

**ATLAS DE CITOLOGIA E HISTOLOGIA
DEL APARATO REPRODUCTOR MASCULINO
DE LOS ANFIBIOS Y REPTILES DEL PAIS VASCO**

M^a Jesús Arrayago

Antonio Bea

INTRODUCCION

DURFORT, en 1978, describe un método de tinción policrómico de uso rápido que da buenos resultados en la tinción de aposiciones de gónadas masculinas; BEA (1979) aplica este método para la observación y valoración del testículo de los anfibios y reptiles. Se trata de realizar un squash o frotis (1) con una porción del testículo fresco y, mediante una tinción rápida y muy simple, pasar a su observación directa; así, es posible observar las células germinales o sexuales como las espermatogonias, espermátocitos, espermátidas, espermatozoides y otras, y proceder a la valoración del estado sexual del animal según su proporción relativa.

Su utilización, sin embargo, ha sido muy puntual y dista mucho de ser generalizada. Como publicaciones que especifiquen el uso de la técnica hay que citar a ARRAYAGO y BEA (1986), quienes la emplean tanto para el análisis del testículo como de la vesícula seminal; sin embargo estos autores utilizan el método con un único fin, el de detectar los espermatozoides. PEREZ MELLADO (1982) valora el ciclo sexual de *Podarcis hispanica* y *P. bocagei* y a la vez critica el método en base a que los resultados no son tan satisfactorios como los obtenidos mediante técnicas histológicas; la valoración la efectúa según la presencia de espermatozoides y de distintos tipos de células.

Su utilización en otros trabajos, que no han sido publicados, es un hecho que se conoce, aunque bien es verdad que su empleo está restringido a un círculo muy reducido. Podemos afirmar que tanto en unos casos como en otros está patente un problema que limita en gran medida la utilización de la técnica; se trata de la dificultad que entraña la identificación de los distintos tipos de células germinales en un frotis. Ante este problema, resulta

(1) En realidad, no se trata de un frotis sino de una aposición del testículo, término que traduciría correctamente el significado de squash.

muy difícil hacer una valoración completa o adecuada o describir, incluso, un ciclo sexual completo utilizando exclusivamente esta técnica. Se recurre, en consecuencia, a la técnica histológica, tradicional en el estudio de la reproducción.

Por ello, la técnica ha quedado relegada a un segundo plano y se utiliza en todo caso con el único fin de detectar espermatozoides, sea en la vesícula seminal, sea en la cloaca de la hembra, para determinar la época o período de reproducción de una especie, por ejemplo.

Sin embargo y dado que se sigue considerando que la técnica descrita por BEA (1979) puede ser de gran utilidad para la valoración de los ciclos sexuales, dada su sencillez y rapidez, se ha considerado oportuno iniciar la realización de un atlas de citología e histología que describa con exactitud las particularidades de cada uno de los diferentes tipos de las células germinales de las especies más comunes de nuestra herpetofauna; se trata de facilitar, en suma, la identificación en un frotis de las células germinales de cualquier anfibio o reptil y aportar los criterios necesarios para llevar a cabo la valoración del estado sexual de un individuo en un momento dado o para describir el ciclo sexual de una especie.

Así, se ha considerado oportuno optar a la beca de investigación Agustín Zumalabe 1986 de la Sociedad de Estudios Vascos - Eusko Ikaskuntza. El trabajo que aquí se presenta corresponde a la memoria final de dicha beca de investigación.

Los objetivos del trabajo son varios; en primer lugar, se pretende realizar un atlas en el que se describa e ilustre cada uno de los distintos tipos de células germinales, para cada una de las especies de la herpetofauna del País Vasco o al menos de las más frecuentes. También, se pretende efectuar una crítica a la técnica del frotis (BEA, 1979), así como definir claramente su utilidad y limitaciones.

Para llevar a cabo estos objetivos, se ha considerado necesario analizar tanto preparaciones histológicas de testículo como frotis o preparaciones citológicas del mismo; de esta forma se asegura una identificación contrastada y por tanto segura. Cada tipo celular va a ser caracterizado según su forma y dimensiones, aspecto, grado de tinción, tipo de granulación que presente, etc.; para algunos tipos celulares se aportará, además, datos acerca de la relación entre el volumen nuclear y el volumen citoplasmático. Los tipos celulares que se han considerado son espermatogonias, A y B, espermatoцитos I y II, espermátidas y espermatozoides; otras células estudiadas son las de Leydig y Sertoli.

El atlas que se ha elaborado aporta datos de 22 especies: 12 anfibios y 10 reptiles, de un total de especies potencial para el País Vasco de 40 (17 anfibios y 23 reptiles), según se desprende de los datos publicados por ESCALA y PEREZ MENDÍA (1979), BERGERANDI (1981) y BEA (1985).

Ahora bien, no ha sido posible describir todos los tipos celulares para todas las especies, dado que en algunos casos el material con que se ha con-

tado ha sido escaso; este hecho no nos ha preocupado en exceso y, guiados por una política conservacionista, se ha preferido aportar, al menos, datos fragmentados para algunas de las especies estudiadas. Hay que tener en cuenta, además, que la mayor parte del material estudiado procede de recolecciones efectuadas hace varios años y que en la época reciente se ha procurado capturar el mínimo material necesario para la finalización del atlas.

A pesar de la restricción del área geográfica de procedencia del material que hemos estudiado, consideramos completamente válida la aplicación de la técnica en otras áreas y tanto sobre las mismas especies aquí estudiadas, como sobre otras distintas, a pesar de que puedan presentar ciclos sexuales diferentes; a este respecto, sirve de confirmación el ya mencionado trabajo de PEREZ MELLADO (1982).

MATERIAL Y METODOS

Se ha contado con testículos provenientes de ejemplares de anfibios y reptiles que han sido recogidos, fundamentalmente, en el País Vasco; se trata de las siguientes especies: *Salamandra salamandra*, *Triturus helveticus*, *T. marmoratus*, *Alytes obstetricans*, *Bufo bufo*, *B. calamita*, *Hyla arborea*, *H. meridionalis*, *Rana dalmatina*, *R. iberica*, *R. perezii*, *R. temporaria*, *Chalcides chalcides*, *Podareis hispanica*, *P. muralis*, *Lacerta viridis*, *L. vivipara*, *Anguis fragilis*, *Coronella austriaca*, *Natrix natrix*, *Vipera aspis* y *V. seoanei*. El material procede de los años 1978 a 1987, ambos inclusive. En la tabla I se presentan los datos referentes al número de ejemplares de que se ha dispuesto para cada especie y el mes en que fueron recogidos; se hace constar, también, el número de preparaciones, tanto histológicas como citologías, que han sido analizadas, así como el número total de células que han sido medidas.

Uno de los testículos fue fijado en Bouin, a veces seccionado en dos partes para facilitar su fijación; se destina a la preparación histológica. El otro testículo, en fresco, se destina a la preparación citológica ó citología, mediante la realización de un squash o frotis según la técnica descrita en BEA (1979); en este caso, se cubrió con un cubreobjetos montado sobre Eukitt, hecho que supone una ligera variación de la técnica original.

El testículo fijado en Bouin ha sido lavado en agua corriente y sometido a los pasos tradicionales para su inclusión en parafina (PANTIN, 1968; DURFORT, 1977). Se efectuaron cortes de unas 5 micras de grosor en un microtomo Shibuya, aunque en algunas casos los cortes fueron más gruesos, del orden de 10 - 15 micras. Como método de tinción, se ha empleado de una forma rutinaria la hematoxilina-eosina (hematoxilina de Harris), aunque de forma ocasional, se ha empleado, también, la tinción tricrómica de Masson y el Pas.

Las preparaciones histológicas han sido observadas al microscopio e identificadas las distintas células germinales; en algunos casos, la identificación de las células se asegura tras la consulta bibliográfica. Han sido medidas en cada especie unas 120 células de cada tipo, aunque su número varía mucho de unas especies a otras, en función de la disponibilidad de material. Las espermatidas son medidas únicamente cuando son más o menos esféricas, cuando aún no se manifiesta la elongación.

Una vez que se han identificado las células y medido su diámetro, en el corte histológico, se procede al estudio de las citologías; en este caso, se han medido unas 80 células de cada tipo. El aspecto morfológico de las células y su tamaño son los criterios fundamentales para su identificación en éstas; únicamente se miden células esféricas o, en todo caso, como ocurre con las espermatogonias, ovaladas, dado que la mayoría de las células no germinales no son esféricas. Otra de las características morfológicas consideradas es el tipo de granulación que presentan las células y que viene dado por la densidad, distribución y tamaño del gránulo. Se considera, también, la tinción, que en las células de la línea germinal varía desde el azul cielo hasta el violeta; hay, como es lógico, una gama de colores intermedios. En general, núcleo y citoplasma no se diferencian. En el caso de las espermatidas, se presenta un problema adicional; una vez iniciada la elongación y hasta la finalización de la espermiogénesis, en la que los espermatozoides se encuentran libres en la luz del túbulo, hay una enorme gradación de formas. Tal variación ha ocasionado que, en ocasiones, espermatidas elongadas hayan podido ser designadas como espermatozoides; en este caso, se puede recurrir al tipo de ciclo sexual que presenta la especie para confirmar este supuesto.

A pesar de que es frecuente observar células con características intermedias entre dos tipos celulares, principalmente se han medido las células típicas. En cualquier caso, se contrastan estos resultados con los obtenidos en el corte histológico y se estima la necesidad o no de volver a analizar la citología o citologías. También, se han contrastado los resultados obtenidos con la opinión de otras personas cualificadas.

Las mediciones, tanto en el caso de las preparaciones histológicas, como en el de las citologías, han sido efectuadas en un microscopio Nikon Labophot, con la ayuda de un ocular micrométrico; los resultados se organizan, en ambos casos, en tablas. Los distintos tipos celulares y detalles de interés han sido fotografiados con la ayuda de un equipo Nikon AFX, utilizando como soporte fotográfico Plus-X pan de Kodak.

Se han utilizado, además, diversas obras que nos han permitido contrastar las identificaciones de los tipos celulares considerados, así como el empleo de una terminología concreta; hay que mencionar a los siguientes autores: VOLSOE (1944), WILHOFT & QUAY (1961), REITH & ROSS (1969), GRASSE (1970), MAYHEW & WRIGHT (1970), DIAZ FLORES et al. (1973), ANGELINI & PICARIELLO (1975), JOLY & SAINT GIRONS (1975), KALT (1976), NEWLIN (1976), BAVMAN & MET-

TER (1977), LEYTON et al. (1977), LADMAN (1978), ANGELINI et al. (1979), FIORE (1979), SAINT GIRONS (1957 y 1982), DELSOL et al. (1981), MARTINOVA & KANCHEVA (1981), HOULD (1982), MILTNER & ARMSTRONG (1983), BRIZZI et al. (1985), RASTOGI et al. (1985), YONEYAMA & IWASAWA (1985), POIRIER (1985) y SA & BEROIS (1986).

Tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías, se han medido células de distintas preparaciones y que corresponden a épocas del año diferentes; de esta forma, se pretende tener en consideración la variación que tiene cada tipo celular, tanto a nivel individual como según la época del año en que se encuentre. De hecho, se constatan diferencias en las mismas células de una preparación citológica a otra, para una misma época. Por ello, los resultados que se aporten en el caso de aquellas especies para las que únicamente se ha contado con un ejemplar han de ser considerados como preliminares y nunca definitivos, pues las características de las células efectivamente varían de una época a otra y según la tinción a que se sometan. Este hecho es manifiesto en *Chalcides chalcides*, *Lacerta vivipara*, *Coronella austriaca*, *Natrix natrix* y *Vipera aspis*.

Cuando existe un tipo celular que es abundante, se ha tenido en cuenta efectuar las mediciones en distintas áreas de la preparación histológica.

En el caso de las espermatogonias y debido a que en muchas ocasiones presentan una forma alargada u ovalada, se ha recogido como diámetro el valor medio de los dos diámetros considerados.

En los cortes histológicos, además de las células germinales, se han medido células de Leydig, para su comparación con las células que en los frotis presentan un tamaño similar.

Es frecuente encontrar eritrocitos en los frotis, los cuales están muchas veces fragmentados y de los que únicamente se observan los núcleos; su aspecto puede inducir, en ocasiones, a considerarlos como células germinales; cuando están fragmentados se diferencian, en general, por su forma ovalada, tinción uniforme, ausencia de granulación y por su contorno bien definido.

En numerosas ocasiones, se observan espermatozoides doblados o en distinto grado de enroscamiento sobre sí mismos que, cuando es total, ofrecen un aspecto esférico que puede originar la confusión con una espermátida, por ejemplo, por su pequeño tamaño.

<i>ESPECIE</i>	1	2	3	4
<i>Salamandra salamandra</i>	7	IV, VII, XII	42	328
<i>Triturus helveticus</i>	7	IV, V, VII, VIII, XII	74	393
<i>T. marmoratus</i>	3	III, V, XII	52	210
<i>Alytes obstetricans</i>	5	II, IV, VIII, XI	67	451
<i>Bufo bufo</i>	6	II, III, VII, VIII, IX	80	495
<i>B. calamita</i>	6	III, VII, VIII, XI	51	415
<i>Hyla arborea</i>	3	IV, VI	43	511
<i>H. meridionalis</i>	4	IV, XI	45	276
<i>Rana dalmatina</i>	2	V, VIII	34	361
<i>R. iberica</i>	3	II, VII, VIII	45	541
<i>R. perezi</i>	8	IV, VI, VII, VIII, XI	112	636
<i>R. temporaria</i>	8	III, V, VII, VIII, IX	90	712
<i>Chalcides chalcides</i>	1	VIII	13	378
<i>Lacerta viridis</i>	4	IV, V, VI, X	71	464
<i>L. vivipara</i>	1	VIII	13	187
<i>Podarcis hispanica</i>	7	IV, VI, VII, VIII	77	548
<i>P. muralis</i>	6	II, III, VIII	49	448
<i>Anguis fragilis</i>	5	V, VIII	37	402
<i>Coronella austriaca</i>	1	VIII	12	388
<i>Natrix natrix</i>	2	VIII	17	432
<i>Vipera aspis</i>	1	IX	19	387
<i>V. seoanei</i>	2	VIII	25	504

Tabla I.- Relación del número de ejemplares estudiados (1) y mes del año del que proceden (2); se indica el número de preparaciones histológicas y citologías estudiadas (3) para cada especie, así como el total de células que han sido medidas en las preparaciones (4).

RESULTADOS

Los resultados obtenidos se presentan en tres grandes apartados; por una parte está el atlas de histología y citología: cada especie dispone de una lámina fotográfica y un texto en el que se reflejan las características de cada tipo celular, tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías. Se comentan, además, las particularidades de cada especie y se presenta una tabla en la que se resumen las dimensiones de cada tipo celular.

Un segundo apartado está dedicado a la revisión crítica de la técnica de frotis, sobre todo en lo que se refiere a su utilización y resultados que se obtienen de su empleo.

Por fín, se presenta en el tercer apartado una descripción somera de la técnica, con las variantes que se han considerado oportunas.

ATLAS DE CITOLOGIA E HISTOLOGIA

LISTA SISTEMATICA DE LAS ESPECIES ESTUDIADAS

CL. Amphibia

- F. Salamandridae: *Salamandra salamandra*
Triturus helveticus
Triturus marmoratus
- F. Discoglossidae: *Alytes obstetricans*
- F. Bufonidae: *Bufo bufo*
Bufo calamita
- F. Hylidae: *Hyla arborea*
Hyla meridionalis
- F. Ranidae: *Rana dalmatina*
Rana iberica
Rana perezi
Rana temporaria

CL. Reptilia

- F. Escincidae: *Chalcides chalcides*
- F. Lacertidae: *Lacerta viridis*
Lacerta vivipara
Podarcis hispanica
Podarcis muralis
- F. Anguidae : *Anguis fragilis*
- F. Colubridae: *Coronella austriaca*
Natrix natrix
- F. Viperidae : *Vipera aspis*
Vipera seoanei

Salamandra salamandra (L).

Arrubioa

Salamandra común

En las preparaciones histológicas, los diferentes tipos celulares se diferencian con claridad. Se distinguen distintas formas de espermatoцитos I, según la fase de división en que se encuentren. No se han detectado espermátidas en fases que no fueran claramente en elongación.

En las citologías se han detectado únicamente espermatoгонias y espermatoцитos I; de estos últimos se distinguen dos formas bien diferenciadas. No hay problemas para la identificación de ambos tipos celulares. No han aparecido ni espermatoцитos II ni espermátidas, en cierta forma motivado por la escasez de material y en parte, también, porque las preparaciones se hicieron a partir de una única porción testicular.

Los valores medios característicos de cada tipo celular estudiado en esta especie se presentan en forma de tabla al final del texto descriptivo; a continuación, se presenta la lámina 1, donde se reproducen el aspecto general de las preparaciones y los tipos celulares estudiados, tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías.

Espermatoгонias: En las preparaciones histológicas se pone en evidencia que el tamaño de estas células es muy grande: su tamaño medio es de 30,42 micras. Abundan las formas ovaladas, con núcleo circular y, en ocasiones, arriñonado. Su granulación es fina. En las citologías, su tamaño sigue siendo muy elevado, ya que alcanza un diámetro medio de 50,03 micras; hay que señalar su alta variabilidad en cuanto a sus dimensiones. Su forma es ovalada o alargada, incluso. En su citoplasma se observan una especie de fibras, en contra de los gránulos típicos de este tipo celular; su aspecto suele ser laxo, con grandes y numerosos espacios vacíos.

Espermatocitos I: En las preparaciones histológicas, se pone de manifiesto que estas células son menores que las anteriores: 17,78 micras de diámetro. Se pueden observar en las distintas fases de la meiosis, a excepción de la fase de “preleptotene”. En las citologías, estas células alcanzan un diámetro medio de 26,56 micras. Se han observado dos formas: una con un aspecto compacto, homogéneo, sin gránulos, y de forma circular u ovalada, y otra forma generalmente más alargada y con gránulos gruesos separados entre sí de manera que dejan espacios ligeramente translúcidos. Ambas formas se tiñen de forma intensa.

Espermatocitos II: En las preparaciones histológicas, su tamaño medio es de 12,10 micras; su núcleo presenta un diámetro medio de 9,38 micras ($S = 0,82$; $N = 56$). Son células redondas, con límites nuclear y celular bien definidos y ligera y fina granulación nuclear. No se han observado estas células en las citologías, probablemente porque los frotis se han realizado a partir de un único lóbulo testicular.

Espermátidas: No han sido observadas células de este tipo en las citologías, mientras que en las preparaciones histológicas se han observado principalmente en distintas fases de elongación.

	PREPARACIONES HISTOLOGICAS				CITOLOGIAS			
	Rango	Ø medio	S	N	Rango	Ø medio	S	N
Espermatogonia	20-40	30,42	4,40	42	31,5-72,5	50,03	11,74	31
Espermatocito I	12-24	17,78	2,45	77	19-40	26,56	3,76	122
Espermatocito II	10-14	12,10	1,02	56	---	---	---	---

Valores de tamaño característicos de los distintos tipos celulares estudiados tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías; se presentan los rangos de tamaño, el valor medio del diámetro celular (\emptyset), su desviación típica (S) y el tamaño de la muestra (N).

LAMINA 1: *Salamandra salamandra*

Figuras 1 a 3.- Aspecto general de un trábulo seminífero y detalle de los tipos celulares estudiados en preparaciones histológicas, Hematoxilina-eosina.

Figuras 4 a 6.- Aspecto general de las células del testículo y detalle de los tipos celulares estudiados en las citologías. Tinción policrómica (Diff-Quick).

Figura 1.- Aspecto general de los túbulos seminíferos. En esta porción del lóbulo testicular se aprecian espermatoцитos I en paquitene, espermatoцитos II y espermátidas en distintos estadios de la espermiogénesis. (Diciembre; 288 x).

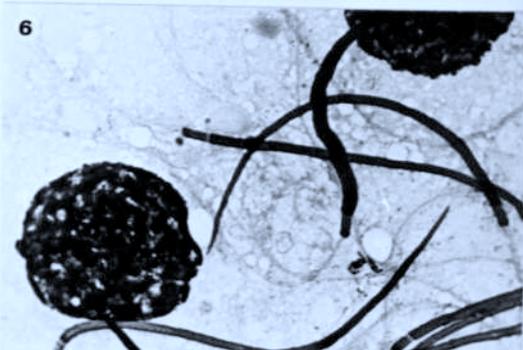
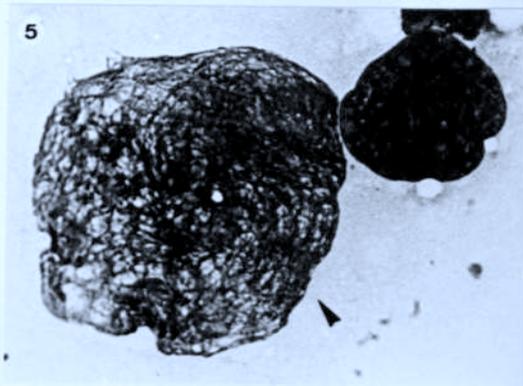
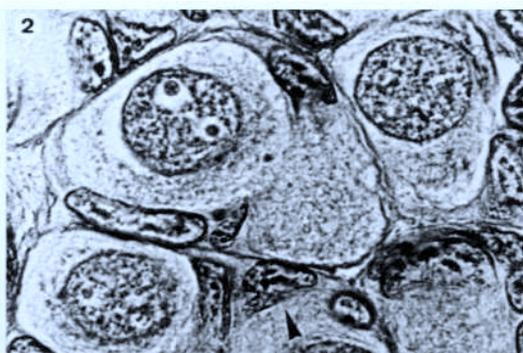
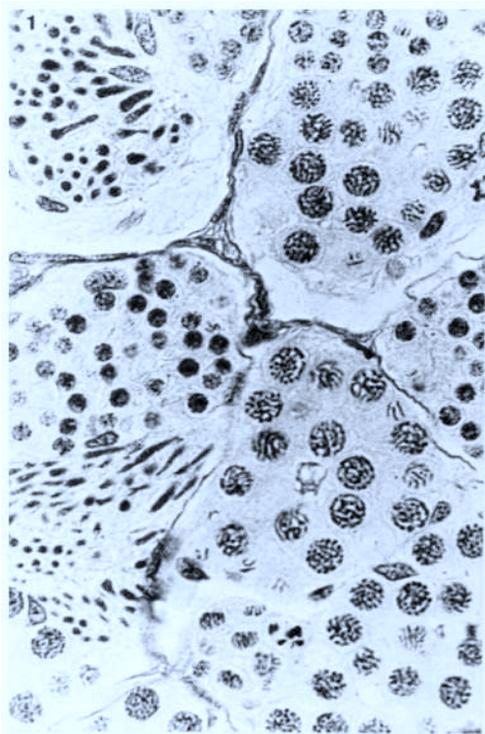
Figura 2.- Espermatogonias. Se aprecian núcleos de células de Sertoli (flecha). (Diciembre; 720 x)

Figura 3.- Espermatoцитos II y espermátidas. (Diciembre; 720 x).

Figura 4.- Aspecto general de una citología. Mayoritariamente se observan las dos formas diferenciadas de espermatoцитos I (flechas) y espermatozoides. (Julio; 288 x).

Figura 5.- Espermatogonia (flecha) y espermatoцитo I en detalle. (Diciembre; 720 x).

Figura 6.- Espermatoцитo I y espermatozoides. (Julio; 720 x).



Triturus helveticus (Razoumowsky).

Uhandre palmatua

Tritón palmeado

En las preparaciones histológicas, los distintos tipos celulares se reconocen con claridad. Se distinguen tres formas de espermatoцитos I, que corresponden a las fases de división en que se encuentran. Por lo que respecta a las espermatidas, no se presentan datos dado que la mayor parte se encuentran en distintas fases de elongación.

En las citologías, diremos que resulta muy difícil la identificación de los distintos tipos celulares. Ello es debido, principalmente, a la gran variabilidad que se observa en el seno de cada tipo celular. Se aportan las características de cada tipo celular basadas en el análisis de las formas más características dentro de cada uno de ellos aunque hay, como hemos dicho, numerosas células cuya filiación se desconoce; unas presentan igual tamaño y aspecto diferente, mientras que otras tienen distintos tamaños pero el mismo aspecto.

Los valores medios característicos de cada tipo celular estudiado en esta especie se presentan en forma de tabla al final del texto descriptivo; a continuación, se presenta la lámina 2, donde se reproducen el aspecto general de las preparaciones y los tipos celulares estudiados, tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías.

Espermatogonias: En las preparaciones histológicas, estas células tienen un tamaño medio de 23,63 micras; su aspecto es el característico y se observan los dos tipos: A y B. Su tamaño es muy variable. En las citologías, su tamaño medio es de 29,83 micras; suelen ser ovaladas y su límite celular está bien definido. La granulación es fina y uniforme y el aspecto que toma la célula es denso. La tinción es uniforme y, a diferencia de otras especies, algo más fuerte.

Espermatoцитos I: En las preparaciones histológicas, se pone de manifiesto que estas células son menores que las anteriores: 16,31 micras de diámetro. Se han observado tres formas, correspondientes a las distintas fases de la meiosis. En dos de ellas, preleptotene y zigotene, el contorno celular se observa con nitidez, mientras que en otra, paquitene, apenas se destaca. En las citologías, estas células presentan un tamaño medio de 21,95 micras; su

forma es generalmente circular, aunque puede ser también ligeramente ovalada. Se han diferenciado dos formas: una que se caracteriza por no presentar granulación, siendo su aspecto denso aunque con ciertas tonalidades más oscuras, como si su citoplasma estuviera manchado. La otra se caracteriza por presentar una granulación más fuerte que en las espermatogonias, observándose también engrosamientos más intensamente teñidos. Sus límites celulares están bien definidos en ambas formas y, en general, se tiñen de forma intensa.

Espermatocitos II: En las preparaciones histológicas, su tamaño medio es de 11,62 micras; su núcleo presenta un diámetro medio de 9,03 micras ($S=0,64$; $N=37$). Su forma es circular. En las citologías, no han podido ser diferenciados y han sido agrupados junto a las espermatidas en un único conjunto.

Espermátidas: En las preparaciones histológicas, se han observado con una forma muy irregular y, en aquellos casos en que presentan el núcleo circular o más o menos circular, éste varía entre 4 y 6 micras de diámetro. Al igual que ocurre con los espermatocitos II, en las citologías, no han podido ser diferenciadas y por tanto se tratan conjuntamente con éstos.

Espermatocitos II y Espermátidas: En las citologías, los espermatocitos II y las espermátidas no se han podido diferenciar entre sí ni por su forma ni por su tamaño; los resultados se presentan, por tanto, agrupados; su tamaño medio es de 14,42 micras, claramente inferior al de los espermatocitos I. Estas células pueden ser circulares u ovaladas. Su granulación es gruesa y se tiñe de forma irregular, y la membrana citoplasmática está bien delimitada.

	PREPARACIONES HISTOLOGICAS				CITOLOGIAS			
	Rango	Ø medio	S	N	Rango	Ø medio	S	N
Espermatogonia	17-31,5	23,63	3,38	72	24,5-40	29,83	2,84	68
Espermatocito I	11-21	16,31	2,34	100	18-27,5	21,95	2,17	62
Espermatocito II	10-13	11,62	0,68	37	---	---	---	---
Espermatocito II + Espermátida					12-18	14,42	1,42	54

Valores de tamaño característicos de los distintos tipos celulares estudiados tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías; se presentan los rangos de tamaño, el valor medio del diámetro celular (\emptyset), su desviación típica (S) y el tamaño de la muestra (N).

LAMINA 2: *Triturus helveticus*

Figuras 1 a 4.- Detalle de los tipos celulares estudiados en preparaciones histológicas. Hematoxilina-eosina.

Figuras 5 a 8.- Aspecto general de las células del testículo y detalle de los tipos celulares estudiados en las citologías. Tinción policrómica (Diff-Quick).

