

Capítulo 3 Caracterización de *Ambystoma* como modelo biológico

Tradicionalmente gran número de vertebrados han servido de modelo para múltiples estudios de evolución y ecología. Esto es porque las características morfofisiológicas de cada grupo dependen de su plasticidad fenotípica, de su historia de vida y procesos evolutivos (Flores y Gallegos, 1993).

En este sentido se intenta abordar algunas características generales y morfofisiológicas del género *Ambystoma* que permitan visualizarlo como modelo simplificado de los tetrápodos.

En particular considera algunas especies representativas como: *A. mexicanum*, *A. tigrinum* y *A. velasci* en relación con los procesos de metamorfosis, neotenia y paedomorfosis.

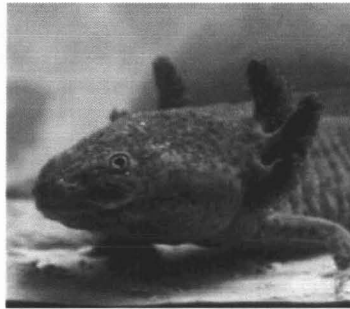
3.1 Generalidades

Desde la Antigüedad llamó la atención a los exploradores del continente americano, un cierto “pez con cuatro patas”, como fue descrito. El cual no era inadvertido por los aztecas que lo llamaban “axolotl”, siendo parte de su dieta en grandes cantidades hervido o aderezado en platillos especiales (Cendrero, 1972; Montaña, 1995). En la actualidad, muy apreciado como alimento nutritivo y sabroso para las comunidades, es considerado como un regalo de México al mundo, debido a múltiples razones, entre otras, el ajolote conserva características de milenios atrás y parece haber olvidado su capacidad de vivir fuera del agua:

simplemente sube a la superficie para respirar y de nuevo se sumerge. Además de su capacidad de regenerar miembros perdidos e incluso parte del cerebro (Stephan-Otto y Ensástigue, 2001).

Fray Bernardino de Sahagún hacía referencia a ellos como “unos animalejos en el agua llamados axolotl”, con cola y cuerpo de águila, boca ancha y barbas en el pescuezo.

Figura 3.1 *Ambystoma mexicanum* (axolotl)



Tomado de Encarta G.I. Bernard/Oxford Scientific Films

Su aprecio en distintas comunidades de México está relacionado con su utilización como alimento o medicinal; para curar inflamaciones del hígado, hidropesía y anemia infantil (Montaño, 1995; Gatti, 1985; Dibble y Andersons, 1979).

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 (1693), consideró a los anfibios como organismos de sangre fría, con un corazón con dos aurículas y un ventrículo. Sin embargo fue muy significativo el evento de metamorfosis para la clasificación y separación del grupo de los anfibios (Adler, 2003).

Actualmente la clase Amphibia incluye tres ordenes: Urodela (Caudata), con 10 familias (470 sp); Anura, con 29 familias (4,380sp) y Gymnophiona, con 5 familias (170sp) (Halliday, 2002).

Los términos Urodela y Caudata han sido usados indistintamente para salamandras vivientes. Caudata, Scopoli (1777), como anterior a Urodela, Duméril (1806) (citados por Adler, 2003).

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 ampliamente distribuidas desde Cánada hasta México, costas del Pacífico y Atlántico, además de la meseta central de México (Flores, 1993).

El naturalista G. Cuvier (1805), publica el primer tratado anatómico del grupo de las salamandras, considerando la morfología de huesos y músculos que habían sido descritos anteriormente por otros anatomistas europeos como: P. Belon (1517-1564) y C Perrault (1613-1680) (citados por Adler, 2003).

Sin embargo, debido a la situación confusa del estado adulto y diferentes formas larvales, Cuvier ubicó a *A. mexicanum* como una forma larval, demostrándose con estudios posteriores que comienza su madurez sexual aún reteniendo características larvales (Kuhn, 1989).

Por tanto se ha extendido el nombre de ajolote a muchas especies del mismo género y también ha sido aplicado a adultos con branquias de diferentes especies (Brandon, 1989).

El género *Ambystoma* se ha utilizado en múltiples investigaciones a nivel mundial, en diferentes líneas de investigación, como: desarrollo morfológico (Ashley y col, 1991); metamórfico (Duellman y Trueb, 1986; Brandon, 1989; Kuhn y Jacobs, 1989); reproducción (Lofts, 1984; Norris y col, 1985; Stebbins y Cohen, 1995); sistemática (Jones y col, 1988); evolución (Gould, 1977; Alberch, 1979); así como estudios genéticos relacionados con su biología y desarrollo (Humphrey, 1975; Malacinski, 1978;).

