1997).

a) Respuesta primaria.- Consiste en la activación de los núcleos cerebrales, células adenohipofisarias y tejido interrenal y cromafín, con un incremento en los niveles de catecolaminas y corticosteroides adrenales en plasma (Wendelaar, 1997).

b) Respuesta secundaria.- Considerada como las modificaciones fisiológicas originadas por las catecolaminas y corticosteroides: aumento del consumo de oxígeno, actividad cardíaca, hiperglucemia, perturbaciones del balance hidromineral, etcétera (Wendelaar, 1997).

c) Respuesta terciaria.- Se extiende al nivel de organismo y población: inhibición del crecimiento, problemas en la reproducción, perturbación del sistema inmune y disminución de la tolerancia a nuevas situaciones de estrés. Incluye desde el debilitamiento crítico de las funciones bioquímicas principales hasta desórdenes fisiológicos y morfológicos, cambios en el comportamiento y decremento en los porcentajes de crecimiento y procesos reproductivos, disminución en la producción de crías, incremento en la susceptibilidad a enfermedades y finalmente la muerte, provocando así la disminución de la población (Mazeaud, *et al* 1977; Pickering, 1993; Tave, 1994).

La intensidad con la que se presentan estas respuestas parece tener también una predisposición genética, lo cual ha dado pauta para llevar a cabo una selección de reproductores con mayor resistencia a estímulos estresantes (Mazeaud, *et al* 1977; Pickering, 1993; Tave, 1994) cuando se pretende hacer criaderos con diversos fines, incluyendo el conservacionista.

Ubicación de las áreas de estudio en los Estados Unidos Mexicanos



Imagen 8. Localización de las áreas de colecta

- Generalidades sobre el lago de Pátzcuaro

El Lago de Pátzcuaro se encuentra dentro de una cuenca endorreica de 93,430 ha en el eje volcánico transmexicano, entre los 19° 31' 41" N, 101° 32' 25" W y los 19° 41' 8" N, 101° 43' 3" W. Esta ubicado 50 Km., al sudoeste de la ciudad de Morelia, la capital del estado. Políticamente la cuenca se encuentra en el estado de Michoacán y abarca porciones de los municipios de Pátzcuaro, Quiroga, Villa Escalante, Nahuatzen e Ihuatzio (Gómez -Tagle, 2000).

En conclusión, el lago de Pátzcuaro se encuentra sometido a cambios de nivel estacionales y a largo plazo, asociados a las variaciones climáticas a lo largo del año y a variaciones regionales (Bernal-Brooks, *et al* 2000), que incluyen reducción de la precipitación y cambio en las constantes térmicas (Gómez-Tagle, 2000).

Esto es debido entre otras causas a que es una cuenca cerrada, como Cuitzeo y Chapala en donde ocurre algo semejante (Williams, 1993).

- Generalidades sobre el lago de Xochimilco

El lago de Xochimilco está ubicado en las coordenadas geográficas 19° 16' latitud norte y 99° 06' longitud oeste a 2240 *m.s.n.m.* García (1988) reporta para Xochimilco un clima subtipo Cb (w₂)(w)(i) w'', dentro de un clima general C(w), es decir templado subhúmedo con lluvias en verano. Según las características de este clima es el más seco de los templados subhúmedos. La temperatura del mes más frío oscila entre -3 y 18 °C, la precipitación del mes más húmedo es mayor de 10 veces a la del mes más seco, cuya precipitación es menor de 40 mm y la precipitación media anual es mayor de 500 mm y menor de 1740 mm. De acuerdo a las nuevas modificaciones de García (1988), la designación Cb indica una temperatura media anual entre 12° y 18° C y la temperatura más caliente menor de 22°C (Rojas, 1983; Valdez-Madero, 1995).

Las heladas son fuertes y frecuentes en los meses de diciembre, enero y febrero (hasta 50-70 heladas al año) aunque se reporta que se presentan desde octubre hasta marzo y termina con los vientos alisios que llegan del noroeste. Al parecer son producto de invasiones de masa de aire frío provenientes de la Sierra Chichinautzin. Se llegan a presentar también nevadas invernales en las cimas montañosas (INEGI, 1986).

Las principales corrientes y arroyos que bajan de la zona de montaña a la zona de llanura son: Tilaza, Tepapantla y Santiago; los canales Apatlaco, el Bordo, Chalco, Amecameca, Cuemanco, Nacional y Santa Cruz y las lagunas son: El Toro y Texhuilo, además la presa San Lucas (INEGI, 1986).

En la zona de conservación se encuentran lagos artificiales que se localizan en la porción noreste. El Huetzalín, y el Acitlalin, cuya extensión es de 50 ha, están ubicados en el perímetro externo de Xochimilco, y el otro en el Deportivo Cuemanco. Su función principal es regular las inundaciones que se suscitan en la zona. Además estos lagos artificiales constituyen parte del hábitat de algunas especies, son el escenario principal de las actividades recreativas y forman parte del sistema de irrigación de las chinampas (INEGI, 1986).

El origen de los suelos es predominantemente lacustre y palustre. Su material parental es una mezcla de diversos materiales que se han depositado en diferentes periodos; se han encontrado productos de origen volcánico, aluvial y orgánico, siendo este último el predominante. En su mayoría son suelos orgánicos, ricos en nutrientes y afectados por el nivel freático que fluctúa en función de la época de lluvia o de estiaje; son de color pardo y muy negros (Rojas, 1983; Valdez-Madero, 1995).

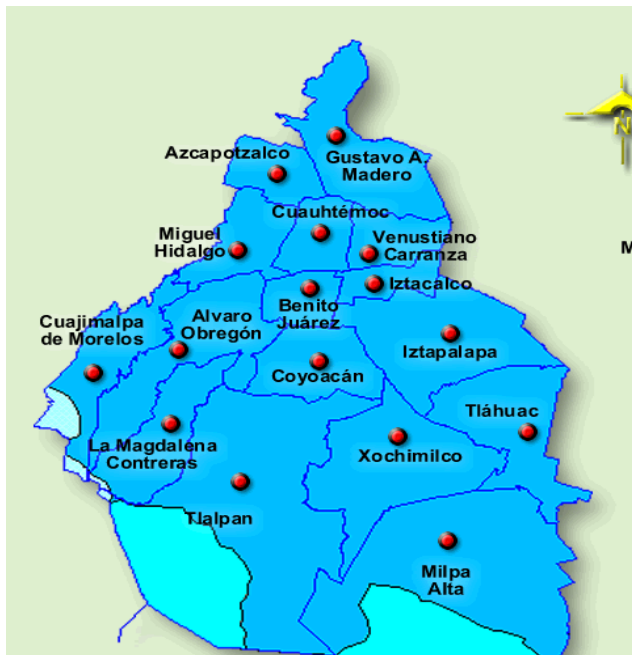


Imagen 10. Mapa del Distrito Federal, capital del país, al sureste se encuentra el lago de Xochimilco, en la delegación que lleva el mismo nombre.

Por ser una llanura lacustre localizada en una depresión o zona de acumulación, todos los suelos se encuentran bien desarrollados y maduros, pero presentan dos problemas importantes: la inundación y el ensalitramiento (Rojas, 1983; Valdez-Madero, 1995).

En las partes bajas los suelos son profundos (de más de 125 cm.), sobre pendientes que fluctúan de 0 a 5 %, en las partes montañosas los suelos son generalmente someros; en estos sitios la profundidad fluctúa entre 10 y 30 cm., sobre pendientes mayores de 15%. Mientras que en las pequeñas lomas varían de 30 a 90 cm., y están sometidos a acciones como la deforestación que, junto con la lluvia, pendiente e influencia eólica, han

provocado su degradación, lo que ha causado el azolve de canales, lagunas y presas, en las partes bajas (Rojas, 1983; Valdez-Madero, 1995).

A lo largo del tiempo Xochimilco ha sufrido la explotación de sus manantiales para abastecer de agua al DF desde principios del siglo XX; y en consecuencia la disminución de sus mantos freáticos, de tal manera que ahora se requiere alimentar al lago de Xochimilco con caudales de aguas tratadas en la planta del Cerro de la Estrella, al ritmo de un metro cúbico por segundo. El daño que ha sufrido la zona agrícola es considerable, existen hundimientos diferenciales en el área de canales, de donde se hacen necesario tomar precauciones, ya que se observan desniveles entre el área turística y la rural, de tres metros que implican inconvenientes difíciles de superar (Rojas, 1983; Valdez-Madero, 1995).

- Generalidades sobre la laguna de Totolcingo

La laguna de Totolcingo (también conocida como el Carmen) se encuentra en la parte central del municipio de Oriental antes Distrito de San Juan de los Llanos y que más tarde paso por decreto a ser municipio, se localiza en la parte centro este del Estado de Puebla. Sus coordenadas geográficas son paralelos 19° 13'36'' y 19° 27' 36'' de latitud norte y los meridianos 97° 30'36'' y 97° 40'24'' de longitud occidental (INEGI, 1999). Colinda al norte con Libres y Tepeyahualco, al sur con San Salvador el Seco, al este con San Nicolás Buenos Aires, y al oeste con San José Chiapa y el estado de Tlaxcala (Quiroz de la Vega, 1992; INEGI, 1993).

Los Llanos de San Juan son una planicie de origen lacustre, formada por una pequeña cuenca endorreica, cuya parte más baja está ocupada por la laguna de Totolcingo; presentando afloraciones salinas de tequesquite. Esta planicie ocupada la parte norte de la mesa poblana; limita al norte con las estribaciones meridionales de la Sierra Norte, al sur con los Llanos de San Andrés, al este con la sierra de Quimixtlán y al oeste, con el valle de Tepeaca. El municipio presenta como característica orográfica principal una topografía plana, que constituye la parte más deprimida de los llanos de San Juan, con una altura promedio de 2,360 metros sobre el nivel del mar, ocupado en su mayor parte por la laguna de Totolcingo (Quiroz de la Vega, 1992; INEGI, 1993).

La característica hidrográfica principal que presenta el municipio es la existencia de la laguna de Totolcingo, ubicada en su totalidad dentro de su territorio. Es una laguna intermitente ya que solo presenta agua cuando las lluvias son muy intensas, por cuestiones de siembra el agua fue desviada de los riachuelos que llegaban a esta laguna, sobre todo a Alchichica; sus medidas son de 12.5 kilómetros de largo y un máximo de 4.5 de ancho, que ocupa la parte más deprimida de la cuenca endorreica de los llanos de San Juan (INEGI, 1993).

La laguna es llamada también Tequesquital, recibe las aguas de arroyos provenientes de diversas direcciones y mantiene una gran superficie de su alrededor; inundada temporalmente la laguna de El Salado; existe otra laguna llamada Ojo de Agua de Totolcingo (Quiroz de la Vega, 1992; INEGI, 1993).

En diversas formaciones montañosas con que cuenta el municipio, se originan numerosos arroyos intermitentes que al llegar al valle y tras un corto recorrido, en su mayoría desaparecen. Cabe destacar la existencia de algunos sistemas de canales al noreste del municipio de Oriental (Quiroz de la Vega, 1992; INEGI, 1993).

La mayor parte del municipio está cubierto de pastizal halófilo, que ocupa las zonas sujetas a inundación que bordean la laguna de Totolcingo constituido por jarrilla y romeritos; en el que pasta ganado bovino, ovino y caprino (Quiroz de la Vega, 1992; INEGI, 1993).

Las zonas montañosas del noroeste, las estribaciones del cerro Pinto y otros pequeños cerros presentan desde bosque de pino, hasta matorral desértico rosetofo, así como pastizal inducido, nopal y maguey (Quiroz de la Vega, 1992; INEGI, 1993). En fauna tiene conejo, liebre, coyote y aves silvestres de diferentes especies (Quiroz de la Vega, 1992; INEGI, 1993).

Clima. C (w'')(w)(i')g y Bskw''(w)(l') semiseco templado con lluvias en verano y escasas a lo largo de todo el año en el centro y al sur; clima templado subhúmedo con lluvias en verano solo al noroeste a 2360 *m.s.n.m.* Temperatura media anual 12-16°C. Precipitación media anual 400-800 mm. Se llega por la carretera 129. Se localiza a 80 Km. de la ciudad de Puebla (Quiroz de la Vega, 1992; INEGI, 1993).

Aspectos económicos: las pesquerías de aterinidos (charales), ciprínidos, ajolotes, acociles y del crustáceo *Cambarellus montezumae* han sido mermadas por problemas de desecamiento del lago de Totolcingo, agricultura de temporal y de riego, acuicultura y captación de agua (Quiroz de la Vega, 1992; INEGI, 1993).

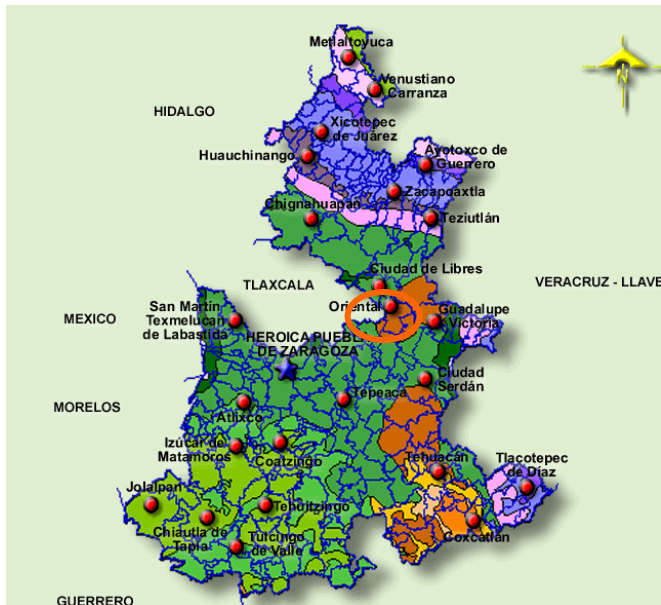


Imagen 11. El círculo indica la ubicación del lago de Totolcingo, la cual Puebla comparte con Tlaxcala.

Clima. C (w'')(w)(i')g y Bskw''(w)(l') semiseco templado con lluvias en verano y escasas a lo largo de todo el año en el centro y al sur; clima templado subhúmedo con lluvias en verano solo al noroeste a 2360 *m.s.n.m.* Temperatura media anual 12-16°C. Precipitación media anual 400-800 mm. Se llega por la carretera 129. Se localiza a 80 Km. de la ciudad de Puebla (Quiroz de la Vega, 1992; INEGI, 1993).

Aspectos económicos: las pesquerías de aterínidos (charales), ciprínidos, ajolotes, acociles y del crustáceo *Cambarellus montezumae* han

sido mermadas por problemas de desecamiento del lago de Totolcingo, agricultura de temporal y de riego, acuicultura y captación de agua (Quiroz de la Vega, 1992; INEGI, 1993).

En el pasado existieron peces como *Chirostoma jordani* y anfibios como *Ambystoma velasci*. Sin embargo, con el cambio de régimen hídrico de un lago perenne a uno de temporal, finalmente de llenado episódico, estos organismos prácticamente han desaparecido (INEGI y la Coordinación General de Ecología. En la actualidad la laguna de Totolcingo es una laguna terminal (Quiroz de la Vega, 1992; INEGI, 1993).

OBJETIVO GENERAL

Comparar y analizar las diferencias morfológicas de las células esteroidogénicas y cromafines de los islotes adrenales, entre tres especies neoténicas del género *Ambystoma* en peligro de extinción que habitan en diferentes localidades.

HIPÓTESIS

Si en el nivel interespecífico la estructura de la glándula adrenal de *Ambystoma* no muestra un claro patrón taxonómico, entonces es posible que las diferencias en los tejidos que la constituyen estén relacionadas con la forma en que cada especie enfrenta el estrés ambiental.

JUSTIFICACIÓN

Los organismos del género *Ambystoma*, algunos endémicos de nuestro país, están en peligro de extinción por la destrucción y contaminación de su hábitat, además de que por ser un organismo base en la trama alimenticia de su hábitat, su extinción afectaría drásticamente a su ecosistema (Cendrero, 1972; Flores, 1993). También se sabe que, estos urodelos neoténicos, han sido una fuente proteica importante en la dieta de la población de escasos recursos en varios lugares de la República Mexicana (Distrito Federal, Estado de México, Michoacán, Tlaxcala, Puebla, entre otros), además de atribuírseles diversas propiedades medicinales (Cendrero, 1972; Flores, 1993). Sin olvidar su importancia en varias ramas de la investigación biológica.

Dado el deterioro ambiental, los organismos de este género, en particular las especies de este estudio están sometidos a un estrés permanente y en aumento, que reduce significativamente su calidad de vida, ya que se sabe que es un factor determinante en la aparición, establecimiento y propagación de enfermedades que pueden conducir a la muerte Sindermann (1977). Por estas razones, se planteó la realización de un trabajo enfocado a realizar una comparación morfológica y morfométrica de las células esteroidogénicas y cromafines que participan en la respuesta al estrés entre las especies *Ambystoma mexicanum*, *Ambystoma dumerilii* y *Ambystoma velasci*. Cada especie tiene diferente riesgo a la extinción relacionado con las características propias de las lagunas en que habitan (Lagos de Pátzcuaro, Xochimilco y Laguna de Totolcingo respectivamente), su historia evolutiva y la biología particular de cada especie (Stebbins, 1995; Halliday, 2002).