Figura 1.- Espermatogonias. Se aprecian núcleos de células de Sertoli. (Mayo; 720 x).

Figura 2.- Espermatocitos I en paquitene. (Julio; 720 x).

Figura 3.- Espermatocitos II. (Agosto; 720 x).

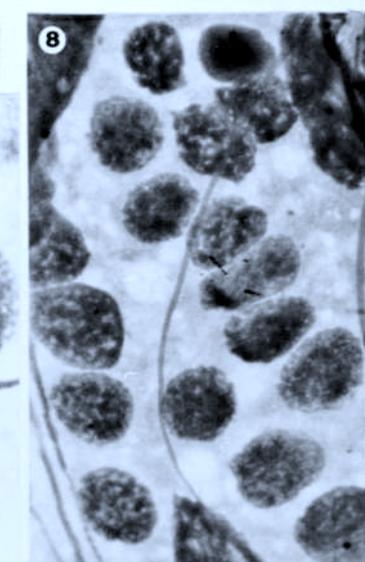
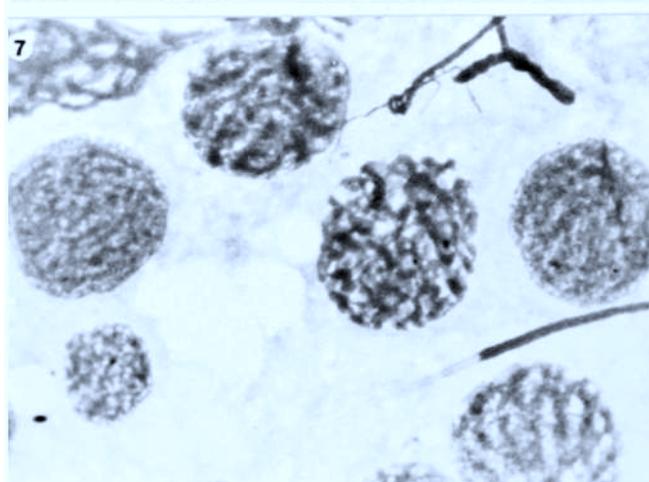
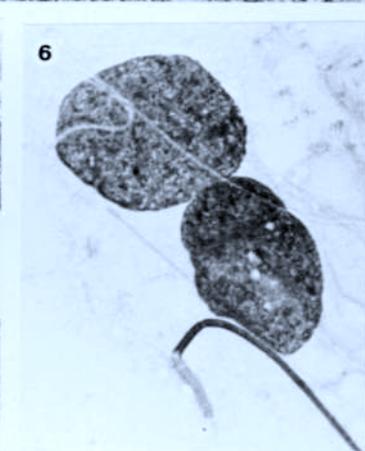
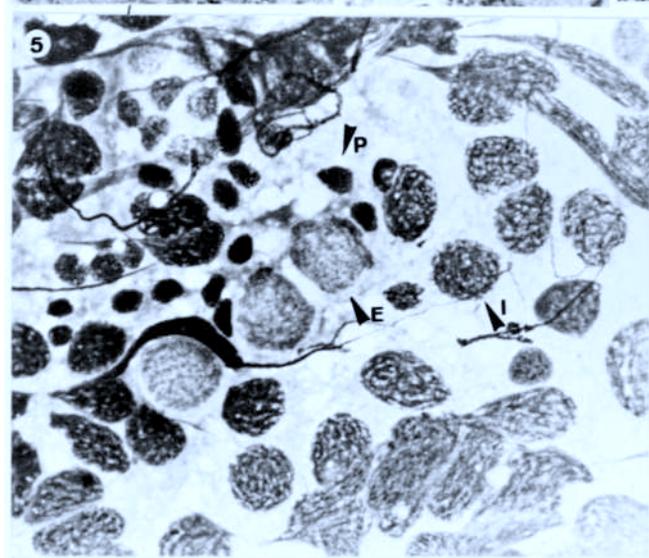
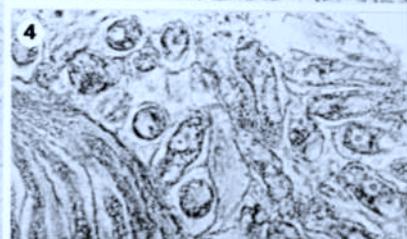
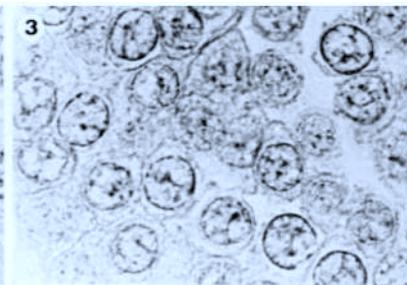
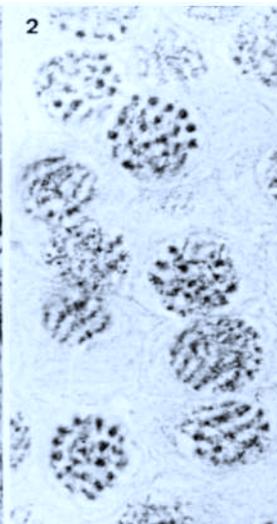
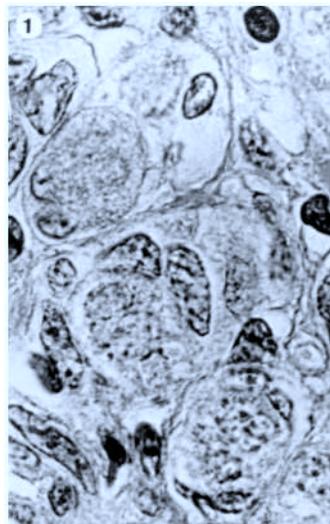
Figura 4.- Espermátidas en distintas fases de elongación. (Agosto; 720 x).

Figura 5.- Aspecto general de una citología. Se señalan mediante una flecha las espermatogonias (E), los espermatocitos I (I) y los espermatocitos II + espermátidas (P). (Agosto; 288 x).

Figura 6.- Espermatogonias y espermatozoide. (Diciembre; 720 x).

Figura 7.- Espermatocitos I; se aprecia también un espermatocito II + espermátida (borde inferior izquierdo). (Agosto; 720 x).

Figura 8.- Espermatocitos II + espermátidas. (Agosto; 627 x).



Triturus marmoratus (Latreille).

Uhandre marmolairea

Tritón jaspeado

Debido a la escasez de material con que se ha contado, únicamente se han podido describir espermatogonias y espermatoцитos I; no se han detectado ni espermatoцитos II ni espermátidas.

En las preparaciones histológicas, los dos tipos celulares se diferencian con claridad; hay que señalar que se han observado dos formas de espermatoцитos I, que corresponden a las distintas fases de división en que se encuentran. En las citologías, la identificación de los tipos celulares no implica excesivas dificultades, aunque bien es verdad que algunas células presentan características intermedias entre espermatogonias y espermatoцитos I, a pesar de que en general ambos tipos presenten caracteres propios.

Los valores medios característicos de cada tipo celular estudiado en esta especie se presentan en forma de tabla al final del texto descriptivo. A continuación, se presenta la lámina 3, donde se reproducen el aspecto general de las preparaciones y los tipos celulares estudiados, tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías.

Espermatogonias: En las preparaciones histológicas, estas células son redondas u ovaladas y presentan un tamaño medio de 21,47 micras. En las citologías, tiene una forma redondeada u ovalada; su tamaño medio es de 31,11 micras. Presentan una fina granulación, homogénea, y la célula se tiñe uniformemente, de forma suave, poco intensa. Su variabilidad de tamaño es elevada.

Espermatocitos I: En las preparaciones histológicas, estas células son menores que las anteriormente citadas: 14,95 micras de diámetro medio. Se observan dos formas de espermatocitos I. En las citologías, su tamaño medio es de 19,16 micras. Unas células presentan granulación mientras que otras no. Su aspecto es compacto, denso, y se tiñen más intensamente que las espermatogonias.

	PREPARACIONES HISTOLOGICAS				CITOLOGIAS			
	Rango	Ø medio	S	N	Rango	Ø medio	S	N
Espermatogonia	16-285	21,47	2,55	40	24-435	31,11	3,78	59
Espermatocito I	12-17,5	14,95	1,38	56	13-24	19,16	2,56	55

Valores de tamaño característicos de los distintos tipos celulares estudiados tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías; se presentan los rangos de tamaño, el valor medio del diámetro celular (\emptyset), su desviación típica (S) y el tamaño de la muestra (N).

LAMINA 3: *Triturus marmoratus*

Figuras 1 a 3.- Aspecto general de varios túbulos seminíferos y detalle de los tipos celulares estudiados en preparaciones histológicas. Hematoxilina-eosina.

Figuras 4 a 8.- Aspecto general de las células del testículo y detalle de los tipos celulares estudiados y de eritrocitos en las citologías. Tinción policrómica (Diff-Quick).

Figura 1.- Aspecto general de los túbulos seminíferos. En esta preparación del lóbulo testicular se aprecian espermatogonias de los tipos A (A) y B (B) y núcleos de células de Sertoli (S). (Marzo; 288 x).

Figura 2.- Espermatogonias; se aprecian núcleos de células de Sertoli. (Marzo; 720 x).

Figura 3.- Espermatocitos I. (Mayo; 720 x).

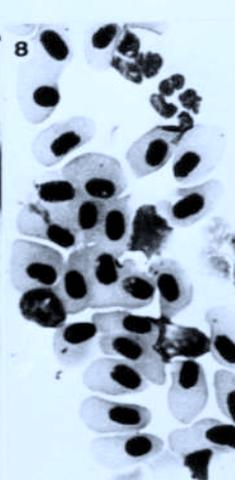
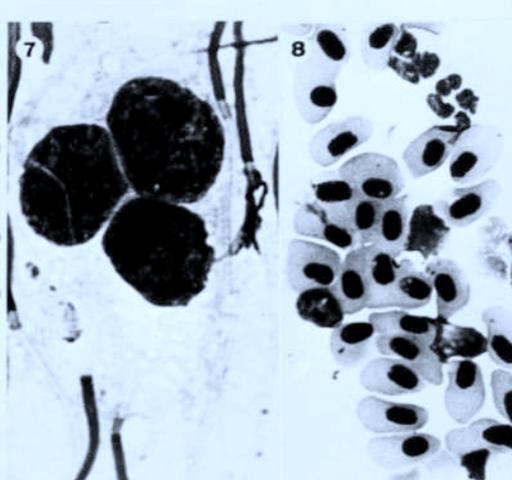
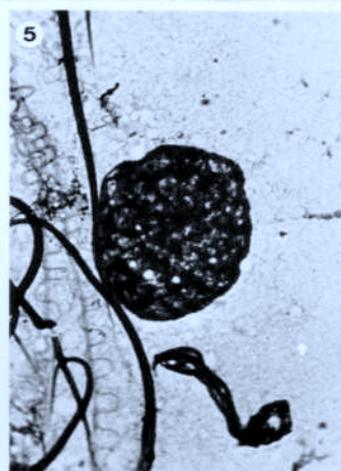
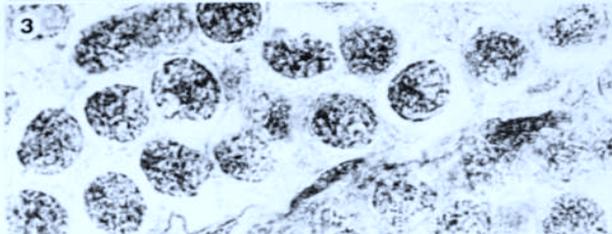
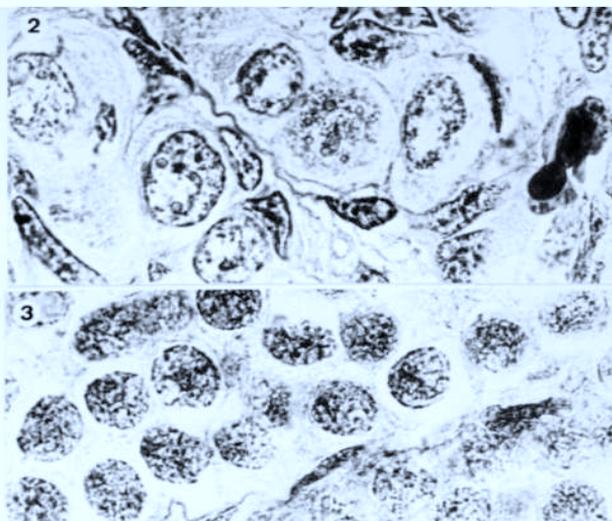
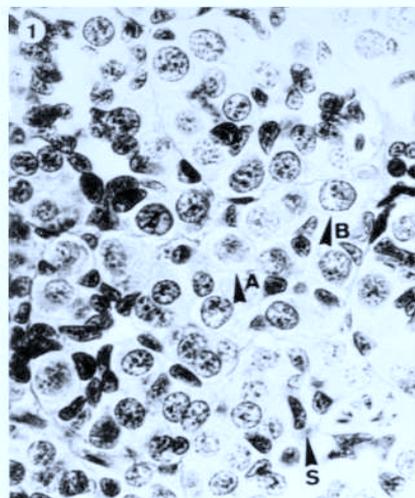
Figura 4.- Aspecto general de una citología. Se observan mayoritariamente espermatocitos I y espermatozoides; también, una espermatogonia (flecha, E). (Marzo; 720 x).

Figura 5.- Espermatogonia y espermatozoides. (Marzo; 720 x).

Figura 6.- Espermatocitos I, con granulación, y espermatozoides, (Marzo; 720 x).

Figura 7.- Espermatocitos I, sin granulación, y espermatozoides. (Marzo; 720 x).

Figura 8.- Eritrocitos. (Diciembre; 288 x).



LAMINA 3

Alytes obstetricans (Laurenti).

Txantxiku arrunta

Sapo partero común

En las preparaciones histológicas, la diferenciación de los tipos celulares no ofrece problemas; hay que señalar que se han observado 4 formas de espermatoцитos I. La relación entre el tamaño del núcleo y el citoplasma es un criterio válido para diferenciar entre espermatoцитos II y espermátidas.

En las citologías, resulta muy difícil y complicada la identificación de los tipos celulares, con la excepción de las espermatogonias. Las complicaciones surgen al estar presentes varias formas de espermatoцитos I y por la elevada variabilidad de tamaños celulares que se han observado, así como por su aspecto tan similar. Las espermatogonias son células que se identifican sin dificultad, por su aspecto y tamaño, aunque hay algunas que plantean, también, dudas. Los espermatoцитos I se diferencian por su aspecto morfológico y su tamaño, aunque hay células cuya identificación plantea numerosas dudas. Los espermatoцитos II y las espermátidas no se han podido diferenciar entre sí; se ha recurrido a presentar los resultados en conjunto para ambos tipos celulares. Se diferencian de los espermatoцитos I por su tamaño, principalmente, pues en ocasiones el aspecto morfológico que ofrecen es muy similar; granulación fina y tinción semejante.

Los valores medios característicos de cada tipo celular estudiado en esta especie se presentan en forma de tabla al final del texto descriptivo; a continuación, se presenta la lámina 4, donde se reproducen el aspecto general de las preparaciones y los tipos celulares estudiados, tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías.

Espermatogonias: En las preparaciones histológicas, estas células aparecen como células grandes, circulares, aunque en ocasiones presentan forma ovalada; su tamaño medio es de 17,11 micras y es el tipo celular que mayor variabilidad presenta en cuanto a tamaño. En las citologías, las espermatogonias presentan un tamaño medio de 23,67 micras; son grandes y su aspecto es el típico. La granulación es laxa y la tinción débil. Por lo general, son algo arrugadas y su tamaño suele ser muy variable.

Espermatoцитos I: En las preparaciones histológicas, se han diferenciado cuatro tipos de espermatoцитos I; su tamaño medio es de 12,15 micras. En

las citologías, su diámetro medio alcanza un valor de 14,9 micras. Presentan una granulación fina y se tiñen de forma intensa aunque, en ocasiones, también lo hacen de forma clara; incluso, pueden adolecer de esta granulación y presentar un aspecto más denso, más compacto. Sus límites celulares están bien definidos.

Espermatocitos II: En las preparaciones histológicas, estas células presentan un tamaño medio de 9,48 micras; su núcleo presenta un diámetro medio de 6,43 micras ($S = 0,78$; $N = 56$). En las citologías, no ha sido posible diferenciar espermatocitos II y espermátidas entre sí, ni por su tamaño ni por su morfología; por ello, se presentan los resultados para estos dos tipos celulares agrupados.

Espermátidas: En las preparaciones histológicas, son menores que los espermatocitos II; su tamaño medio es de 7,93 micras y su núcleo presenta un diámetro de 4,91 micras ($S = 0,81$; $N = 22$). El núcleo se tiñe de forma intensa, similar a como lo hacen los espermatozoides. En las citologías, no ha sido posible diferenciar espermátidas y espermatocitos II entre sí, ni por su tamaño ni por su morfología; por ello, se presentan los resultados para estos dos tipos celulares agrupados.

Espermatocitos II + Espermátidas: En las citologías, estos dos tipos celulares presentan un tamaño inferior al de los espermatocitos I, con un valor medio de 10,45 micras, claramente más bajo que éstos. Sus límites celulares suelen estar bien definidos y unas veces están más teñidos que otras. Presentan siempre cierta granulación, que puede ser gruesa y heterocromática o fina; por lo general, presentan una granulación evidente y se puede decir que hay unas zonas o puntos más teñidos que otros.

	PREPARACIONES HISTOLOGICAS				CITOLOGIAS			
	Rango	Ø medio	S	N	Rango	Ø medio	S	N
Espermatogonia	13-23	17,11	2,15	41	16-32	23,67	3,16	58
Espermatocito I	10-15	12,15	1,20	103	11-20	14,9	1,71	100
Espermatocito II	7-11	9,48	0,79	56	---	---	---	---
Espermátida	5-10	7,93	1,20	22	---	---	---	---
Espermatocito II + Espermátida					8-12	10,45	0,86	71

Valores de tamaño característicos de los distintos tipos celulares estudiados tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías; se presentan los rangos de tamaño, el valor medio del diámetro celular (\emptyset), su desviación típica (S) y el tamaño de la muestra (N).

LAMINA 4: *Alytes obstetricans*

Figuras 1 a 5.- Aspecto general de los túbulos seminíferos y detalle de los tipos celulares estudiados en las preparaciones histológicas. Hematoxilina-eosina.

Figuras 6 a 10.- Aspecto general de las células del testículo y detalle de los tipos celulares estudiados en las citologías. Tinción policrómica (Diff-Quick).

Figura 1.- Aspecto general de los túbulos seminíferos. Se observan espermatogonias, espermatoцитos I en zigotene y paquitene, espermatoцитos II, espermátidas y espermatozoides. (Noviembre; 288 x).

Figura 2.- Espermatogonia, espermatozoides unidos a núcleos de células de Sertoli y células de Leydig en el tejido intersticial. (Noviembre; 720 x)

Figura 3.- Espermatoцитos I en paquitene. (Noviembre; 720 x).

Figura 4.- Espermatoцитos II. (Agosto; 720 x).

Figura 5.- Espermátidas en distintas fases de la espermiogénesis. (Agosto; 720 x).

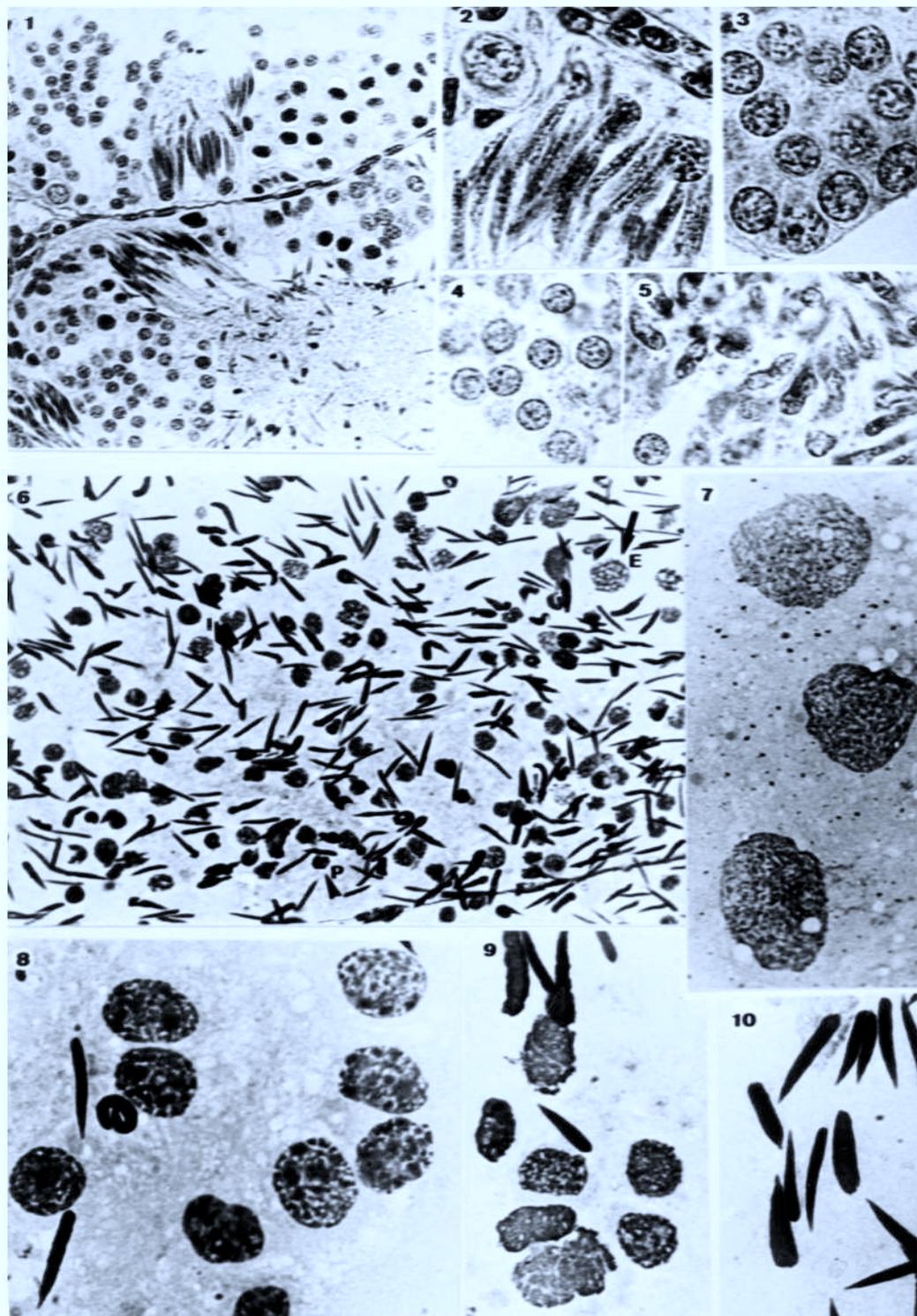
Figura 6.- Aspecto general de una citología. Se observa una espermatogonia (E), dos formas de espermatoцитos I (I), espermatoцитos II + espermátidas (P) y espermatozoides. (Agosto; 288 x).

Figura 7.- Espermatogonias. (Abril; 720 x).

Figura 8.- Espermatoцитos I y espermatozoides. (Agosto; 720 x).

Figura 9.- Espermatoцитos II + espermátidas y espermatozoides. (Agosto; 720 x).

Figura 10.- Espermatozoides. (Agosto; 720 x).



Bufo bufo (L).

Apo arrunta

Sapo común

En las preparaciones histológicas, la diferenciación de los cuatro tipos celulares presenta cierta dificultad. Se han observado hasta cinco formas de espermatoцитos I, correspondientes a las distintas fases por las que atraviesan en la meiosis. La diferencia entre espermatoцитos II y espermátidas no es muy clara, ya que presentan un tamaño similar; ha sido la posición del núcleo un criterio válido para su distinción.

En las citologías, diremos que la identificación de las células es, en general, muy dificultosa y que no han podido diferenciarse los espermatoцитos II de las espermátidas, por lo que los resultados para ambos tipos celulares se presentan agrupados. La presencia de varias formas de espermatoцитos I aumenta las dificultades en la identificación. Hay algunas células que presentan una granulación intermedia entre espermatogonias y espermatoцитos I y que por su tamaño pueden pertenecer a los dos grupos, ya que presentan una fuerte solapamiento en cuanto a las dimensiones se refiere.

Los valores medios característicos de cada tipo celular estudiado en esta especie se presentan en forma de tabla al final del texto descriptivo; a continuación, se presenta la lámina 5, donde se reproducen el aspecto general de las preparaciones y los tipos celulares estudiados, tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías.

Espermatogonias: En las preparaciones histológicas, estas células presentan un tamaño medio de 15,96 micras y son del tipo característico. En las citologías, su tamaño medio es de 16,2 micras y presentan una gran variabilidad en el tamaño. Se trata de células que presentan una granulación fina y uniforme, laxa, por lo general. Se tiñen de forma uniforme y suave por toda la célula; pueden presentar una zona azulada, correspondiente al nucléolo. Su tamaño es variable.

Espermatoцитos I: En las preparaciones histológicas, estas células son claramente menores que las espermatogonias, ya que tienen un tamaño medio de 9,48 micras. El tamaño de las células en una u otra fase de la división es muy similar; las más abundantes son las que se encuentran en fase de leptot-

tene y zigotene. Otras fases de la división observadas han sido las de preleptotene, paquitene y diplotene. En las citologías, su diámetro medio es de 13,57 micras. El contorno celular suele estar bien delimitado; unas células presentan una granulación fina y tinción uniforme, ofreciendo un aspecto más compacto que el de las espermatogonias, mientras que otras presentan una granulación más gruesa, con una tinción desigual. Ambas formas corresponden a distintas fases de las reconocidas en las preparaciones histológicas.

Espermatocitos II: En las preparaciones histológicas, su tamaño medio es de 8,0 micras y su núcleo presenta un diámetro medio de 5,23 micras ($S = 0,42$; $N = 33$). En las citologías no han sido diferenciados de las espermátidas, por lo que se presentan agrupados los resultados de los dos tipos celulares.

Espermátidas: En las preparaciones histológicas, estas células tiene un tamaño medio de 7,92 micras, con un núcleo de 4,84 micras de diámetro ($S = 0,43$; $N = 49$). Se hace extensivo el comentario hecho en el caso de los espermatocitos II, con respecto a las citologías.

Espermatocitos II + Espermátidas: En las citologías, tanto los espermatocitos II como las espermátidas presentan un tamaño y aspecto similar, que no nos permite su diferenciación; el tamaño medio de este conjunto de células es de 8,64 micras. Su granulación es gruesa y se tiñe con distintas intensidades; el límite celular no está bien delimitado, ya que viene muchas veces marcado por las propias granulaciones. Pueden observarse con frecuencia formas no esféricas.

	PREPARACIONES HISTOLOGICAS				CITOLOGIAS			
	Rango	Ø medio	S	N	Rango	Ø medio	S	N
Espermatogonia	11-20	15,96	2,04	56	11-33	16,2	3,79	8.5
Espermatocito I	7-13	9,48	1,39	126	11-18	13,57	1,54	79
Espermatocito II	7-9	8,0	0,56	33	---	---	---	---
Espermátida	7-9	7,92	0,57	49	---	---	---	---
Espermatocito II + Espermátida					7-10	8,64	0,85	67

Valores de tamaño característicos de los distintos tipos celulares estudiados tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías; se presentan los rangos de tamaño, el valor medio del diámetro celular (\emptyset), su desviación típica (S) y el tamaño de la muestra (N).

LAMINA 5: *Bufo bufo*

Figuras 1 a 5.- Aspecto general de los túbulos seminíferos y detalle de los tipos celulares estudiados en preparaciones histológicas. Hematoxilina-eosina (figs. 24 y 5) y Masson (figs. 1 y 3).

Figuras 6 a 9.- Aspecto general de las células del testículo y detalle de los tipos celulares estudiados en las citologías. Tinción policrómica (Diff-Quick).