Por lo tanto el género, representa un grupo importante de estudio, no sólo por sus características únicas, sino también por ser un grupo representativo en México, con especies como: *A. mexicanum*, *A. rosaceum*, *A. velasci*, *A. flavipiperatum*, *A. dumerilii*, *A. lermaense* y *A. granulatum* (<http://research.amph.org/herpetology/> 15, julio 2002).

Además, Shaffer y Mcknight (1996), reorganizan taxonómicamente en *A. velasci* a distintas especies de *A. tigrinum* distribuidas en México, derivado de estudios genéticos y moleculares, donde *A. tigrinum* es parafilético con respecto a numerosas especies mexicanas, las cuales tienen formas perenebranquiadas con una distribución geográfica restrictiva (Larson y col, 2003).

En particular las especies *A. mexicanum* y *A. velasci* son consideradas para el objetivo de estudio por las siguientes características.

A. mexicanum es originario de los lagos de Xochimilco y Chalco, cuya población actualmente es vulnerable, en contraste con *A. velasci* con una distribución desde el sur de Chihuahua a lo largo de la Sierra Madre Occidental, el Eje Volcánico Transversal, centro de México, hasta Veracruz y San Luis Potosí.

Sin embargo en estudios biológicos, no es indistinta la elección de la especie. Hay características que deben ser consideradas, para trabajar el género; de acuerdo con el objetivo del estudio. Como ejemplo el cuadro muestra algunas diferencias entre dos de las especies presentes en México.

<i>Ambystoma mexicanum</i> (Shaw, 1789)	<i>Ambystoma velasci</i> (Dugès, 1888)
Está en peligro de extinción (vulnerable)	No esta en peligro de extinción
Presenta neotenia obligada	Presenta neotenia facultativa
Hábitos generalmente acuáticos	Hábitos semiacuáticos
En su hábitat natural no presenta metamorfosis	Puede experimentar metamorfosis, en su hábitat natural
Su distribución es endémica (Lago de Xochimilco)	Se distribuye ampliamente en México.

(Duellman y Trueb, 1986; Brandon, 1989; Halliday, 2002; Larson y col, 2003)

Para los objetivos y finalidad de este trabajo en particular nos referiremos a:

A. velasci por considerarlo modelo representante, dadas las características antes mencionadas. Sin embargo, hay que reconocer que ha sido un ambistómido con gran complicación taxonómica, debido a probables procesos de especiación en diferentes cuerpos de agua en México (Brandon, 1989; Montaña, 2003).

Originalmente se reportó como parte del complejo *A. tigrinum* relacionado con 15 subespecies, situadas en la meseta de México, cuyas poblaciones presentaban particularidades tanto del orden taxonómico como biológico, susceptibles de ser estudiadas ya que sugieren un alto éxito para establecerse en la región (Montaña,

2003; Larson y col, 2003). Y actualmente son clasificadas como *A. velasci* por presentar especies endémicas (<http://research.amph.org/herpetology/> julio 2002).

Dentro de las características externas del estado adulto de *Ambystoma* presenta: un cuerpo robusto y alargado, con cuatro miembros, boca ancha, cabeza con pocos huesos y pequeños ojos, prominentes surcos costales y línea lateral (Larson y col, 2003).

Las larvas acuáticas poseen una aleta que corre por el dorso hasta desaparecer a nivel de la cloaca, tiene a ambos lados de la cabeza tres pares de branquias externas largas y plumosas; mide en promedio 18 a 20 cm. Su piel en la parte dorsal y lateral presenta manchas oliváceas o amarillentas de forma irregular sobre un fondo café oscuro o negro y en la parte ventral color amarillo oliva (Montaño, 1995)

3.2 Metamorfosis

La metamorfosis ha sido descrita como la capacidad de un organismo para experimentar cambios drásticos durante su desarrollo y colonizar el medio terrestre (Hickman y col 1988).

El género *Ambystoma* puede experimentar o no metamorfosis, presentando frecuentemente neotenia, en la cual los organismos alcanzan la madurez sexual mientras aún conservan el estado larval (Brandon, 1989).

Se ha descrito como responsable directa de la metamorfosis la regulación del eje neuroendocrino hipotálamo-hipófisis-tiroides. Donde el hipotálamo funciona como reloj biológico, regulando el control y liberación de la TSH (Hormona liberadora de

la tiotropina) hacia la pars distalis de la adenohipófisis, la cual estimula la síntesis de hormonas tiroideas T_3 y T_4 que estimulan la metamorfosis (Montaño, 1995).