MATERIAL Y MÉTODO

- I. Cinco organismos machos y adultos de cada una de las especies *Ambystoma dumerilii*, *Ambystoma mexicanum* y *Ambystoma velasci* se colectaron en su ambiente natural. En la laguna de Pátzcuaro, en los lagos de Xochimilco y laguna de Totolcingo respectivamente, a la mitad de la estación de invierno (1997–1998).
- II. Los organismos fueron trasladados al laboratorio, en donde se verificó su sexo y su estado adulto, se midieron y se pesaron.
- III. Dos horas después de su captura fueron anestesiados por inmersión en tricaina metano sulfonato diluida 1:5000 en agua y sacrificados. Posteriormente se les hizo una incisión ventral, se exploraron y describieron macroscópicamente las glándulas adrenales con la ayuda de un microscopio estereoscópico, 2.5X).
- IV. Las glándulas adrenales, se fotografiaron y se procedió a la disección de los riñones y los vasos aledaños que contienen a los islotes adrenales. Éstos fueron fijados en formol amortiguado al 10%, o con líquido de Orth (para producir la reacción cromafín), (Ver Apéndice 1).
- V. Dos muestras de cada especie fueron lavadas y cortadas por congelación (cortes longitudinales ventro-dorsales de 15 μm) y tres muestras procesadas de manera convencional para hacer cortes por parafina (cortes longitudinales ventro-dorsales de 7-8 μm).
- VI. Posteriormente los cortes por congelación fueron teñidos con los métodos histológicos de Sudán IV y la impregnación argéntica de Llombart y los cortes por parafina teñidos con las técnicas de Hematoxilina–Eosina y también con la impregnación argéntica de Llombart, adaptada para cortes por parafina (10 cortes por técnica separados 30 μm) (ver Apéndice 1 con la descripción de los métodos).
- VII. Con la técnica de H-E se hizo la descripción general de los islotes. Las reacciones cromafín y argentafín permitieron la identificación precisa de las células cromafines y el colorante para lípidos (Sudan IV) identificó claramente las células productores de hormonas esteroides.
- VIII. En cortes equivalentes se hizo una descripción y comparación histológica de la glándula adrenal de las tres especies y se tomaron fotomicrografías representativas.

- IX. Se realizó un análisis morfométrico con microscopia óptica para cada especie, el cual consistió en la utilización de un micrómetro ocular para medir el diámetro mayor y menor de cada islote con un objetivo de 10x (diez islotes de la porción media-caudal por cada especie).
- X. Se determinó la densidad de cada tipo celular (células esteroideogénicas, células cromafines y neuronas simpáticas) en un área de 0.37 mm² (10 islotes de la porción media-caudal por cada especie). Se eligieron los islotes mejor definidos y en los que los dos tipos de células se diferenciaban claramente.
- XI. Se tomaron las dimensiones (diámetros mayor y menor) de las células esteroideogénicas, de las células cromafines y de las neuronas con un objetivo de 40x, y de los núcleos de las células cromafines y esteroideogénicas (40x) (en 10 células con núcleo y nucleolo de cada tipo, por organismo).
- XII. Todos los datos numéricos se analizaron mediante la estadística no paramétrica de Kruskal Wallis ($p < 0.05$).

RESULTADOS

- Descripción general de las glándulas adrenales de *Ambystoma*

La observación con la ayuda del microscopio estereoscópico (2.5X), mostró que la glándula adrenal de *Ambystoma* está formada por una hilera de islotes de color blanquecino localizados en la superficie ventral del riñón cerca del borde medial, variando un poco la distancia de este borde. Son más grandes y abundantes en la porción media (M) y caudal (CA), van disminuyendo en número y tamaño hacia la parte cefálica (cabeza de flecha) (Fig. 1). En forma dispersa algunos islotes continúan fuera del riñón sobre la pared de la vena cava. Los islotes están relacionados con vasos de pequeño y mediano calibre, (vénulas y venas renales eferentes).

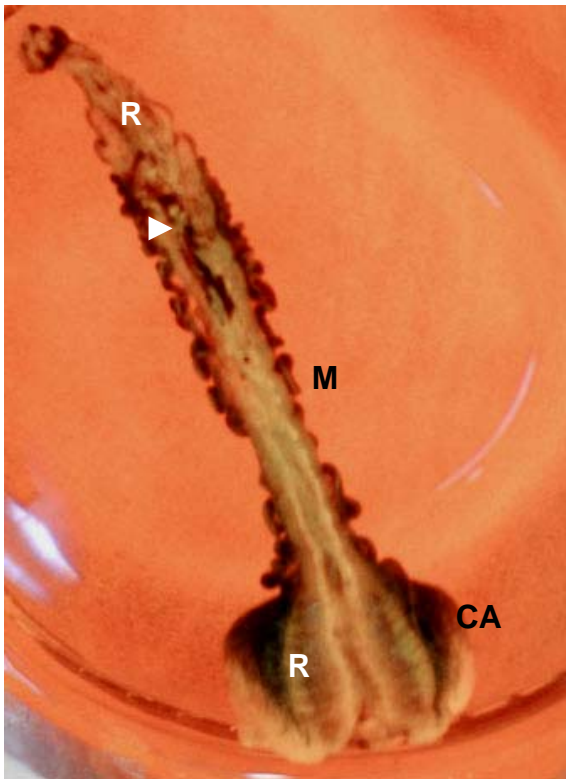
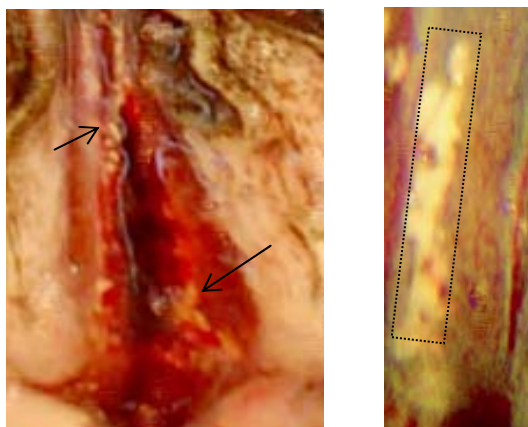


Fig. 1 Observación de los islotes adrenales sobre la superficie ventral del riñón (R) cerca del borde medial, aparecen como una línea luminosa de color blanquecino. En la parte cefálica (cabeza de flecha) hay una menor cantidad de ellos y van aumentando hacia la zona media (M) y caudal (CA), de este órgano.

- Análisis macroscópico: Distribución comparativa de los islotes adrenales de *A. dumerilii*, *A. mexicanum* y

A. velasci sobre la superficie longitudinal ventral del riñón



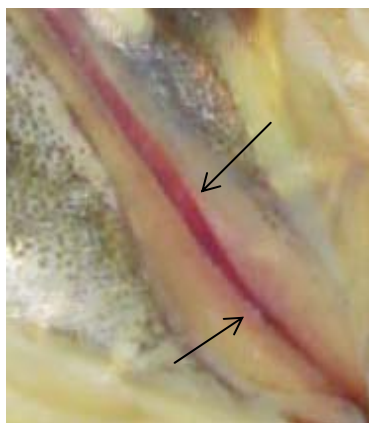
Los islotes de ***Ambystoma dumerilii*** miden $3010 \pm 492.7 \times 365 \pm 56.7 \mu\text{m}$ en promedio. De la parte cefálica a la caudal: Se encuentran islotes pequeños y bien definido, conforme descienden en la parte media va aumentando el número y tamaño de estos y finalmente se distribuyen irregularmente y en gran cantidad, menos definidos por su cercanía entre unos y otros (Fig. 2; Gráfica 1). En el recuadro se observa una ampliación que muestra los islotes de mayor tamaño al retirar la membrana que los cubre (peritoneo visceral). Los islotes caudales están más alejados del borde medial renal.

Fig. 2 Riñón de *A. dumerilii* conteniendo los islotes (↗), que conforman la glándula adrenal (*In situ*, 2.5X), recuadro 8X.



Los islotes adrenales de ***Ambystoma mexicanum*** miden en promedio $2800 \pm 448.4 \times 685 \pm 38.0 \mu\text{m}$. En esta especie se distribuyen pequeños y aislados en el extremo cefálico y en una línea continua van aumentando en número y tamaño conforme descienden hacia parte media y caudal del riñón, de forma ovoide y blanquecina, transversales al borde longitudinal renal, en algunos casos los islotes se alejan un poco del borde renal (Fig. 3; Gráfica 1), sobre todo hacia la parte caudal.

Fig. 3 Riñón de *A. mexicanum* con islotes adrenales ovals (↔), formando peldaños. Se observan más nítidos y su forma es más regular que la especie anterior (*In situ*, 2.5X)



Los islotes adrenales de ***Ambystoma velasci*** son significativamente pequeños en comparación a las especies anteriores miden $484 \pm 69.4 \times 127 \pm 12.2 \mu\text{m}$ en promedio. En la parte cefálica son algo dispersos pero de la parte media a la caudal del riñón son muy abundantes, homogéneos y forman una hilera continua sobre el borde medial de cada riñón. Sin embargo no llegan al extremo caudal. A medida que se extienden fuera del riñón sobre las paredes vasculares, se observan más dispersos (Fig. 4; Gráfica 1).

Fig. 4 Riñón de *A. velasci* con los islotes adrenales (↘) se observan como una línea en la parte media a la caudal (*In situ*, 2.5X).

- Análisis microscópico. Descripción general en *Ambystoma*

El análisis microscópico con las diferentes técnicas histológicas, reveló que cada islote está constituido por células esteroidogénicas (CE) (Fig. 5), células cromafines (CC) (Fig. 6), neuronas simpáticas (NS) y fibras nerviosas (FN) (Fig. 7) preganglionares simpáticas, estos tres últimos elementos forman el tejido cromafín. Los islotes están soportados por tejido conjuntivo fibroso entre las paredes vasculares y los tubos renales del borde medial. Las células esteroidogénicas se localizan preferentemente hacia los túbulos renales y las células cromafines hacia la pared de los vasos renales.

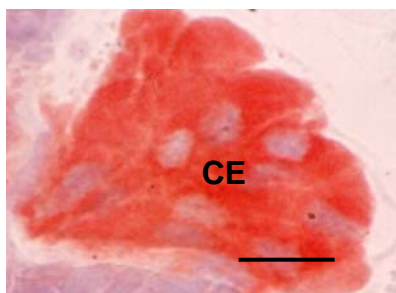


Fig. 5. Células esteroidogénicas (CE) de las adrenales de *Ambystoma sp.* Los liposomas de color rojizo se evidencian por el tipo de tinción. 500X (Sudán IV + H-E). Barra = 40 μ m

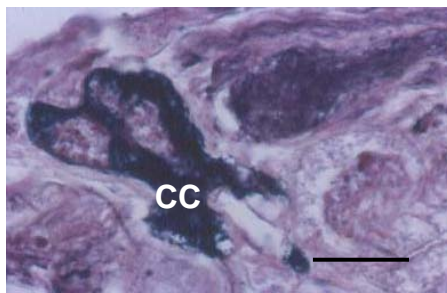


Fig. 6. Células cromafines (CC) de las adrenal de *Ambystoma sp.* Se observan gránulos argentafines en ellas. 500X (Llombart). Barra = 40 μ m.

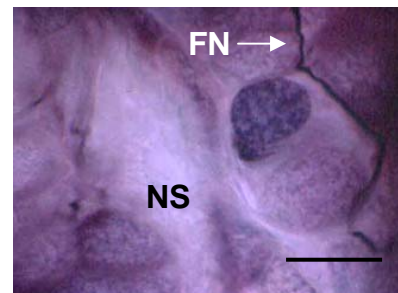


Fig. 7 Neurona simpática (NS) y fibra nerviosa de la adrenal de *Ambystoma sp.* Éstas forman parte del tejido cromafín. 1250X (Llombart). Barra = 14 μ m.

De acuerdo con la afinidad tintorial mostrada, las células esteroidogénicas son ligeramente acidófilas y sudanófilas (Fig. 5, Técnica Sudán IV + H-E 500X), mientras que las células cromafines son ligeramente basófilas, e intensamente cromafín y argentafín positivas (Fig. 6, Técnica Llombart, 500X); las neuronas simpáticas, son cromafín negativas y débilmente argentafines (Fig. 7, Técnica Llombart, 1250X).

Se localiza un gran fascículo (F) longitudinal principal de fibras nerviosas paralelo al borde longitudinal renal en posición medio-caudal y otros pequeños en dirección diversa que se dirigen a los grupos de células cromafines (CC) y neuronas simpáticas (NS) (Fig. 8. Técnica Llombart, 500X).

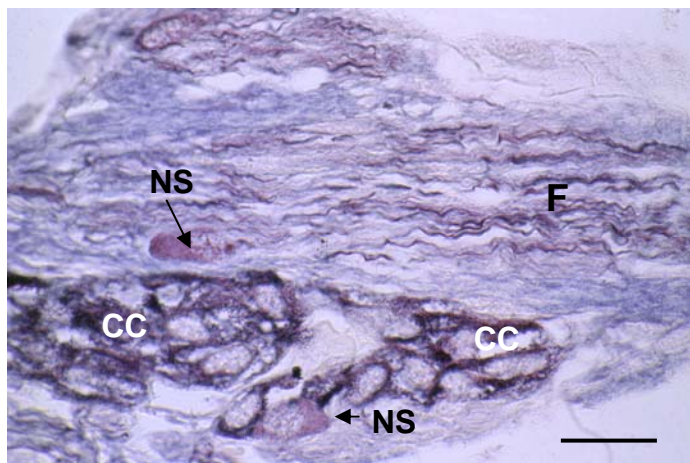


Fig. 8 Corte histológico de adrenal de *Ambystoma* sp. Se observan los componentes del tejido cromafín, neuronas simpáticas (NS), fibras nerviosas formando un fascículo (F) y células cromafines (CC). 500X (Llombart). Barra = 40 μ m.

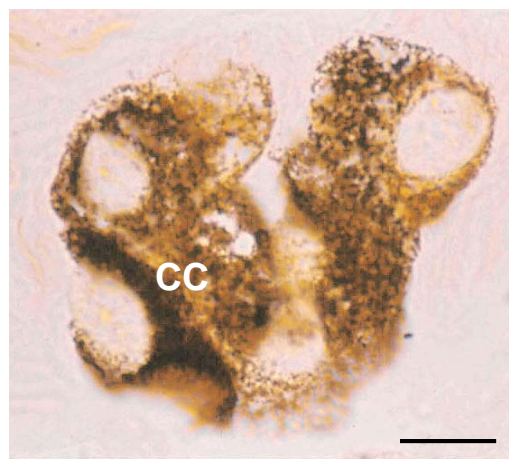


Fig. 9. Acercamiento a dos células cromafines destacando los gránulos de adrenalina que son pardos y los más intensos de noradrenalina. 1250X (Llombart). Barra = 14 μ m.

No se observó diversidad celular en el tejido esteroidogénico ni en el cromafín, aunque en este último se pudieron identificar en las células dos tipos de gránulos: pardos y densos. Hay predominio de gránulos densos que se ha documentado corresponden a gránulos de noradrenalina (Fig. 9, Técnica Llombart, 1250X).

a) Descripción de las glándulas adrenales en *Ambystoma dumerilii*.

Los islotes adrenales de *Ambystoma dumerilii* miden $3010 \pm 492.7 \times 365 \pm 56.7 \mu\text{m}$ (Gráfica 1). En ellos la densidad celular es de 140.5 ± 20.0 CE, de 100.7 ± 9.26 CC y 74.8 ± 6.35 NS, en un área de 0.37 mm^2 (Gráfica 2) y fibras nerviosas preganglionares simpáticas. Las células esteroidogénicas en arreglo cordonal suelen estar periféricas a los túbulos renales (TR), y están cercanas al tejido cromafín, formado por grupos densos de células cromafines y neuronas simpáticas (Fig. 10 y 11, Técnica de Llombart, 30X y 80X). El tejido cromafín es muy abundante en el tejido conjuntivo interrenal que bordea los vasos sanguíneos (VS) y al tejido esteroidogénico, pero también se entremezcla con él en forma irregular; esta condición no se observa en *Ambystoma mexicanum*, ni en *Ambystoma velasci* (Fig. 11 y 14 Técnica de Llombart, 80X y 200X).

Se observaron células esteroidogénicas ($28.5 \pm 1.6 \times 16.5 \pm 1.3 \mu\text{m}$), su núcleo es central ($12 \pm 0.8 \times 10 \pm 0.5 \mu\text{m}$) (Gráficas 5 y 6) exhiben cromatina grumosa y en el citoplasma contienen numerosos liposomas (Fig. 12 y 13, Técnica Sudán, 80X y 500X). Las células esteroidogénicas (CE) son un más abundantes que las cromafines (CC), en un área de 0.37 mm^2 (Gráfica 2).

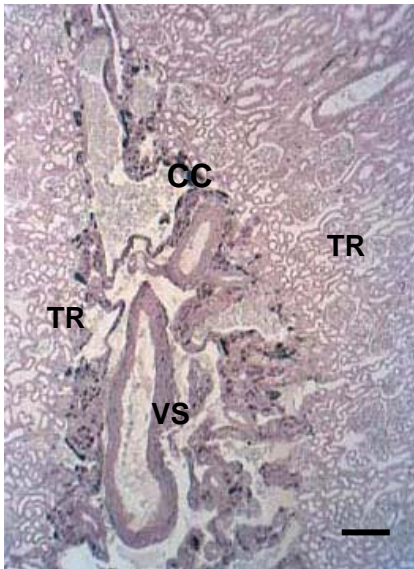


Fig. 10. Vista panorámica de los riñones (TR) con los islotes adrenales en el borde medial de *A. dumerilii*. Destacan en negro las células cromafines (CC). Vasos sanguíneos (VS). 30X (Llombart). Barra = 450 μ m.

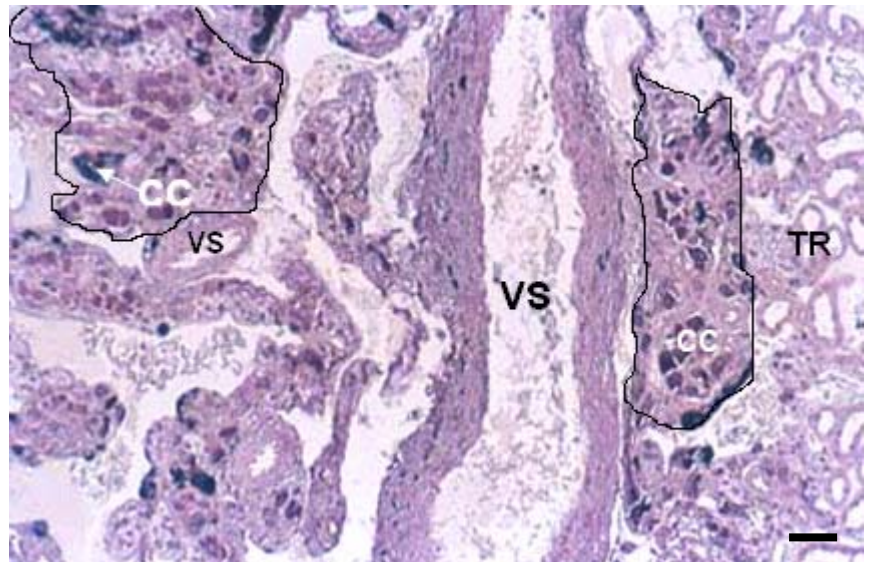


Fig. 11. Islotes adrenales de *A. dumerilii*, las células cromafines (CC) se observan negras por las granulaciones argentafín positivas, cada islote presenta una condición de entremezcla de los tres tipos celulares. Túbulos renales (TR), vasos sanguíneos (VS). 80X (Llombart). Barra = 120 μ m.