Figura 1.- Aspecto general de los túbulos seminíferos. Se observan todas las células de la serie espermatogénica. (Agosto; 288 x).

Figura 2.- Espermatogonias. (Febrero; 720 x).

Figura 3.- Espermatocitos I en zigotene (parte inferior) y en paquitene (parte superior). (Agosto; 720 x).

Figura 4.- Espermatocitos II. (Julio; 720 x).

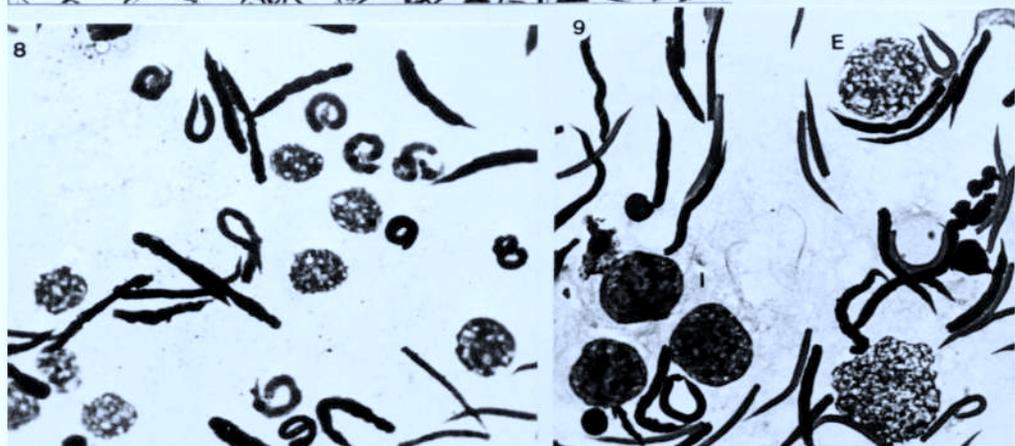
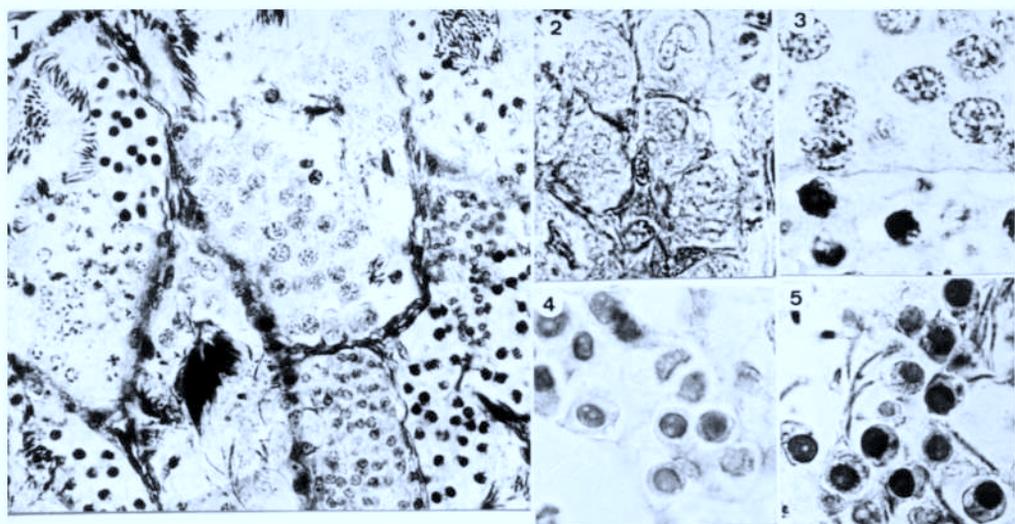
Figura 5.- Espermatidas. (Julio; 720 x).

Figura 6.- Aspecto general de una citología. Se señalan mediante flechas espermatogonias (E), espermatocitos I (1) y espermatocitos II + espermatidas (P); se observan numerosos espermatozoides. (Agosto; 288 x).

Figura 7.- Espermatogonias y espermatozoides, alguno de ellos enrollados (flecha). (Febrero; 720 x).

Figura 8.- Espermatocitos II + espermatidas y espermatozoides. (Agosto; 720 x).

Figura 9.- Espermatogonias (E), espermatocitos I(I) y espermatozoides. (Febrero; 720 x).



Bufo calamita Laurenti.

Apo lasterkaria.

Sapo corredor

En las preparaciones histológicas, la diferenciación de los distintos tipos celulares no ofrece problemas; la relación entre el núcleo y el citoplasma diferencia netamente los espermatoцитos II de las espermátidas, a pesar de que presenten tamaños celulares similares.

En las citologías, la identificación de las células es relativamente sencilla, dado el tamaño y morfología de los distintos tipos celulares, con la excepción de los espermatoцитos II y las espermátidas, que son muy similares y no han podido diferenciarse entre sí; los resultados para estas células se presentan agrupados. Hay que señalar que aparecen también células de características intermedias entre los espermatoцитos I y II, cuya identificación es problemática.

Los valores medios característicos de cada tipo celular estudiado en esta especie se presentan en forma de tabla al final del texto descriptivo; a continuación, se presenta la lámina 6, donde se reproducen el aspectage general de las preparaciones y los tipos celulares estudiados, tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías.

Espermatogonias: En las preparaciones histológicas, estas células tienen un tamaño medio de 14,56 micras y son del tipo característico. En las citologías, su tamaño medio es de 18,66 micras. Se trata de células grandes, con una granulación clara, laxa, y con algunos espacios interiores claros o blanquecinos. El límite celular suele ser irregular. Con frecuencia aparecen rotas, fragmentadas. Su tamaño es bastante variable.

Espermatocitos I: En las preparaciones histológicas, estas células son menores que las espermatogonias, con un tamaño medio de 10,16 micras; se han observado en dos fases distintas: zigotene y paquitene. En las citologías, su tamaño medio es de 11,97 micras. Sus contornos celulares están bien definidos; se tiñen de forma intensa y su granulación es uniforme y, a la vez, fina y densa, ofreciendo un aspecto bastante compacto.

Espermatocitos II: En las preparaciones histológicas, este tipo celular se caracteriza por un tamaño medio de 6,48 micras; su núcleo tiene un diámetro de 4,24 micras ($S = 0,67$; $N = 46$).

Espermátidas: En las preparaciones histológicas, su tamaño medio es de 6,0 micras, siendo su núcleo de 3,28 micras ($S = 0,54$; $N = 25$).

Espermatocitos II + Espermátidas: En las citologías, ambos tipos celulares tiene un aspecto y tamaño similar; su diámetro medio es de 8,08 micras. Presentan un límite celular irregular, poco definido, y una granulación gruesa e irregular.

	PREPARACIONES HISTOLOGICAS				CITOLOGIAS			
	Rango	Ø medio	S	N	Rango	Ø medio	S	N
Espermatogonia	11-20	14,57	1,78	53	15-26	18,66	2,44	74
Espermatocito I	8-12	10,16	1,12	55	10-17	11,97	1,50	80
Espermatocito II	5-8	6,48	0,75	46	---	---	---	---
Espermátida	5-7	6,0	0,76	25	---	---	---	---
Espermatocito II + Espermátida					7-10	8,08	0,76	82

Valores de tamaño característicos de los distintos tipos celulares estudiados tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías; se presentan los rangos de tamaño, el valor medio del diámetro celular (\emptyset), su desviación típica (S) y el tamaño de la muestra (N).

LAMINA 6: *Bufo calamita*.

Figuras 1 a 4.- Aspecto general de los túbulos seminíferos y detalle de los tipos celulares estudiados en preparaciones histológicas. Hematoxilina-eosina (figs. 2 y 4) y Masson (figs. 1 y 3).

Figuras 5 a 9.- Aspecto general de las células del testículo y detalle de los tipos celulares estudiados en las citologías. Tinción policrómica (Diff-Quick).

Figura 1.- Aspecto general de los túbulos seminíferos. Se observan todas las células de la serie espermatogénica. (Agosto; 288 x).

Figura 2.- Se observan mayoritariamente espermatocitos II (II); también dos espermatogonias (E), espermatidas en distintas fases de la elongación (D), núcleos de células de Sertoli (S) y espermatozoides. (Marzo; 720 x).

Figura 3.- Espermatocitos I en zigotene (parte superior), en paquitene (mitad inferior izquierda) y en diplotene (mitad inferior derecha). (Agosto; 720 x).

Figura 4.- Espermátidas. (Marzo; 720 x).

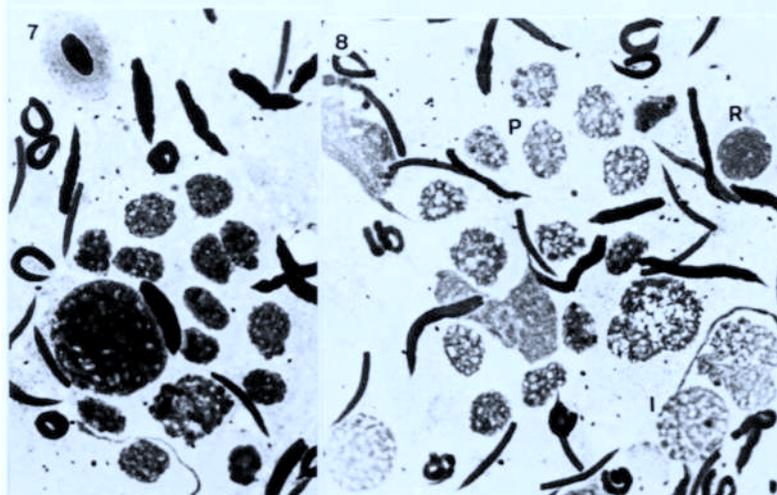
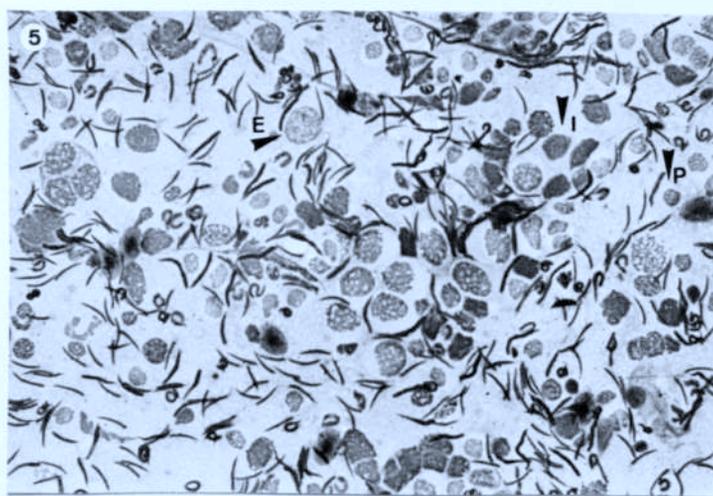
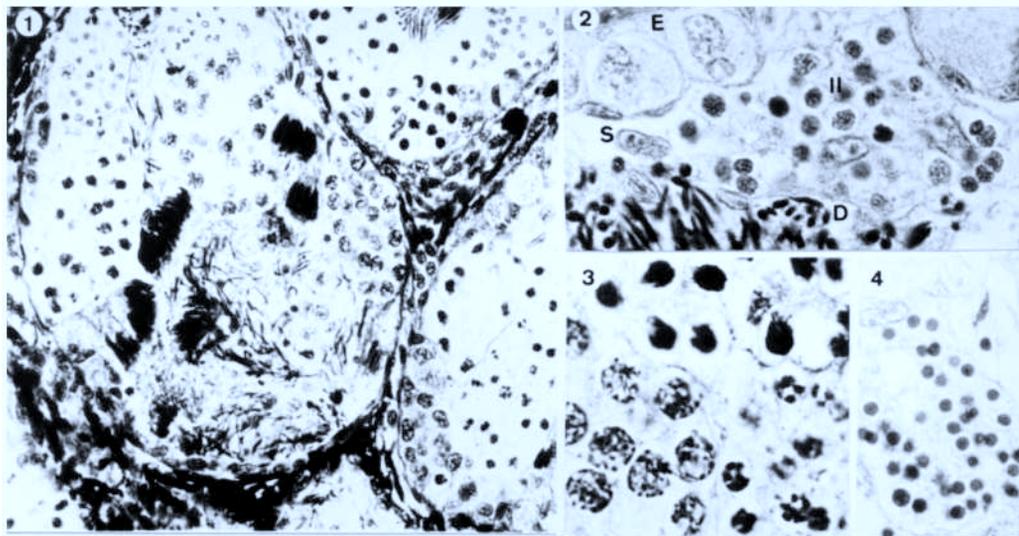
Figura 5.- Aspecto general de una citología. Se observan espermatogonias (E), espermatocitos I (I), espermatocitos II + espermátidas (P) y espermatozoides. (Agosto; 627 x).

Figura 6.- Espermatogonia, eritrocito (R) y espermatozoides. (Agosto; 720 x).

Figura 7.- Espermatogonia, espermatocitos II + espermátidas, espermatozoides y eritrocito. (Julio; 720 x).

Figura 8.- Espermatocitos II + espermátidas (P), espermatocitos I(I), espermatozoides y núcleo de eritrocito (R). (Julio; 720 x).

Figura 9.- Espermatocitos I y espermatozoides. (Marzo; 720 x).



Hyla arborea (L).
Zuhaitz-igel arrunta
Ranita de San Antonio

El escaso material con que se ha contado para esta especie no ha permitido que puedan ser descritos los espermatoцитos II ni las espermátidas en las citologías.

En las preparaciones histológicas, la diferenciación de los distintos tipos celulares no comporta dificultades; se han observado dos tipos de espermatoцитos I. En las citologías, no hay problemas para la diferenciación entre las espermatogonias y los espermatoцитos I. En cambio, no se han podido diferenciar los espermatoцитos II de las espermátidas y los resultados para los dos tipos celulares se presentan agrupados.

Los valores medios característicos de cada tipo celular estudiado en esta especie se presentan en forma de tabla al final del texto descriptivo; a continuación, se presenta la lámina 7, donde se reproducen el aspecto general de las preparaciones y los tipos celulares estudiados, tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías.

Espermatogonias: En las preparaciones histológicas, estas células presentan un tamaño medio de 14,52 micras; su aspecto es típico y son redondas o ligeramente alargadas. En las citologías, su tamaño medio es de 14,43 micras; la forma es muy irregular, aunque siguen presentando una granulación característica: fina y laxa, con espacios vacíos notables. Se tiñen de forma suave.

Espermatoцитos I: En las preparaciones histológicas, estas células son notablemente menores que las espermatogonias: 9,72 micras de diámetro. Se

han observado en fase de paquitene y diplotene. En las citologías, su tamaño medio es de 10,07 micras. Tienen forma circular o ligeramente ovalada, con los contornos celulares claramente definidos; presentan un aspecto característico: compacto y homogéneo, sin esbozo de granulaciones. Se tiñen ligeramente más que las espermatogonias.

Espermatocitos II: En las preparaciones histológicas, presentan un tamaño medio de 7,59 micras; su núcleo tiene un diámetro medio de 4,89 micras (S = 0,74; N = 14).

Espermátidas: En las preparaciones histológicas, estas células tiene un tamaño similar al de los espermatocitos II: 7,37 micras. Su núcleo es ligeramente excéntrico y tiene un diámetro medio de 4,27 micras (S = 0,41; N = 20). La proporción entre el núcleo y el citoplasma es similar en ambos casos.

Espermatocitos II + Espermátidas: En las citologías, ambos tipos celulares tiene aspecto y tamaño similar; su diámetro medio es de 8,15 micras. Son células de forma redonda o alargada, con el límite celular bien delimitado; no presentan granulación y se tiñen de forma intensa, con zonas más densas, a modo de manchas.

	PREPARACIONES HISTOLOGICAS				CITOLOGIAS			
	Rango	Ø medio	S	N	Rango	Ø medio	S	N
Espermatogonia	11-19	14,52	1,82	104	11-25,5	14,43	2,35	128
Espermatocito I	8-12	9,72	0,85	71	8-13	10,07	0,90	131
Espermatocito II	6-9	7,59	0,85	14	---	---	---	---
Espermátida	6-9	7,37	0,79	20	---	---	---	---
Espermatocito II + Espermátida					7-10	8,15	0,81	43

Valores de tamaño característicos de los distintos tipos celulares estudiados tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías; se presentan los rangos de tamaño, el valor medio del diámetro celular (Ø), su desviación típica (S) y el tamaño de la muestra (N).

LAMINA 7: *Hyla arborea*

Figuras 1 a 5.- Detalle de los tipos celulares del testículo estudiados en preparaciones histológicas. Hematoxilina-eosina.

Figuras 6 a 8.- Aspecto general de las células del testículo y detalle de los tipos celulares estudiados en las citologías. Tinción policrómica (Diff-Quick).

Figura 1.- Espermatogonias (E), espermatozoides y núcleos de células de Sertoli (S). (Abril; 720 x)

Figura 2.- Espermatocitos I en paquitene. (Junio; 720 x).

Figura 3.- Espermatocitos I en diplotene. (Abril; 720 x).

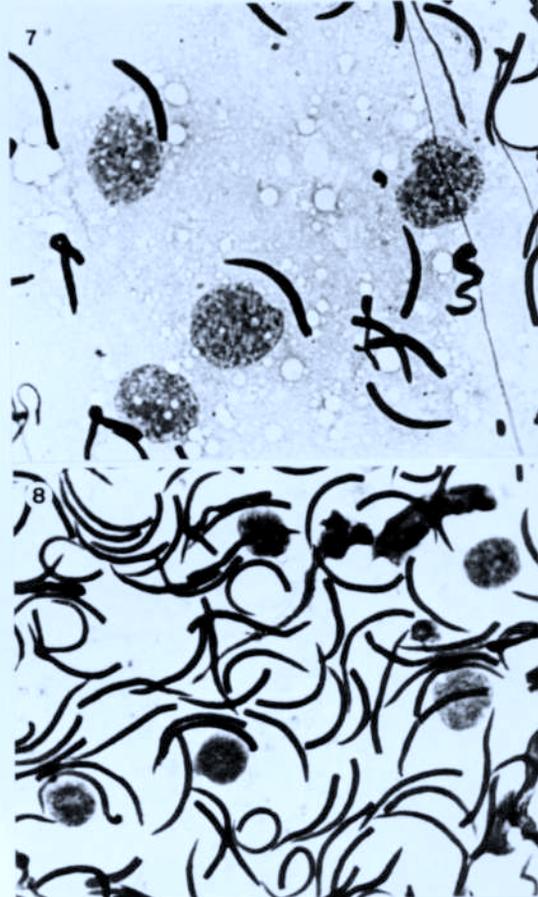
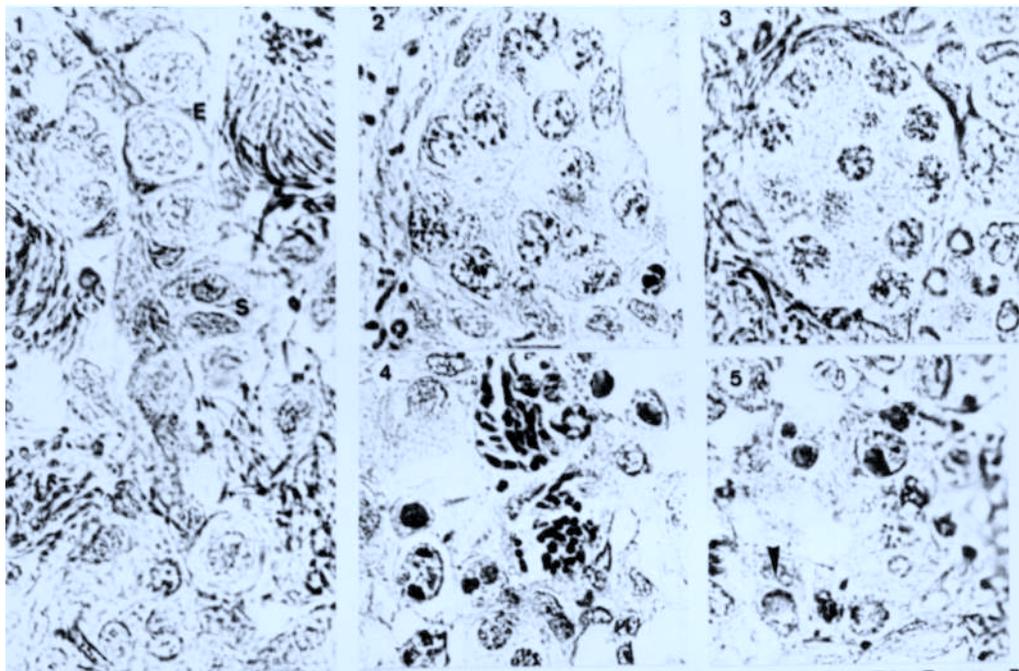
Figura 4.- Espermatocitos II. (Junio; 720 x).

Figura 5.- Espermátidas (flecha). (Junio; 720 x).

Figura 6.- Aspecto general de una citología. Se observan mayoritariamente espermatozoides; hay también espermatoocitos I (flecha, 1) y una espermatogonia (E). (Abril; 288 x).

Figura 7.- Espermatogonias y espermatozoides. (Abril; 720 x).

Figura 8.- Espermatocitos I y espermatozoides. (Abril; 720 x).



Hyla meridionalis (Boettger).

Hegoaldeko zuhaitz-igela

Ranita meridional

En las preparaciones histológicas, la diferenciación de los distintos tipos celulares no presenta dificultades; se han observado dos tipos de espermatocitos I. En las citologías, apenas hay dificultades en la identificación de los distintos tipos celulares. Señalar, quizás, que dada la escasez de material, no se cuenta con datos para diferenciar entre espermatocitos II y espermátidas y de ahí que se presenten conjuntamente los resultados para ambos tipos celulares, a pesar de que la práctica totalidad de éstos sean espermatocitos II.

Los valores medios característicos de cada tipo celular estudiado en esta especie se presentan en forma de tabla al final del texto descriptivo; a continuación, se presenta la lámina 8, donde se reproducen el aspecto general de las preparaciones y los tipos celulares estudiados, tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías.

Espermatogonias: En las preparaciones histológicas, estas células presentan un tamaño medio de 14,08 micras. En las citologías, su tamaño medio es de 15,02 micras; presentan un aspecto característico: granulación muy fina, laxa, y tinción suave y uniforme.

Espermatocitos I: En las preparaciones histológicas, estas células son algo menores que las espermatogonias, ya que su tamaño medio es de 10,20 micras. Se han observado dos formas: leptotene y zigotene. En las citologías, su tamaño es de 11,29 micras. Presentan una granulación gruesa y uniforme y se tiñen de forma intensa; los límites celulares están muy bien definidos.

Espermatocitos II: En las preparaciones histológicas, su tamaño medio es de 6,25 micras; el núcleo tiene un diámetro medio de 4,21 micras ($S = 0,41$; $N = 42$).

Espermátidas: En las preparaciones histológicas, apenas han sido observadas algunas células: 7; tienen un diámetro medio de 5,71 micras y su núcleo tiene un tamaño medio de 3,29 micras ($S = 0,49$; $N = 7$), valor claramente menor que el que corresponde a los espermatocitos II.

Espermatocitos II + Espermátidas: En las citologías, estas células en su conjunto presentan un tamaño medio de 8,12 micras; como hemos mencionado, la mayor parte de ellas son espermatocitos II. Presentan una granulación gruesa desigual y el contorno celular, que es irregular, no está bien definido.

	PREPARACIONES HISTOLOGICAS				CITOLOGIAS			
	Rango	Ø medio	S	N	Rango	Ø medio	S	N
Espermatogonia	12-17	14,08	1,35	26	11-21	15,02	2,14	59
Espermatocito I	8-12	10,20	1,06	39	9-14	11,29	1,17	44
Espermatocito II	5-7	6,25	0,62	42	---	---	---	---
Espermátida	5-7	5,71	0,81	7	---	---	---	---
Espermatocito II + Espermátida					6-11	8,12	0,85	59

Valores de tamaño característicos de los distintos tipos celulares estudiados tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías; se presentan los rangos de tamaño, el valor medio del diámetro celular (\emptyset), su desviación típica (S) y el tamaño de la muestra (N).

LAMINA 8: *Hyla meridionalis*

Figuras 1 a 5.- Aspecto general de los túbulos seminíferos y detalle de los tipos celulares estudiados en las preparaciones histológicas. Masson (figs. 1, 2, 3, y 4) y hematoxilina-eosina (fig. 5).

Figuras 6 a 10.- Aspecto general de las células del testículo y detalle de los tipos celulares estudiados en las citologías. Tinción policrómica (Diff-Quick).

Figura 1.- Aspecto general de los túbulos seminíferos. Se observan todas las células de la serie espermatogénica. (Noviembre; 288 x).

Figura 2.- Espermatogonias. (Noviembre; 627 x).

Figura 3.- Espermátocitos I en zigotene (ángulo superior izquierdo) y en leptotene. (Noviembre; 720 x).

Figura 4.- Espermátocitos II y algunos espermatozoides (parte inferior). (Noviembre; 720 x).

Figura 5.- Espermátidas. (Abril; 720 x).

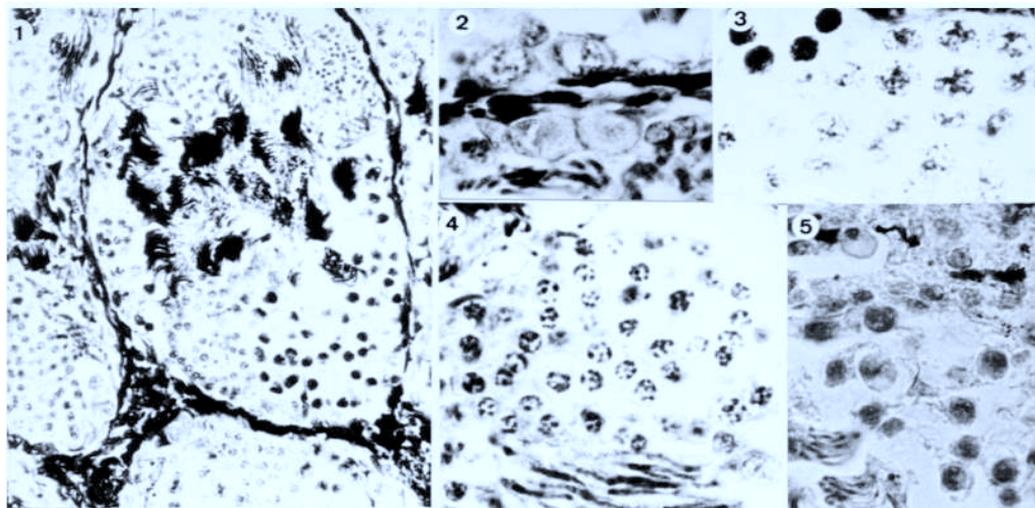
Figura 6.- Aspecto general de una citología. Se observan espermatogonias (E), espermátocitos I (I), espermátocitos II + espermátidas (P), espermatozoides y un eritrocito (R). (Noviembre; 288 x).

Figura 7.- Eritrocito, núcleo de eritrocito y espermatozoides. (Noviembre; 720 x).

Figura 8.- Espermatogonias y espermatozoides. (Noviembre; 720 x).

Figura 9.- Espermátocitos I (I), espermatozoides y núcleos de eritrocitos (R). (Noviembre; 720 x).

Figura 10.- Espermátocitos II + espermátidas (P), espermatozoides y una espermatogonia (E). (Noviembre, 720 x).



Rana dalmatina Bonaparte

Baso-igel jauzkaria

Rana ágil

En las preparaciones histológicas, la identificación de los diferentes tipos celulares no ofrece problema alguno; no se aportan datos sobre los espermatoцитos II, dado que el escaso material y el tipo de sección que presentan en las preparaciones así lo aconsejan. En las citologías, la identificación de los distintos tipos celulares es relativamente sencilla y no entraña excesivos problemas salvo para los espermatoцитos II y las espermátidas; pese a que se diferencian, en general, entre sí, hay presentes también células de características intermedias entre ambos. Se ha considerado conveniente añadir a la descripción específica de cada uno de estos dos tipos celulares la descripción del conjunto, con objeto de resolver el problema de las células cuya asignación es dudosa.