Participación igualmente importante lo representa la glándula pineal, la cual sintetiza diferentes compuestos químicos, el principal, la melatonina, involucrada en la coordinación de procesos fisiológicos cíclicos, sincronizados con la iluminación diaria y estacional (fotoperíodo). Además de su participación en la reproducción y en la respuesta cromática primaria, es decir, participando en la pigmentación adaptativa (Rivas, 2002).

En particular, la glándula tiroides durante la metamorfosis se desarrolla considerablemente, promueve la maduración de diversas estructuras como el cerebro y los huesos y después de la metamorfosis se ha observado que decrece su actividad (Rivas, 2002).

Relacionado el proceso metamórfico con otras hormonas, tenemos que la somatostatina liberada por el hipotálamo regula la función de células tirotrópicas, inhibiendo la secreción de TSH (Montaño, 1995; Balinsky y Fabián, 1983).

Además se ha observado que hormonas adrenocorticoides administradas simultáneamente con hormonas tiroideas inducen y aceleran la metamorfosis, por lo tanto la existencia relativa de altos niveles de corticoides circulando en larvas donde cursa la metamorfosis, sugieren la participación fisiológica de corticoides en eventos metamórficos.

La participación de la prolactina en el crecimiento de anfibios es más activa en larvas que en adultos en crecimiento. Además de ser un antagonista de la acción de la hormona tiroidea, suprimiendo cambios metamórficos (Kikuyama y col,

1993). Además está relacionada con un efecto osmoregulador en los tejidos de anfibios, lo cual sugiere un requerimiento de prolactina en procesos de adaptación al agua (Brown y Brown, 1987, citado por Kikuyama y col, 1993).

Por tanto, la metamorfosis está regulada bajo un control multihormonal y la secreción y función de estas hormonas es regulada por varios factores (Kikuyama, 1993) que desencadenan cambios metamórficos de diversa índole como: regresión de estructuras y funciones en el estadio larval, transformación de estructuras larvales hacia formas útiles al adulto o incluso desarrollo de "novo" de estructuras ventajosas a los adultos (Montaño, 1995; Norris y col, 1985).

Tres estados metamórficos han sido definidos:

1. Premetamorfosis, caracterizada por un gran crecimiento y desarrollo de estructuras larvales, sin cambios metamórficos (único en anuros)
2. Prometamorfosis, como periodo continuo de crecimiento, especialmente de miembros e iniciación de pequeños cambios metamórficos y
3. Clímax, como periodo de cambios radicales que culmina con pérdida de características larvales (Etkin 1932, citado por Duellman y Trueb, 1986).

Existen aspectos endocrinos y morfológicos contrastantes entre las etapas del proceso metamórfico (etapas previas y posteriores a él), por lo que es muy práctico utilizar las características externas visibles para categorizar los estadios de larvas tempranas, larvas tardías, adultos neoténicos, larvas metamórficas y salamandras (Montaño, 1995).

Las larvas tempranas de *A. velasci* tienen un peso promedio de $37.9 \pm 17.35\text{g}$ y una longitud total promedio de $16.48 \pm 2.5\text{cm}$, donde no se alcanza a distinguir el

sexo. Las larvas tardías con un peso promedio de $61.42 \pm 15.27\text{g}$ y una longitud de $19.62 \pm 2.8\text{cm}$, en los cuales se puede definir el sexo al analizar la gónada microscópicamente. En cambio, los adultos neoténicos tienen una longitud promedio total de $25.1 \pm 2.2\text{cm}$ con un peso promedio de $129.05 \pm 32.39\text{g}$, son los organismos más grandes con branquias bien desarrolladas en contraste con las salamandras terrestres, sin branquias, ni pliegue de la aleta media dorsal y caudal con una longitud promedio de $19.0 \pm 1.87\text{cm}$ y un peso de $38.26 \pm 13.77\text{g}$. Donde además en etapa reproductora, los adultos machos, tienen glándulas cloacales sumamente desarrolladas, observables macroscópicamente que permite reconocerlos claramente de las hembras (Montaño, 1995).

Desde principios del siglo pasado se reconocieron los principales cambios histológicos ocurridos durante la metamorfosis de *A. tigrinum*. Se observaron grandes transformaciones en piel, desde cambios de color, con aumento de glándulas, además de asumir parte de la función respiratoria, al aumentar su vascularización (Rockwood, 1935).