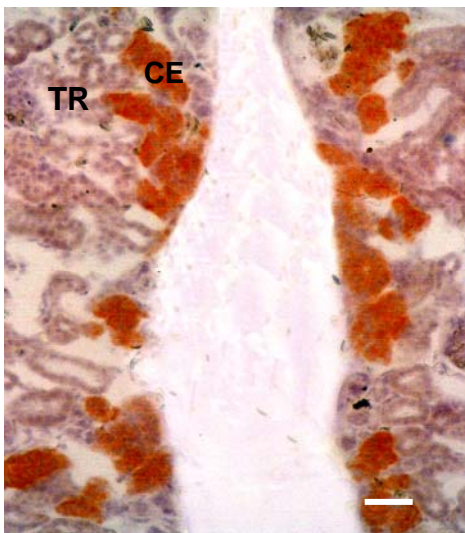


Fig. 12 Islotes adrenales de *A. dumerilii*. Se observan de color rojizo a los cúmulos de células esteroidogénicas (CE). 80X (Sudán IV + H-E). Barra = 120 μ m.

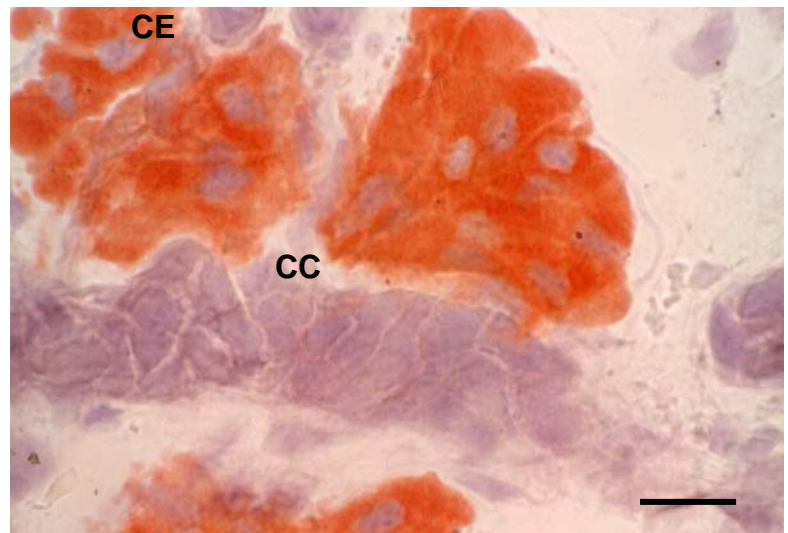


Fig. 13 Corte histológico de adrenal en *A. dumerilii*. Las células esteroidogénicas (CE) de color rojizo, el citoplasma contienen numerosos liposomas, los cuales se destacan con este tipo de tinción; al centro se observan algunas células cromafines (CC). 500X (Sudán IV + H-E). Barra = 40 μ m.

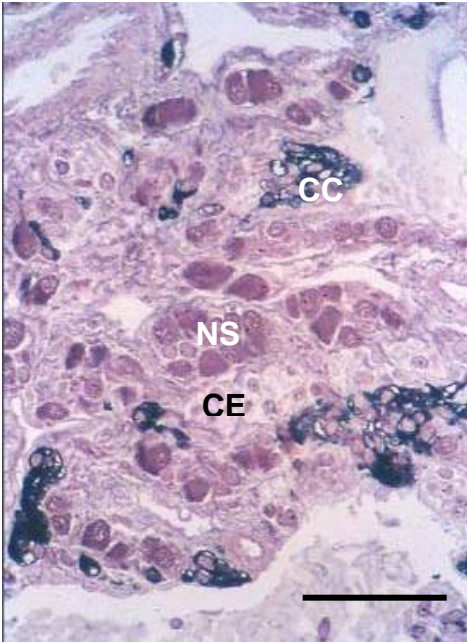


Fig. 14 Islote adrenal de *A. dumerilii*. Se observan células esteroidogénicas (CE), cromafines (CC) y la abundancia de neuronas simpáticas (NS). 200X (Llombart). Barra = 160 μ m.

Las células cromafines ($26.5 \pm 2.5 \times 16.2 \pm 1.0 \mu\text{m}$) son irregulares en forma y tamaño, con un núcleo que mide en promedio $12.0 \pm 0.89 \times 10 \pm 0.52 \mu\text{m}$ (Gráficas 3 y 4) con cromatina laxa y nucleolo evidente; el citoplasma muestra abundantes granulaciones cromafín y argentafín positivas (Fig. 10,11, 14, y 15. Técnica de Llombart, 30X, 80X, 200X y 500X). Se observaron gránulos pardos y densos, los gránulos densos corresponden a la noradrenalina (N) (Fig.16, Técnica Llombart, 1250X).

Otro rasgo distintivo de esta especie es la gran abundancia de neuronas simpáticas (NS) (Fig. 14 y 17, Técnica de Llombart, 200X y 500X; Gráfica 2), casi en paridad con las células cromafines (1:1). Se localizan en el tejido conjuntivo

perivascular y también se entremezclan con las células esteroidogénicas y cromafines, entre ellas se observan abundantes fibras y terminaciones nerviosas (FN) (Fig.17), Técnica de Llombart, 500X).

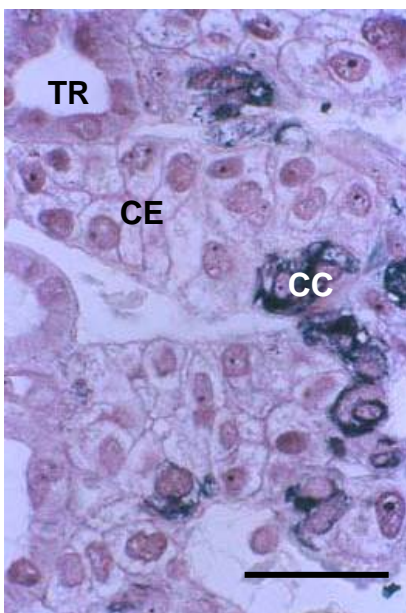


Fig. 15 A la izquierda. Corte histológico de adrenal de *A. dumerilii*. Se observa gran abundancia de células esteroidogénicas, hacia los túbulos renales (TR). Células cromafines (CC). 200X (Llombart). Barra = 160 μ m.

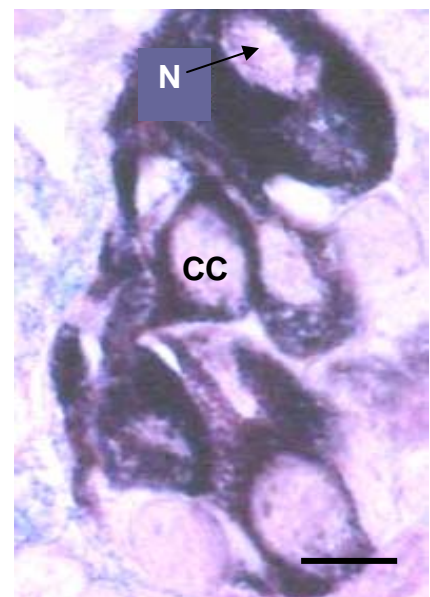


Fig. 16 A la derecha. Corte histológico de adrenal de *A. dumerilii*. Destacan ocho células cromafines (CC), la mayoría con gran cantidad de gránulos de noradrenalina. Núcleo (N). 1250X (Llombart). Barra = 14 μ m.

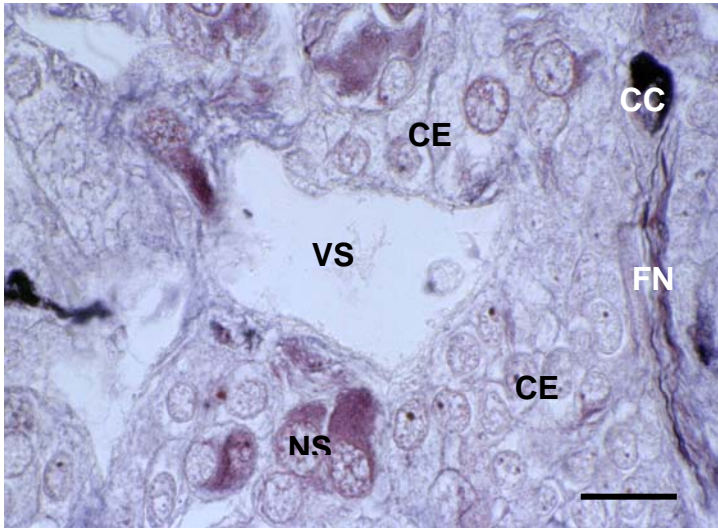


Fig. 17 Corte histológico de adrenal de *A. dumerilii*. Se destaca un fascículo nervioso (FN), y neuronas simpáticas (NS). Células esteroidogénicas (CE), célula cromafín (CC), vasos sanguíneos (VS). 500X (Llombart). Barra = 40 μ m.

La inervación es muy abundante en el tejido cromafín, los tractos nerviosos (FN) que entran a él por el borde caudal medial del riñón, se ramifican ampliamente para inervar a las células cromafines y neuronas simpáticas mediante botones terminales. Suelen observarse aposiciones somales o abrazantes entre células cromafines y neuronas simpáticas.

Es notable la presencia de un gran paraganglio no cromafín, localizado en el tejido conectivo entre la porción caudal del riñón y la cloaca. En este se observan neuronas paraganglionares (NP), semejantes a las neuronas simpáticas descritas en el tejido adrenal y presenta abundantes fascículos, fibras (FN) y terminaciones nerviosas (Fig. 18, Técnica Llombart, 500X)

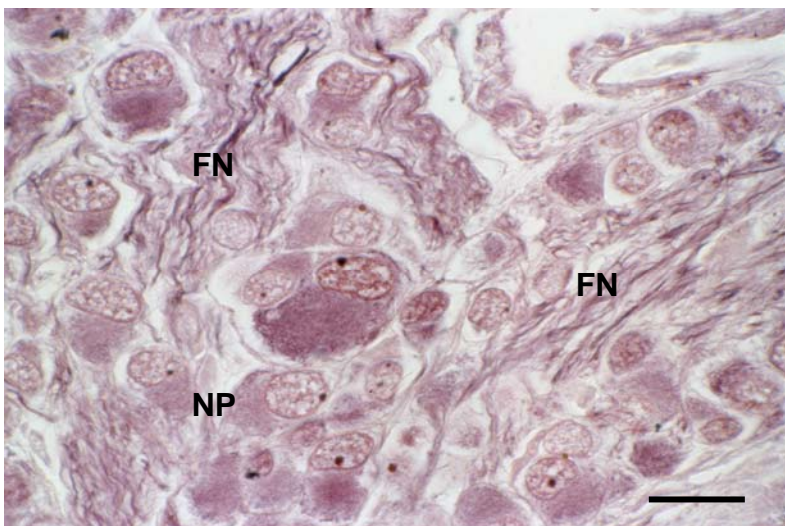


Fig. 18. Corte histológico de glándula adrenal de *A. dumerilii*. Se observan abundantes fascículos y fibras (FN). Las neuronas paraganglionares (NP) exhiben cromatina laxa y un nucleolo, como las neuronas simpáticas adrenales. No presenta células cromafines. 500X (Llombart). Barra = 40 μ m.

b) Descripción de las glándulas adrenales en *Ambystoma mexicanum*

Los islotes adrenales de *Ambystoma mexicanum* miden $2800 \pm 448.4 \times 685 \pm 38.4 \mu\text{m}$ (Gráfica 1). En ellos la densidad celular es de 307.8 ± 24.1 CE, de 135.6 ± 10.6 CC y de 31.05 ± 4.2 NS, en un área de 0.37 mm^2 (Gráfica 2) y fibras nerviosas preganglionares simpáticas. Los islotes pueden verse claramente separados por tejido conjuntivo fibroso (TC). Las células esteroidogénicas y cromafines que forman cada islote se encuentran interrelacionadas y en localización precisa entre los túbulos renales mediales y la pared de los vasos que se localizan en el tejido interrenal. Varios grupos de células esteroidogénicas (CE) y células cromafines (CC) forman cada islote (Fig. 19 y 20, Técnica de cromación + H-E, 200X)

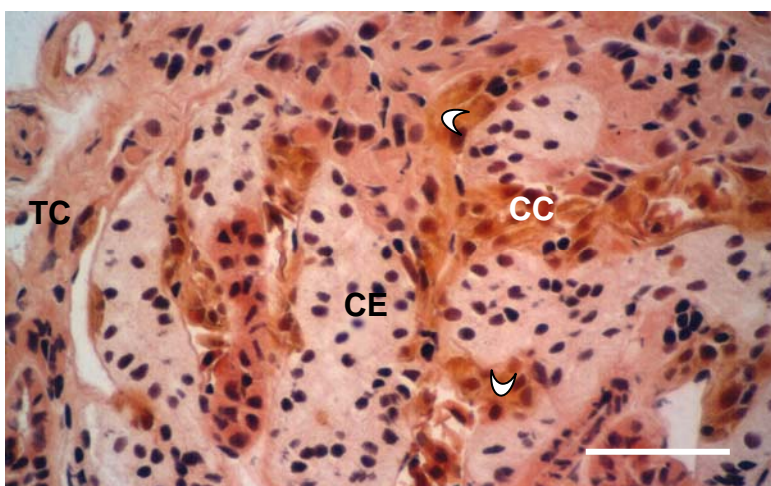
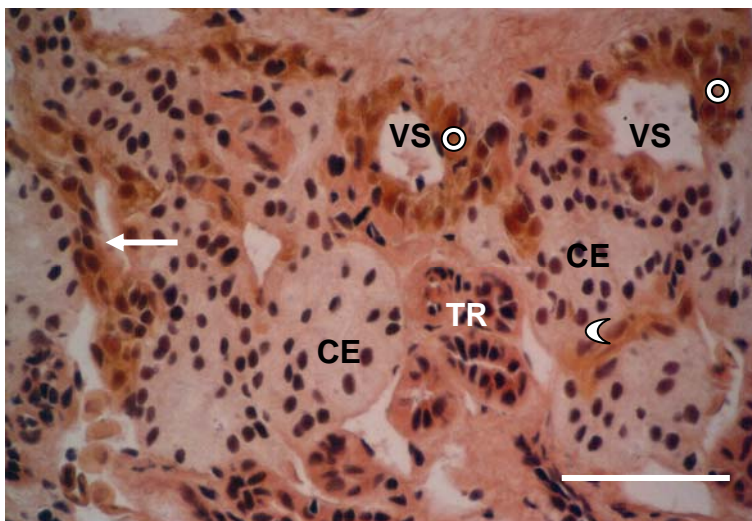


Fig.19 Corte histológico de adrenal de *A. mexicanum*. Observamos de color claro a las células esteroidogénicas (CE) y de color pardo a las células cromafines (CC). Tejido conjuntivo (TC). 200X (Cromación + H-E). Barra = $160 \mu\text{m}$.



Los grupos de células esteroidogénicas se encuentran cerca o bordeando túbulos renales (TR); la disposición de los conjuntos de células cromafines tienen varias formas: circulares (⊙), semicirculares (☾) o lineales (↘) (Fig. 19 y 20, Técnica de cromación + H-E, 200X). Las células cromafines pueden variar de tono, ya que la cantidad de gránulos de adrenalina y noradrenalina es diferente en cada una.

Cuando las células cromafines se organizan en forma circular están alrededor de pequeños vasos sanguíneos (VS) en este caso células esteroidogénicas y cromafines pueden o no estar adyacentes; en cambio cuando tienen la forma semilunar o cúmulos lineales están en contacto directo unas con otras, de manera característica (Fig. 19 y 20, cromación + H-E, 200X).

Fig. 20 Corte histológico de adrenal de *A. mexicanum*. Se observan las tres disposiciones circular (⊙), semicircular (☾) y lineal (↘) que adoptan las células cromafines, acompañando a los grupos de células esteroidogénicas (CE) y rodeando a los vasos sanguíneos (VS). 200X (cromación + H-E). Barra = $160 \mu\text{m}$.

Es interesante observar que cuando las células cromafines (CC) adoptan una forma de semilunar por encima de los grupos de células esteroidogénicas (CE), es en dirección hacia el área vascular; en

general, las CC no hacen contacto con los túbulos renales (TR). En cuanto a la densidad numérica, las células esteroidogénicas son más abundantes que las cromafines, como se indica en la gráfica 2 y al principio de la descripción.

Las células cromafines miden $29.75 \pm 2.5 \times 16.5 \pm 1.7 \mu\text{m}$, se observan más pequeñas que las esteroidogénicas, estas últimas con $37.75 \pm 12.2 \times 23.25 \pm 1.7 \mu\text{m}$ (Gráficas 3 y 5), pero los núcleos son de tamaño semejante; los de células esteroidogénicas $16.25 \pm 1.6 \times 10.75 \pm 0.6 \mu\text{m}$ y los núcleos de células cromafines $15.5 \pm 1.3 \mu\text{m} \times 10.0 \pm 0.3 \mu\text{m}$ (Gráficas 4 y 6). El citoplasma de las CC se observa denso y lleno de gránulos cromoargentafines, puestos en evidencia por el bicromato de potasio (Fig. 20 y 21, Técnica cromación + H-E 200X) y con la plata (Fig.21, Técnica Llombart, 200X), las CE contienen una gran cantidad de liposomas (pequeñas gotas lipídicas), demostradas con la técnica para lípidos (Fig.22, Técnica Sudán IV + H-E, 80X). Ambas células se observan, de manera específica en el tejido fijado con bicromato de potasio (cromación) y teñido con Sudán IV (Fig. 23, Técnica Sudán IV + H-E, 500X).