Los valores medios característicos de cada tipo celular estudiado en esta especie se presentan en forma de tabla al final del texto descriptivo; a continuación, se presenta la lámina 9, donde se reproducen el aspecto general de las preparaciones y los tipos celulares estudiados, tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías.

Espermatogonias: En las preparaciones histológicas, estas células tienen un tamaño medio de 13,59 micras; su forma es, por lo general, alargada o redonda. En las citologías, su tamaño medio es de 14,54 micras. Son células grandes, redondeadas o alargadas. Se tiñen de forma bastante intensa, por lo general, y la granulación que presentan es fina y, a la vez, densa. Presentan una gran variabilidad en su tamaño.

Espermatoцитos I: En las preparaciones histológicas, estas células son sensiblemente inferiores a las espermatogonias; su tamaño medio es de 7,89

micras. Únicamente se han observado en fase de zigotene. En las citologías, presentan un diámetro medio de 11,75 micras, Son redondas y el límite celular está bien definido; ofrecen un aspecto compacto y su tinción es, por lo general, oscura. No presentan granulaciones.

Espermatocitos II: En las citologías, se observan tipos o formas tipo cuya filiación parece segura, pero la presencia de células de aspecto “intermedio” obliga a un tratamiento conjunto o agrupado; estas células tipo son de pequeño tamaño, ya que su valor medio es de 6,85 micras; su tinción es, por lo general, suave y uniforme. Tienen una forma celular bien definida y no presentan granulación alguna.

Espermátidas: En las preparaciones histológicas, estas células tienen un tamaño medio de 5,17 micras, siendo su núcleo de 3,40 micras (S = 0,50; N = 30). En las citologías, se hace extensivo el comentario realizado para los espermatocitos II; el tamaño medio de estas células tipo es de 5,37 micras; presentan el contorno celular bien definido, no tienen granulaciones y se tiñen, por lo general, de forma densa y, a la vez, uniforme.

Espermatocitos II + Espermátidas: En las citologías, el conjunto de ambos tipos celulares presenta un tamaño medio de 6,18 micras, con valores que oscilan entre 4 y 8 micras. Se han observado otras células de dimensiones similares, con una tinción uniforme y contorno celular bien definido, cuya identificación no se ha podido asegurar; han sido consideradas, finalmente, como células de este conjunto.

	PREPARACIONES HISTOLOGICAS				CITOLOGIAS			
	Rango	Ø medio	S	N	Rango	Ø medio	S	N
Espermatogonia	11-17	13,59	1,58	32	11-23	14,54	2,20	85
Espermatocito I	6-9	7,89	0,56	38	9-14	11,75	1,11	57
Espermatocito II	---	---	---	---	6-8	6,85	0,62	65
Espermátida	4-6	5,17	0,59	30	4-7	5,37	0,73	54
Espermatocito II + Espermátida					4-8	6,18	1,00	119

Valores de tamaño característicos de los distintos tipos celulares estudiados tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías; se presentan los rangos de tamaño, el valor medio del diámetro celular (Ø), su desviación típica (S) y el tamaño de la muestra (N).

LAMINA 9: *Rana dalmatina*

Figuras 1 a 4.- Aspecto general de un túbulo seminífero y detalle de los tipos celulares estudiados en preparaciones histológicas. Hematoxilina-eosina.

Figuras 5 a 7.- Aspecto general de las células del testículo y detalle de los tipos celulares estudiados en las citologías. Tinción policrómica (Diff-Quick).

Figura 1.- Aspecto general de un túbulo seminífero. Se observan todas las células de la serie espermatogénica; en la parte inferior se aprecian espermatozoides unidos a células de Sertoli. (Agosto; 288 x).

Figura 2.- Espermátocitos I en zigotene y espermátocitos II. (Agosto; 720 x).

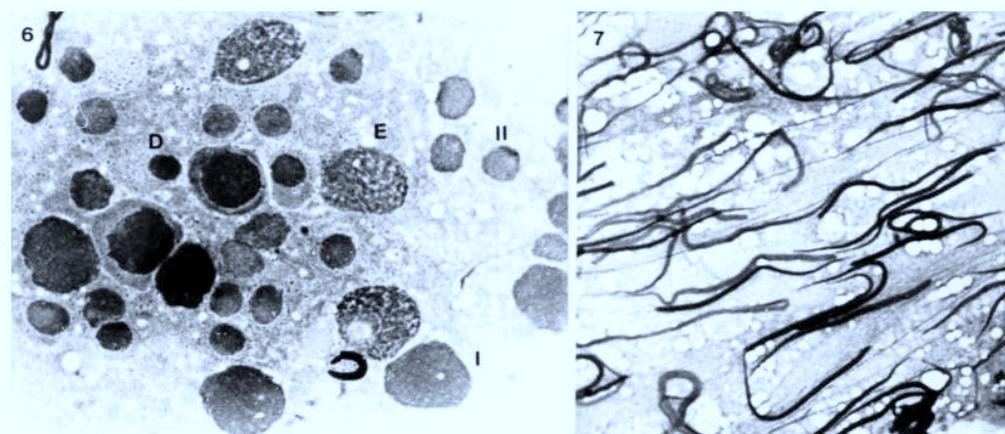
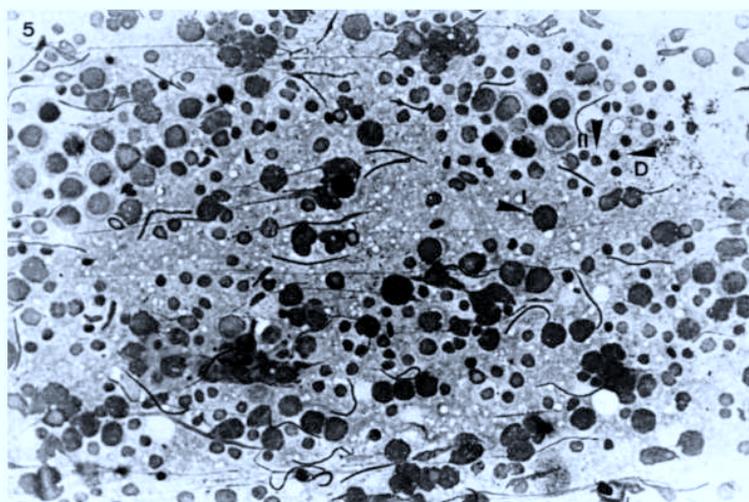
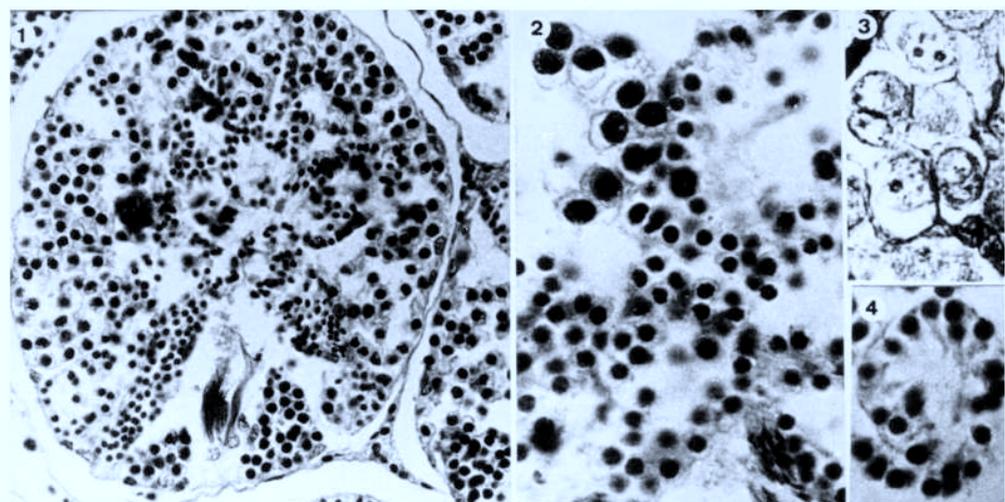
Figura 3.- Espermátogonias. (Mayo; 720 x).

Figura 4.- Espermátidas, algunas en elongación. (Agosto; 720 x).

Figura 5.- Aspecto general de una citología. Se observan espermátocitos I (I), espermátocitos II (II), espermátidas (D) y espermatozoides. (Agosto; 288 x).

Figura 6.- Espermátogonias (E), espermátocitos I (I), espermátocitos II (II), espermátidas (D) y algunos espermatozoides. (Agosto; 720 x).

Figura 7.- Espermatozoides. (Mayo; 720 x).



Rana iberica Boulenger

Baso-igel iberiarra

Rana patilarga

En las preparaciones histológicas, la identificación de los distintos tipos celulares no ofrece problemas, en general; se han observado dos formas de espermatoцитos I. En las citologías, la identificación de los distintos tipos celulares no ofrece dificultad, excepto para los espermatoцитos II y las espermátidas, que no han podido ser diferenciados entre sí; se presentan, por tanto, los resultados para ambos tipos celulares agrupados. Aparecen dos tipos reconocibles de espermatoцитos I, como en las preparaciones histológicas, ambos diferenciables. Se manifiesta, también, una gradación en los tamaños de los distintos tipos celulares que dificulta, en ocasiones, la identificación.

Los valores medios característicos de cada tipo celular estudiado en esta especie se presentan en forma de tabla al final del texto descriptivo; a continuación, se presenta la lámina 10, donde se reproducen el aspecto general de las preparaciones y los tipos celulares estudiados, tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías.

Espermatogonias: En las preparaciones histológicas, estas células tienen un tamaño medio de 16,72 micras; suelen ser, por lo general, ovaladas. En las citologías, su tamaño medio es de 16,28 micras. Son células redondas u ovaladas y presentan una granulación muy fina, característica. Se tiñen de forma suave y uniforme, sin dejar espacios o huecos claros. La variabilidad en su tamaño es elevada.

Espermatoцитos I: En las preparaciones histológicas, su tamaño medio es de 11,35 micras. Se han diferenciado 3 formas: leptonene, zigotene y pa-

quitene. En las citologías, presentan un diámetro medio de 14,0 micras. Se tiñen de forma intensa. Se han diferenciado dos formas: una con una granulación densa, gruesa, y una tinción desigual, y otra que carece de granulación y cuya tinción es uniforme; ambas formas están en relación con la fase de división celular y su tinción es, por lo general, bastante intensa.

Espermatocitos II: En las preparaciones histológicas, presentan un tamaño medio de 6,94 micras, siendo su núcleo de un diámetro medio de 4,30 micras (S = 0,54; N = 32).

Espermátidas: En las preparaciones histológicas, su tamaño medio es de 5,85 micras, con un núcleo de 3,08 micras (S = 0,18; N = 26).

Espermatocitos II + Espermátidas: En las citologías, se caracterizan por presentar un tamaño medio de 7,82 micras. Son células redondas o alargadas y no se observa granulación alguna en su interior. Se tiñen uniformemente y de forma poco intensa, más bien clara.

	PREPARACIONES HISTOLOGICAS				CITOLOGIAS			
	Rango	Ø medio	S	N	R a n g o	Ø m e d i o	S	N
Espermatogonia	13-23,5	16,72	2,09	61	10-29	16,28	4,47	141
Espermatocito I	10-13,5	11,35	0,99	47	9-19	14,0	1,77	91
Espermatocito II	6-8,5	6,94	0,72	32	---	---	---	---
Espermátida	5,5-7,0	5,85	0,60	26	---	---	---	---
Espermatocito II +Espermátida					5-11	7,82	1,07	143

Valores de tamaño característicos de los distintos tipos celulares estudiados tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías; se presentan los rangos de tamaño, el valor medio del diámetro celular (Ø), su desviación típica (S) y el tamaño de la muestra (N).

LAMINA 10: *Rana iberica*

Figuras 1 a 5.- Aspecto general de los túbulos seminíferos y detalle de los tipos celulares estudiados en las preparaciones histológicas. Hematoxilina-eosina.

Figuras 6 a 10.- Aspecto general de las células del testículo y detalle de los tipos celulares estudiados en las citologías. Tinción policrómica (Diff-Quick).

Figura 1.- Aspecto general de los túbulos seminíferos. Se observan todas las células de la serie espermatogénica. (Julio; 288 x).

Figura 2.- Espermatogonias. (Febrero; 720 x).

Figura 3: Espermatocitos I en leptotene (ángulo superior derecho), en zigotene (parte inferior derecha) y en paquitene (parte izquierda). (Julio; 720 x).

Figura 4.- Espermatocitos II; también se observan espermatocitos I en la parte inferior. (Julio; 720 x).

Figura 5.- Espermatidas. (Julio; 720 x).

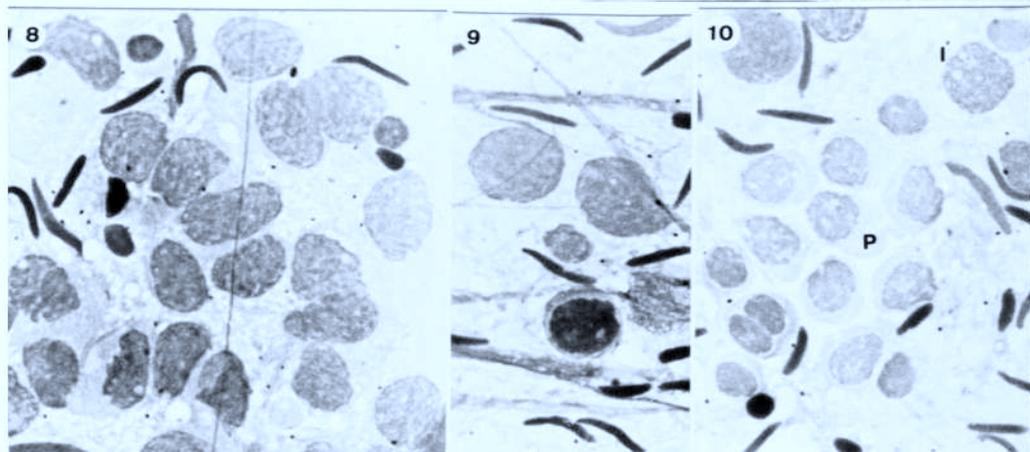
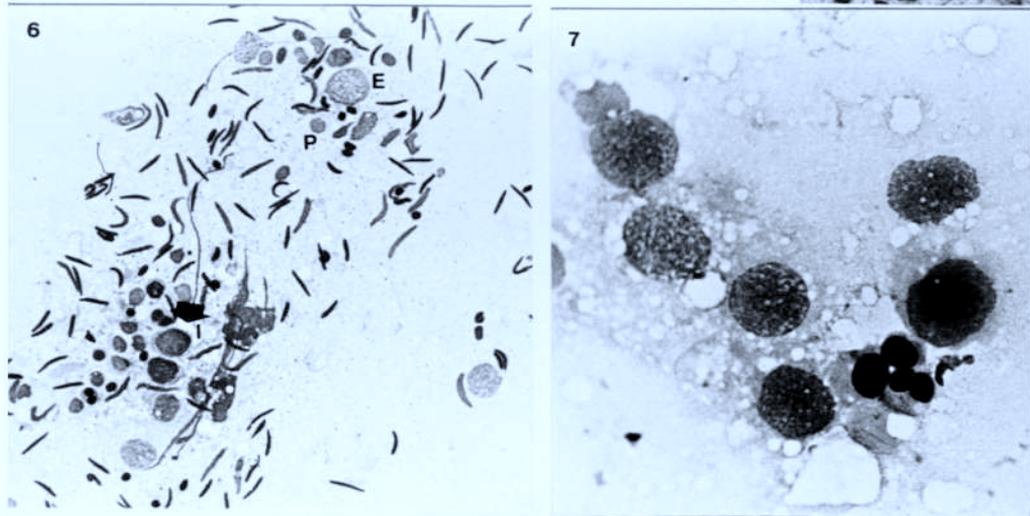
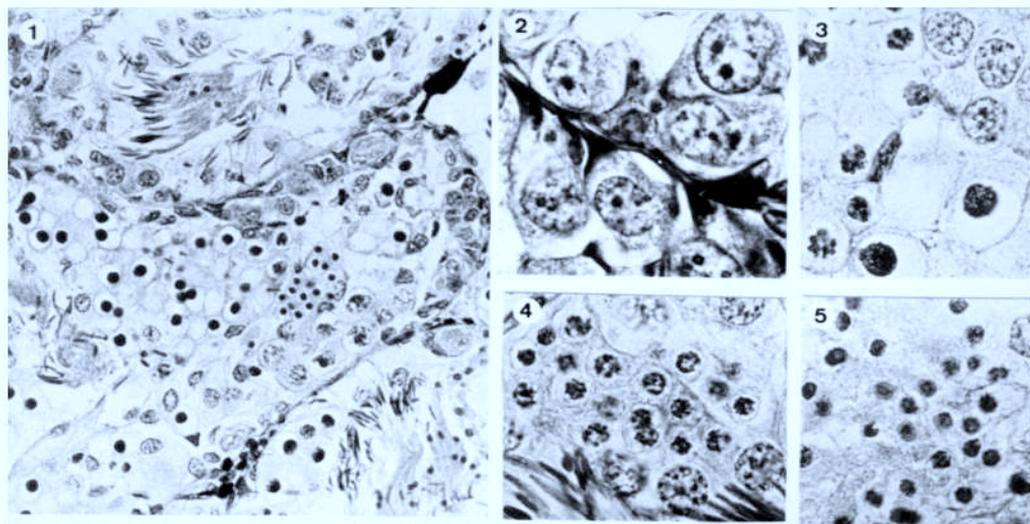
Figura 6.- Aspecto general de una citología. Se observan espermatogonias (E), espermatocitos I (flecha, I), espermatocitos II + espermatidas (P) y espermatozoides. (Julio; 288 x).

Figura 7.- Espermatogonias. (Agosto; 720 x).

Figura 8.- Espermatocitos I, forma granulada, y espermatozoides. (Julio; 720 x).

Figura 9.- Espermatocitos I, forma compacta, y espermatozoides. (Julio; 720 x).

Figura 10.- Espermatocitos II + espermatidas (P), espermatozoides y algunos espermatocitos I(1). (Julio; 720 x).



Rana perezii Seoane

Ur-igela

Rana verde común

En las preparaciones histológicas, la identificación de los distintos tipos celulares no es problemática; se han observado tres formas distintas de espermatoцитos I, según la fase de la división en que se encuentren. En las citologías, la identificación de los distintos tipos celulares no es especialmente problemática; se pueden diferenciar todos los tipos celulares a excepción de los espermatoцитos II y las espermátidas, que no se distinguen entre sí; se presentan los resultados para el conjunto de ambos tipos celulares agrupados. Hay que señalar, también, la presencia de formas bien distintas de espermatoцитos I, que aumentan las dificultades de interpretación.

Los valores medios característicos de cada tipo celular estudiado en esta especie se presentan en forma de tabla al final del texto descriptivo; a continuación, se presenta la lámina II, donde se reproducen el aspecto general de las preparaciones y los tipos celulares estudiados, tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías.

Espermatogonias: En las preparaciones histológicas, estas células tienen un tamaño medio de 15,24 micras. En las citologías, su tamaño medio es de 16,76 micras. Son células grandes, redondeadas, que poseen una granulación marcada; se tiñen de forma suave. Se distingue con claridad su nucléolo. Su tamaño es bastante variable.

Espermatoцитos I: En las preparaciones histológicas, presentan un tamaño medio de 9,93 micras; se han observado en distintas fases de su división reductiva. En las citologías, su tamaño es de 13,33 micras; se tiñen de forma más intensa y presentan una granulación densa.

Espermatocitos II: En las preparaciones histológicas, estas células tienen un tamaño medio de 6,92 micras, siendo su núcleo de un diámetro medio de 4,88 micras ($S = 0,75$; $N = 46$).

Espermátidas: En las preparaciones histológicas, su tamaño medio es de 5,115 micras y su núcleo tiene un diámetro medio de 3,21 micras ($S = 0,41$; $N = 34$).

Espermatocitos II + Espermátidas: En las citologías, ambos tipos celulares presentan unas características similares; su tamaño medio es de 6,08 micras. Presentan una forma más o menos redonda y puede observarse una zona central, irregular, que se tiñe intensamente, en contraste con la zona periférica, mucho más clara.

	PREPARACIONES HISTOLOGICAS				CITOLOGIAS					
	Rango	Ø	medio	S	N	Rango	Ø	medio	S	N
Espermatogonia	11-20	15,24	2,22	63	12-27	16,76	2,87	81		
Espermatocito I	7-13	9,93	1,39	104	8-18	13,33	1,78	94		
Espermatocito II	6-9	6,92	0,88	46	---	---	---	---		
Espermátids	4-7	5,15	0,61	34	---	---	---	---		
Espermatocito II + Espermátida					4-10	6,08	1,26	214		

Valores de tamaño característicos de los distintos tipos celulares estudiados tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías; se presentan los rangos de tamaño, el valor medio del diámetro celular (\emptyset), su desviación típica (S) y el tamaño de la muestra (N).

LAMINA 11: *Rana perezii*

Figuras 1 a 5.- Aspecto general de los túbulos seminíferos y detalle de los tipos celulares estudiados en las preparaciones histológicas. Hematoxilina-eosina.

Figuras 6 a 10.- Aspecto general de las células del testículo y detalle de los tipos celulares estudiados y de eritrocitos en las citologías. Tinción policrómica (Diff-Quick).

Figura 1.- Aspecto general de los túbulos seminíferos. Se observan espermatogonias, espermatocitos I en distintas fases de división, espermátidas, espermatozoides y células de Leydig. (Noviembre; 288 x).

Figura 2.- Espermatogonias y tejido intersticial. (Noviembre; 720 x).

Figura 3.- Espermatocitos I en zigotene (parte superior izquierda) y en paquitene. (Agosto; 288 x).

Figura 4.- Espermatocitos II. (Agosto; 720 x).

Figura 5.- Espermátidas. (Agosto; 720 x).

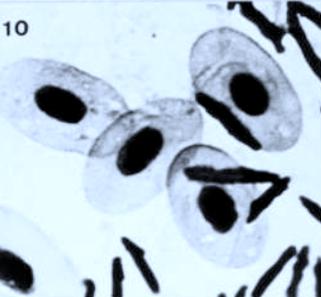
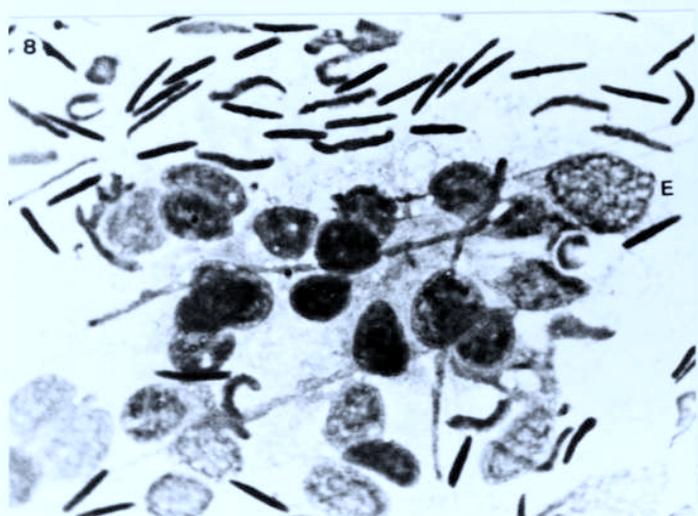
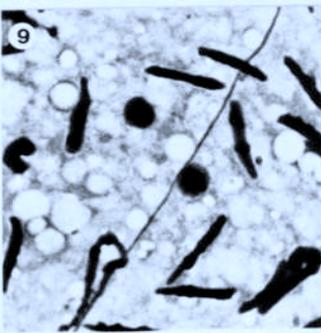
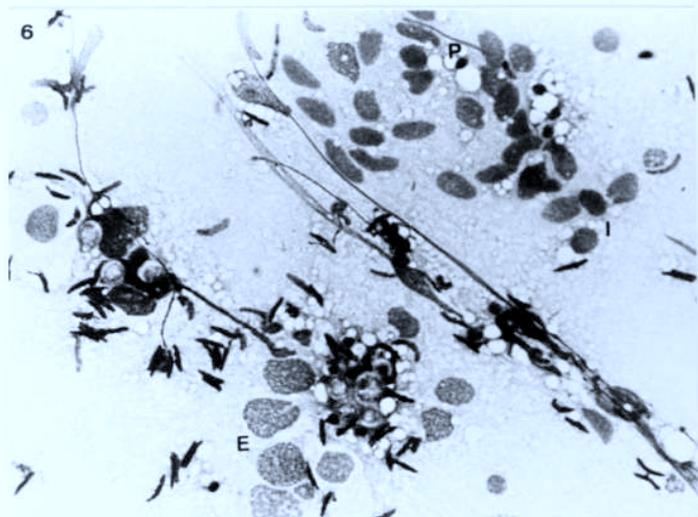
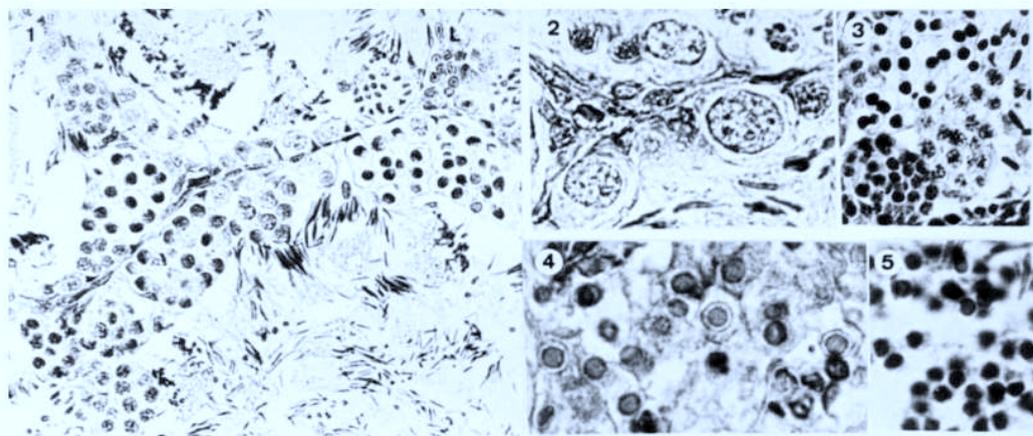
Figura 6.- Aspecto general de una citología. Se observan espermatogonias (E), espermatocitos I, espermatocitos II + espermátidas (P) y espermatozoides. (Agosto; 288 x).

Figura 7.- Espermatogonias (E), espermatocitos I (I) y espermatozoides. (Abril; 627 x).

Figura 8.- Espermatocitos I, espermatozoides y una espermatogonia (E). (Noviembre; 720 x).

Figura 9.- Espermatocitos II + espermátidas y espermatozoides. (Agosto; 720 x).

Figura 10.- Eritrocitos y espermatozoides. (Abril; 720 x).



Rana temporaria L.

Baso-igel gorria

Rana bermeja

En las preparaciones histológicas, la diferenciación de los distintos tipos celulares no es problemática. En las citologías, por el contrario, la identificación es problemática, ya que no ha podido diferenciarse entre espermatoцитos II y espermátidas, que presentan características muy similares; se presentan los resultados para el conjunto de estos dos tipos celulares.

Los valores medios característicos de cada tipo celular estudiado en esta especie se presentan en forma de tabla al final del texto descriptivo; a continuación, se presenta la lámina 12, donde se reproducen el aspecto general de las preparaciones y los tipos celulares estudiados, tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías.

Espermatogonias: En las preparaciones histológicas, presentan un tamaño medio de 11,41 micras y son, por lo general, ovaladas. En las citologías, su tamaño medio es de 15,74 micras. Son grandes y ovaladas; se tiñen de forma suave y su citoplasma presenta una granulación característica, fina y laxa. A menudo, se observa bien el nucléolo, como un punto blanco, refringente, que en ocasiones es doble. Tienen bastante variabilidad en su tamaño.