Estudios actuales detallan mayores cambios morfológicos en piel que involucran: formación de glándulas dérmicas; degeneración de la piel de la cola, de branquias, del opérculo y proliferación de la piel de los miembros (Duellman y Trueb, 1986). También se han documentado cambios en la reestructuración de boca y cabeza; calcificación del esqueleto en general, cambios en músculos, nervios, sistema sensorial, modificación de función renal y tracto gastrointestinal, debido al cambio de ambiente (Duellman y Trueb, 1986).

Entre los factores que inducen la metamorfosis se encuentran factores genéticos, ambientales y el estado endocrino de los organismos. Dentro de los factores ambientales se han reportado que el aumento de temperatura, la disponibilidad de alimento, el fotoperíodo, el pH, el contenido de yodo en agua (Norris y col, 1985), la altitud, la estabilidad del hábitat (Bizer, 1978) e incluso el estrés por captura y confinamiento o reducción de cuerpos de agua pueden inducir la metamorfosis (Montaño, 1995).

Por tal razón los aspectos endocrinos de la metamorfosis necesitan ser estudiados bajo diversas condiciones ambientales para llegar a entender los posibles efectos sinérgicos de hormonas y factores ambientales (Duellman y Trueb, 1986). Lo que en general se puede concluir es que las presiones ambientales, inducen la metamorfosis y la colonización del medio terrestre y le permiten reproducirse como adulto terrestre (salamandra) en cuanto las condiciones ambientales son favorables (Stebbins y Cohen, 1995).

3.3 Neotenia

Los individuos con capacidad para retener características juveniles durante toda su vida, ser maduros sexualmente sin experimentar metamorfosis, se denominan neoténicos (Gilbert, 1985).

Investigaciones sobre esta capacidad han evidenciado diferentes bloqueos de la metamorfosis a través de órganos a lo largo del eje hipotálamo-hipófisis-tiroides de las salamandras, como en *A. mexicanum*, que no experimenta metamorfosis en la naturaleza, debido a que no libera TSH activa para estimular sus glándulas

tiroideas; sin embargo, cuando fueron adicionadas hormonas tiroideas o TSH, se encontró que experimentaba metamorfosis, convirtiéndose en un adulto no conocido en la naturaleza (Huxley, 1920, citado por Gilbert, 1985).

En cambio se ha observado el fenómeno de neotenia facultativa en larvas de *A. velasci*, donde retienen sus branquias, permanecen en el hábitat acuático y se reproducen sin experimentar metamorfosis, pero si existe un cambio ambiental, como por ejemplo aumento de la temperatura del agua, entonces se desencadena la metamorfosis, que permite a los organismos, colonizar el medio terrestre como salamandra (Stebbins y Cohen, 1995; Montaña, 2003).

Entre las salamandras tenemos otros ejemplos como la especie *Eurycea neotenes*, que se metamorfosea, si se expone a concentraciones altas de tiroxina, mientras que los géneros *Necturus* y *Siren* no responden a ninguna dosis, por lo tanto su neotenia es obligada (Frieden 1981, citado por Gilbert, 1985).

Estas variaciones motivaron a Gould (1977), a plantear que la neotenia es un factor principal en la evolución de los tetrápodos, debido al retardo en el desarrollo de los tejidos somáticos. Lo cual aporta un sustrato único y flexible a la selección natural. Por lo que la neotenia resulta como un escape a la especialización de organismos adultos y abre la posibilidad a las larvas jóvenes de abrir camino en nuevas direcciones evolutivas (Gilbert, 1985).

Asimismo la correlación evolutiva según Gould (1977), se manifiesta principalmente, como madurez sexual atada al tiempo cronológico ancestral, con metamorfosis retrasada (Roth y Nishikawa, 1993).

3.4 Paedomorfosis

Originalmente los términos paedomorfosis y neotenia fueron utilizados para referirse a la condición perenebranquial de ambistómidos (Larson y col, 2003).

Procesos característicos de el género *Ambystoma*, la paedomorfosis (aparición de características juveniles ancestrales en estadios tardíos de la ontogenia de los descendientes) (Hickman y col, 1988), y la neotenia (prolongación de la vida larval) (Stebbins y Cohen, 1995), dan elementos de interés para un análisis filogenético de sus características actuales y contrarrestan la idea de una evolución lineal y antropocéntrica de la evolución animal. Donde la idea de un progreso evolutivo unidireccional ha sido confrontada por la opinión de que las clases de vertebrados tienden a evolucionar independientemente, en un patrón radiado y divergente (Northcutt, 1984, citado por Roth y Nishikawa, 1993).