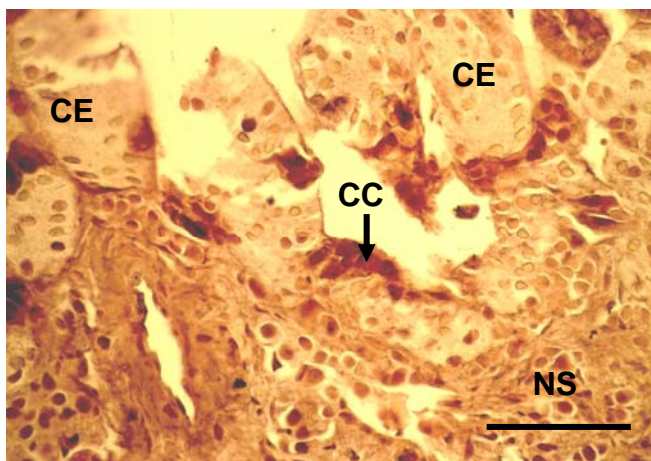


Fig. 21 Corte de adrenal de *A. mexicanum*. Se observa el citoplasma de las células cromafines (CC), denso y lleno de gránulos cromoargentafines, puestos en evidencia por el bicromato de potasio y la plata. Células esteroidogénicas (CE), neuronas simpáticas (NS). 200X (cromación + Llombart). Barra = $160\mu\text{m}$.

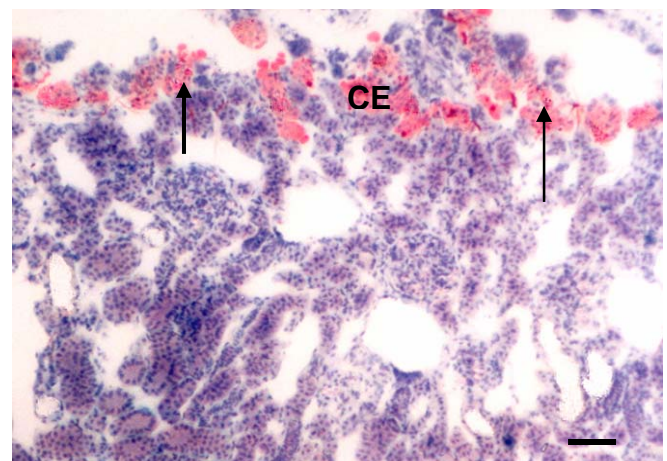


Fig. 22 Corte de adrenal de *A. mexicanum*. Se observan teñidas de rojo las células esteroidogénicas (CE) por la gran cantidad de liposomas. 80X (Sudán IV + H-E).

Las neuronas simpáticas (NS) casi no penetran en los islotes, se encontraron sobre todo en el tejido conjuntivo interrenal, miden $26.25 \pm 1.7 \times 17.75 \pm 1.1 \mu\text{m}$ (Gráfica 7). Tanto las neuronas como las células cromafines comparten un origen común. Las neuronas (NS) no son cromafines, aunque sí débilmente argentafines (Fig. 21, Técnica de Llombart, 200X). Se pudieron observar fascículos, fibras (Fig. 24. Técnica de cromación + H-E, 200X) y terminaciones nerviosas sobre las células cromafines y neuronas simpáticas.

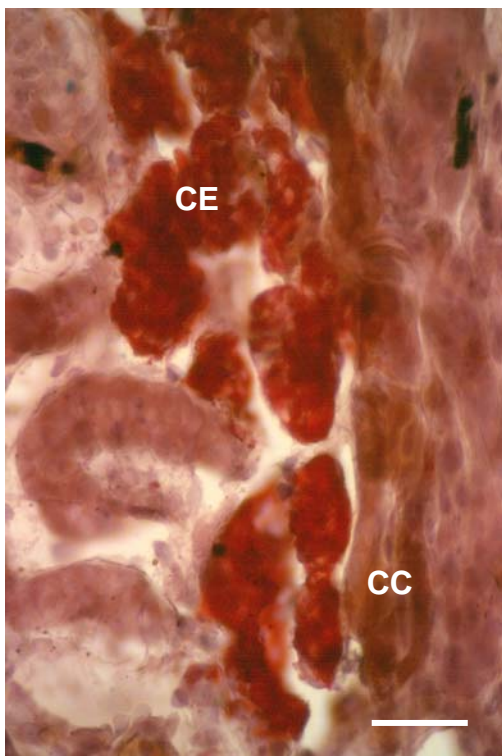


Fig. 23 Corte histológico de la adrenal de *A. mexicanum*. Se observa en contacto células esteroidogénicas (CE) y células cromafines (CC), se evidencian de color rojo los liposomas con el Sudán IV y las células cromafines a la derecha de color cromo. 500X (cromación + Sudan IV + H-E). Barra = 40 μm .

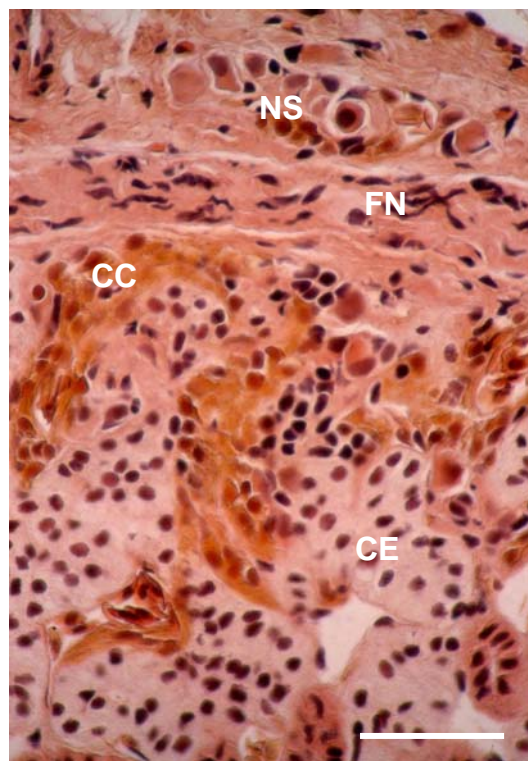


Fig. 24 Corte histológico de la adrenal de *A. mexicanum*. Se observan las cuatro estructuras básicas en la glándula adrenal CE, CC, NS y fibras nerviosas preganglionares simpáticas (FN). 200X (cromación + H-E). Barra = 160 μm .

c) Descripción de las glándulas adrenales en *Ambystoma velasci*.

Los islotes son significativamente pequeños $484 \pm 69.4 \times 127 \pm 12.2 \mu\text{m}$ comparados con las otras dos especies (Gráfica 1), abundantes y cercanos entre si hacia la porción media del riñón (Fig.25 y 26, Técnica cromación + H-E, 200X) y van disminuyendo en número y tamaño hacia la parte cefálica y caudal. La densidad celular de los islotes es la siguiente $117.24 \pm 13.0 \text{ CE}$, $91.3 \pm 11.3 \text{ CC}$ y $32.13 \pm 5.0 \text{ NS}$, en un área de 0.37 mm^2 (Gráfica 2).

El análisis microscópico reveló que las células esteroidogénicas y cromafines que forman cada islote se encuentran juntas pero no intercaladas, se observa el límite entre cada tipo celular, las células cromafines (CC) en contacto con los vasos renales y las células esteroidogénicas (CE) polarizadas hacia el tejido renal (Fig.26, 27, Técnica cromación + H-E, 200X), haciendo contacto con los túbulos renales (TR) y en ocasiones también con los glomérulos renales.

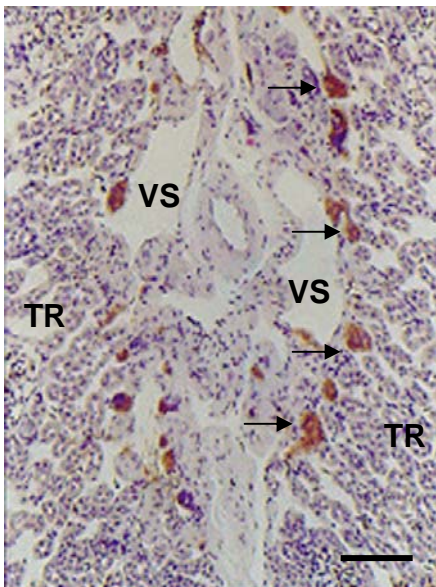


Fig. 25 Corte histológico de adrenal de *A. velasci*. Se observa una hilera de islotes que forman a la glándula en el borde medial del riñón. Sólo destaca el tejido cromafín (↘). Túbulos renales (TR), vasos sanguíneos (VS). 80X (Cromación + H-E). Barra = 120 μm .

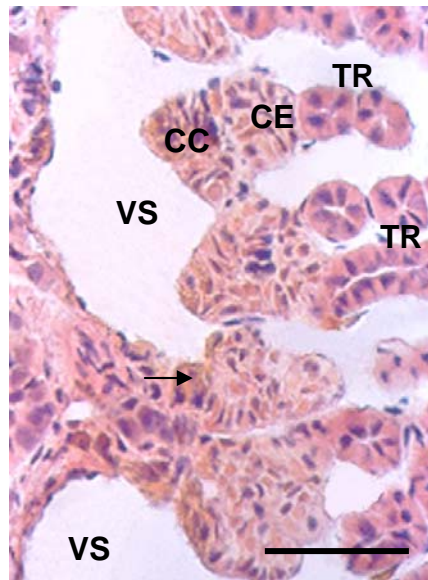


Fig. 26 Corte histológico de adrenal de *A. velasci*. Se observa un islote formado por células cromafines (CC) color pardo y adyacentes a las células esteroidogénicas (CE). Túbulos renales (TR), vasos sanguíneos (VS). 200X (cromación + H-E). Barra = 160 μm

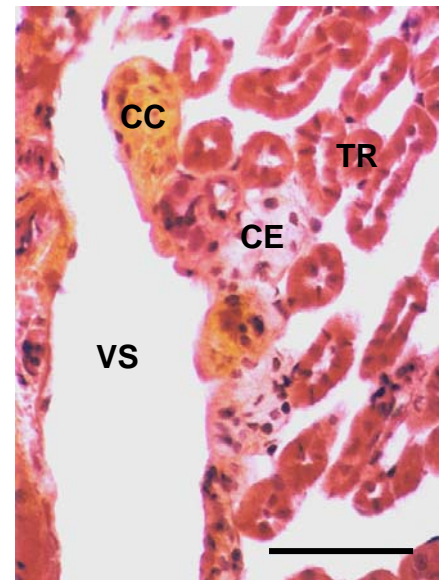


Fig. 27 Corte histológico de adrenal de *A. velasci*. Se observan la células esteroidogénicas (CE), hacia los túbulos renales (TR) y las células cromafines (CC) dirigidas a los vasos sanguíneos (VS) del borde renal. 200X (cromación + H-E). Barra = 160 μm .

Al igual que en las otras especies, grupos compactos de CE, CC, neuronas simpáticas y algunas fibras forman los islotes adrenales. Las células esteroidogénicas predominan sobre las cromafines (Gráfica 2). Las CE son poliédricas con una gran cantidad de liposomas sudanófilos (Fig. 28 y 29. Técnica Sudán IV + H-E, 200 y 500X), miden en promedio $25.5 \pm 1.8 \times 13.2 \pm 1.1 \mu\text{m}$ (gráfica 5). El núcleo de

las células esteroidogénicas tiene una forma oval, mide en promedio $15.5 \pm 0.8 \times 8.5 \pm 0.6 \mu\text{m}$ (Gráfica 6).

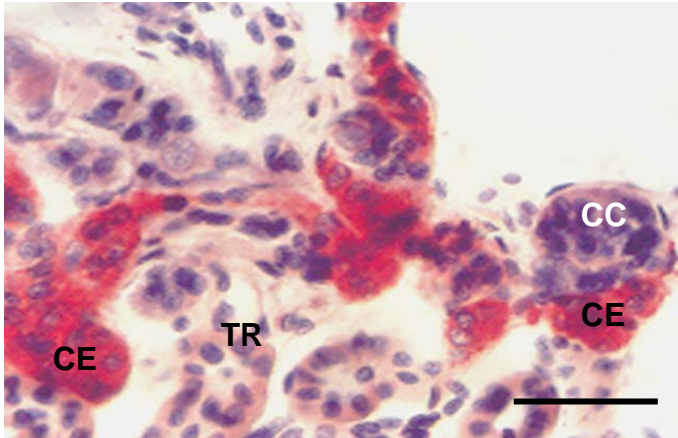


Fig. 28 Corte histológico de *A. velasci*. Se observan CE y CC en contacto, formando parte del islote adrenal. Túbulos renales (TR). 200X (Técnica de Sudán + H-E). Barra = 160 μm .



Fig. 29 Corte histológico de adrenal de *A. velasci*. Con esta técnica resaltan los liposomas sudanófilos de las células esteroidogénicas (CE). 500X (Sudán IV). Barra = 40 μm .

De manera semejante a *A. mexicanum*, las células cromafines (CC) se observan adyacentes a las neuronas simpáticas y fibras nerviosas hacia el tejido interrenal. Las células cromafines en ocasiones, se encuentran independientes de las células esteroidogénicas (CE), bordeando los vasos renales y otras están estrechamente asociadas a las CE, organizándose en cordones, generalmente formando una cubierta en forma de casco. Tienen en promedio de $18.75 \pm 1.35 \times 11 \pm 0.8 \mu\text{m}$, con un núcleo oval o triangular de $14 \pm 0.6 \times 8.25 \pm 0.5 \mu\text{m}$ (Gráficas 3 y 4). El citoplasma de las CC es escaso pero emite prolongaciones, en el que se observan gránulos cromafín y argentaín positivos (Fig. 30, Técnica Llombart, 500X).

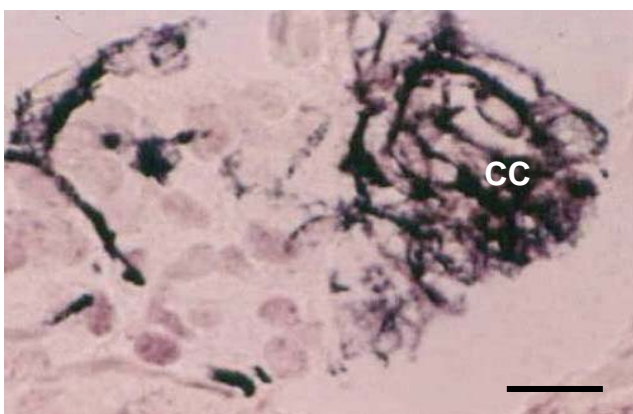


Fig. 30 Corte histológico de adrenal de *A. velasci*. Células cromafines (CC) con prolongaciones, se observan gránulos cromafines y argentaín positivos. 500X (Llombart). Barra = 40 μm .

Las neuronas simpáticas tienen una densidad numérica menor que las células cromafines, se encuentran en mayor proporción en tejido conectivo interrenal. Las neuronas miden $35.2 \pm 4.8 \times 21 \pm 1.3 \mu\text{m}$ (Gráfica 7), débilmente argentafines y no cromafines (Fig. 31, Técnica H-E, 1250X)

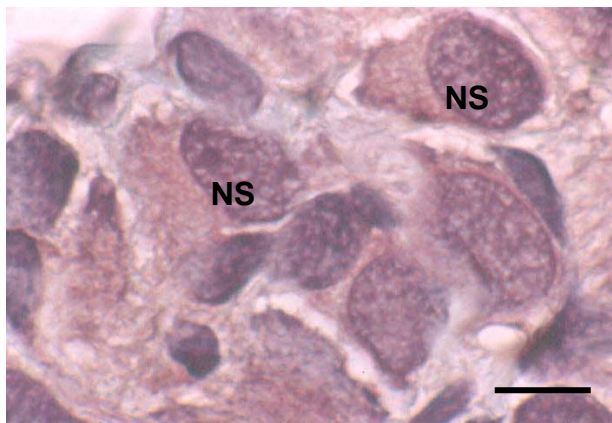


Fig. 31 Corte histológico de adrenal de *A. velasci*. Se observan neuronas simpáticas (NS) en el tejido conectivo interrenal. 1250X (H-E). Barra = 14 μm .