Espermatoцитos I: En las preparaciones histológicas, estas células tienen un tamaño medio de 9,59 micras y se han observado principalmente en fase de zigotene. En las citologías, su diámetro medio es de 12,17 micras. Se han observado dos formas: una que se tiñe de forma uniforme e intensa, y otra cuya tinción es más suave; en ambas formas, no se observa granulación alguna y su contorno celular está bien definido.

Espermatocitos II: En las preparaciones histológicas, presentan un tamaño medio de 7,0 micras, siendo su núcleo de un diámetro medio de 4,85 micras ($S = 0,44$; $N = 34$). En las citologías, no han sido diferenciados; bien es verdad que se observan tipos o formas tipo, cuya filiación parece segura, pero la presencia de células “intermedias” obliga a un tratamiento conjunto o agrupado.

Espermátidas: En las preparaciones histológicas, su tamaño medio es de 6,22 micras; su núcleo posee un diámetro de 3,86 micras ($S = 0,35$; $N = 64$). En el caso de las citologías, se hace extensivo el comentario realizado para los espermatocitos II.

Espermatocitos II + Espermátidas: En las citologías, estos tipos celulares, considerados en su conjunto, se caracterizan por poseer un tamaño medio de 6,51 micras. Se pueden apreciar dos formas distintas, cuya filiación desconocemos: unas tienen una fina granulación y se tiñen irregularmente y otras no presentan granulación y se tiñen de forma uniforme y más clara; las primeras tienen un diámetro medio de 6,62 micras, mientras que en las segundas este valor es de 6,55 micras. Se puede suponer que las primeras sean espermatocitos II y las segundas espermátidas, pero no afirmarlo categóricamente. Por ello, se ha creído más conveniente presentar los valores para el conjunto total de células de estas características.

	PREPARACIONES HISTOLOGICAS				CITOLOGIAS			
	Rango	Ø medio	S	N	Rango	Ø medio	S	N
Espermatogonia	9-15	11,41	1,42	88	12-20	15,74	2,07	100
Espermatocito I	7-12	9,59	0,95	95	10-15	12,17	1,12	109
Espermatocito II	5-8	7,00	0,89	34	---	---	---	---
Espermátida	5-8	6,22	0,60	64	---	---	---	---
Espermatocito II + Espermátida					5-8	6,51	0,75	222

Valores de tamaño característicos de los distintos tipos celulares estudiados tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías; se presentan los rangos de tamaño, el valor medio del diámetro celular (\emptyset), su desviación típica (S) y el tamaño de la muestra (N).

LAMINA 12: *Rana temporaria*

Figuras 1 a 3.- Aspecto general de los túbulos seminíferos y detalle de los tipos celulares estudiados en las preparaciones histológicas. Hematoxilina-eosina.

Figuras 4 a 7.- Aspecto general de las células del testículo y detalle de los tipos celulares estudiados en las citologías. Tinción policrómica (Diff-Quick).

Figura 1.- Aspecto general de los túbulos seminíferos. Se observan todas las células de la serie espermatogénica. (Agosto; 288 x).

Figura 2.- Espermatogonias. (Mayo; 720 x).

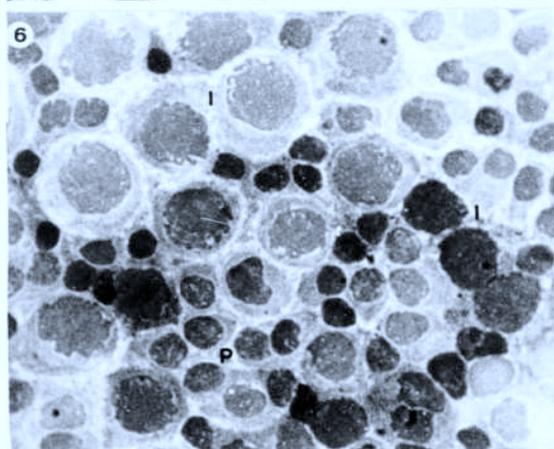
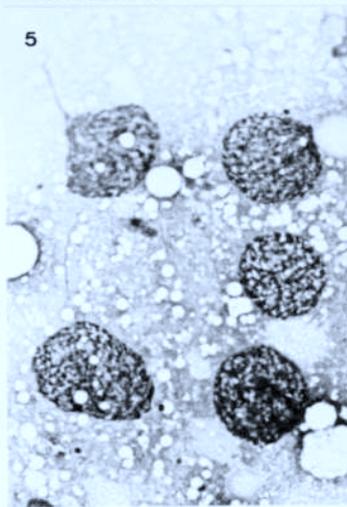
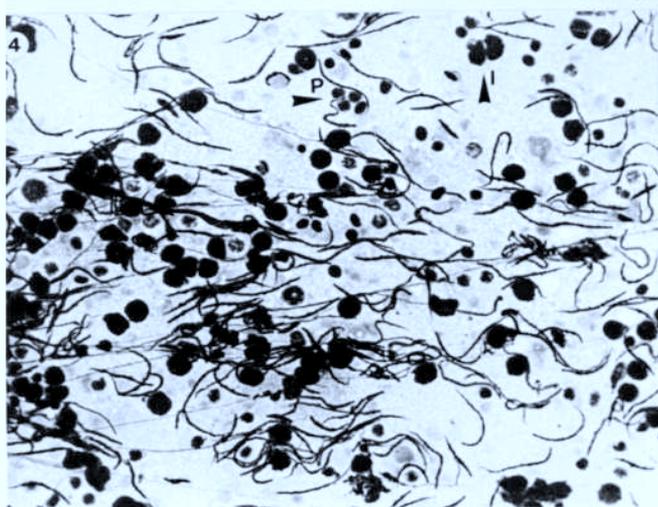
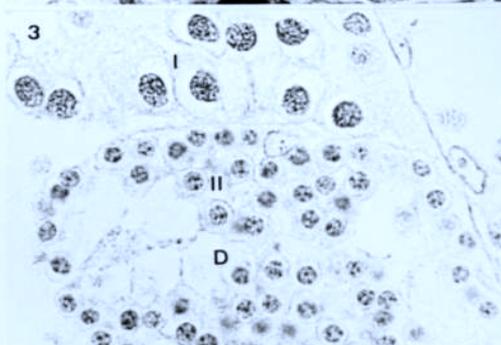
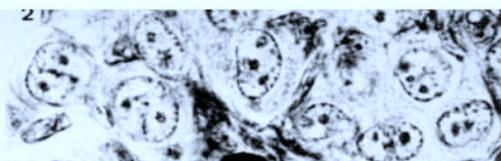
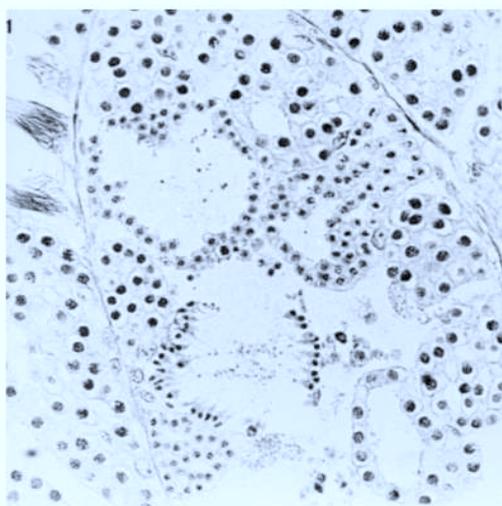
Figura 3.- Espermatocitos I en zigotene (I), espermatocitos II (II) y espermatidas (D). (Agosto; 720x).

Figura 4.- Aspecto general de una citología. Se observan espermatocitos I (I), espermatocitos II + espermatidas (P) y espermatozoides. (Agosto; 288 x).

Figura 5.- Espermatogonias. (Julio; 288 x).

Figura 6.- Espermatocitos I (I) y espermatocitos II + espermatidas (P). (Agosto; 720 x).

Figura 7.- Espermatocitos I (I), espermatocitos II + espermatidas (P), espermatogonias (E) y espermatozoides. (Agosto; 720 x).



Chalcides chalcides (L)

Eskinko hiruhatza

Eslizón

En las preparaciones histológicas, no hay problemas para la identificación de los distintos tipos celulares; se han observado varias formas de espermatoцитos I. En las citologías, la identificación de los tipos celulares es problemática; debido, por una parte, al escaso material analizado (1 ejemplar) y, por otra, a la variabilidad de tamaños observada, numerosas células no han podido identificarse con seguridad. Ello obliga a que se presenten exclusivamente los resultados para aquellas células más características o que responden de forma más exacta a un tipo determinado.

Los valores medios característicos de cada tipo celular estudiado en esta especie se presentan en forma de tabla al final del texto descriptivo; a continuación, se presenta la lámina 13, donde se reproducen el aspecto general de las preparaciones y los tipos celulares estudiados, tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías.

Espermatogonias: En las preparaciones histológicas, estas células presentan un diámetro medio de 11,07 micras. En las citologías, su diámetro medio es de 11,82 micras; tienen un aspecto característico: granulación fina, uniformemente repartida. El contorno celular está bien marcado y el nucleolo es visible. Se tiñen de forma débil.

Espermatoцитos I: En las preparaciones histológicas, estas células son de menor tamaño que las espermatogonias; su diámetro medio es de 7,62 micras. Se han observado en distintas fases de su división: leptotene, zigotene y paquitene. En las citologías, su tamaño medio es de 8,61 micras; se han reconocido dos formas: una con una granulación gruesa y densa, regular-

mente repartida, y otra sin granulaci3n aparente y de aspecto compacto, homog3neo. En ambas formas la tinci3n es intensa.

Espermatocitos II: En las preparaciones histol3gicas, estas c3lulas han sido escasas y dif3ciles de medir. Las siete c3lulas medidas presentan tama1os que var3an entre 5 y 7 micras, mientras que los n3cleos var3an entre 3 y 4 micras. En las citolog3as, su tama1o medio es de 6,34 micras; son c3lulas redondas o ligeramente ovaladas, con el l3mite celular bastante bien definido. Tienden a presentar un aspecto compacto y con frecuencia se distinguen unas gruesas granulaciones, que se ti1en heterocrom3ticamente.

Esperm3tidas: En las preparaciones histol3gicas, estas c3lulas tienen un tama1o medio de 5,1 micras, siendo su n3cleo de un di3metro de 2,15 micras ($S = 0,27$; $N = 30$). En las citolog3as, su tama1o medio es de 4,76 micras; tienen una forma redonda o alargada. No presentan granulaci3n y su aspecto es uniforme, m3s o menos compacto. Se ti1en de forma uniforme y no tan intensamente como los espermatocitos I y II.

	PREPARACIONES HISTOLOGICAS				CITOLOGIAS			
	Rango	\emptyset medio	S	N	Rango	\emptyset medio	S	N
Espermatogonia	9-14	11,07	1,52	40	8-15	11,82	1,62	56
Espermatocito I	6-10	7,62	0,77	65	7-11	8,61	1,25	57
Espermatocito II	5-7	---	---	7	5-8	6,34	0,60	48
Esperm3tida	4-6	5,1	0,46	30	4-7	4,76	0,52	82

Valores de tama1o caracter3sticos de los distintos tipos celulares estudiados tanto en las preparaciones histol3gicas como en las citolog3as; se presentan los rangos de tama1o, el valor medio del di3metro celular (\emptyset), su desviaci3n t3pica (S) y el tama1o de la muestra (N).

LAMINA 13: *Chalcides chalcides*

Figuras 1 a 4.- Aspecto general de los túbulos seminíferos y detalle de los tipos celulares estudiados en preparaciones histológicas. Hematoxilina-eosina

Figuras 5 a 7.- Aspecto general de las células del testículo y detalle de los tipos celulares estudiados en las citologías. Tinción policrómica (Diff-Quick).

Figura 1.- Aspecto general de los túbulos seminíferos. Se observan espermatogonias y espermatocitos I. (Agosto; 288 x).

Figura 2.- Espermatogonias de los tipos A (A) y B (B). (Agosto; 720 x).

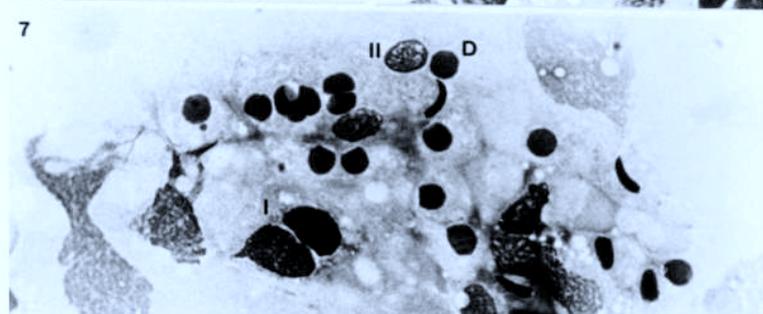
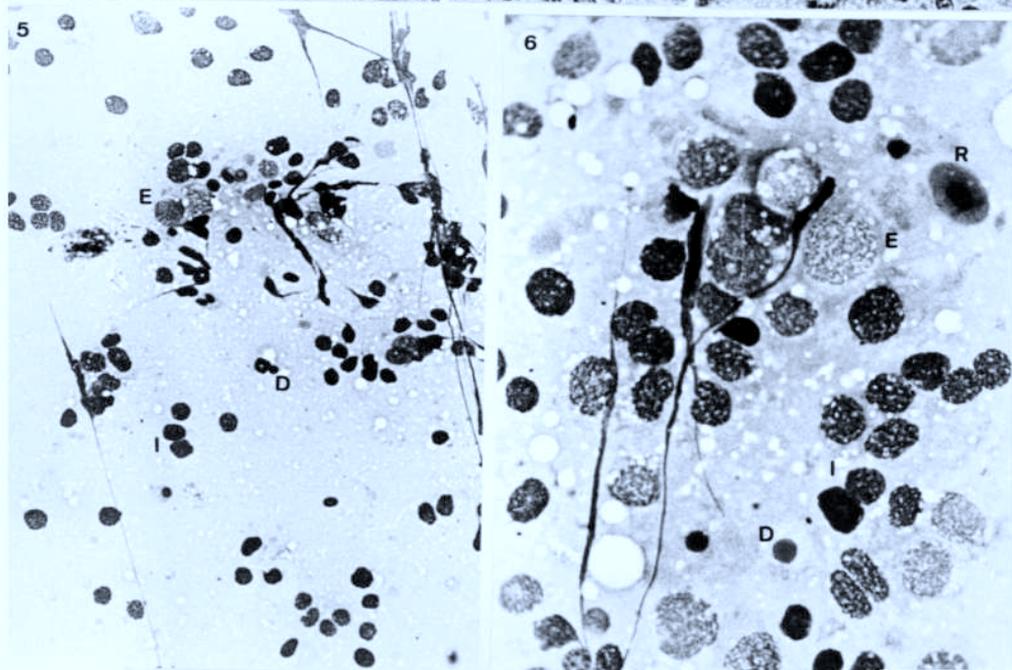
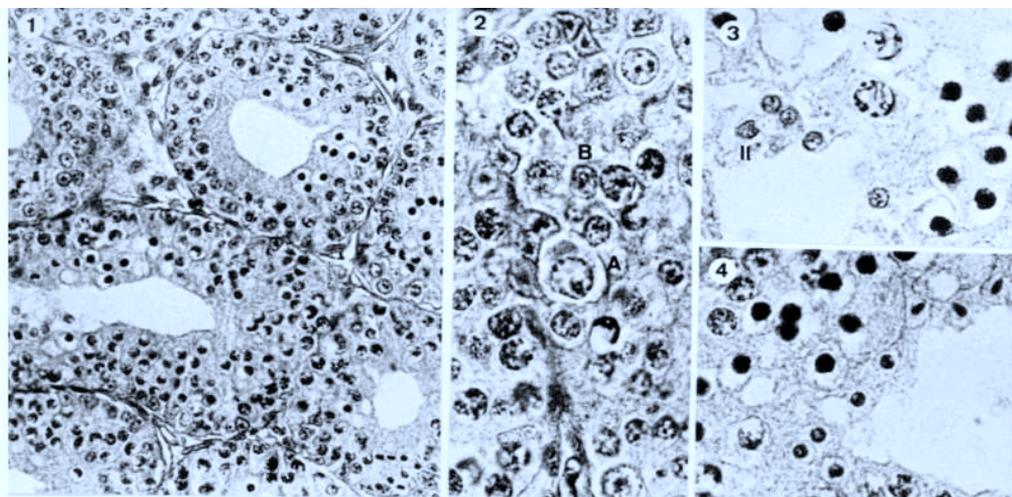
Figura 3.- Espermatocitos I en zigotene y en leptotene, y algunos espermatocitos II (II). (Agosto; 720 x).

Figura 4.- Espermatocitos I en zigotene y espermátidas en la luz del túbulo. (Agosto; 720 x).

Figura 5.- Aspecto general de una citología. Se observan espermatogonias (E), espermatocitos I (I) y espermátidas (D). (Agosto; 288 x).

Figura 6.- Espermatogonias (E), espermatocitos I (I) de dos formas, espermátidas (D) y un eritrocito (R). (Agosto; 720 x).

Figura 7.- Espermatocitos I (I), espermatocitos II (II) y espermátidas (D), algunas en distinto grado de elongación. (Agosto; 720 x).



Lacerta viridis (Laurenti)

Musker berdea

Lagarto verde

En las preparaciones histológicas, la identificación de los distintos tipos celulares no es problemática. En las citologías, la identificación de una gran parte de células no comporta excesivas dificultades, ya que éstas presentan un aspecto característico, siendo las que se han utilizado en las descripciones de los tipos celulares; un cierto número de células, en cambio, presentan características intermedias en cuanto a su forma y tamaño, especialmente entre espermatoцитos I y espermatoцитos II, por lo que resulta muy difícil asignarlas a un tipo celular determinado.

Los valores medios característicos de cada tipo celular estudiado en esta especie se presentan en forma de tabla al final del texto descriptivo; a continuación, se presenta la lámina 14, donde se reproducen el aspecto general de las preparaciones y los tipos celulares estudiados, tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías.

Espermatogonias: En las preparaciones histológicas, estas células tienen un tamaño medio de 11,25 micras. En las citologías, su tamaño medio es de 17,70 micras y presentan gran variabilidad; son células redondas, que presentan una granulación fina, repartida de forma muy homogénea por toda la célula. Se tiñen de forma suave y uniforme; en ocasiones se tiñen más intensamente, presentando entonces la granulación más laxa.

Espermatoцитos I: En las preparaciones histológicas, estas células tienen un tamaño medio de 8,92 micras; se han observado en las fases de zigotene y paquitene. En las citologías, su diámetro medio es de 9,93 micras. Son células redondas u ovaladas, que se tiñen intensamente. Se pueden diferen-

ciar tres formas: una con una granulaci3n gruesa y que se tiñe de forma uniforme, otra con una granulaci3n fina y densa, ofreciendo un aspecto compacto, y, finalmente, una tercera con una granulaci3n gruesa, que ofrece el aspecto de cordones o paquetes fibrosos.

Espermatocitos II: En las preparaciones histol3gicas, estas c3lulas presentan un tamañu medio de 6,22 micras, siendo su n3cleo de un di3metro medio es de 3,88 micras ($S = 0,32$; $N = 45$). En las citolog3as, su tamañu medio es de 6,35 micras; son c3lulas redondas u ovaladas, con el l3mite celular bien definido. Se han diferenciado dos formas: una con una granulaci3n muy gruesa y laxa, y otra con una granulaci3n densa y muy compacta. Numerosas c3lulas son intermedias e incluso similares a los espermatocitos I, en aspecto y dimensiones.

Esperm3tidas: En las preparaciones histol3gicas, estas c3lulas presentan un tamañu medio de 5,53 micras, con un n3cleo de 2,62 micras ($S = 0,47$; $N = 30$) de di3metro. En las citolog3as, su tamañu medio es de 5,41 micras; son c3lulas redondas, que presentan un aspecto similar al de los n3cleos de los eritrocitos. Se tiñen intensamente, bien uniformemente o bien presentando una especie de manchas, y no presentan granulaci3n aparente.

	PREPARACIONES HISTOLOGICAS				CITOLOGIAS					
	Rango	\emptyset	medio	S	N	Rango	\emptyset	medio	S	N
Espermatogonia	9,5-14,5	11,25	1,15	3	4	11-26	17,70	4,02	48	
Espermatocito I	7-11	8,92	0,88	79		8-11,5	9,937	0,77	54	
Espermatocito II	6-7	6,22	0,47	45		4-8	6,35	1,90	112	
Esperm3tida	5-7	5,53	0,63	30		4-7	5,41	0,55	62	

Valores de tamañu caracter3sticos de los distintos tipos celulares estudiados tanto en las preparaciones histol3gicas como en las citolog3as; se presentan los rangos de tamañu, el valor medio del di3metro celular (\emptyset), su desviaci3n t3pica (S) y el tamañu de la muestra (N).

LAMINA 14: *Lacerta viridis*

Figuras 1 a 3.- Aspecto general de los túbulos seminíferos y detalle de los tipos celulares estudiados en preparaciones histológicas. Hematoxilina-eosina.

Figuras 4 a 8.- Aspecto general de las células del testículo y detalle de los tipos celulares estudiados en las citologías. Tinción policrómica (Diff-Quick).

Figura 1.- Aspecto general de los túbulos seminíferos. Se observan todas las células de la serie espermatogénica. (Mayo; 288 x)

Figura 2.- Espermatogonias del tipo A (A), espermátocitos I (I) y espermátocitos II (II). (Mayo; 720 x).

Figura 3.- Espermátocitos II y espermátidas en distintas fases de elongación. (Mayo; 720 x).

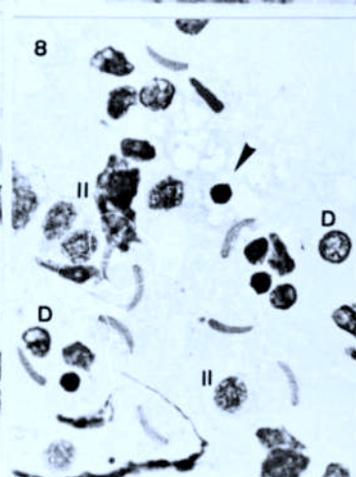
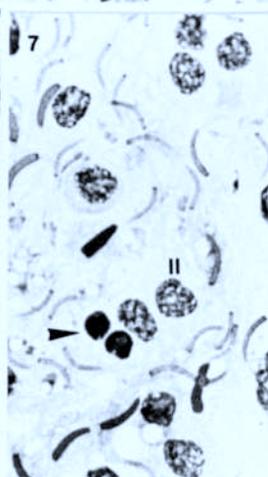
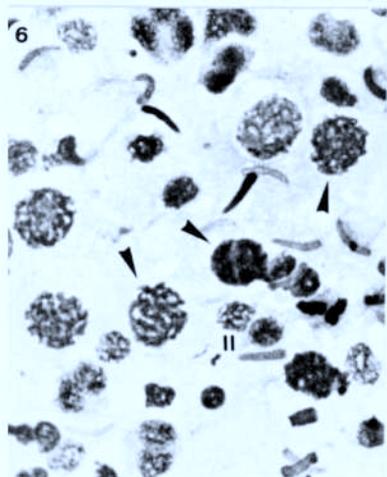
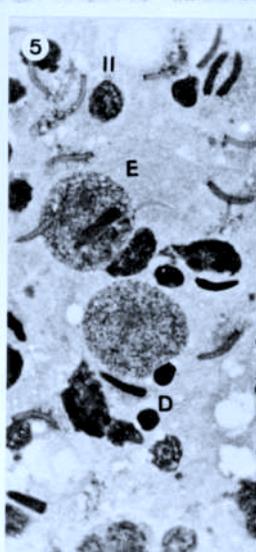
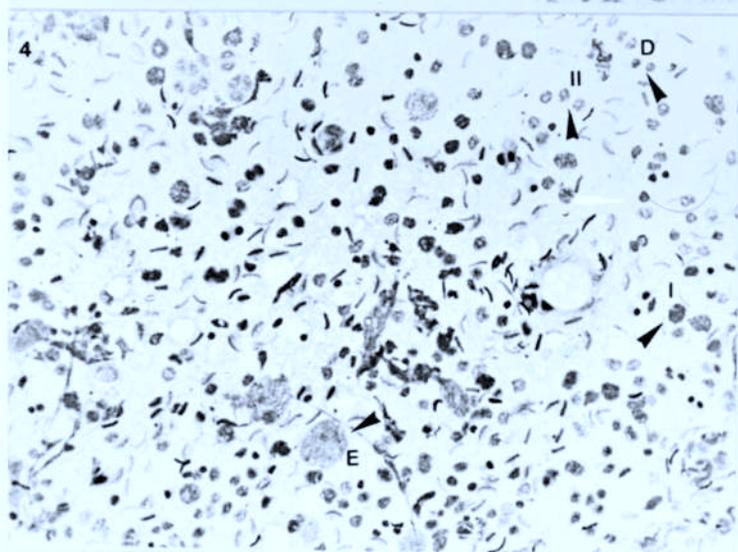
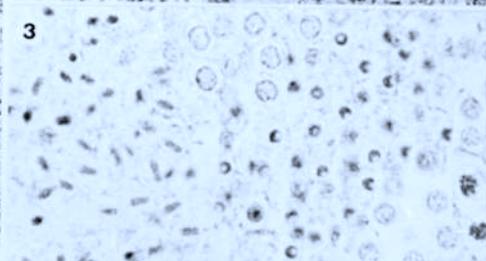
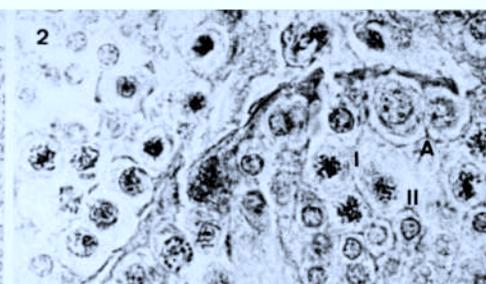
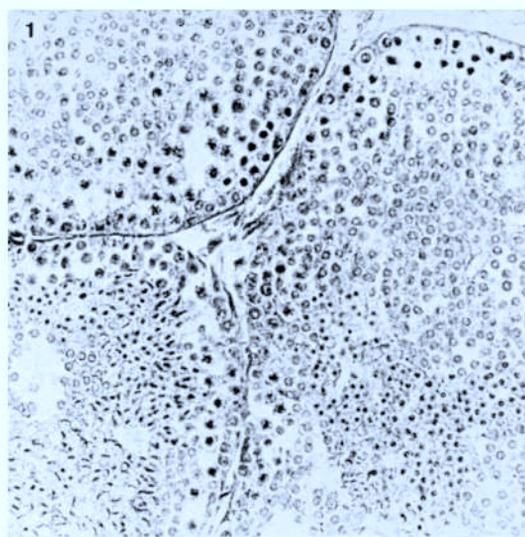
Figura 4.- Aspecto general de una citología. Se observan espermatogonias (E), espermátocitos I (I), espermátocitos II (II), espermátidas (D) y espermatozoides. (Mayo; 288 x).

Figura 5.- Espermatogonias (E), espermátocitos II (II), espermátidas (D) y espermatozoides. (Mayo; 720 x).

Figura 6.- Tres formas de espermátocitos I (flechas), espermátocitos II (II) y espermatozoides. (Mayo; 720 x).

Figura 7.- Espermátocitos II (II) y espermatozoides (se indica mediante flecha la presencia de dos espermatozoides enrollados o espermátidas en la última fase de elongación). (Mayo; 720 x)

Figura 8.- Espermátidas (D), espermátocitos II (II) y espermatozoides (la flecha indica la presencia de un espermatozoide enrollado o de una espermátida en su última en su última fase de elongación). (Mayo; 720 x).



Lacerta vivipara (Jacquin).