Por ello resulta difícil establecer el status evolutivo de las salamandras, debido, entre otras cosas, a que al parecer, su cerebro es más simple que el de los condictios, actinopterigios y lampreas en algunos aspectos, y por lo tanto, menos complejo en relación a su posición filogenética entre los tetrápodos. A pesar de que se sabe que las salamandras no son filogenéticamente la base de los vertebrados, sus cerebros han sido estudiados por neuroanatomistas comparativos, como ejemplo del estado ancestral del cerebro de los vertebrados (Herrick, 1914; Eric, 1948; Leghissa, 1962, citado por Roth y Nishikawa, 1993).

Este cerebro reducido y protegido por un cráneo con pocos huesos, sugiere que ha conservado primitivamente una organización simple durante la evolución, por lo cual muchos investigadores se han preguntado ¿Si esta morfología primitiva

del cerebro es primaria, secundaria o derivada de un estado ancestral complejo?
¿Si el cerebro de las salamandras es derivado? ¿Cuáles son los mecanismos que derivaron en esta simplificación? y ¿Cuáles son las consecuencias funcionales de la simplificación? ((Roth y Nishikawa, 1993)

Algunas posibles explicaciones los han conducido al concepto de paedomorfosis, descrito como un estado en el cual los adultos de un grupo poseen una morfología que caracteriza a los grupos jóvenes de otros grupos, que no son sus ancestros (Alberch y col, 1979; Roth y Nishikawa, 1993).

En este sentido la paedomorfosis puede resultar de un proceso heterocrónico (cambio en el tiempo relativo de aparición y tasa de desarrollo de los caracteres ya presentes en los ancestros) (Hickman y col, 1988), que afecta a todo el organismo (Raff y Gras, 1989, citado por Roth y Nishikawa, 1993). Y de esta manera la simplificación secundaria del cerebro puede venir, no rasgo por rasgo, sino en paquete, con algunas especializaciones (Gould, 1977; Roth y Nishikawa, 1993).

Lo anterior se deduce de estudios morfológicos, genéticos y evolutivos que plantean la hipótesis de que la simplificación secundaria en el sistema nervioso de las salamandras resulta del alargamiento del genoma, que en el caso de salamandras y peces pulmonados es el más largo, salamandras (26 y 44pg DNA) (Larson, 2003). Comparado con reptiles (2.5pg DNA), aves (1.5pg DNA) y mamíferos (3.3pg DNA) (Olmo, 1983, citado por Roth y Nishikawa, 1993).

Estudios filogenéticos han comparado múltiples características que incluyen: la morfología y desarrollo de órganos sensoriales como sistema visual, auditivo, línea lateral y olfatoria, así como sistema nervioso central en diferentes grupos, los

cuales han sido interpretados como una simplificación secundaria de una condición ancestral más compleja, vinculada a un patrón evolutivo paedomórfico que resulta del incremento del tamaño del genoma, el cual se relaciona positivamente con el tamaño de las células y correlaciona negativamente con la proliferación y diferenciación celular ((Roth y Nishikawa, 1993).

Según Roth y Nishikawa (1993), la simplificación secundaria de muchos órganos y del cerebro, se han visto compensado con otros mecanismos, para restaurar o incluso incrementar la función cerebral. Por lo tanto, la paedomorfosis muchas veces lleva a explicar aspectos de la evolución de las salamandras, relacionados con su neotenia y metamorfosis, siendo necesario investigar y revalorar el desarrollo evolutivo de las salamandras, debido a que muestra diferentes caminos, donde en algunos casos compensa la carencia de la especialización morfológica de varios órganos en comparación con otros vertebrados.

En los urodelos el modo de vida metamórfico, neoténico y el patrón evolutivo paedomórfico juega un doble significado, tanto en su historia de vida, como en la diversificación de estructuras, para coexistir en distintos hábitat, como el caso del aparato respiratorio, cuyas estructuras incluye: branquias internas y externas, pulmones y piel, usados para el intercambio de gases en ambientes acuático y terrestre (Boutiler y Shoemaker, 1992, citado por Bruce, 2003).

Estos aspectos podrían considerarse como eje de enseñanza-aprendizaje en el modelo biológico debido a que los procesos morfofisiológicos y evolutivos están íntimamente relacionados.