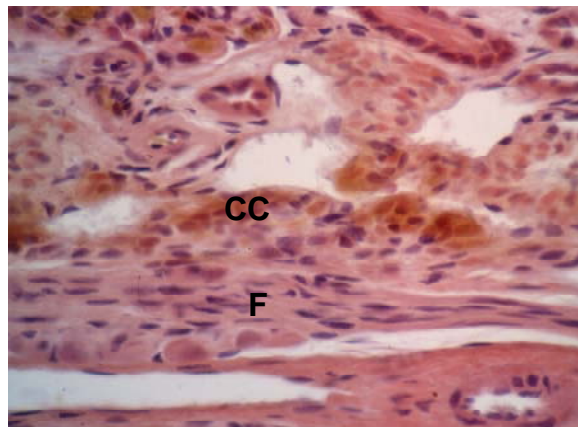
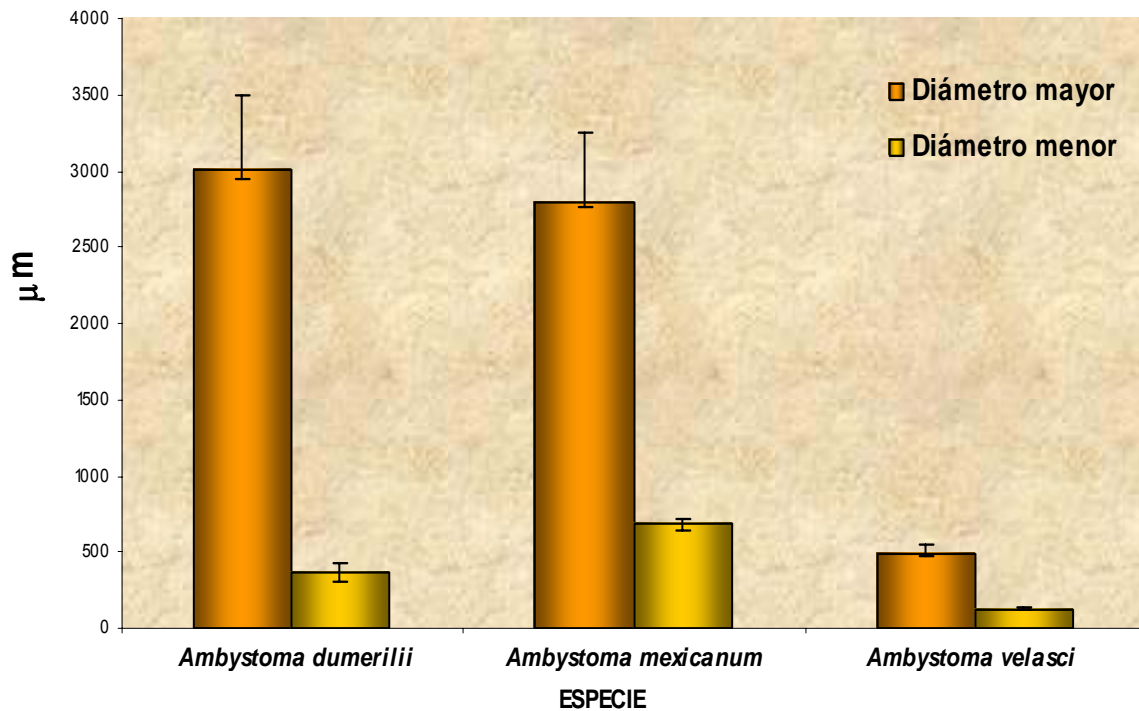


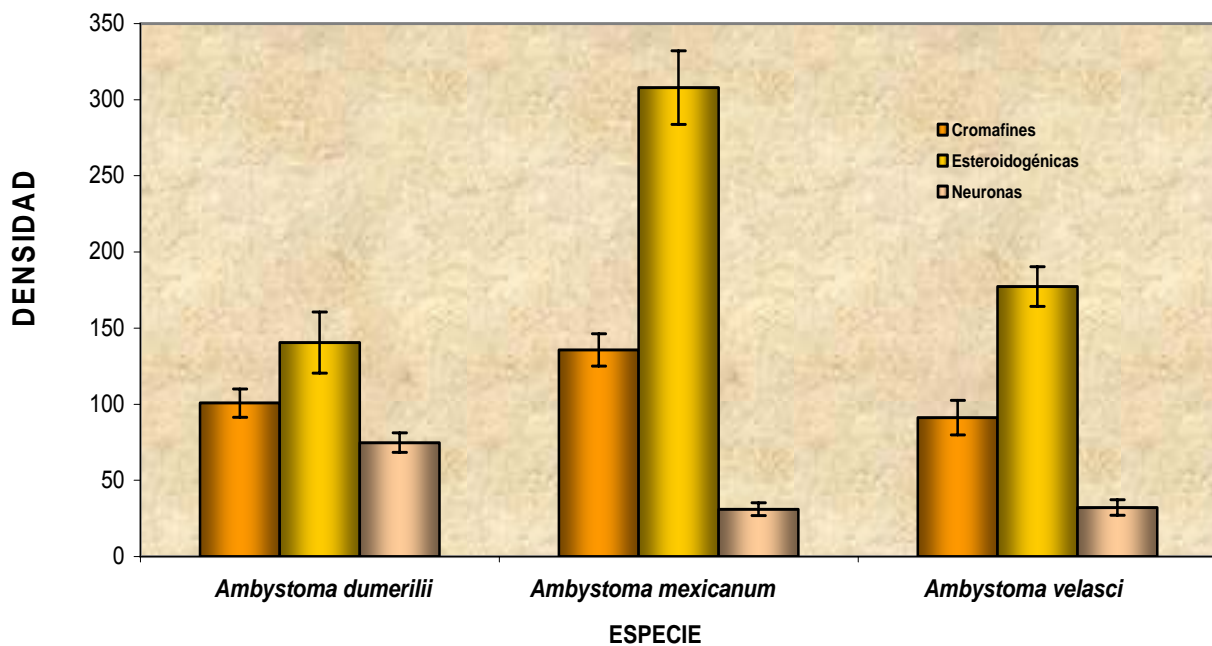
Fig. 32 Corte histológico de adrenal de *A. velasci*. Se observa un gran fascículo (F) de fibras nerviosas y células cromafines (CC) en el borde renal. 200X (H-E + cromación). Barra = 160 μm .

Se observa un gran fascículo (F) longitudinal de fibras nerviosas que entra por el límite caudal y varios fascículos pequeños en dirección diversa. La inervación es menos conspicua en esta especie (Fig. 32, Técnica H-E + cromación, 200X).

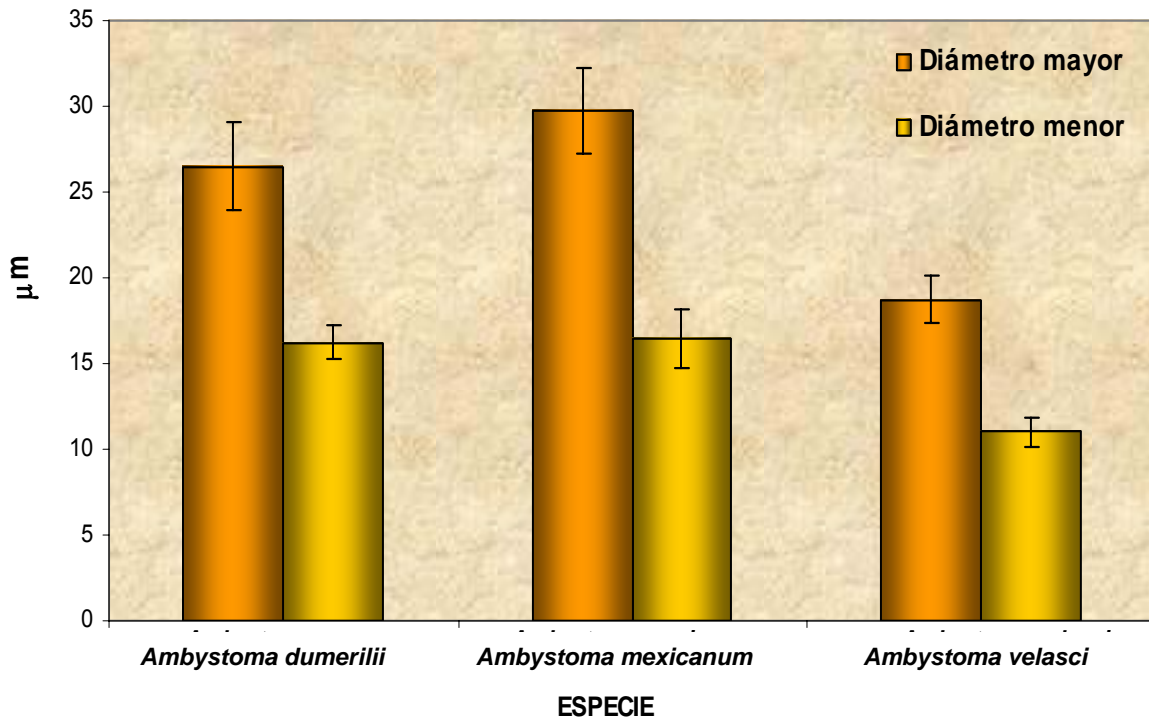
- Gráficas con los datos de resultados comparativos



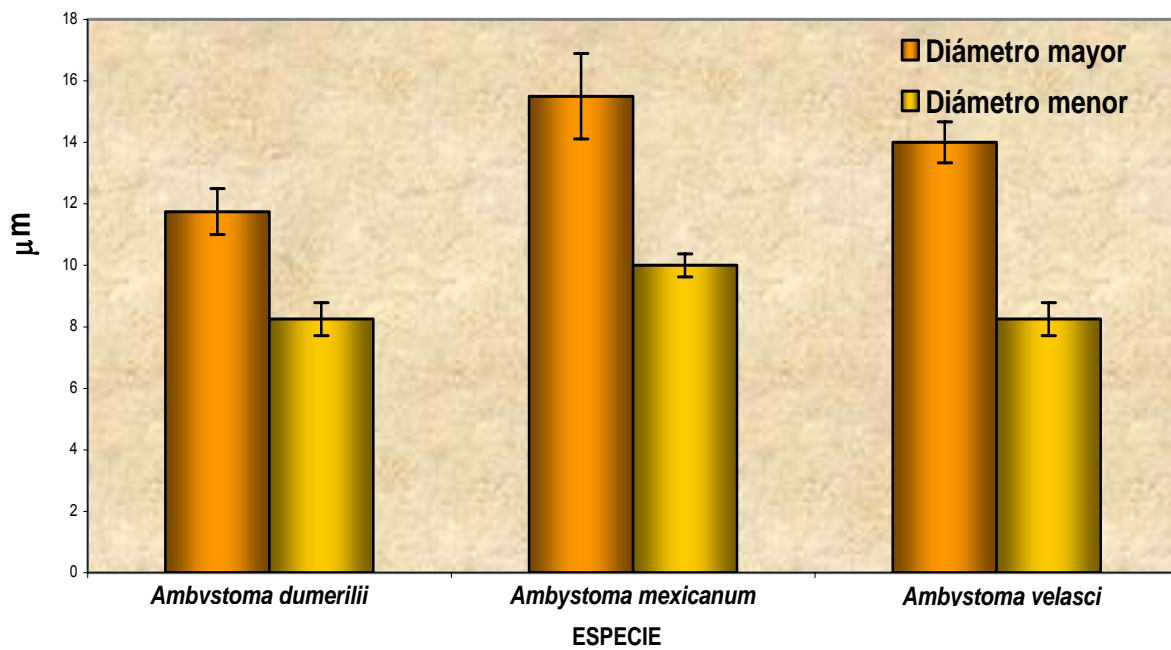
Gráfica 1. PROMEDIOS DEL DIÁMETRO MAYOR Y MENOR DE LOS ISLOTES ADRENALES \pm EE (Observaciones a 10x. Los resultados están en micrómetros μm)



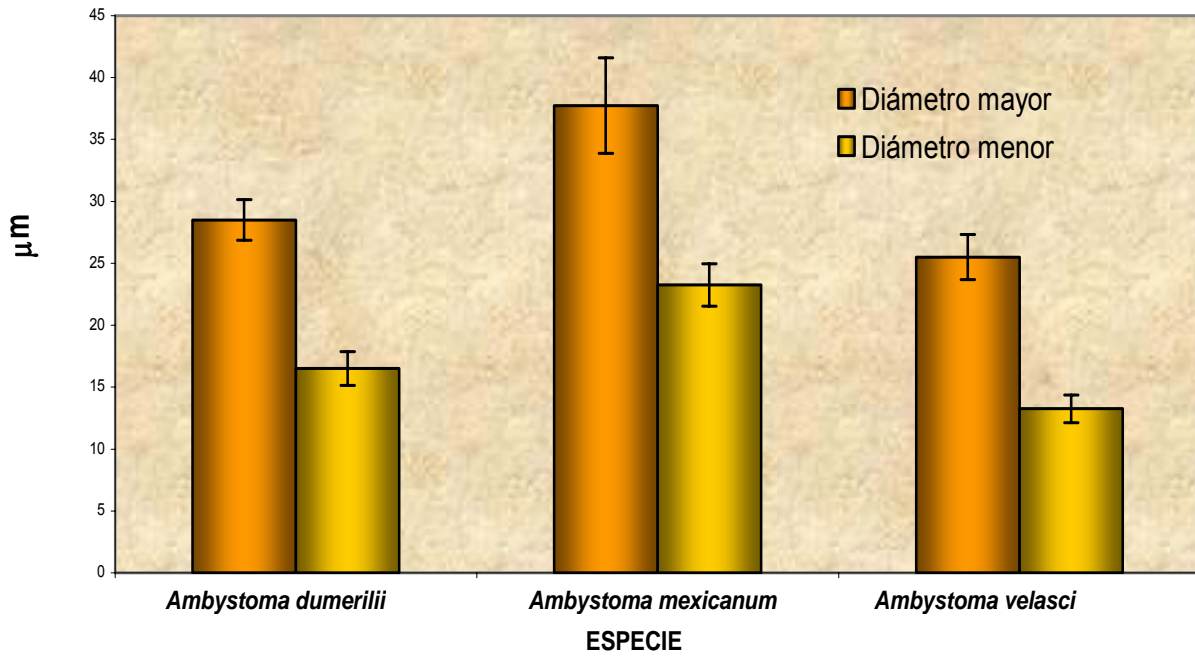
Gráfica 2. PROMEDIOS COMPARATIVOS DE LA DENSIDAD CELULAR DE LOS TRES TIPOS CELULARES \pm EE. (Observaciones a 40x. Área 0.37 milímetros cuadrados)



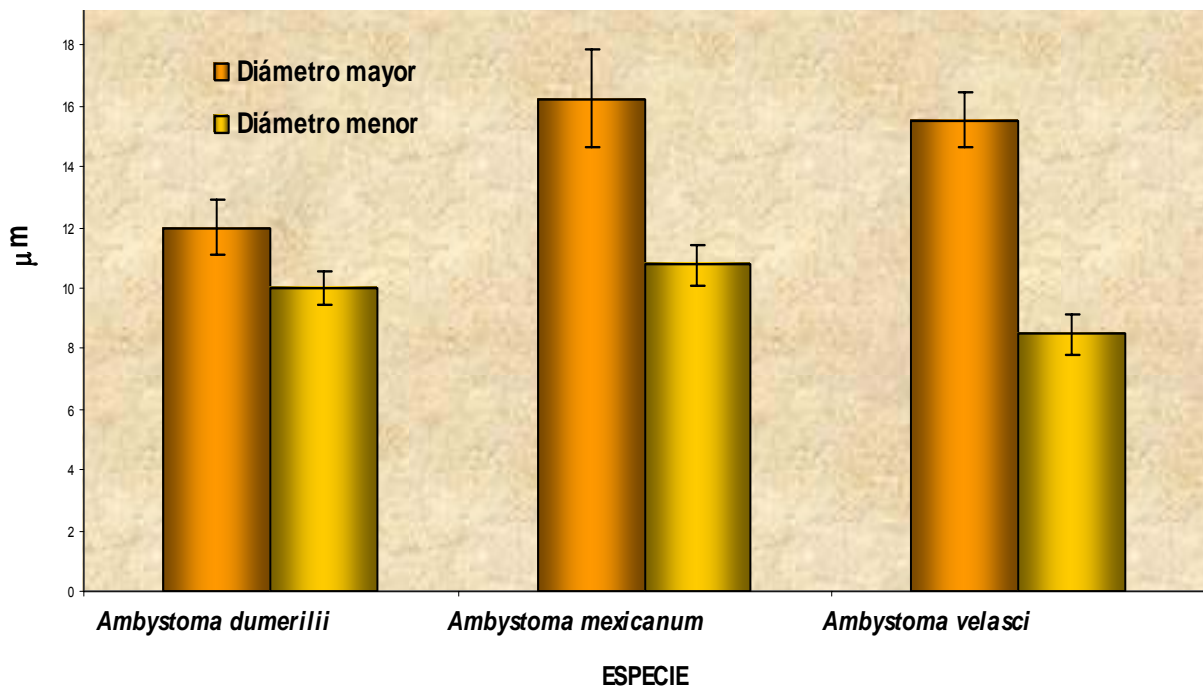
Gráfica 3. PROMEDIOS DEL DIAMETRO MAYOR Y MENOR DE LAS CÉLULAS CROMAFINES \pm EE (Observaciones a 40x. Los resultados están en micrómetros μm).



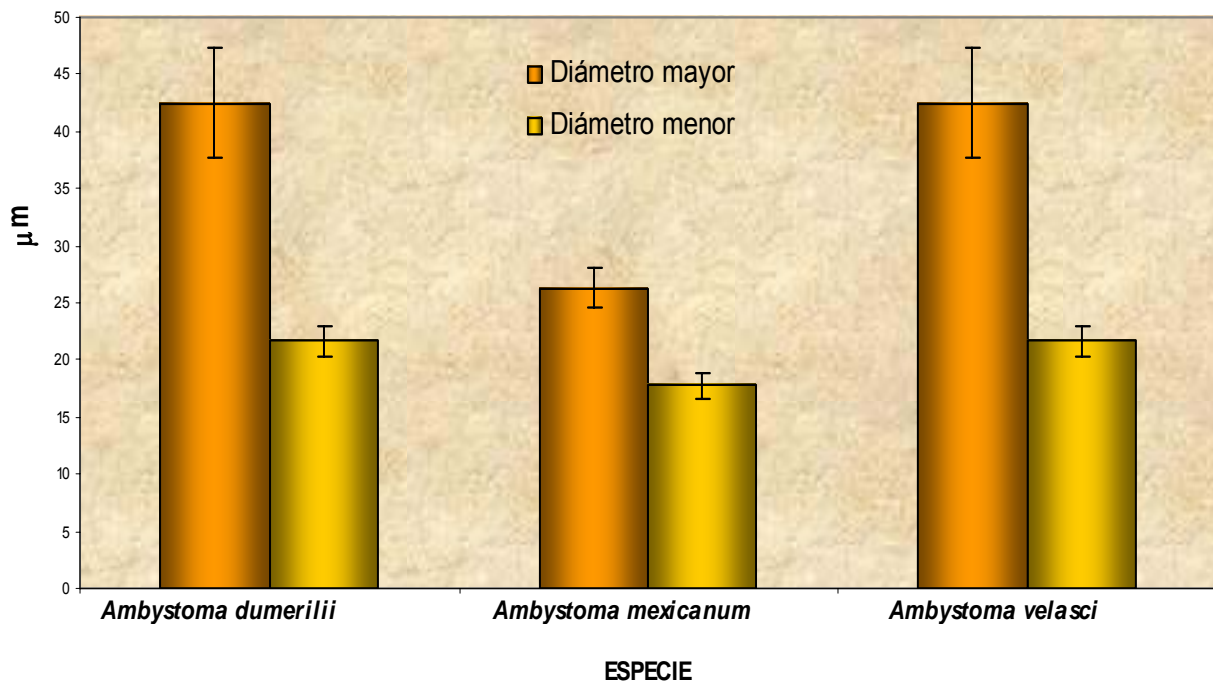
Gráfica 4. PROMEDIOS DEL DIÁMETRO MAYOR Y MENOR DE LOS NÚCLEOS DE LAS CÉLULAS CROMAFINES \pm EE (Observaciones a 40x. Los resultados están en micrómetros μm)



Gráfica 5. PROMEDIOS DEL DIÁMETRO MAYOR Y MENOR DE LAS CÉLULAS ESTEROIDOGÉNICAS \pm EE
(Observaciones a 40x. Los resultados están en micrómetros μm)



Gráfica 6. PROMEDIOS DEL DIÁMETRO MAYOR Y MENOR DE LOS NÚCLEOS DE LAS CÉLULAS ESTEROIDOGÉNICAS \pm EE
(Observaciones a 40x. Los resultados están en micrómetros μm)






Gráfica 7. PROMEDIOS DEL DIÁMETRO MAYOR Y MENOR DE LAS NEURONAS \pm EE
(Observaciones a 40x. Los resultados están en micrómetros μm)

- Estadística de Kruskal Wallis

RESULTADOS ESTADÍSTICOS. **Prueba de Kruskal Wallis**. Variable: Especie

Todos los parámetros evaluados reportan diferencias estadísticamente significativas entre las especies ($p < 0.05$) con excepción de los números que están señalados.