Sugandila biziherrulea

Lagartija de turbera

Dado el escaso material con que se ha contado (preparaciones de un único ejemplar), únicamente ha sido posible describir dos tipos celulares: espermatogonias y espermatoцитos I. En las preparaciones histológicas, ambos tipos celulares se diferencian claramente. En las citologías, su identificación, por el contrario, es muy problemática, ya que numerosas células presentan caracteres intermedios en cuanto a forma y tamaño respecto a los tipos que se pueden describir como más característicos, y son los que se han utilizado en las descripciones.

Los valores medios característicos de cada tipo celular estudiado en esta especie se presentan en forma de tabla al final del texto descriptivo; a continuación, se presenta la lámina 15, donde se reproducen el aspecto general de las preparaciones y los tipos celulares estudiados, tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías.

Espermatogonias: En las preparaciones histológicas, estas células tienen un tamaño medio de 8,02 micras. En las citologías, el tamaño medio de las formas más características es de 11,14 micras. Son células redondas, con su entorno celular bien delimitado; se tiñen de forma más bien suave. Presentan cierta granulación, fina y poco densa, y su nucléolo suele ser visible.

Espermatoцитos I: En las preparaciones histológicas, estas células presentan un tamaño medio de 6,99 micras; han sido observadas dos formas, según su fase de división: zigotene y paquitene. En las citologías, el tamaño medio de las formas más características es de 7,95 micras. Su forma es redonda o algo irregular y el límite celular no está bien delimitado, por lo ge-

neral. Se tiñen de forma intensa y presentan una granulación que suele ser gruesa y densa con apariencia, incluso, de fibras o cordones. Los casos con granulación intermedia son los que más dificultades de asignación plantean, por su confusión con las espermatogonias.

	PREPARACIONES HISTOLOGICAS				CITOLOGIAS			
	Rango	Ø medio	S	N	Rango	Ø medio	S	N
Espermatogonia	7-10,5	8,02	1,01	31	8,5-15	11,14	1,55	59
Espermatocito I	6-10	6,99	0,94	39	5-11	7,95	1,23	58

Valores de tamaño característicos de los distintos tipos celulares estudiados tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías; se presentan los rangos de tamaño, el valor medio del diámetro celular (\emptyset), su desviación típica (S) y el tamaño de la muestra (N).

LAMINA 15: *Lacerta vivipara*

Figuras 1 y 2.- Aspecto general de los túbulos seminíferos y detalle de los tipos celulares estudiados en preparaciones histológicas. Hematoxilina-eosina.

Figuras 3 a 5.- Aspecto general de las células del testículo y detalle de los tipos celulares estudiados en las citologías. Tinción policrómica (Diff-Quick).

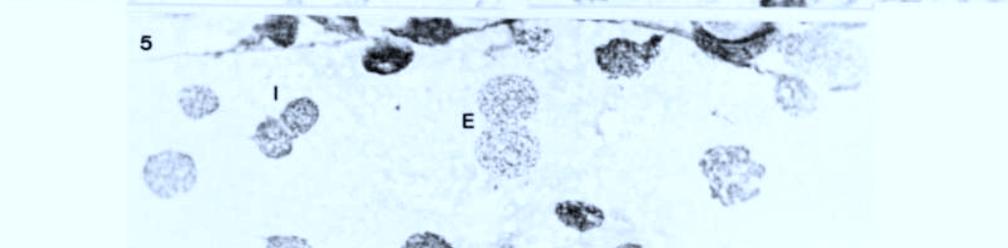
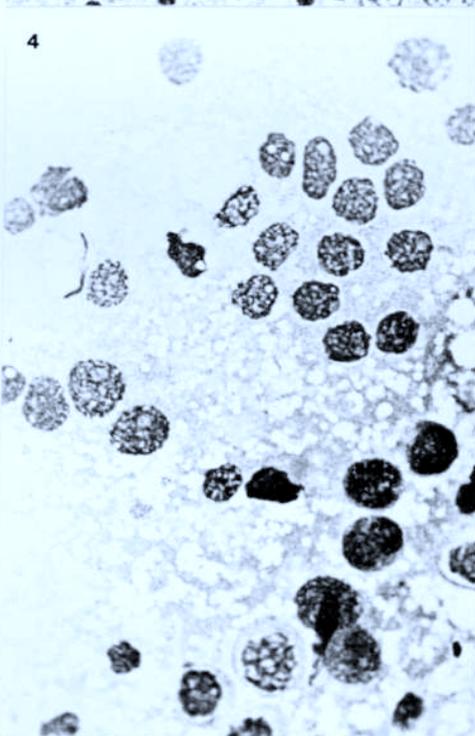
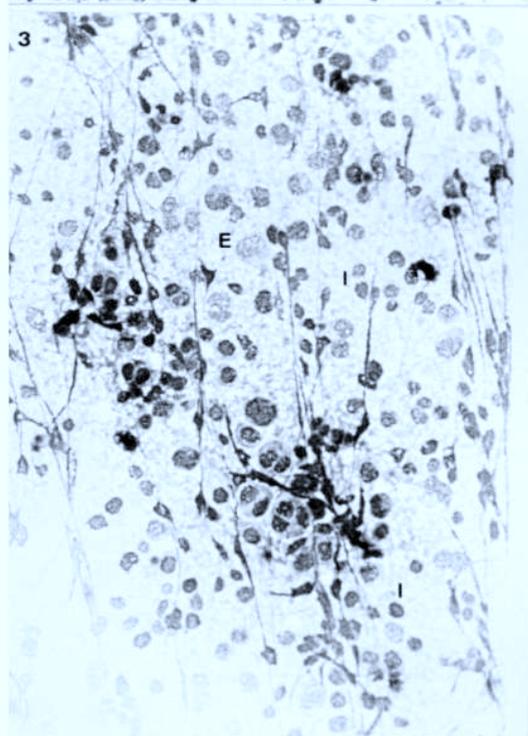
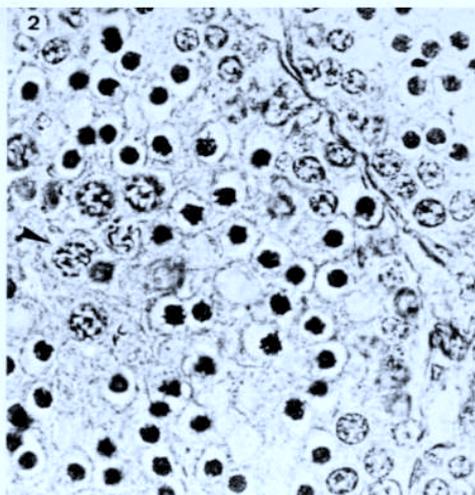
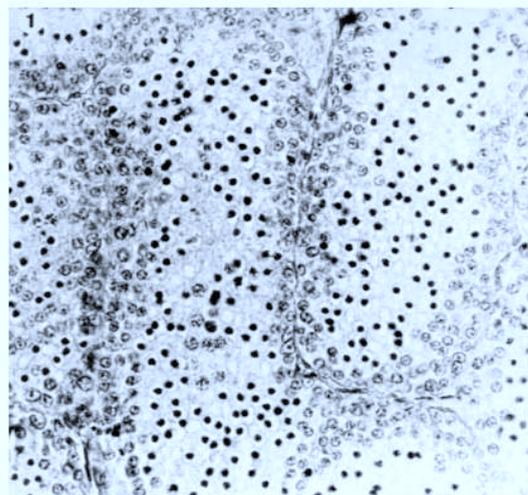
Figura 1.- Aspecto general de los túbulos seminíferos. Se observan espermatogonias y espermatocitos I. (Agosto; 288 x).

Figura 2.- Espermatogonias del tipo B y espermatocitos I en zigotene y en paquitene (flecha). (Agosto; 720 x).

Figura 3.- Aspecto general de una citología. Se observan mayoritariamente espermatocitos I (I) y también algunas espermatogonias (E). (Mayo; 288 x).

Figura 4.- Espermatocitos I. (Mayo; 288 x).

Figura 5.- Espermatogonias (E) y algún espermatocito I (I). (Mayo; 288 x).



Podarcis hispanica (Steindachner)
Sugandila iberiorra
Lagartija ibérica

En las preparaciones histológicas, la identificación de los distintos tipos celulares no ofrece problemas, en general; sin embargo, no hay datos para las espermátidas, dado que en todas las preparaciones donde aparecen están rotas e impiden su medición. En las citologías, la identificación de los distintos tipos celulares no ofrece dificultades, aunque pueden surgir ciertos problemas en la asignación a uno u otro tipo, dado que hay una gradación de tamaños marcada dentro de cada uno de ellos.

Los valores medios característicos de cada tipo celular estudiado en esta especie se presentan en forma de tabla al final del texto descriptivo; a continuación, se presenta la lámina 16, donde se reproducen el aspecto general de las preparaciones y los tipos celulares estudiados, tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías.

Espermatogonias: En las preparaciones histológicas, estas células tienen un tamaño medio de 8,91 micras. En las citologías, su tamaño medio es de 12,29 micras; son células redondas o ligeramente ovaladas. Se tiñen de forma suave y uniforme; presentan una granulación muy fina, densa, que se reparte homogéneamente por toda la célula. Su aspecto general es compacto y los contornos celulares están bien definidos.

Espermatocitos I: En las preparaciones histológicas, estas células presentan un tamaño medio de 6,83 micras; se han observado en distintas fases de su división: leptotene, zigotene y diplotene. En las citologías, su diámetro medio es de 7,03 micras; su forma es redonda y se tiñen siempre de manera intensa. Se han reconocido dos formas: una que se caracteriza por no pre-

sentar granulación, siendo su aspecto compacto y la tinción uniforme, y otra que presenta cierta granulación bastante gruesa y que se tiñe de forma algo irregular.

Espermatoцитos II: En las preparaciones histológicas, presentan un tamaño medio de 4,95 micras. En las citologías, su tamaño medio es de 5,66 micras; pueden tener forma redondeada aunque, por lo general, es irregular. Se caracterizan por una granulación gruesa, que se tiñe de forma intensa e irregular y que delimita con nitidez, a su vez, el límite celular.

Espermátidas: En las preparaciones histológicas, estas células no han podido ser medidas, a pesar de ser identificadas con claridad. En las citologías, se han identificado como espermátidas unas células de 4,24 micras de diámetro medio, redondas y que no presentan granulación; se tiñen de forma uniforme y con menos intensidad que los espermatoцитos I. Su límite celular está bien definido y es regular.

	PREPARACIONES HISTOLOGICAS				CITOLOGIAS			
	Rango	Ø medio	S	N	Rango	Ø medio	S	N
Espermatogonia	7-12	8,91	1,24	51	8-17	12,29	1,99	49
Espermatoцитo I	5-9,5	6,83	0,79	97	6-10	7,03	1,12	57
Espermatoцитo II	4-6,5	4,95	0,48	32	4-8	5,66	0,78	98
Espermátida	---	---	---	---	3-6	4,24	0,61	74

Valores de tamaño característicos de los distintos tipos celulares estudiados tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías; se presentan los rangos de tamaño, el valor medio del diámetro celular (Ø), su desviación típica (S) y el tamaño de la muestra (N).

LAMINA 16: *Podarcis hispanica*

Figuras 1 a 3.- Aspecto general de los túbulos seminíferos y detalle de los tipos celulares estudiados en preparaciones histológicas, Hematoxilina-eosina.

Figuras 4 a 7.- Aspecto general de las células del testículo y detalle de los tipos celulares estudiados en las citologías. Tinción policrómica (Diff-Quick).

Figura 1.- Aspecto general de los túbulos seminíferos. Se observan espermatogonias, espermatocitos I y tejido intersticial. (Agosto; 288 x)

Figura 2.- Espermatogonias (parte superior) y espermatocitos I en zigotene y diplotene (flecha). (Agosto; 720 x)

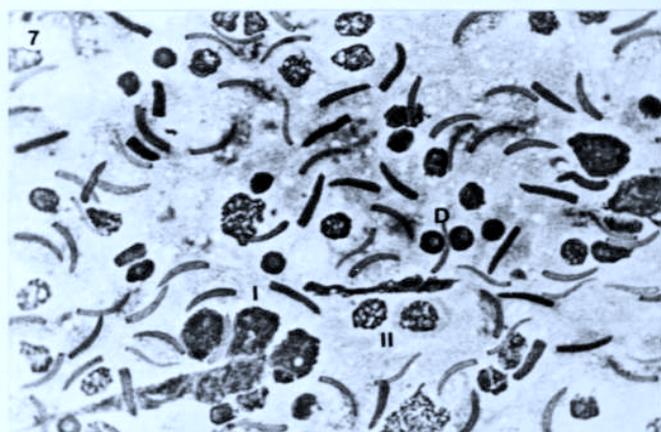
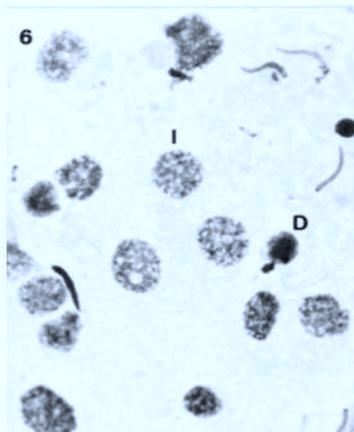
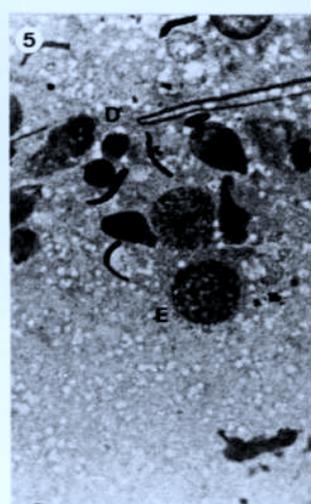
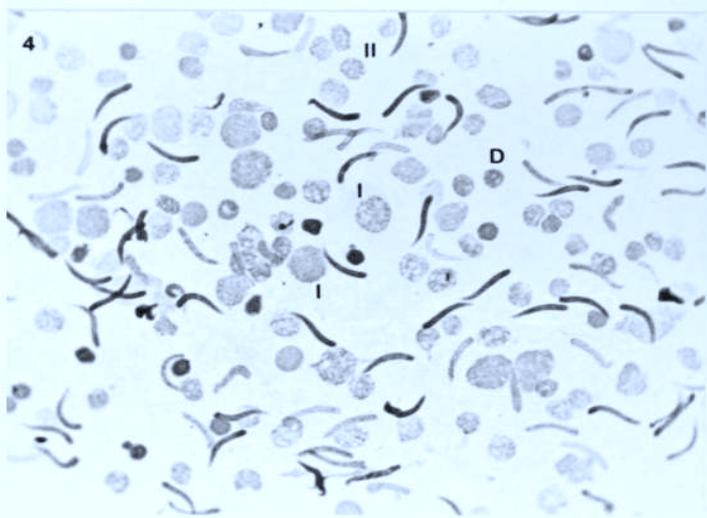
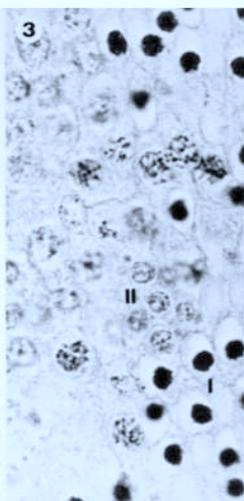
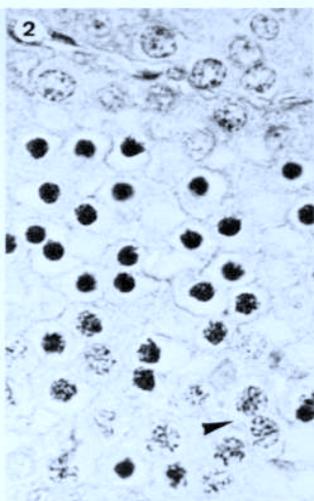
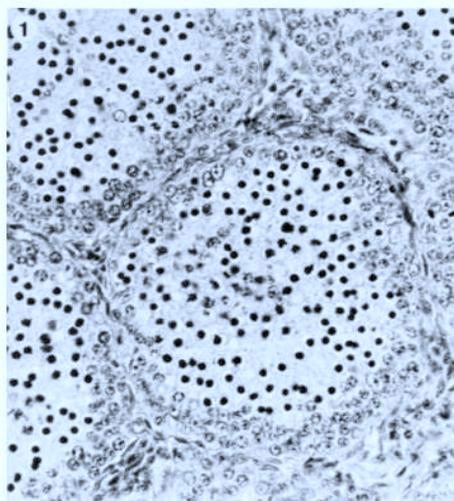
Figura 3.- Espermatocitos II y espermatocitos I (I). Agosto; 720).

Figura 4.- Aspecto general de una citología. Se observan espermatocitos I (I), espermatocitos II (II), espermátidas (D), muchas en elongación, y algunos espermatozoides. (Junio; 720x).

Figura 5.- Espermatogonias (E), espermátidas (D), algunas elongadas. (Julio; 720 x).

Figura 6.- Espermatocitos I en su forma granulada (I) y espermátida (D). (Julio; 720 x).

Figura 7.- Espermatocitos I (I), espermatocitos II (II), espermátidas (D), muchas en elongación. (Abril; 720 x).



Podarcis muralis (Laurenti)

Horma-sugandila

Lagartija roquera

En las preparaciones histológicas, la identificación de los distintos tipos celulares no ofrece problemas. En las citologías, apenas hay problemas en la identificación de los distintos tipos celulares aunque, en algunos casos, ciertas células presentan características intermedias en morfología, como sucede con los espermatoцитos II y las espermátidas.

Los valores medios característicos de cada tipo celular estudiado en esta especie se presentan en forma de tabla al final del texto descriptivo; a continuación, se presenta la lámina 17, donde se reproducen el aspecto general de las preparaciones y los tipos celulares estudiados, tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías.

Espermatogonias: En las preparaciones histológicas, estas células tienen un tamaño medio de 10,0 micras. En las citologías, su tamaño medio es de 12,09 micras; son células redondas u ovaladas y presentan una granulación fina, laxa, característica. Se tiñen de forma suave y uniforme; el nucléolo, más claro, es visible.

Espermatoцитos I: En las preparaciones histológicas, estas células presentan un diámetro medio de 7,99 micras; se han observado en fases de zigotene y paquitene, principalmente. En las citologías, su tamaño medio es de 8,60 micras; son células redondas u ovaladas, algo alargadas; algunas presentan una granulación gruesa que puede ofrecer el aspecto de manchas, y otros carecen de granulación gruesa que puede ofrecer el aspecto de manchas, y otros carecen de granulación y son uniformes, siendo su aspecto compacto. En cualquier caso, se tiñen de forma densa y más intensa que las espermatogonias.

Espermatocitos II: En las preparaciones histológicas, estas células presentan un tamaño medio de 5,95 micras, siendo su núcleo de un diámetro de 3,85 micras ($S = 0,33$; $N = 39$). En las citologías, su tamaño medio es de 5,90 micras; tienen forma redonda u ovalada, incluso algo triangular. El contorno celular está bien delimitado; por lo general, presentan una granulación gruesa y desigual aunque, en algunos casos, es fina y uniforme. La tinción es, por lo general, menos intensa que la que presentan los espermatocitos I aunque, en ocasiones, es muy similar.

Espermátidas: En las preparaciones histológicas, estas células tienen un tamaño medio de 5,2 micras y su núcleo un diámetro medio de 2,57 micras ($S = 0,41$; $N = 30$). En las citologías, su tamaño medio es de 5,02 micras; son células redondas. Por lo general, no presentan granulación alguna aunque, en algunos casos, está presente una fina granulación, que es la que puede originar su confusión con los espermatocitos II; se tiñen intensamente y de forma uniforme.

	PREPARACIONES HISTOLOGICAS				CITOLOGIAS			
	Rango	Ø medio	S	N	Rango	Ø medio	S	N
Espermatogonia	7,5-13	10,0	1,29	40	10-18	12,09	2,15	84
Espermatocito I	6-9	7,99	0,74	44	8-10	8,60	0,64	66
Espermatocito II	5-7	5,95	0,38	39	5-7	5,90	0,59	77
Espermátida	5-6	5,20	0,38	30	4-7	5,02	0,46	68

Valores de tamaño característicos de los distintos tipos celulares estudiados tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías; se presentan los rangos de tamaño, el valor medio del diámetro celular (\emptyset), su desviación típica (S) y el tamaño de la muestra (N).

LAMINA 17: *Podarcis muralis*

Figuras 1 a 4.- Aspecto general de los túbulos seminíferos y detalle de los tipos celulares estudiados en preparaciones histológicas. Hematoxilina-eosina.

Figuras 5 a 8.- Aspecto general de las células del testículo y detalle de los tipos celulares estudiados en las citologías. Tinción policrómica (Diff-Quick).

Figura 1.- Aspecto general de los túbulos seminíferos. Se observan todas las células de la serie espermatogénica. (Marzo; 288 x).

Figura 2.- Espermatogonias (flecha). (Marzo; 720 x).

Figura 3.- Espermátocitos I en zigotene (parte inferior) y en paquitene (parte superior). (Marzo; 720 x).

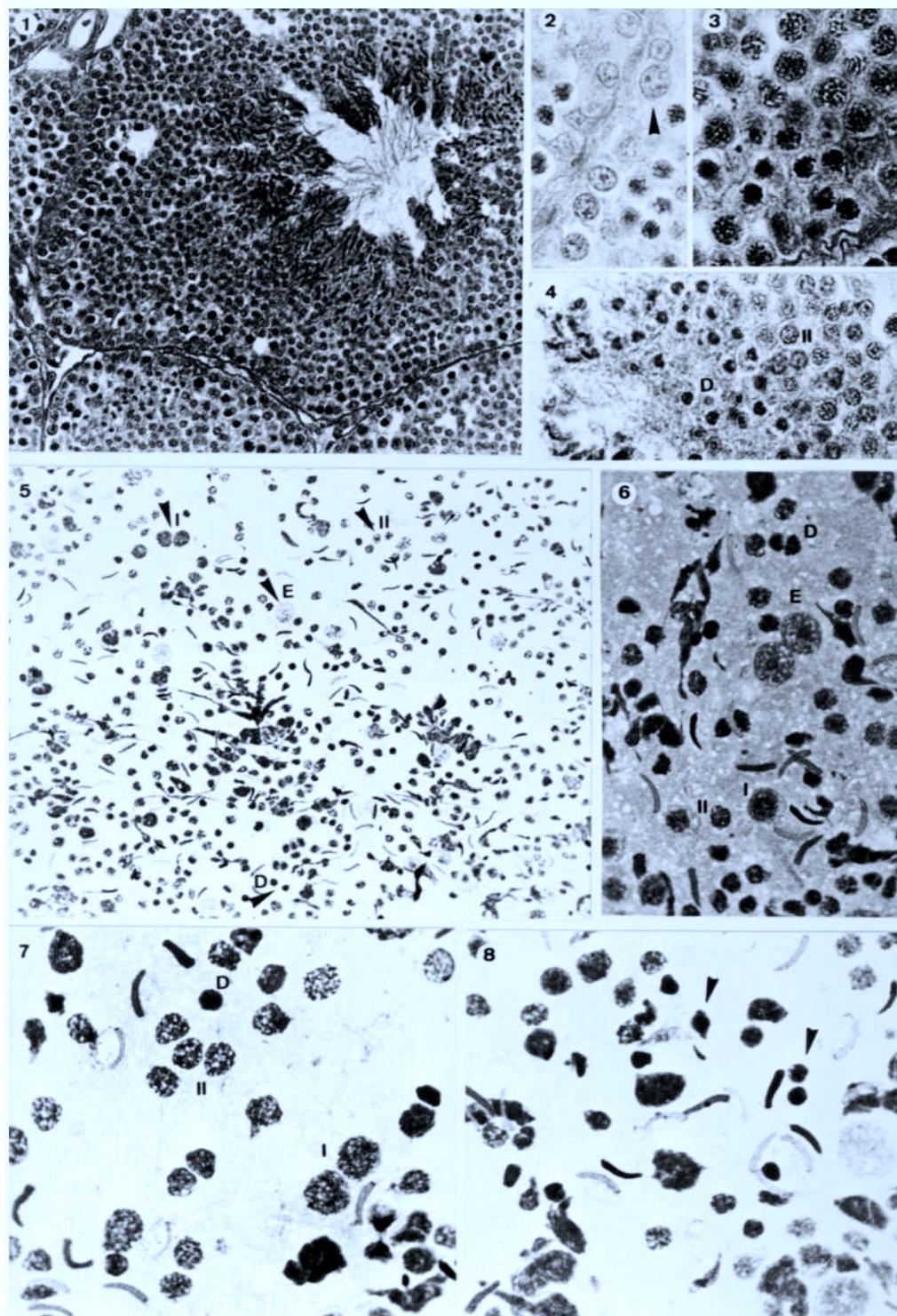
Figura 4.- Espermátocitos II (II) y espermátidas (D). (Marzo; 720 x).

Figura 5.- Aspecto general de una citología. Se observan espermatogonias (E), espermátocitos I (I), espermátocitos II (II) y espermátidas (D), algunas en elongación. (Febrero; 288 x).

Figura 6.- Espermatogonias (E), espermátocitos I (I), espermátocitos II (II) y espermátidas (D), algunas en elongación. (Febrero; 627 x).

Figura 7.- Forma granulada de espermátocitos I (I), espermátocitos II (II) y espermátidas (D), algunas en elongación. (Febrero; 720 x).

Figura 8.- Espermátidas (flechas), algunas en elongación; también se observan espermatogonias, espermátocitos I y espermátocitos II. (Febrero; 720 x).



Anguis fragilis (L.)

Zirauna

Lución

En las preparaciones histológicas, la identificación de los distintos tipos celulares no es problemática; hay que prestar especial atención, quizás, a las espermatogonias. En las citologías, la identificación de los distintos tipos celulares es problemática; por una parte, se encuentran numerosas células de tamaño y forma intermedios entre los tipos principales, que resultan muy difíciles de determinar. Por otra parte, no ha podido resolverse definitivamente la diferenciación entre espermatoцитos II y espermátidas debido a la escasez de material comparable para estos dos tipos celulares, aunque unas células y otras parecen exhibir ciertos caracteres específicos.

Los valores medios característicos de cada tipo celular estudiado en esta especie se presentan en forma de tabla al final del texto descriptivo; a continuación, se presenta la lámina 18, donde se reproducen el aspecto general de las preparaciones y los tipos celulares estudiados, tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías.

Espermatogonias: En las preparaciones histológicas, estas células tienen un tamaño medio de 10,45 micras. En las citologías, su tamaño medio es de 13,43 micras; son células redondas o alargadas, con el límite celular bien delimitado. Presentan una fina granulación, uniformemente repartida; se tiñen de forma suave. El nucléolo, claro o azulado, es visible.

Espermatoцитos I: En las preparaciones histológicas, estas células son de menor tamaño que las espermatogonias: 8,48 micras; se han observado principalmente en las fases de zigotene y paquitene. En las citologías, su diámetro medio es de 10,54 micras; son células redondas o ligeramente alargadas, ovaladas. Presentan una granulación gruesa, a veces organizada en cordones; se tiñen de forma intensa.

Espermatocitos II: En las preparaciones histológicas, estas células presentan un tamaño medio de 6,40 micras, siendo su núcleo de un diámetro medio de 3,48 micras ($S = 0,36$; $N = 34$). En las citologías, su identificación no es segura; en apariencia, este tipo celular presenta un diámetro medio de 7,63 micras y se caracteriza por una tinción suave y uniforme y su forma redonda. No tienen granulación.

Espermátidas: En las preparaciones histológicas, su tamaño es de 5,28 micras, siendo su núcleo de un diámetro de 2,22 micras ($S = 0,43$; $N = 18$). En las citologías, su identificación no es segura aunque, en apariencia, se trata de células redondas o alargadas, que presentan un tamaño medio de 5,46 micras; se tiñen de forma intensa y no presentan granulaciones.

Espermatocitos II + Espermátidas: En las citologías y dadas las dudas existentes en la determinación individual de ambos tipos celulares, se ha considerado oportuno presentar los datos para el conjunto de estos dos tipos; así, su diámetro medio es de 6,53 micras y las características que exhiben son las expuestas en los apartados anteriores.