TIPO DE COMPONENTE		Chi-Square	df	Asymp. Sig
Islotes adrenales	Diámetro mayor	18.512	2	.000
	Diámetro menor	23.819	2	.000
Cél. Crom.		7.087	2	.029
Densidad celular	Cél.Estero.	18.577	2	.000
	Neuronas	17.055	2	.000
Células cromafines	Diámetro mayor	10.342	2	.006
	Diámetro menor	10.846	2	.004
Núcleos de Células cromafines	Diámetro mayor	5.734	2	.057 
	Diámetro menor	7.323	2	.026
Células esteroidogénicas	Diámetro mayor	8.020	2	.018
	Diámetro menor	17.830	2	.000
Núcleos de Células esteroidogénicas	Diámetro mayor	6.680	2	.035
	Diámetro menor	5.657	2	.059 
Neuronas	Diámetro mayor	8.774	2	.012
	Diámetro menor	.897	2	.086 

DISCUSIÓN

Está bien establecido que la estructura de la glándula adrenal ha experimentado considerables variaciones durante la evolución, con patrones característicos para las distintas clases de vertebrados. Sin embargo existen pocos estudios avocados a analizar las diferencias en los otros niveles taxonómicos.

En particular en anfibios, en el nivel de orden, familia y género se tienen los trabajos de Grassi y Accordi (1983; 1986) y entre especies el trabajo de Accordi y colaboradores (1984). En estos estudios, los autores sugieren que no existe un solo tipo “urodeliano” de glándula adrenal, sino varios patrones, de acuerdo a la distribución, número y tamaño de los islotes, su distancia del borde medial y la compactación de los dos tejidos que los constituyen. Y concluyen que los urodelos muestran una gran variabilidad en la estructura de la glándula adrenal sin un claro patrón taxonómico.

La fisiología nos ofreció otro enfoque, diferente del taxonómico, de abordar el entendimiento de la variabilidad estructural de la glándula adrenal entre los urodelos. Por esta razón, las diferencias encontradas en la estructura (anatomía e histología) de la glándula adrenal de *Ambystoma mexicanum*, *A. dumerilii* y *A. velasci*, las analizamos con énfasis en la respuesta al estrés. Consideramos que estas especies, representan un modelo natural de estrés por estar en peligro de extinción; asimismo, sus diferencias biológicas y medioambientales nos dieron otros elementos para hacer dicho análisis.

Este estudio anatómico e histológico, mostró variaciones interespecíficas en la estructura de la glándula adrenal dentro del género *Ambystoma*, tanto en el aspecto histológico como en el anatómico. No parece que las diferencias encontradas, estén relacionadas con la posición filogenética de las especies (Shaffer, 1984; Shaffer y McKight, 1996, citados por Larson *et al*, 2003) como lo mencionan Grassi y Accordi (1983; 1986) y Accordi y colaboradores (1984).

La anatomía de la glándula adrenal de las tres especies de *Ambystoma* muestra islotes distribuidos en forma lineal sobre el borde medial y ventral de los riñones. Además, pequeños islotes se continúan hacia la cavidad celómica sobre las paredes de la vena cava. En general no tienen inmersión en el tejido renal aunque colindan con los túbulos urinarios del borde medial. Son más grandes y abundantes en la porción media-caudal que en la cefálica del riñón. Este tipo de distribución general coincide con el patrón anfibio, “tipo urodelo” descrito previamente (Hanke, 1978), sin considerar las amplias diferencias encontradas.

Los islotes adrenales de *Ambystoma* están siempre en relación con venas renales eferentes, lo cual se atribuye más a un requerimiento funcional que a una relación filogenética, ya que como glándula endocrina requiere un gran suministro vascular (Grassi y Accordi, 1986), sin olvidar que su distribución y complejidad reflejan también la evolución del sistema urogenital (Balment, *et al* 1980). Sin embargo, la asociación con venas grandes y de mediano calibre determina que la distribución de los islotes adrenales sea más dispersa en la porción cefálica y su mayor abundancia hacia la porción media

y caudal del riñón en donde se localiza la mayor cantidad de vasos de mediano calibre, como se ha descrito en la organización de la glándula adrenal de urodelos y anuros arcaicos (Grassi y Accordi, 1983).

La cercanía de los islotes, su tamaño y el grado de asociación del tejido esteroideogénico y cromafín, ubica a las glándulas adrenales de *Ambystoma* relacionadas con la familia Salamandridae, en donde los islotes son más cercanos y sus dos tejidos tienen más interrelación que en los urodelos considerados más antiguos (Grassi y Accordi, 1983, 1986). Se ha reportado también que entre los urodelos, los grupos más avanzados muestran islotes más grandes que tienden a formar un cordón pareado sobre el borde renal y que hay una tendencia evolutiva a una mayor mezcla, asociación y organización entre los dos tejidos, favoreciendo que los sistemas vascular y nervioso ejerzan un control más directo y preciso de la actividad endocrina (Belamy, 1971; Carsia y Malamed, 1989). En relación con estos puntos, en éste género, no se encontró ninguna tendencia evolutiva ya que: *A. dumerilii* mostró los islotes más grandes pero irregulares en tamaño, forma y distribución y *A. velasci* los más pequeños y regulares, formando un cordón. La mayor mezcla de los tipos celulares se encontró en *A. dumerilii* y la mayor organización de los tejidos esteroideogénico y cromafín en *A. velasci*. Hay mayor semejanza en distribución y tamaño entre los islotes de *A. mexicanum* y de *A. dumerilii*, a pesar de estar filogenéticamente más lejanos entre sí, que cualquiera de ellos con *A. velasci* (Shaffer, 1984; Shaffer y McKight, 1996, citados por Larson *et al*, 2003).

Consideramos que desde el punto de vista fisiológico existen más elementos para correlacionar con la morfología ya que, la interrelación de los tejidos esteroideogénico y cromafín es importante para responder a las presiones ambientales (estrés), pues además de las hormonas que cada tejido produce en forma independiente, hay influencias paracrinas recíprocas, en donde las células cromafines actúan localmente para regular la secreción de las células esteroideogénicas (De Roos 1978, Delarue, *et al* 1992, Leboulenger, *et al* 1993) y éstas a su vez actúan sobre las células cromafines, favoreciendo la transformación de noradrenalina en adrenalina (Ciaranello, *et al* 1976). En las especies en las cuales, sus dos tejidos están más separados tienen poca probabilidad de ejercer estas influencias. En los vertebrados que tienen estrechamente asociados los tejidos esteroideogénico y cromafín, la producción de adrenalina supera a la noradrenalina de manera proporcional al grado de asociación (Paniagua, 1983). Además se ha demostrado que el tejido cromafín de anfibios produce serotonina que actúa como regulador local de la esteroideogénesis y puede contribuir a la respuesta coordinada de los dos tejidos durante condiciones de estrés (Delarue, *et al* 1992).

Del mismo modo que en otros anfibios, sólo se observó en el tejido esteroideogénico un tipo celular (Nussdorfer, 1986), implicado en la regulación del equilibrio electrolítico, como lo sugiere su cercanía al tejido renal. Sin embargo, en los anfibios se ha comprobado la presencia tanto de aldosterona como corticosterona; esta dicotomía hormonal no implica necesariamente diversidad celular ya que, en los anfibios, los compuestos activos en el equilibrio electrolítico e hídrico del cuerpo tienen efectos en el metabolismo de la glucosa y viceversa (Hoar, 1978; Accordi, *et al* 1984; Nussdorfer, 1986). Esto indica

la participación de estas células en ambas funciones, en particular en el sostenimiento del estado de estrés mediante sus efectos glucocorticoides.

En *A. velasci*, los islotes son pequeños, sus dos tejidos están muy asociados y las células tienen dimensiones significativamente menores, lo que sugiere una mayor eficiencia en sus funciones. Esto relacionado con su condición de neoténico facultativo y su capacidad de explotar los dos ambientes. Esta especie es la que debe presentar los cambios más agudos tanto de mineralocorticoides como de glucocorticoides durante la metamorfosis y colonización del ambiente terrestre, en contraparte, las especies neoténicas obligadas estarían en una situación más crónica en cuanto a la liberación de estas hormonas, así mismo su tejido esteroideogénico está más desarrollado, sobre todo en *A. mexicanum* (Grassi y Accordi, 1983, 1986).

En el tejido cromafín se reconocieron dos tipos de gránulos, los de adrenalina son pardos y densos, y los de noradrenalina son gránulos de centro muy denso y un halo claro, estos últimos fueron predominantes en las tres especies de *Ambystoma*, esto coincide con los reportes de predominio de células elaboradoras de noradrenalina en urodelos (Grassi y Accordi, 1986), y permite sugerir para *Ambystoma* una situación semejante a la reportada para algunos urodelos y todos los anuros (Mastrolia y col, 1986, 1989; Carsia y Malamed, 1989) pero no para urodelos antiguos, en los que no se distingue ningún indicio de diversidad celular con base en la ausencia de gránulos de adrenalina (Grassi y Accordi, 1983, 1986). Se sabe que la adrenalina tiende a aumentar en los grupos filogenéticamente más recientes.

Se ha documentado que la contigüidad con el tejido esteroideogénico determina la diferenciación de las células de noradrenalina en células elaboradas de adrenalina, en algunos anuros se ha indicado ya un predominio de células productoras de adrenalina (Leboulenger, 1993).

En *A. dumerilii* es notable la gran cantidad de células cromafines extraadrenales. Así también, la presencia de una gran población de neuronas simpáticas en el tejido cromafín adrenal y extraadrenal. Además, estas neuronas forman un gran paraganglio entre la cloaca y los riñones. La presencia de una gran cantidad de neuronas simpáticas pudiera sugerir que se trata de una especie más antigua que *A. velasci* y *A. mexicanum*, ya que se sabe que evolutivamente hay una tendencia a la disminución de estas neuronas por su transformación en células cromafines y la inhibición de la readquisición del fenotipo neuronal. Sin embargo este aspecto ha sido documentado sobre todo en mamíferos, donde la centralización del tejido cromafín define en gran parte este fenómeno (Carsia y Malamed, 1989). No obstante, podría darse también una explicación funcional, ya que el gran desarrollo y dispersión del tejido cromafín adrenal pudiera estar relacionado con una hiperreactividad al estrés, mientras que el extraadrenal y el paraganglio caudal, pudieran estar vinculados con otras funciones, como hacer ajustes vasopresores constantes con elevaciones caudales de presión sanguínea, dado que *A. dumerilii* habita el lago de Pátzcuaro que es un cuerpo de agua profundo (hasta 12.5 m. en algunos lugares), a diferencia de *A. mexicanum* y *A. velasci* que habitan cuerpos de agua someros, cuya profundidad oscila entre 1 y 4 m. Esto se fundamenta en la información de que el tejido cromafín

extraadrenal produce solamente noradrenalina, hormona que tiene como uno de sus principales efectos la elevación de la presión sanguínea (Del Conte, 1976). Así mismo, *A. dumerilii* es una especie neoténica obligada igual que *A. mexicanum*, pero a diferencia de esta última, no es viable si eventualmente la metamorfosis sobreviene; en contraparte *A. velasci*, como neoténico facultativo tiene la opción de transformarse en salamandra y colonizar el medio terrestre. Por ende, puede postularse que el tejido cromafín que es el que da la alarma y quien realiza los primeros ajustes metabólicos frente a los estresores medioambientales, está más desarrollado en las especies de *Ambystoma* que no tienen la opción de responder a dichos estresores experimentando la metamorfosis, por lo que tienen una mayor reactividad al estrés (De Roos y De Roos, 1977). Se sabe que por estímulo nervioso, las catecolaminas liberadas inducen un aumento inicial de glucosa que es una de las primeras respuestas para enfrentar rápidamente los cambios ambientales estresantes.

Asimismo, la adrenal de las especies neoténicas tiene mayor densidad y tamaño de células esteroidogénicas, cuyas hormonas con actividad glucocorticoide están involucradas en el sostenimiento del estado de estrés y se encuentran elevadas en organismos con estrés crónico (Schreck, 2000).

En el único trabajo a nivel interespecífico en el género *Euproctus*, Accordi y colaboradores en 1984 reportan que a pesar de las diferencias anatómicas, las tres especies de *Euproctus* por ellos estudiadas muestran en el nivel histológico una gran uniformidad. Sin embargo nosotros en el género *Ambystoma* encontramos grandes diferencias histológicas entre las tres especies. Al igual que en el nivel anatómico, estas diferencias fueron menores entre las especies filogenéticamente más alejadas: *A. mexicanum* y *A. dumerilii*, que cualquiera de ellas con *A. velasci*. Esto apunta nuevamente a que las diferencias en la glándula adrenal entre las especies del género *Ambystoma*, no tienen un fundamento filogenético.

CONCLUSIONES

En el nivel de Orden encontramos que, *grosso modo*, la estructura de la adrenal de *Ambystoma* es de tipo “urodeliano”, aunque una gran cantidad de detalles anatómicos e histológicos sugieren que no existe un solo tipo “urodeliano” de glándula adrenal, sino varios patrones como ya ha sido documentado. A nivel de género, las diferencias anatómicas y sobre todo histológicas encontradas entre las especies *A. dumerilii*, *A. mexicanum* y *A. velasci*, parecen tener, en parte, un sustento funcional relacionado con el estrés que les impone su hábitat particular y su propia biología.

Ambystoma velasci que es neoténico facultativo, mostró las mayores diferencias anatómicas e histológicas respecto a las dos especies neoténicas obligadas *A. mexicanum* y *A. dumerilii* a pesar de que éstas son las especies filogenéticamente más alejadas. Lo que sugiere que la condición neoténica (facultativa u obligada) de su biología implica un tipo de estrés diferente, que se ve reflejado en la estructura de su glándula adrenal.

A. dumerilii mostró detalles que no se encontraron en las otras especies y no han sido reportados para urodelos, como la presencia de gran cantidad de tejido cromafín adrenal y extraadrenal y una gran cantidad de neuronas simpáticas adrenales y extraadrenales (paraganglio entre los riñones y la cloaca). Esto relacionado muy probablemente con la necesidad de hacer ajustes vasopresores constantes en un lago profundo como el de Pátzcuaro.

Reconocemos, que hace falta hacer más estudios, entre ellos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos etc para completar esta investigación. Entre estas perspectivas están:

- Hacer estudio con microscopía electrónica o inmunohistoquímica para evaluar si hay diferencia en la proporción de Adrenalina y Noradrenalina que pudiera sugerir, de manera más específica, si existe una diferencia evolutiva entre las tres especies.
- Para las tres especies *A. mexicanum*, *A. dumerilii* y *A. velasci* completar el presente estudio con determinaciones hormonales en sangre o de sus metabolitos en orina, como un índice para evaluar el estrés entre dichas especies.
- Para las especies *A. mexicanum*, *A. dumerilii* y *A. velasci* comparar la estructura de la glándula adrenal con la de organismos en cautiverio para determinar si existen diferencias con las encontradas en ejemplares colectados en su hábitat natural.
- Conjuntar esfuerzos con otras instituciones* que realizan estudios sobre contaminación y cuidado de los lagos donde estas especies habitan, y hacer pruebas de correlación entre algunos factores ambientales estresantes y la morfofisiología de la glándula adrenal.

*La UAMI, la FES-I y el Instituto de Biología de la UNAM, tienen estudios recientes e importantes sobre contaminación en el lago de Xochimilco y conservación de la especie *Ambystoma mexicanum*.

- Lo mas importante es destacar de un modo u otro la importancia de salvar estas especies y los cuerpos de agua que habitan. Extender esto a otras especies y ecosistemas y demostrar que el estrés crónico pone en riesgo de extinción a todos los seres vivos, a cualquier nivel de la escala zoológica. Cualquier tipo de investigación al respecto siempre será respetable.