	PREPARACIONES HISTOLOGICAS				CITOLOGIAS			
	Rango	Ø medio	S	N	Rango	Ø medio	S	N
Espermatogonia	8-13,5	10,45	1,32	49	10-17,5	13,43	1,67	62
Espermatocito I	7-11	8,48	0,76	68	9-13	10,54	1,14	56
Espermatocito II	5,5-7	6,40	0,52	34	6-10	7,63	0,96	57
Espermátida	5-6	5,28	0,39	18	5-7	5,46	0,57	58
Espermatocito II + Espermátida					5-10	6,53	1,34	115

Valores de tamaño característicos de los distintos tipos celulares estudiados tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías; se presentan los rangos de tamaño, el valor medio del diámetro celular (\emptyset), su desviación típica (S) y el tamaño de la muestra (N).

LAMINA 18: *Anguis fragilis*

Figuras 1 a 4.- Aspecto general de los túbulos seminíferos y detalle de los tipos celulares estudiados en preparaciones histológicas. Hematoxilina-eosina.

Figuras 5 a 8.- Aspecto general de las células del testículo y detalle de los tipos celulares estudiados en las citologías. Tinción policrómica (Diff-Quick).

Figura 1.- Aspecto general de los túbulos seminíferos. Se observan espermatogonias, espermatocitos II y espermátidas. (Mayo; 288 x).

Figura 2.- Espermatogonias de los tipos A (A) y B (B) y espermatocitos I en zigotene (parte derecha) y en paquitene (parte izquierda). (Agosto; 720 x).

Figura 3.- Espermatocitos II. (Mayo; 720 x).

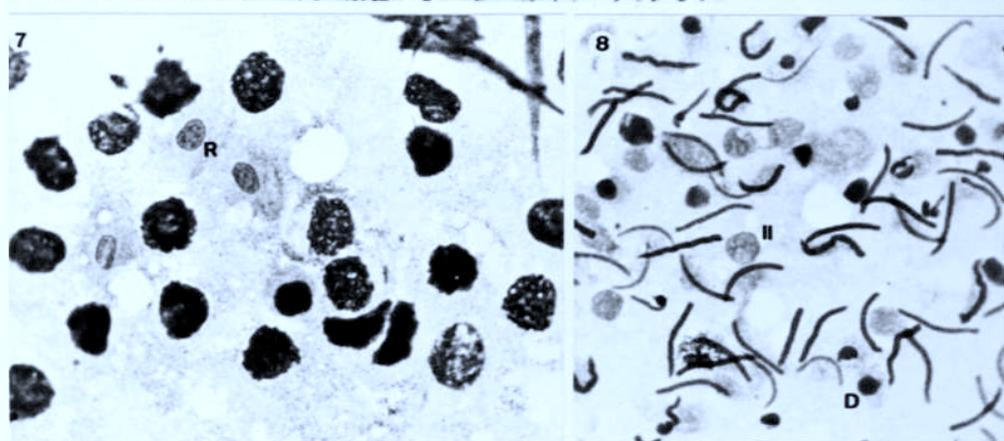
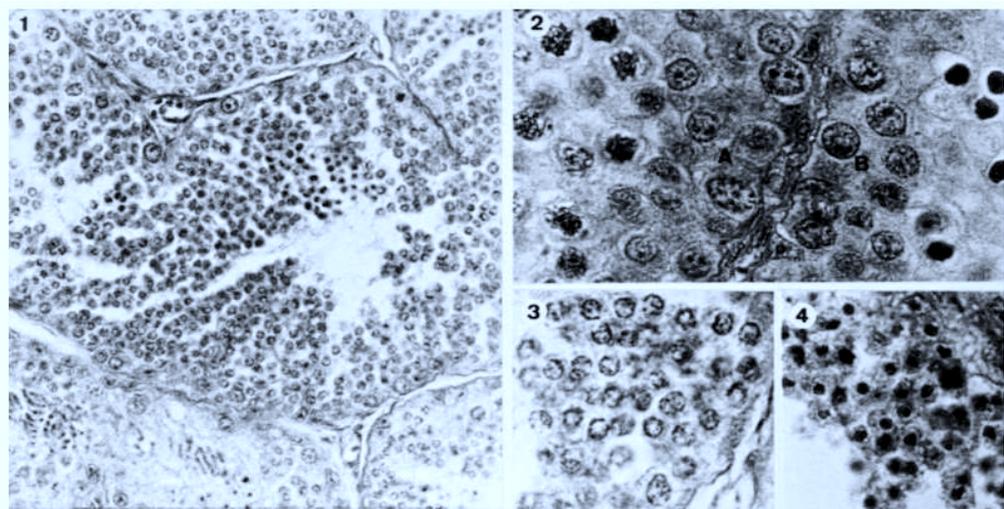
Figura 4.- Espermátidas. (Mayo; 720 x).

Figura 5.- Aspecto general de una citología. Se observan espermatocitos I (I), espermatocitos II (II), espermátidas (D), numerosas en elongación, y espermatozoides. (Mayo; 288 x).

Figura 6.- Espermatogonia (E) y espermatocitos I (I). (Agosto; 720 x).

Figura 7.- Espermatocitos I con distintos grados de condensación de los gránulos y tres eritrocitos (R). (Agosto; 720 x).

Figura 8.- Espermatocitos II (II) y espermátidas (D), muchas en elongación. (Mayo; 720 x).



Coronella austriaca (Laurenti)

Iparraldeko suge leuna

Culebra lisa

En las preparaciones histológicas, la identificación de los distintos tipos celulares no ofrece problema alguno. En las citologías, la identificación no ofrece problemas salvo en algunos casos, como en el de los espermatoцитos II y las espermatidas, que son muy similares. Únicamente se ha contado con preparaciones de un ejemplar, por lo que las citologías no han podido ser comparadas de forma satisfactoria con las preparaciones histológicas; además, no queda reflejada en los datos la variabilidad intraespecífica, principalmente estacional.

Los valores medios característicos de cada tipo celular estudiado en esta especie se presentan en forma de tabla al final del texto descriptivo; a continuación, se presenta la lámina 19, donde se reproducen el aspecto general de las preparaciones y los tipos celulares estudiados, tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías.

Espermatogonias: En las preparaciones histológicas, estas células tienen un diámetro medio de 11,21 micras. En las citologías, su tamaño medio es de 14,01 micras; son células redondas, con una granulación fina, característica, que se distribuye uniformemente. Se tiñen de forma suave.

Espermatoцитos I: En las preparaciones histológicas, su diámetro medio es de 10,06 micras; se han observado, principalmente, en fases de zigotene y paquitene. En las citologías, su diámetro medio es de 11,33 micras; son células redondas. Se han diferenciado dos formas; una con una granulación gruesa y a la vez laxa, que ofrece el aspecto de cordones, y otra con un aspecto compacto en el que se aprecia una granulación en unos casos sí y en otros no. En ambas formas la tinción es fuerte.

Espermatocitos II: En las preparaciones histológicas, estas células presentan un tamaño medio de 7,97 micras, siendo su núcleo de 4,63 micras ($S = 0,39$; $N = 35$). En las citologías, su tamaño medio es de 7,71 micras; son células de forma esférica y, por lo general, tienen el contorno celular poco definido. Presentan una granulación fina, algo más gruesa que la de las espermatogonias, que se reparte homogéneamente, aunque tiene distinto grado de condensación. Se tiñen desigualmente y de forma más intensa que las espermatogonias.

Espermátidas: En las preparaciones histológicas, estas células tienen un tamaño medio de 6,59 micras, siendo su núcleo de 2,36 micras ($S = 0,41$; $N = 32$). En las citologías, su diámetro medio es de 6,06 micras; presentan una forma generalmente alargada e incluso algo triangular. El límite celular está bien delimitado; tienen una granulación densa y de mayor grosor que la de los espermatocitos II. Se tiñen de forma intensa.

	PREPARACIONES HISTOLOGICAS				CITOLOGIAS			
	Rango	Ø medio	S	N	Rango	Ø medio	S	N
Espermatogonia	9-13,5	11,21	1,05	31	12-16	14,01	0,80	73
Espermatocito I	8-13	10,06	1,35	42	8-13	11,33	0,87	58
Espermatocito II	7-9,5	7,97	0,73	35	6,5-9	7,71	0,62	62
Espermátida	5-7,5	6,59	0,59	32	5-7,5	6,06	0,64	55

Valores de tamaño característicos de los distintos tipos celulares estudiados tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías; se presentan los rangos de tamaño, el valor medio del diámetro celular (\emptyset), su desviación típica (S) y el tamaño de la muestra (N).

LAMINA 19: *Coronella austriaca*

Figuras 1 a 3.- Aspecto general de los túbulos seminíferos y detalle de los tipos celulares estudiados en preparaciones histológicas. Hematoxilina-eosina.

Figuras 4 a 9.- Aspecto general de las células del testículo y detalle de los tipos celulares estudiados en las citologías. Tinción policrómica (Diff-Quick).

Figura 1.- Aspecto general de los túbulos seminíferos. Se observan todas las células de la serie espermato genética. (Agosto; 288 x).

Figura 2.- Espermatogonia (flecha), espermatoцитos I en zigotene y en paquitene y espermátidas. (Agosto; 720 x).

Figura 3.- Espermatoцитos I, espermatoцитos II (II) y espermátidas (D) en elongación. (Agosto; 720 x).

Figura 4.- Aspecto general de una citología. Se observan espermatogonias (E), espermatoцитos I (I), espermatoцитos II (II), espermátidas (D), algunas en elongación, y espermatozoides. (Agosto; 288 x).

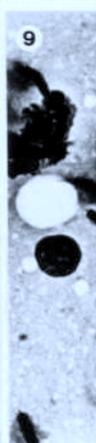
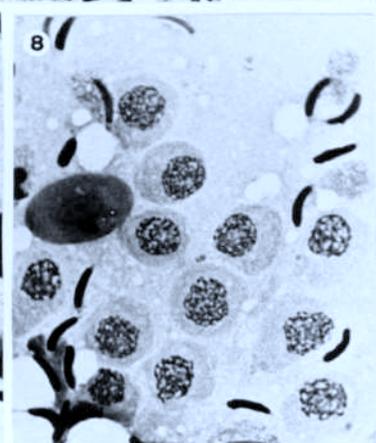
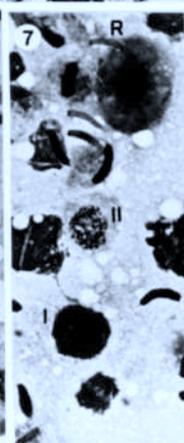
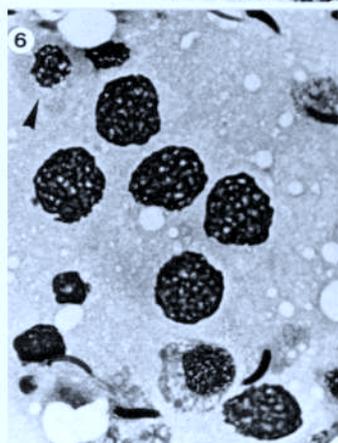
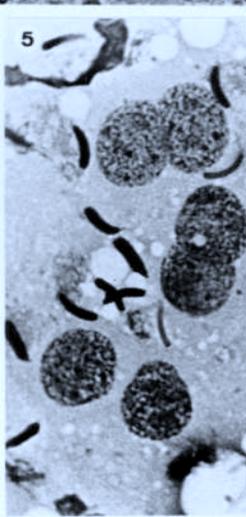
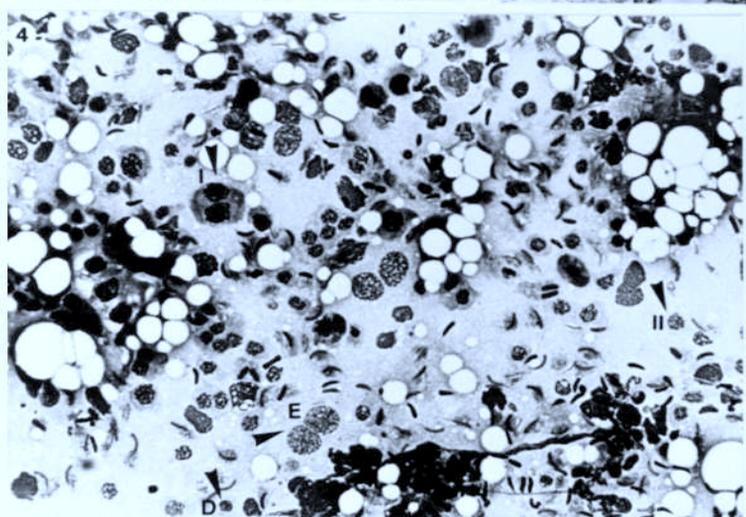
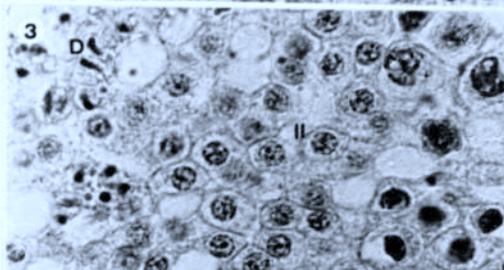
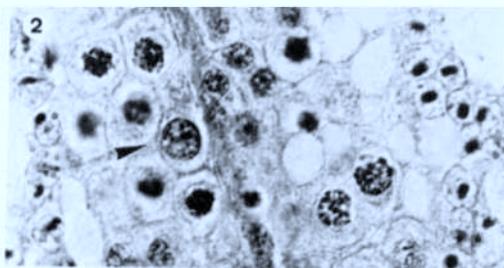
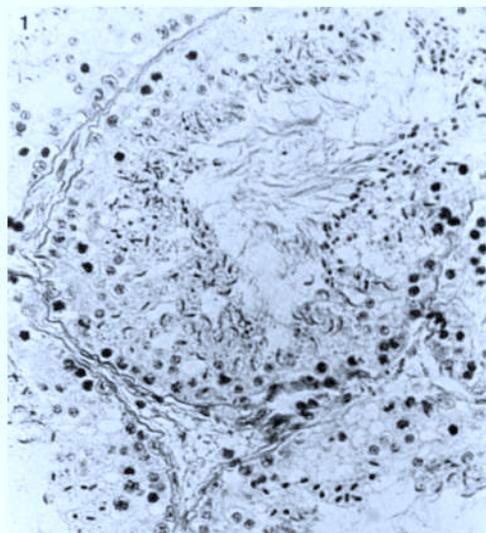
Figura 5.- Espermatogonias y espermátidas en elongación. (Agosto; 720 x).

Figura 6.- Forma granulada de espermatoцитos I y espermatoцитos II (flecha). (Agosto; 720 x).

Figura 7.- Forma no granulada de espermatoцитos I (I), espermatoцитos II (II), espermátidas en elongación y un eritrocito (R). (Agosto; 720 x).

Figura 8.- Espermatoцитos II, espermátidas en elongación y un eritrocito. (Agosto; 720 x).

Figura 9.- Espermátida. (Agosto; 720 x).



Natrix natrix (L.)
Suge gorbataaduna
Culebra de collar

En las preparaciones histológicas, la identificación de los distintos tipos celulares no ofrece problemas. En las citologías, la identificación de los distintos tipos celulares no es problemática aunque, en ocasiones, resulta laboriosa la identificación de espermátidas.

Los valores medios característicos de cada tipo celular estudiado en esta especie se presentan en forma de tabla al final del texto descriptivo; a continuación, se presenta la lámina 20, donde se reproducen el aspecto general de las preparaciones y los tipos celulares estudiados, tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías.

Espermatogonias: En las preparaciones histológicas, estas células tienen un tamaño medio de 10,70 micras. En las citologías, su tamaño medio es de 12,89 micras; son células redondas u ovaladas y presentan un aspecto característico, con una granulación fina. Toda la célula se tiñe de forma suave y uniforme.

Espermatocitos I: En las preparaciones histológicas, estas células presentan un tamaño medio de 10,22 micras; se han observado en distintas fases de su división celular: leptotene y zigotene. En las citologías, su diámetro medio es de 10,70 micras; se tiñen de forma uniforme e intensa. Tienen forma más bien ovalada y presentan una granulación fina, aunque más gruesa que la de las espermatogonias, y densamente distribuida.

Espermatocitos II: En las preparaciones histológicas, su tamaño medio es de 8,37 micras, siendo su núcleo de un diámetro de 4,54 micras ($S = 0,41$; $N = 35$). En las citologías, su diámetro medio es de 7,80 micras; el límite celular está bien marcado. Se han diferenciado dos formas: en una hay una

granulación muy fina y se tiñe de forma suave y uniforme; en la otra la granulación es gruesa y se tiñe intensamente. En ambos casos, la granulación se reparte por toda la célula de forma uniforme.

Espermátidas: En las preparaciones histológicas, estas células presentan un tamaño medio de 7,23 micras, con un núcleo de 2,69 micras ($S = 0,53$; $N = 32$), de diámetro. En las citologías, su tamaño medio es de 6,77 micras; se tiñen intensamente y el contorno celular está bien delimitado. Suelen ser redondas y no presentan una granulación diferenciable, sino que se manifiestan en zonas con distintos grados de tinción, con una presencia irregular a lo largo de la célula.

	PREPARACIONES HISTOLOGICAS				CITOLOGIAS			
	Rango	Ø medio	S	N	Rango	Ø medio	S	N
Espermatogonia	9-14	10,70	1,24	37	11-15	12,89	0,98	69
Espermatocito I	8-125	10,22	0,95	39	9-13	10,70	1,27	56
Espermatocito II	7-9,5	8,37	0,59	35	6-10	7,80	0,73	118
Espermátida	5-9,5	7,23	0,86	32	5,5-9	6,77	0,89	46

Valores de tamaño característicos de los distintos tipos celulares estudiados tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías; se presentan los rangos de tamaño, el valor medio del diámetro celular (\emptyset), su desviación típica (S) y el tamaño de la muestra (N).

LAMINA 20: *Natrix natrix*

Figuras 1 a 4.- Aspecto general de los túbulos seminíferos y detalle de los tipos celulares estudiados en preparaciones histológicas. Hematoxilina-eosina.

Figuras 5 a 10.- Aspecto general de las células del testículo y detalle de los tipos celulares estudiados en las citologías. Tinción policrómica (Diff-Quick).

Figura 1.- Aspecto general de los túbulos seminíferos. Se observan espermatogonias, espermatoцитos I en zigotene, espermatoцитos II y espermátidas en distintas fases de elongación. (Agosto; 288 x).

Figura 2.- Espermatogonias. (Agosto; 720 x)

Figura 3.- Espermatoцитos I en leptotene (parte inferior) y en zigotene (parte superior). (Agosto; 720 x)

Figura 4.- Espermatoцитos II (flecha) y espermátidas. (Agosto; 720 x).

Figura 5.- Aspecto general de una citología. Se observan espermatogonias (E), espermatoцитos I (I), espermatoцитos II (II) y espermátidas (D), muchas en elongación, y eritrocitos (R). (Agosto; 288 x).

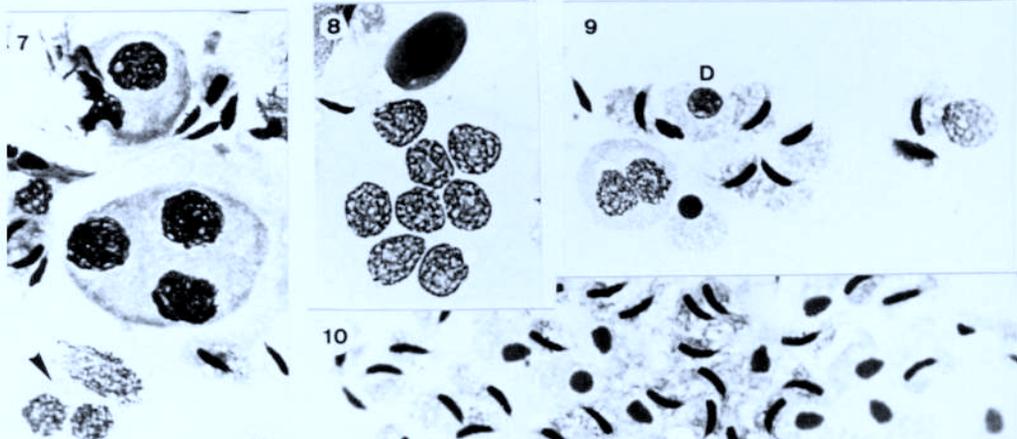
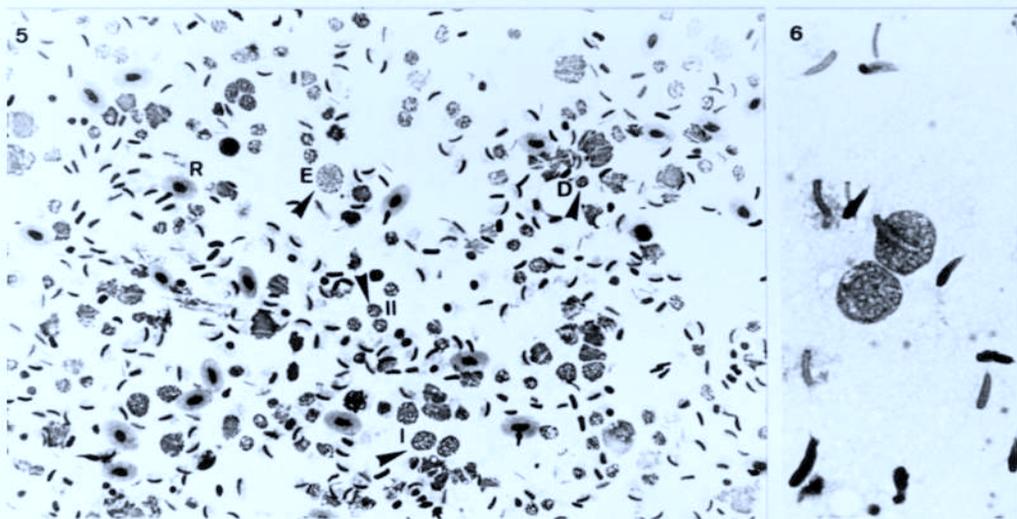
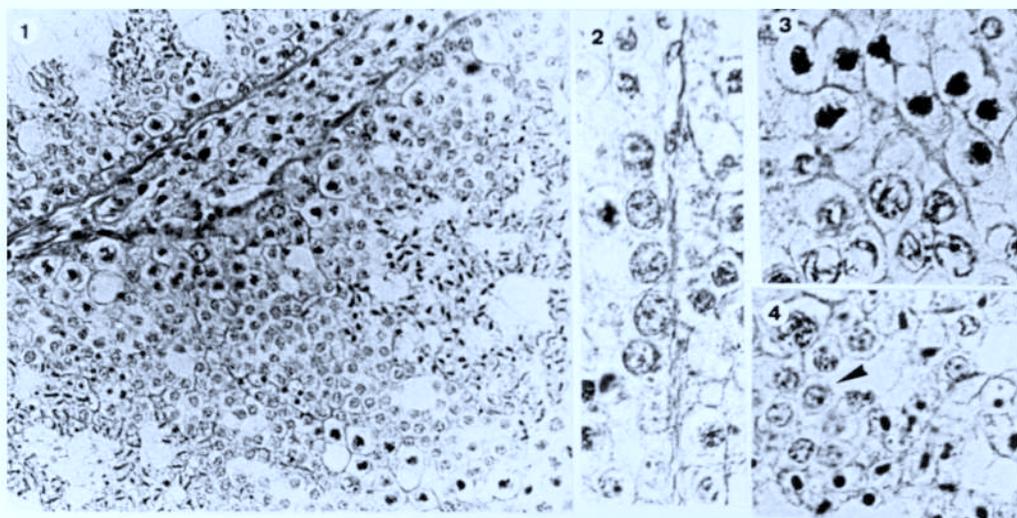
Figura 6.- Espermatogonias y espermátidas en elongación. (Agosto; 720 x).

Figura 7.- Poliplasto de espermatoцитos I, con tres núcleos, y dos espermatoцитos II (flecha). (Agosto; 720 x).

Figura 8.- Espermatoцитos II y eritrocito. (Agosto; 720 x).

Figura 9.- Espermatoцитos II y espermátidas (D), algunas en elongación. (Agosto; 720 x)

Figura 10.- Espermátidas en distintas fases de elongación. (Agosto; 720 x).



Vipera aspis (L.)
 Aspis sugectoria
Víbora áspid

En las preparaciones histológicas, los distintos tipos celulares se diferencian sin problemas. En las citologías, apenas hay problemas para la identificación de los distintos tipos celulares; en algunos casos, la diferenciación entre espermatoцитos I y espermatoцитos II es problemática, dado que ambos tipos celulares presentan un aspecto similar y que hay numerosas células intermedias en tamaño. Debido a que únicamente se ha contado con material proveniente de un sólo ejemplar, las descripciones que se presentan para los espermatoцитos II y las espermátidas tienen un carácter provisional, ya que se considera necesario analizar material procedente de distintas épocas para asegurar la caracterización celular.

Los valores medios característicos de cada tipo celular estudiado en esta especie se presentan en forma de tabla al final del texto descriptivo; a continuación, se presenta la lámina 21, donde se reproducen el aspecto general de las preparaciones y los tipos celulares estudiados, tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías.

Espermatogonias: En las preparaciones histológicas, estas células tienen un tamaño medio de 11,5 micras. En las citologías, su tamaño medio es de 15,21 micras; son células redondas o alargadas, con un contorno celular bien definido. Presentan una granulación fina, uniformemente repartida. Se tiñen de forma suave y uniforme; el nucléolo, claro o azulado, es visible.

Espermatoцитos I: En las preparaciones histológicas, estas células tienen un diámetro medio de 11,01 micras; se han observado, principalmente, en las fases de zigotene y leptotene. En las citologías, su tamaño medio es de 12,59 micras; son redondas y su límite celular no está bien definido. Se han

diferenciado dos formas; una con una granulación gruesa y densa, organizada a veces en cordones, y otra en la que no se observa granulación y tiene un aspecto reticulado, irregularmente repartido por la célula.

Espermatocitos II: En las preparaciones histológicas, su tamaño medio es de 7,46 micras, siendo su núcleo de 4,40 micras ($S = 0,50$; $N = 37$). En las citologías, su diámetro medio es de 7,89 micras; son células ovaladas, más bien alargadas, con un límite celular bien definido. Presentan un fino retículo, que se reparte irregularmente o al menos de manera no uniforme; se tiñen ligeramente.

Espermátidas: En las preparaciones histológicas, estas células tienen un diámetro medio de 5,97 micras, siendo su núcleo de 2,28 micras ($S = 0,39$; $N = 34$). En las citologías, su tamaño medio es de 6,35 micras; son más bien esféricas. Presentan una granulación gruesa aunque más fina que la de los espermatocitos I; se tiñen de forma intensa, por lo general, aunque ésta no es uniforme, es heterocromática.

	PREPARACIONES HISTOLOGICAS				CITOLOGIAS			
	Rango	Ø medio	S	N	Rango	Ø medio	S	N
Espermatogonia	8-14	11,50	1,22	48	10-23	15,21	2,76	57
Espermatocito I	8-13,5	11,01	1,24	39	8-16,5	12,59	2,24	53
Espermatocito II	6-9	7,46	0,60	37	6,5-9,5	7,89	0,71	60
Espermátida	5-7	5,97	0,64	34	5-8,5	6,35	0,73	59

Valores de tamaño característicos de los distintos tipos celulares estudiados tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías; se presentan los rangos de tamaño, el valor medio del diámetro celular (\emptyset), su desviación típica (S) y el tamaño de la muestra (N).

LAMINA 21: *Vipera aspis*

Figuras 1 a 4.- Aspecto general de los túbulos seminíferos y detalle de los tipos celulares estudiados en preparaciones histológicas. Hematoxilina-eosina.

Figuras 5 a 8.- Aspecto general de las células del testículo y detalle de los tipos celulares estudiados en las citologías. Tinción policrómica (Diff-Quick).