BIBLIOGRAFÍA

- Accordi, F. & Cianfoni, P. (1981). Histology and ultrastructure of the adrenal gland of *Rhacophorus leucomystax* (Amphibia, Anura). *Bolletino di zooloia*. (In Press).
- Accordi, F., Gallo, V. P. and Grassi Milano, E. and Manelli, H. (1980). The adrenal gland of *Discoglossus pictus*: morphology and ultrastructura. *General and Comparative Endocrinology* 40, 371.
- Accordi, F., Gallo, V. P and Grassi Milano, E. (1981). The adrenal gland of *Xenopus laevis* (Daudin) (Anura, Pipidae): histological and ultrastructura observations. *Monitore zoologico italiano* 15, 1963-174.
- Accordi, F., Grassi Milano, E. and Gallo, V. P.(1984). The adrenal gland of *Euproctus* (Urodela, Salamandridae): Comparacion of three species and phylogenetic inferences. *Journal Anatomy*. 139:209-214.
- Adler, K. (2003). Salamander classification and reproductive biology: An historical overview. En: Sever, D.M.(eds.). *Reproductive Biology and Phylogeny of Urodela*. Science Publishers, USA. 1: 1-29.
- Alberch, P; Gould, S. J.; Oster, G.Fand Wake, D. B. (1979). Size and shape in ontogeny and phylogeny. *Paleobiology* (5): 296-317 p.
- Amstrong, J. B. (1989). Spermatogenesis. In: *Developmental Biology of the Axolotl*. Eds. Amstrong, J. B. and G.M. Malacinski. *Oxford Univ. Press*. New York, USA. 320 pp.
- Ashley, M. A., Reilly, S. M., and Lauder, G. V. (1981). Ontogenetic scaling of hindlimb muscles across metamorphosis in Tiger Salamander, *Ambystoma tigrinum*. *Copeia*. 767-776.
- Bair y Brandon. (1970). Sice range, size at maturity and reproduction of *Ambystoma (Bathysiredon) dumerilii*. (Dugès), a Paedogenic mexican salamander endemic to lake Patzcuaro, Michoacán. *Copeia*: 385-388.

- Balment, R. J., Henderson, I. W. & Chester Jones, I. (1989). The adrenal cortex and its homologue in vertebrates; evolutionary considerations. In General, *Comparative and Clinical Endocrinology of Adrenal Cortex*, vol. 3 (ed. I. Chester Jones & I.W. Henderson), pp. 525-562. London: Academic Press.
- Banks W. (1986). *Histología veterinaria aplicada*. Manual Moderno, México. 730 p.
- Bellamy, D. (1971). The evolution of vertebrate endocrine system. In M. Hamburg and E.J.W. Barrington (eds): *Hormones in Development*. New York: Appleton Century Crofts, pp. 821-839.
- Berchtold, J. P, (1972). Le Tissue interrenal (corticosurrenalien) des Amphibiens Urodeles: Ultrastructure, aspects cytochimiques et cytophysiologiques. These de Doctorat, Universite Louis Pasteur, Strasbourg, Section Sciences.
- Bernal-Brooks, F. W. (1998). The Lakes of Michoacan: a brief history and alternative point of view. *Freshwater Forum* 10: 10-34.
- Bernal-Brook, F. W., Gómez-Tagle R. A y J. Alcocer D. (2001). Lake Patzcuaro (Mexico): a Controversy about the Ecosystem water regime approached by field references, climatic variables and GIS. In: *Hydrobiologia*.
- Besedovsky del Rey A; Sorkin, E; Daprada, M; Burri, R; Honogser, C. (1991). Citokines as modulators of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. *J. Steroid Biochem Mol.Biol.* 40: 630-618.
- Billard, R., Bry, C., Gillet, C. (1981). Stress environment and reproduction in teleosteos fish. In: *Stress and Fish*. Pickering ed. London, Academi Press. 185-201.
- Bradbury, J. P. (2000). Limnologic history of de Lago de Pátzcuaro, Michoacán, México for the past 48,000 years: impact of climate and man. *Paleogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 163: 69-95.
- Brandon, R. A. y Bair. (1970). Sice range, size at maturity and reproduction of *Ambystoma (Bathysiredon) dumerilii*. (Dugès), a Paedogenic mexican salamander endemic to lake Patzcuaro, Michoacán. *Copeia*: 385-388.
- Brandon, R. A. (1981). A new species of neotenic *Ambystoma* (Amphybia, caudata) endemic to laguna Alchichica, Puebla, México. *Bull. Southern californica. Acad. Sci.* 80 (3): 112-125.

- Brandon, R. A. (1989). Natural History of the Axolotl and its Relationship to other Ambystomatida Salamanders. In: Developmental Biology of the Axolotl. Armstrong, J.B. and Malacinski, G.M. (eds.) Oxford Univ. Press. New York, U.S.A. pp. 13-21.
- Brandon, R. A. (1993). *Ambystoma dumerilii*. *Cat. Am. Amphib. Rpt.*: 532-1 -532-3
- Bruce, R. C. (2003). Life histories. In: Sever, D. M. (eds). Reproductive biology and phylogeny of urodela. Science publishers, USA. 13: 477-513.
- Billard, R., Bry, C., Gillet, C. (1981). Stress environment and reproduction in teleosteos fish. In: Stress and Fish. Pickering ed. London, Academi Press. 185-201.
- Carsia, R y Malamed, S. (1989). The Adrenals. *Proc. Soc. Biol. Med.* Pp.353-380. Chacon, T. A y Muzquiz .(1993). El lago de Pátzcuaro, Michoacán, México. Bosquejo de un lago Amenazado. Ed. Universitaria. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Cendrero, L. (1972). Anfibios. Zoología hispanoamericana. Porrúa, México, pp. 333-446.
- Ciaranello, R., Wooten and J. Axelrod. (1976). *Brain Res.* 113. 349.
- Chacon, T. A y Muzquiz. (1993). El lago de Pátzcuaro, Michoacán, México. Bosquejo de un lago Amenazado. Ed. Universitaria. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- De Laure, C., Leboulenger, F., Tonon, M.C., Jegou, S., Leroux, P., Netchitailo, P., and Vaudry, H. (1980). *In vitro* study of frog (*Rana ridibunda* Pallas) interrenal function by use of a simplified perfusion system. IV. Influence of metyrapone and aminoglutethimide upon aldosterone production. *Gen. Comp. Endocrinol.* 42, 516-525.
- De Laure, C., Leboulenger, F., Tonon, M. C., Jegou, S., Leroux, P., Netchitailo, P., and Vaudry, H. (1979). *In vitro* study of frog (*Rana ridibunda* Pallus) interrenal function by use of a simplified perfusion system. II. Influence of adrenocorticotropin upon aldosterona production. *Gen. Comp. Endocrinol.* 38, 399-409.
- De Roos R y De Roos C. (1972). Elevation of Plasma Glucose Levels by Mammalian ACTH in the Spiny Dogfish Shark (*Squalus acanthias*). University of Washington, General and comparative endocrinology 21, 403-409.

- De Ruyter, M. y F. Stiffter. (1986). Interrenal function in larval *Ambystoma tigrinum*. II Control of Aldosterone Secretion and Electrolyte Balance by ACTH. *Gen.Com.Endocrinol.* 62: 298-305.
- Del Conte E. (1976). Contiguity of Adrenaline-Storing Chromaffin Cell with the adrenal Tissue in Adrenal Gland of Lizard. Hospital General del Sur. Maracaibo, Venezuela. *Gen.Com.Endocrinol* 32,1-6.
- Delarue, C; Becquet, D; Idres, S y col. (1992). Serotonin Synthesis in Adrenochromaffin cells. European Institute for Peptide Reseach; Laboratoire de Neuroendocrinologie Experimentale. *Neuroscience* Vol. 46, No 2,pp. 495-500. Printed in Great Britain.
- DETENAL. (1980). Xochimilco E 14 A 39. Carta uso del suelo. México. 29 p.
- Duellman, W. E. (1975). On the classification of frogs. *Occasional Papers*, Mus. Nat. History, University of Kansas 42:1-14.
- Duellman, W.E and Trueb, L. (1986). *Biology of the Amphibians*. Mc Graw-Hill. New York. U.S.A. 173-194 p.
- Duellman, E y Trueb, L. (1994). *Biología de anfibios*. Prensa de la Universidad Johns Hopkins.
670 p
- Ezendam, T. (1994). De Axolotl (*Ambystoma mexicanum*). *Het terrarium*. 12(5): 95-96.
- Fritz, S. C., Cumming, B.F., Gasse, F. y K. Laird. (1999). In: Stoermer, E.F. y J.P. Smol (eds.). *The Diatoms. Applications for the environmental and earth sciences*. Cambridge University Press. Cambridge. 41-72.
- Flores, V. (1993). Riqueza de los anfibios y reptiles. *Biología y problemática de los vertebrados en México*. Ciencias, México. 7: 33-42.
- Freund, John and Simon, G. (1992). *Estadística elemental*. Pearson-Prentice Hall. México. 566 pp.

- Frost, A. R. (1985). Amphibian species of the world. A taxonomic and geographical reference. Publisher as a Joint Venture of Allen Press, Inc. The Association of Systematics Collections Lawrence, USA 82) 3: 338p.
- Grassi Milano, E., Accordi, F. y Gallo, V. P. (1979). La ghiandola surrenale degli Anuri: alcune osservazioni comparative. *Bollettino di zoologia* (Suppl.) 46, 241-242.
- Grassi Milano, E., Accordi, F. (1983). Comparative morphology of the adrenal gland of anuran Amphibia. *American Journal Anatomy* 136, 165-174.
- Grassi Milano, E., Accordi, F. (1986). Evolutionary Trends in Adrenal Gland of Anurans and Urodeles. *Journal of Morphology*. 189:249-259.
- Gómez-Tagle, Ch. A. y H. Zepeda-Castro. (2000). Generación de modelos Digitales de Elevación a partir de curvas de nivel de comparación de algoritmos incorporados en cuatro paquetes SIG. En preparación.
- Gómez-Tagle, Ch. A., F. W. Bernal-Brooks, and J. Alcocer. (2001). Sensitivity of Mexican water bodies to Regional Climatic Change: Three study alternatives applied to remote sensed data of lake Pátzcuaro. In: *Hydrobiologia*.
- Gould, S. J. (1977). Ontogeny and phylogeny. Cambridge, MA: Belknap Press of Harvard University Press. 501 p.
- Guyton, A. (1963). Fisiología médica. Interamericana. 1078 p.
- Hadley, M. E. (1996). Endocrinology. Prentice Hall, U.S.A. 518 pp.
- Halliday, T. (2002). Anfibios. En: Burnie, D. (eds.) Animal. La definitiva e impactante guía visual de la vida salvaje en nuestro planeta. Pearson Educación, Madrid, pp. 430-439.
- Ham, A. (1975). Tratado de histología. 7ª edición, Interamericana. 935 pp.
- Hanke, W. (1978). The adrenal cortex of Amphibia. In I. Chester Jones and I.W. Henderson (eds): General, Comparative and Clinical Endocrinology of the Adrenal Cortex. Vol. II. London: Academy Press, pp. 419-495.

- Hanke, W. (1978). The transition from archaic to advanced frogs. *In Evolutionary Biology of the Adrenal Cortex*, vol. 2 (ed. I. Chester Jones & I. W. Henderson), pp.133-182. Columbia: University Of Missouri Press.
- Hanke, W. (1984). Changes of the biology of the adrenal cortex in the vertebrate evolution. *Nova Acta Leopoldina* N.F. 56:363-378.
- Hanke, W., Hegab, S. A., Assem, H., y col. (1993). Mechanisms of hormonal action on osmotic adaptation in teleost fish. *In "Fish ecotoxicity and ecophysiology"*, pp.315-326. VCH, Weinheim.
- Hoar, W. (1978). *Fisiología General y Comparada*. Omega, España. 975 p
- Humphrey, R. R. (1975). The axolotl, *Ambystoma mexicanum*. In: R.C. King (ed.), *Handbook of genetics*, Vol.4. Plenum Press, New York, pp. 3-17.
- I.N.E.G.I. (1993). Tlaxcala. *Anuario Estadístico de Tlaxcala*. México. 6 p.
- I.N.E.G.I. (1986). Xochimilco. Anuario estadístico. Zona chinampera. México.12 p.
- Jones, T.R., Collins, J. P., Kocher, T. D, y Mitton, J. B. (1988). Systematic Status and Distribution of *Ambystoma tigrinum Stebbinsi* Lowe (Amphibia: Caudata). *Copeia*. Pp. 621-635.
- Kuhn, E. R y Jacobs, G. F. M. (1989). Metamorphosis. En: *Developmental biology of de Axolotl*. Armstrong, J. B. y G. M. Malacinki. (eds) Oxford Univ. Press. New York, USA. 18: 187-197.
- Larson, A. (1983 a). A molecular phylogenetic perspective on the origins of lowland tropical salamander fauna.I. Phylogenetic inferences from protein comparisons. *Herpetologica* 39: 85-99.
- Larson, A. (1983 b). A molecular phylogenetic perspective of the origins of lowland tropical salamander fauna. II. Patterns of morphological evolution. *Evolution* 37: 1141-1153.
- Larson, A. (1984). Neontological interferences of evolutionary pattern and process in the salamander family Plethodontidae. *Evolutionary Biology* 17: 119-217.
- Larson, A. (1991). A molecular perspective on the evolutionary relationships of the salamander families. *Evolutionary Biology* 25: 211-277.

- Larson, A.; Weisrock, D. and Kozak, K. (2003). Phylogenetic Systematics of salamanders (Amphibia: Urodela), A Review. En; Sever, D.M.(eds.) Reproductive Biology and Phylogeny of Urodela. Science Publishers, USA. 2: 31-108 p.
- 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.
- Leake, I. (1975). Comparative Histology. An introduction to microscopic structure of animals. Academic Press. London. 458-688 p.
- Le Boulenger, F; Uda, M; Morra, M; Vaglini, L; Fasolo, A y Vaudry, A. (1993). In vitro study of catecholamine release from perfused frog adrenal slices. *Gen. Comp. Endocrinol.* USA ; 90 (1): 1-3.
- Malacinski, G. M. (1978). The mexican Axolotl, *Ambystoma mexicanum*: Its Biology and developmental genetics, and its autonomous cell-lethal genes. *Amer.Zool.* 18: 195-226.
- Maldonado-Koerdell. (1948). Las colecciones de anfibios del museo "Alfredo Dugès" en la Universidad de Guanajuato. I. Urodelos. Mem. Ruta. Soc. Cienc. " Antonio Alzate". México 56 (2-3); 185-226 p
- Martin L, De Ruyter and Daniel F. (1986). Interrenal Function in Larval *Ambystoma tigrinum* II. Control of Aldosterone Secretion and Electrolyte Balance by ACTH. *Gen. Comp. Endocrinol.* 62, 298-305.
- Mastrolia, L., Gallo, V. P, Civinini y col. (1988). Acetylcholinesterase activity in the Adrenal Chromaffin Vesicles of Urodela. Rome, Italy. *Cellular and Molecular Biology* 35(3), 247-253. Printed in Great Britain.
- Matteri, R., Carroll, J., Dyer. C. (2000). Neuroendocrine responses to stress. In: The biology of animal stress. Eds. G, Moberg. J. Mench. 43-76 p.
- Matty, A. (1985). Fish endocrinology. Ed. Timber Press, Portland. USA. 265 P.
- Matz, G y Vanderhaege, M. (1979). Guía del Terrario, Técnica/Anfibios/Reptiles. Omega. Barcelona, España. 338 pp.

- Mazeaud, M. Mazeaud, F y Donalson, E. (1977). Primary and secondary effects of Stress in Fish: some new data a general review. *Transactions of the American Fisheries Society* 106: 201-212.
- Mazeaud, M., Mazeaud, F. (1981). Adrenergic responses to stress in fish. In: *Stress and Fish*, Pickering ed. 49-75.
- Montaña, A. J. (1995). Estructura de las glándulas tiroidea en los estadios larvales y adultos de *Ambystoma tigrinum* durante un ciclo anual. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM, México. 58 p.
- Moore, Gary. (1994). Mantener axolotls en cautiverio. *Reptilian*. 2 (2): 33-38.
- Musselman, D y Nemeroff, C. (1995). Adrenal function in mayor depression. *The endocrinologist*. 5: 91-96.
- Norris, D. O. 1980. *Vertebrate Endocrinology*. Lea and Febiger. Philadelphia. 524 pp.
- Nussdorfer, Gastone. (1986). The Adrenal Cortex of Normal Adult Vertebrates. *International Review of cytology*, vol., 98, 1-78.
- Paniagua, G. A. R y Nistal, M. (1983). *Introducción a la histología animal comparada*. Labor Universitaria. España. 483 pp.
- Peter, R. (1983). The brain and neurohormones in teleosteos reproduction. In: Hoar, W., Randall, D., Donalson, E. (ed) *Fish Physiology IX A. Reproduction*. Academic Press. New York, p 97- 135.
- Pickering, A. (1981) The concept of biological stress. In: Pickering, A. Ed. *Stress and Fish*. Academy Press, London: 1-9.
- Quiróz de la Vega, Samuel. (1992). Informe del Gobierno del Estado de Tlaxcala. Gobierno del estado. pp. 17-22.
- Ritter, S; Peizer, N; Ritter, R. (1978). Absence de glucoprovic feeding after stress suggests impairment of noradrenergic neuron function. *Brain Res*. 149: 399-411.

- Rivas, M. P. (1981). Técnicas histológicas en la práctica de la biología. Tesis profesional. Facultad de Ciencias, U.N.A.M. México, 155 pp.
- Rivas, M. P. (2000). Sistema endocrino. En: Estrada, F. E y Uribe, M. (eds.) Atlas de histología de vertebrados. UNAM, Facultad de Ciencias, México. pp. 173-185.
- Rockwood, I. T. (1935). Histological Aspects of Metamorphosis of *Ambystoma tigrinum* (Green). Bulletin of University of UTAH, Vol. 25: 7.
- Rojas, R. T. (1983). La agricultura chinampera. Universidad Autónoma de Chapingo, México. 193 p.
- Schreck, C. (2000). Accumulation and long-term effects of stress in fish. In: The biology of animal stress. Eds. G. Moberg and J. Mench. 147-158 p.
- Schreckenber, M de G y Jacobson, A. G. (1975). Etapas normales del desarrollo del axolotl. *Ambystoma mexicanum*. Biología del desarrollo. 42: 391-400.
- Selye, H. (1950). Stress and general adaptation syndrome. *British Medical Journal*. !: 1383-1392.
- Shaffer, H. B. (1984). Evolution in a paedomorphic lineage I. An electrophoretic analysis of the Mexican ambystomatid salamanders. *Evolution* 38: 1194-1206.
- Shaffer, H. B and McKnight, M. L. (1993). The polytypic species revisited: Genetic differentiation and molecular phylogenetics of the tiger Salamander, *Ambystoma tigrinum* (Amphibia: Caudate) complex. *Evolution* 50 (1): 417-433.
- Solomon; Berg y col. (1996). Biología de Ville. 3a. edición. Interamericana-McGraw-Hill, México. 1193 pp.
- Stebbins, R.C. and Cohen, N.W. (1995). A natural history of amphybians. Princeton University Press. New Jersey. USA. Pp. 141-194.
- Stephan-Otto y Ensástigue, L. (2001). El ajolote, otro regalo de México al mundo. *Biodiversitas*, México. Año 7. 35: 7-11.

- Tave, D. (1994). Selection for stress responses to improve disease resistance in Atlantic salmon and rainbow trout. *Aquaculture magazine*. 20: 80-84.
- Valdez-Moreno. (1995). Recuperación de un suelo salino-sódico en una chinampa de la laguna del toro, Xochimilco, D. F. Tesis. Pp.28-44.
- Wendelaar Bonga, S. (1997). The stress response in fish. *Physiological review*. 77,3 : 591- 625.
- Williams, W. D. (1993). Conservation of salt lakes. *Hydrobiología*. 267: 291-306.
- Word, J. G. (1963). Identification of and observations on epinephrine and norepinephrine containing cells in the adrenal medulla, *American Journal of Anatomy* 112, 285-295

Apéndice 1

Técnicas histológicas empleadas

TÉCNICA DE HEMATOXILINA-EOSINA

TÉCNICA DE SUDÁN IV

TÉCNICA DE LLOMBART

Procedimientos

METODO DE HEMATOXILINA-EOSINA (hematoxilina de Harris-eosina alcohólica)

1. Fijar en formol al 10 % o en fijador de Orth.
2. Hacer cortes por congelación o por parafina.
3. Lavar los cortes en agua destilada.
4. Teñir con hematoxilina de Harris, de 1 a 3 min.
5. Virar con agua de la llave.
6. Lavar con agua destilada para obtener el viraje.
7. Deshidratar con alcoholes de 50° y 70°, por tres min en cada uno.
8. Teñir con eosina alcoholica, de 1 a 3 min.
9. Deshidratar con alcoholes de 96° (dos cambios) y absoluto, durante 5 minutos en cada alcohol (solo si los cortes son por parafina pasar al absoluto).
10. Aclarar en creosota, si los cortes fueron por congelación, o en xilol, si fueron por parafina, durante 5 minutos.
11. Cubrir con bálsamo de Canadá o resina.

Resultados

Núcleos y cartílago..... Azul morado

Protoplasma y sustancias intercelulares..... De naranja o rojo

Preparación de los colorantes

HEMATOXILINA de Harris.

1. Hematoxilina (Merck).....1.0 g
2. Óxido rojo de mercurio0.5 g
3. Sulfato de aluminio y amonio o potasio (alumbre).....20 g
4. Alcohol etílico absoluto.....10 cc
5. Agua destilada200cc

Disolver la hematoxilina en el alcohol absoluto, calentando a baño maría y tapando; en otro recipiente disolver el alumbre en 100 cc de agua destilada; se mezclan las dos soluciones y se añaden los 100 cc del agua restante. Se hierve la mezcla lo más rápido posible, y se agrega cuidadosamente el óxido rojo de mercurio (puede explotar) hasta que tome un color rojo púrpura; enseguida se enfría con hielo a baño maría y se filtra 10 veces. Se le agregan de 3 a 5 gotas de ácido acético por cada 10 cc de solución.

EOSINA ALCOHOLICA

1. Eosina azulosa.....1.0 g
2. Orange G1.0 g
3. Alcohol de 70°100 cc

Se mezcla todo en frío y se filtra. No debe prepararse demasiado porque las soluciones de mucho tiempo se alteran. Filtrar cada vez que se use.

LÍQUIDO DE ORTH:

2.5 g de bicromato de potasio

1 g de sulfato de sodio

10 mL de formol

100 mL de agua destilada

MÉTODO DE ROJO ESCARLATA O SUDAN IV

1. Fijar en formol al 10%.
2. Hacer cortes por congelación.
3. Teñir con hematoxilina de Harris, durante 15 minutos.
4. Lavar con agua destilada.
5. Virar con agua de la llave.
6. Lavar en agua destilada, por 5 minutos.
7. Sumergir los cortes en rojo escarlata o Sudan IV durante 5 minutos. (sigue)
8. Lavar con agua destilada.
9. Cubrir con gelatina glicerinada.

Resultados

Grasa.....Rojo brillante.

Núcleos..... Morado.

Preparación del colorante

ROJO ESCARLATA O SUDAN IV

Alcohol de 70°50 cc.

Acetona.....50 cc.

Rojo escarlata o Sudán IV..... a saturación.

METODO DE LLOMBART

1. Fijación en formol al 10%, de 8 a 15 días
2. Cortes por congelación de 15 a 20 μm (o por parafina 7-8 μm)*
3. Lavar tres veces en agua bidestilada
4. Sumergir los cortes en agua piridinada (V gotas de piridina por cada 10 mL de agua bidestilada), 15 min.
5. Lavar tres veces en agua bidestilada.
6. Impregnación en nitrato de plata al 20% durante 24 hs a temperatura ambiente.
7. Pasar los cortes uno por uno a formol neutro al 25%*, en tres pocillos. Cambios rápidos enjugando el formol en papel filtro. Esta operación fundamental, debe ser muy cuidadosa para evitar el depósito de precipitado en el tejido.
8. Impregnación en plata hiperfuerte recién filtrada, en 2 pocillos: 1° 10 mL de plata + VI g de amoníaco y 2° 10 mL de plata con IV g, se pasan del pocillo 1° al 2° cuando empiecen a tomar color amarillo (de 2 min a 2 horas con control microscópico).
9. Lavar rápidamente con agua bidestilada.
10. Diferenciar en una solución débil de ácido acético, en dos cristalizadores (agua 50 ml + C gotas de ácido acético)
11. Lavar rápidamente en agua bidestilada.
12. Virar con cloruro de oro al 0.2% (10 mL con X gotas de ácido acético).
13. Lavar, deshidratar, aclarar con creosota, montar y cubrir con resina sintética.

Preparación del Carbonato de plata hiperfuerte

- Mezclar nitrato de plata al 10% con carbonato de sodio a saturación hasta que deje de formarse precipitado.
- Lavar 4 veces el precipitado con abundante agua bidestilada. Guardar un poco en una pipeta.
- Disolver el precipitado añadiendo amoníaco gota a gota y evitando su exceso.
- Añadir agua bidestilada hasta que la solución quede aproximadamente al 10%.
- Agregar el carbonato guardado, para neutralizar el amoníaco que pudiera haber en exceso y filtrar.

Resultados

Células cromafines, nervios, axones mielinizados y no mielinizados se observan en color violeta intenso o negro.

*En cortes incluidos en parafina se recomienda:

- a. Adherir los cortes al portaobjetos con poli-L-lisina
- b. Desparafinar, e hidratar como de ordinario
- b. Realizar los pasos de la técnica en vasos de Koplín
- c. Usar pinzas de plástico para sacar los cortes
- d. Escurrir bien y enjuagar la parte posterior de los portaobjetos para evitar el arrastre del reactivo previo.

Apéndice 2

Tablas

DATOS COMPARATIVOS DEL **DIÁMETRO MAYOR Y MENOR DE LOS ISLOTES ADRENALES**
(Observaciones a 10 x. Los resultados y promedios están en μm).

Tabla 1

ESPECIE	<i>Ambystoma dumerilii</i>		<i>Ambystoma mexicanum</i>		<i>Ambystoma velasci</i>	
1.	1000	250	4000	500	500	80
2.	5000	250	1000	900	500	110
3.	2000	250	2000	600	1000	110
4.	700	200	1000	600	400	150
5.	1400	250	4000	600	250	200
6.	4000	350	4000	700	300	70
7.	4000	400	3000	700	400	150
8.	4000	500	4500	800	700	150
9.	4000	400	3500	650	360	140
10.	4000	800	1000	800	430	110
Promedio.	3010	365	2800	685	484	127
Desvstan.	1558,097	179,582	1418,136	120,30	219,706	38,600
Errorstan.	492,713	56,789	448,454	38,04	69,477	12,206

DATOS COMPARATIVOS DEL **DIÁMETRO MAYOR Y MENOR DE LAS CÉLULAS CROMAFINES DE**
LOS ISLOTES ADRENALES.

(Observaciones a 40 x. Los resultados están en μm).

Tabla 2

ESPECIE	<i>Ambystoma dumerilii</i>		<i>Ambystoma mexicanum</i>		<i>Ambystoma velasci</i>	
1.	37.5	15.0	17.5	12.5	12.5	7.5
2.	22.5	12.5	25.0	10.0	17.5	7.5
3.	17.5	15.0	25.0	15.0	20.0	12.5
4.	17.5	17.5	42.5	25.0	17.5	12.5
5.	25.0	20.0	37.5	20.0	25.0	12.5
6.	37.5	12.5	30.0	15.0	25.0	15.0
7.	20.0	15.0	30.0	15.0	15.0	7.5
8.	25.0	17.5	32.5	17.5	22.5	10.0
9.	37.5	15.0	37.5	25.0	17.5	12.5
10.	25.0	22.5	20.0	10.0	15.0	12.5
Promedio.	26,5	16,25	29,75	16,5	18,75	11,0
Desvstan.	8,096	3,173	8,032	5,426	4,289	2,687
Errorstan.	2,560	1,003	2,539	1,715	1,35	0,849

DATOS COMPARATIVOS DEL DIÁMETRO MAYOR Y MENOR DE LAS CÉLULAS ESTEROIDOGÉNICAS DE LOS ISLOTES ADRENALES.
(Observaciones a 40 x. Los resultados están en μm).

Tabla 3

<i>ESPECIE</i>	<i>Ambystoma dumerilii</i>		<i>Ambystoma mexicanum</i>		<i>Ambystoma velasci</i>	
1.	27.5	15.0	62.5	25.0	37.5	12.5
2.	25.0	25.0	50.0	20.0	25.0	10.0
3.	37.5	17.5	25.0	20.0	25.0	7.5
4.	22.5	17.5	42.5	37.5	32.5	12.5
5.	25.0	17.5	37.5	20.0	25.0	17.5
6.	37.5	12.5	27.5	22.5	25.0	12.5
7.	27.5	12.5	42.5	25.0	17.5	17.5
8.	27.5	17.5	22.5	20.0	20.0	17.5
9.	30.0	10.0	35.0	22.5	22.5	15.0
10.	25.0	20.0	32.5	20.0	25.0	10.0
Promedio	28,5	16,5	37,5	23,25	25,5	13,25
Desvstan	5,163	4,281	12,216	5,407	5,749	3,545
Errorstan	1,632	1,354	3,863	1,709	1,818	1,121

DATOS COMPARATIVOS DEL DIÁMETRO MAYOR Y MENOR DE LOS NÚCLEOS DE LAS CÉLULAS CROMAFINES DE LOS ISLOTES ADRENALES.
(Observaciones a 40 x. Los resultados están en micrómetros μm).

Tabla 4

<i>ESPECIES</i>	<i>Ambystoma dumerilii</i>		<i>Ambystoma mexicanum</i>		<i>Ambystoma velasci</i>	
1.	10.0	10.0	20.0	12.5	15.0	7.5
2.	15.0	7.5	25.0	10.0	15.0	5.0
3.	7.5	5.0	12.5	7.5	12.5	7.5
4.	12.5	7.5	12.5	10.0	15.0	7.5
5.	10.0	7.5	12.5	10.0	15.0	10.0
6.	12.5	7.5	17.5	10.0	10.0	10.0
7.	12.5	10.0	17.5	10.0	15.0	10.0
8.	15.0	10.0	12.5	10.0	17.5	10.0
9.	12.5	7.5	12.5	10.0	12.5	7.5
10.	10.0	10.0	12.5	10.0	12.5	7.5
Promedio	11,75	8,25	15,5	10,0	14,0	8,25
Desvstan	2,371	1,687	4,377	1,178	2,108	1,687
Errorstan	0,75	0,533	1,384	0,372	0,666	0,533

DATOS COMPARATIVOS DEL **DIÁMETRO MENOR** DE LOS **NÚCLEOS** DE LAS **CÉLULAS ESTEROIDOGÉNICAS** DE LOS ISLOTES ADRENALES.

(Observaciones a 40 x. Los resultados están en μm).

Tabla 5

<i>ESPECIES</i>	<i>Ambystoma dumerilii</i>		<i>Ambystoma mexicanum</i>		<i>Ambystoma velasci</i>	
1.	15.0	10.0	15.0	10.0	12.5	7.5
2.	12.5	10.0	12.5	12.5	15.0	5.0
3.	17.5	12.5	12.5	10.0	12.5	10.0
4.	12.5	7.5	20.0	10.0	15.0	10.0
5.	10.0	10.0	12.5	12.5	15.0	7.5
6.	10.0	10.0	15.0	12.5	20.0	12.5
7.	12.5	10.0	12.5	7.5	20.0	7.5
8.	7.5	7.5	12.5	7.5	12.5	7.5
9.	12.5	12.5	25.0	12.5	17.5	7.5
10.	10.0	10.0	25.0	12.5	15.5	10.0
Promedio	12,0	10,0	16,25	10,75	15,5	8,5
Desvstan	2,838	1,666	5,170	2,058	2,832	2,108
Errorstan	0,897	0,527	1,635	0,650	0,895	0,666

DATOS COMPARATIVOS DEL **DIAMETRO MAYOR Y MENOR** DE LAS **NEURONAS** DE LOS ISLOTES ADRENALES

(Observaciones a 40 x. Los resultados están en μm).

Tabla 6

<i>ESPECIES</i>	<i>Ambystoma dumerilii</i>		<i>Ambystoma mexicanum</i>		<i>Ambystoma velasci</i>	
1.	32.5	17.5	27.5	17.5	25.0	20.0
2.	37.5	20.0	30.0	25.0	42.5	25.0
3.	52.5	25.0	27.5	20.0	42.5	20.0
4.	62.5	27.0	20.0	17.5	27.5	25.0
5.	62.5	25.0	20.0	15.0	32.5	20.0
6.	32.5	25.0	20.0	15.0	27.5	17.5
7.	42.5	17.0	25.0	15.0	37.5	20.0
8.	57.5	25.0	37.5	20.0	42.5	25.0
9.	22.5	17.5	25.0	20.0	37.5	20.0
10.	22.5	17.5	30.0	12.5	37.5	17.5
Promedio	42,5	21,65	26,25	17,75	35,25	21,0
Desvstan.	15,456	4,076	5,559	3,622	15,456	4,151
Errorstan.	4,887	1,288	1,757	1,145	4,887	1,312

DATOS COMPARATIVOS DE LA **DENSIDAD CELULAR**. (Número de células/milímetros cuadrados)
 EN LOS ISLOTES ADRENALES DE **CÉLULAS CROMAFINES**.
 (Observaciones a 40 x. Área 0.37 milímetros cuadrados)

Tabla 7

<i>ESPECIE</i>	<i>Ambystoma dumerilii</i>	<i>Ambystoma mexicanum</i>	<i>Ambystoma velasci</i>
1.	83.7	105.4	89.1
2.	97.2	170.2	78.3
3.	56.7	137.8	143.2
4.	135.1	148.6	124.3
5.	156.7	181.0	54.0
6.	78.3	75.6	132.4
7.	83.7	170.2	72.9
8.	108.1	140.5	56.7
9.	116.2	121.6	43.2
10.	91.8	105.4	118.9
Promedio	100,75	135,63	91,3
Desvstan	29,290812	33,785929	35,9753619
Errorstan	9,26256804	10,6840489	11,3764083

DATOS COMPARATIVOS DE LA **DENSIDAD CELULAR**. (Número de células/milímetros cuadrados)
 EN LOS ISLOTES ADRENALES DE **CÉLULAS ESTEROIDOGÉNICAS**.
 (Observaciones a 40 x. Área 0.37 milímetros cuadrados)

Tabla 8

<i>ESPECIE</i>	<i>Ambystoma dumerilii</i>	<i>Ambystoma mexicanum</i>	<i>Ambystoma velasci</i>
1.	43.2	302.7	148.6
2.	235.1	289.1	140.5
3.	137.8	224.3	170.2
4.	170.2	327.0	116.2
5.	137.8	245.9	200.0
6.	140.5	432.4	151.3
7.	113.5	272.9	197.2
8.	224.3	445.9	191.8
9.	156.7	302.7	194.5
10.	45.9	235.1	262.1
Promedio	140,5	307,8	177,24
Desvstan.	63,4876716	76,5029266	41,1581557
Errorstan.	20,0765646	24,1923496	13,0153516

DATOS COMPARATIVOS DE LA **DENSIDAD CELULAR**. (Número de células/milímetros cuadrados)
 EN LOS ISLOTES ADRENALES DE **NEURONAS**
 (Observaciones a 40 x. Área 0.37 milímetros cuadrados)

Tabla 9

<i>ESPECIE</i>	<i>Ambystoma dumerilii</i>	<i>Ambystoma mexicanum</i>	<i>Ambystoma velasci</i>
1.	108.1	37.8	48.6
2.	48.6	21.6	27.0
3.	64.8	43.2	43.2
4.	81.0	5.4	21.6
5.	81.0	21.6	10.8
6.	86.4	35.1	18.9
7.	83.7	21.6	13.5
8.	56.7	32.4	48.6
9.	45.9	48.6	35.1
10.	91.8	43.2	54.0
Promedio	74,8	31,05	32,13
Desvstan.	33,785929	13,3035709	15,869121
Errorstan.	6,35767253	4,2069585	5,01825667

DIRECTORA DE TESIS:
Dra. Patricia Rivas Manzano
Biología de la Reproducción Animal
Facultad de Ciencias, UNAM
56-22-48-82
prma@hp.fciencias.unam.mx

ALUMNA:
ELIZABETH ZAPATA SOSA
macapema666@hotmail.com
TEL: 89929076
5535735342 (celular)

2007