Figura 1.- Aspecto general de los túbulos seminíferos. Se observan espermatogonias, espermátocitos I en leptotene y zigotene, espermátocitos II y, en la luz del túbulo, espermátidas en distintas fases de la espermiogénesis. (Septiembre; 288 x).

Figura 2.- Espermátocitos I en leptotene (parte inferior) y espermátocitos II. (Septiembre; 720 x).

Figura 3.- Espermátogonias. (Septiembre; 720 x).

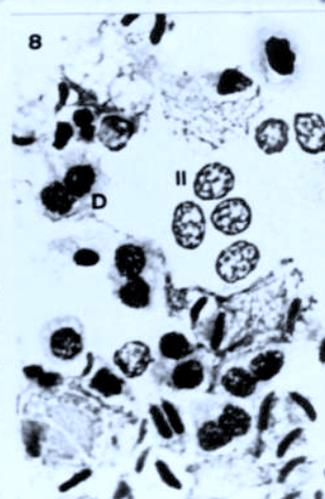
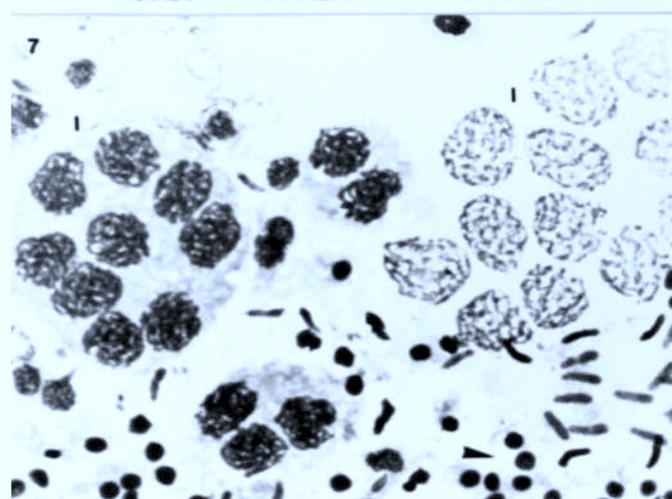
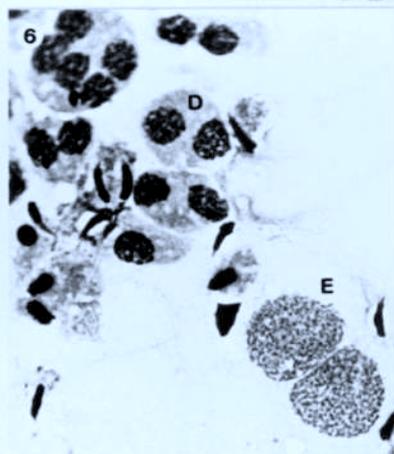
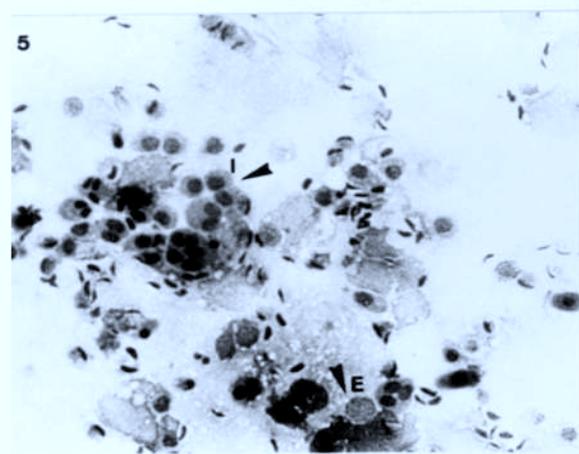
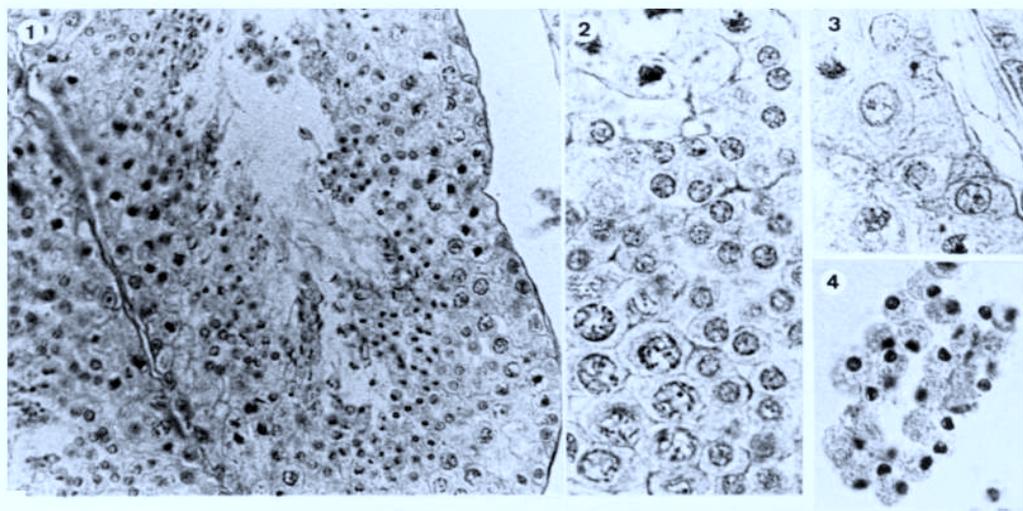
Figura 4.- Espermátidas. (Septiembre; 720 x).

Figura 5.- Aspecto general de una citología. Se observan principalmente espermátocitos I (I), alguna espermátogonia (E) y espermátidas en distintas fases de elongación. (Septiembre; 288 x).

Figura 6.- Espermátogonias (E) y espermátidas (D), algunas en elongación. (Septiembre; 720 x).

Figura 7.- Dos formas de espermátocitos I (I) y espermátidas (flecha). (Septiembre; 720 x).

Figura 8.- Espermátocitos II (II) y espermátidas (D). (Septiembre; 720 x).



Vipera seoanei (Lataste)

Seoane sugegoria

Víbora de Seoane

En las preparaciones histológicas, la identificación de los distintos tipos celulares no ofrece problemas, en general. En las citologías, la identificación de los distintos tipos celulares no ofrece dificultades excepto para los espermatocitos II y las espermátidas, que no han podido diferenciarse a pesar de que se han reconocido dos tipos celulares morfológicamente distintos; ello es debido a que las citologías no han podido ser contrastadas suficientemente con las preparaciones histológicas.

Los valores medios característicos de cada tipo celular estudiado en esta especie se presentan en forma de tabla al final del texto descriptivo; a continuación, se presenta la lámina 22, donde se reproducen el aspecto general de las preparaciones y los tipos celulares estudiados, tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías.

Espermatogonias: En las preparaciones histológicas, estas células tienen un tamaño medio de 9,97 micras. En las citologías, su tamaño medio es de 15,49 micras; son células redondas u ovaladas y presentan una granulación fina característica, uniformemente distribuida; tienen el límite celular bien delimitado. Se tiñen de forma suave y uniforme; se percibe el nucléolo por su tono claro o azulado.

Espermatocitos I: En las preparaciones histológicas, presentan un tamaño medio de 10,42 micras; se han observado, principalmente, en las fases de zigotene y paquitene. En las citologías, su diámetro medio es de 11,95 micras; su forma es redonda o ligeramente ovalada. Se tiñen de forma intensa. Se han diferenciado dos formas: una con una granulación densa más in-

tensamente teñida, y otra con una especie de haces o fibras densas. La primera forma tiene un tamaño ligeramente inferior a la segunda (10,78 micras de diámetro medio y 11,82 micras, respectivamente). El contorno celular no está bien marcado.

Espermatocitos II: En las preparaciones histológicas, el tamaño medio de estas células es de 6,80 micras, siendo su núcleo de un diámetro medio de 4,14 micras ($S = 0,52$; $N = 52$).

Espermátidas: En las preparaciones histológicas, su tamaño medio es de 5,62 micras, siendo su núcleo de 2,09 micras ($S = 0,36$; $N = 44$) de diámetro.

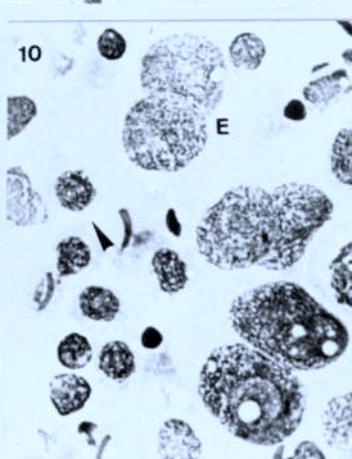
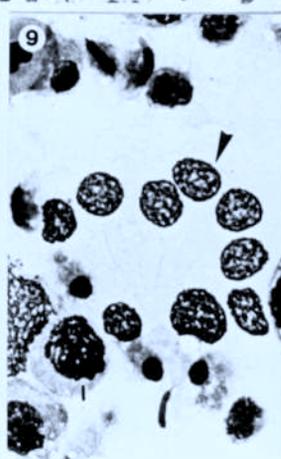
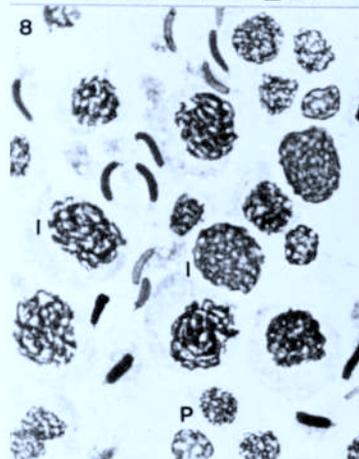
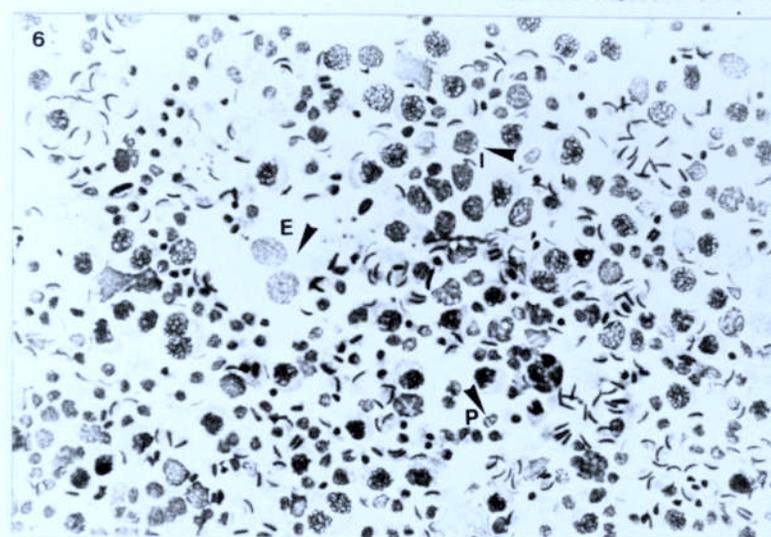
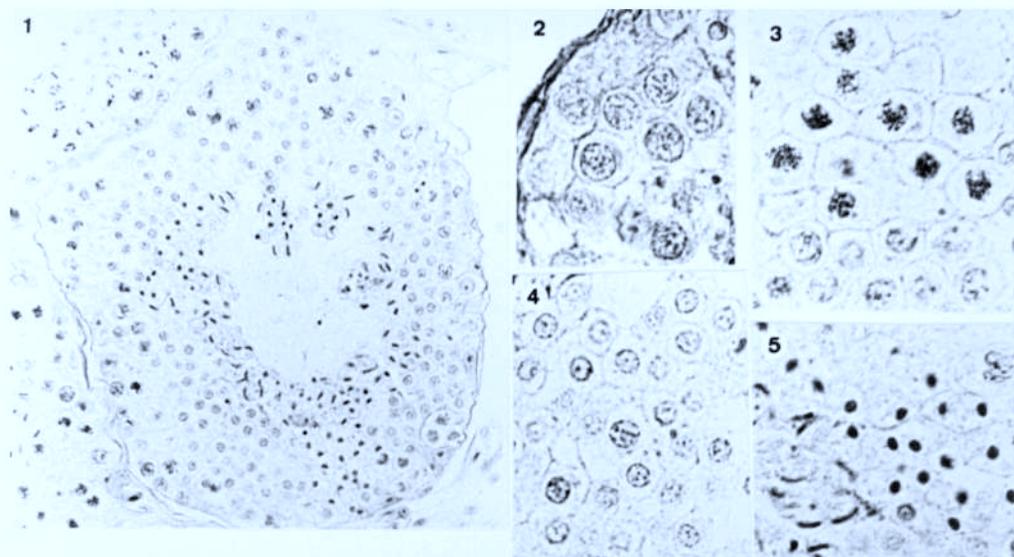
Espermatocitos II + Espermátidas: En las citologías, el conjunto de estos dos tipos celulares se caracteriza por presentar un tamaño medio de 7,34 micras. Se pueden reconocer dos formas: una con aspecto de retículo y con el límite celular bien definido, y otra con una granulación fina, uniformemente repartida por la célula, y con un contorno celular no muy neto. La primera forma, reticulada, es algo mayor (diámetro medio: 7,63 micras; $S = 0,58$; $N = 52$) que la segunda (7,11 micras; $S = 0,60$; $N = 64$), granulada. Cabe esperar que la forma “reticulada” corresponda a espermatocitos II y la forma “granulada” a espermátidas, aunque este hecho no ha podido ser verificado.

	PREPARACIONES HISTOLOGICAS				CITOLOGIAS			
	Rango	Ø medio	S	N	Rango	Ø medio	S	N
Espermatogonia	7-12	9,97	1,19	59	12,5-21	15,49	1,93	95
Espermatocito I	8-13	10,42	1,13	39	9-14,5	11,95	1,20	99
Espermatocito II	5-10	6,80	0,90	52	---	---	---	---
Espermátida	4-8	5,62	0,78	44	---	---	---	---
Espermatocito II + Espermátida					6-9	7,34	0,64	116

Valores de tamaño característicos de los distintos tipos celulares estudiados tanto en las preparaciones histológicas como en las citologías; se presentan los rangos de tamaño, el valor medio del diámetro celular (\emptyset), su desviación típica (S) y el tamaño de la muestra (N).

LAMINA 22: *Vipera seoanei*

- Figuras 1 a 5.- Aspecto general de los túbulos seminíferos y detalle de los tipos celulares estudiados en preparaciones histológicas. Hematoxilina-eosina.
- Figuras 6 a 10.- Aspecto general de las células del testículo y detalle de los tipos celulares estudiados en las citologías. Tinción policrómica (Diff-Quick).
- Figura 1.- Aspecto general de los túbulos seminíferos. Se observan espermatogonias, espermatocitos I en división celular (extremo superior izquierdo), espermatocitos II y, en la luz del túbulo, espermátidas en distintas fases de la espermiogénesis. (Agosto; 288 x).
- Figura 2.- Espermatogonias del tipo B. (Agosto; 720 x).
- Figura 3.- Espermatocitos I en zigotene (parte superior) y en paquitene (parte inferior). (Agosto; 720 x).
- Figura 4.- Espermatocitos II. (Agosto; 720 x).
- Figura 5.- Espermátidas. (Agosto; 720 x).
- Figura 6.- Aspecto general de una citología. Se observan espermatogonias (E), espermatocitos I (I), espermatocitos II + espermátidas (P) y espermátidas en elongación. (Agosto; 288 x).
- Figura 7.- Espermatogonias (E), espermatocitos II + espermátidas (P) y eritrocito. (Agosto; 720 x).
- Figura 8.- Dos formas de espermatocitos I (I) y espermatocitos II + espermátidas (P; nótese la diferencia entre las dos formas celulares cuya filiación no ha podido ser esclarecida) y espermátidas en elongación. (Agosto; 720 x).
- Figura 9.- Espermatocitos II + espermátidas (flecha; esta forma por sus dimensiones, características y similitud con la de *V. Aspis* puede ser la que corresponda a los espermatocitos II) y espermatocitos I(1). (Agosto; 720 x).
- Figura 10.- Espermatogonias (E) y espermatocitos II + espermátidas (flecha; esta forma por sus dimensiones, características y similitud con la de *V. aspis* puede ser la que corresponda a las espermátidas). (Agosto; 720 x).



UTILIDAD DE LA TECNICA DE FROTIS: REVISION CRITICA

En primer lugar hay que hacer constar que tras el estudio realizado es posible llevar a cabo el reconocimiento de todos los tipos celulares de la serie espermatogénica en los anfibios y reptiles estudiados; hay problemas de diferenciación entre espermatoцитos II y espermátidas en el 100 % y 11 % de los anfibios y reptiles estudiados, respectivamente. Además, en algunas especies hay problemas en la diferenciación entre los espermatoцитos I y II.

A pesar de las excepciones mencionadas, la identificación de las células sexuales mediante la técnica de frotis reafirma su utilidad para el estudio del ciclo sexual de una especie determinada; esto es aplicable al material proveniente de diferentes áreas geográficas a las aquí consideradas.

Ahora bien, al margen de los problemas específicos, que se manifiestan en la dificultad de identificación de los distintos tipos celulares, hay que tener en cuenta otros problemas que se derivan de la propia técnica.

Básicamente, estos problemas se pueden concretar en tres puntos: la técnica citológica, en primer lugar, no permite la observación y estudio de la estructura tanto del testículo como de la propia célula, cuya dimensión real no siempre puede ser medida debido a las ramificaciones y deformaciones que presenta; en segundo lugar, se hace necesario el estudio de material recogido periódicamente para proceder a la correcta caracterización del ciclo sexual. Y, en tercer lugar, las dimensiones que se proporcionan de las células deben ser consideradas con precaución, ya que la célula varía de tamaño a lo largo del ciclo espermatogénico.

Así, una preparación citológica no nos permite conocer el diámetro de los túbulos, la proporción real de los tipos celulares y su disposición en los mismos, el estado del tejido intersticial, la estructura del núcleo o de la propia célula, etc.

Si bien el estudio de un ciclo sexual mediante esta técnica no es especialmente problemático, el conocimiento del estado de maduración en que se encuentra el testículo de un ejemplar en un momento dado si puede serlo, especialmente en las épocas en que se produce la espermiogénesis y la espermiación, a no ser que se esté muy familiarizado con la técnica y la identificación celular. El problema que mencionamos es el de determinar, por una parte, el período de tiempo en que los espermatozoides se encuentran organizados en cistes por todo el túbulo, al finalizar la espermiogénesis, y, por otra parte, el período de tiempo en que los espermatozoides se encuentran libres en la luz del túbulo y están dispuestos para su evacuación (espermiación). Este último proceso, que marcará el inicio de la reproducción en los machos, puede tener lugar inmediatamente después de la espermiogénesis o no, permaneciendo el testículo en este caso inactivo o en reposo; este hecho suele suceder en numerosas especies durante la invernación.

En ambas situaciones, la presencia de espermatozoides es masiva y la preparación citológica apenas nos permite cuantificar la presencia de otros tipos celulares, como espermatogonias y células del tejido intersticial, hecho que nos permitiría afinar en el ciclo de la especie a estudiar. De cualquier forma, podemos recurrir a efectuar preparaciones citológicas de los conductos deferentes y de la vesícula seminal; la presencia de espermatozoides en éstos determinará la duración de la espermiación.

Para terminar, hay que decir que en aquellos casos en que la diferenciación entre espermatoцитos II y espermátidas no ha sido posible, el inicio de la espermiogénesis se puede concretar por la presencia masiva del tipo espermatoцитo II + espermátida y la aparición progresiva de espermátidas en elongación y espermatozoides, aunque el tiempo de permanencia de estos últimos en los túbulos es muy reducido. La presencia de espermatoцитos II, también, está limitada a un breve periodo de tiempo, ya que su maduración es muy rápida.

DESCRIPCION DE LA TECNICA DE FROTIS

A pesar de que la técnica para la obtención de preparaciones citológicas a partir de un testículo fresco está descrita (DURFORT, 1978; BEA, 1979), consideramos oportuno mencionarla escuetamente en este Atlas de citología e histología, ya que se han introducido ligeras modificaciones.

Para proceder a realizar preparaciones de este tipo es necesario disponer de las soluciones fijadora y de coloración que comercializa la Firma HARLECO con el nombre de DIFF-QUICK. Recomendamos mantenerlas en el frigorífico (5°C, aproximadamente) y tener de forma permanente, a temperatura de laboratorio, la cantidad o dosis de utilización habitual, que se almacenará en tarritos de boca ancha herméticamente cerrados; en función de su uso, las dosis de trabajo se reemplazarán completamente.

En primer lugar y sobre un portaobjetos, se extiende suave y lo más finamente posible el contenido del testículo, que previamente ha sido seccionado. En el caso de los Urodelos, se recomienda efectuar una preparación de cada lóbulo testicular. También es posible realizar preparaciones citológicas del epidídimo, conductos deferentes, vesícula seminal, etc.

En segundo lugar, se deja secar al aire la preparación durante unos minutos.

En tercer lugar, se procede a la fijación definitiva y a la tinción de la preparación. Para ello, se sumerge durante 10 segundos en la solución fijadora, se deja escurrir verticalmente el portaobjetos sobre papel de filtro, para introducirla seguidamente en la solución I (acidófila) por un tiempo de 10 segundos. Se escurre la preparación de la forma indicada y se sumerge en la solución II (basófila) por un período de 10 segundos; inmediatamente a continuación, se lava la preparación en agua corriente. Se deja secar completamente, se deposita una gota de Eukitt, D.P.X., bálsamo de Canada o equivalente y se coloca el cubreobjetos.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos expresar nuestro agradecimiento a cuantas personas y entidades han colaborado en la realización de este atlas, especialmente a la Sociedad de Estudios Vascos - Eusko Ikaskuntza, patrocinadora del mismo, y a la Sociedad de Ciencias Aranzadi, donde se efectuó el trabajo. A los Dres. J. Torrado y M. Durfort por su ayuda en la preparación del material y, de forma muy especial, a los Dres. H. Saint Girons, V. Pérez Mellado, M. Durfort y F. Braña, por la revisión crítica del manuscrito y sus valiosos comentarios y sugerencias. Al Servei de Fotografia de la Universidad de Barcelona por la realización de las lámina fotográficas.

BIBLIOGRAFIA

- ANGELINI, F., BRIZZI, R. & BARONE, C., 1979.- The annual spermatogenic cycle of *Podarcis sicula campestris* de Betta (Reptilia, Lacertidae). 1. The spermatogenic cycle in nature. **Monitore Zool. Ital.** (N.S.), 13: 279-301.
- ANGELINI, F. & PICARIELLO, O., 1975.- The course of spermatogenesis in reptilia. **Att. Atad. Sci. Fis. Matem.**, Ser 3. Vol. IX (N. 3): 61-107.
- ARRAYAGO, M.J. & BEA, A., 1986.- El ciclo sexual de *Rana temporaria* L. en el País Vasco atlántico. **Rev. Española de Herpet.**, 1: 29-55.
- BAUMAN, M.A. & MESTER, D.E., 1977.- Reproductive cycle of the northern watersnake, *Natrix s. sipedon* (Reptilia, Serpentes, Colubridae). **J. Herpetol.**, 11 (1): 51-59.
- BEA, A., 1979.- Método rápido de preparación de testículo en anfibios y reptiles. **Publ. Depto. Zool.** Barcelona. IV: 69-70.
- BEA, A., 1985.- Anfibios y reptiles. En "Atlas de los vertebrados continentales de Alava, Vizcaya y Guipúzcoa". 55-99. Ed. Gobierno Vasco, Vitoria.
- BERGERANDI, A., 1981.- Estudio herpetológico de Navarra (Biometría, distribución y biología de la herpetofauna Navarra). **Príncipe de Viana (Suplemento de Ciencias)**, I: 105124.
- BRIZZI, R., CALLONI, C. & VANNI, S., 1985.- Spermatogenic cycle in *Salamandrina terdigitata* (Lacépède, 1788) (Amphibia, Salamandridae). **Zitsch. Mikrosk. Anat. Forsch.**, 99 (2): 271-292.
- DELSOL, M., FLATIN, J., GUEYDAN-BACONNIER, M., NYRAND DE LEFFENBERG, F. & PUJOL, P., 1981.- Action des facteurs externes sur les cycles de reproduction chez les batraciens. **Bull. Soc. Zool.**, France, tm. 106 (4): 419-431.
- DIAZ FLORES, L., ORTIZ URDIAIN, G., PEREZ VARGAS. I. & LOPEZ CAMPOS, J. L., 1973.- Atlas de citología. Ed. Granada.
- DURFORT, M., 1978.- Un método de tinción policrómico de uso rápido. **Misc. Zool.**, IV (2): 205-210.
- ESCALA, M.C. & PEREZ MENDIA, J.L., 1979.- Contribución al estudio herpetológico de Navarra. **Munibe**, 31: 165-170.
- FIORE, M.S.H., 1979.- Testículo. En "Atlas de histología normal". 158-159. Ed. El Ateneo. Buenos Aires.
- GRASSE, P.P., 1970.- Appareil urogénital des amphibiens. La spermatogénèse. En "Traité de Zoologie". Tomo XIV, fasc. I-B. Ed. Masson et Cie, Paris.
- HOULD, R., 1982.- L'appareil reproducteur mâle. Chap. 13. En "Histologie descriptive". 203-207. Ed. Décaire. Paris.

- JOLY, J. & SAINT GIRONS, H., 1975.- Influence de la température sur la vitesse de la spermatogenèse, la durée de l'activité spermatogénétique et l'évolution des caracteres sexuels secondaires du lézard des murailles, *Lacerta muralis* L. (Reptilia, Lacertidae). **Arch. Anat. Micros. Morph. Exp.**, 64 (4): 317-336.
- KALT, M.R., 1976.- Morphology and kinetics of spermatogenesis in *Xenopus laevis*. **J. Exp. Zool.**, 195: 393-408.
- LADMAN, A.J., 1978.- Aparato genital masculino. Cap. 26. En "Histología". 719-739. Ed. Greep, R.O. & Weiss, L. Ed. El Ateneo. Buenos Aires.
- LEYTON, V., MORALES, C. & BUSTOS-OBREGON, E., 1977.- Seasonal changes in testicular function of the lizard *Liolaemus gravenhorsti*. **Arch. Biol.** (Bruxelles), 88: 393-405.
- MARTINOVA, Y.S. & KANCHEVA, L.S., 1981.- Morphology and kinetics of spermatogonia in amphibian testis (*Rana ridibunda*). **Dokl. Bolgar. Akad. Nank.** 34 (12): 1737-1740.
- MAYHEW, W.W. & WRIGHT, S.T., 1970.- Seasonal changes in testicular histology of three species of the lizard genus *Uma*. **J. Morph.**, 130 (2): 163-186.
- MILTNER, M.J. & ARMSTRONG, J.B., 1983.- Spermatogenesis in the mexican Axolotl, *Ambystoma mexicanum*, **J. Exp. Zool.**, 227: 255-263.
- NEWLIN, M.E., 1976.- Reproduction in the bunch grass lizard, *Sceloporus scalaris*. **Herpetologica**, 32 (2): 171-184.
- PANTIN, C.F.A., 1968.- Técnicas microscópicas para zoólogos. Ed. Academia. León.
- PEREZ MELLADO, V., 1982.- Algunos datos sobre la reproducción de dos especies de Lacertidae (Sauria, Reptilia) en el Sistema Central. **Bol. R. Soc. Española Hist. Nat. (Biol.)**, 80 (3-4): 165-173.
- POIRIER, J., 1985.- El testículo, glándula endocrina. En "Cuadernos de histología". 414-428. Ed. Marbán. Madrid.
- RASTOGI, R.K., DIMEGLIO, M., DI MATTEO, L., MINUCCI, S. & IELA, L., 1985.- Morphology and cell population kinetics of primary spermatogonia in the frog (*Rana esculenta*) (Amphibia, Anura). **J. Zool.**, 207 (3): 319-330.
- REITH, E.J. & ROSS, M.H., 1969.- Atlas de histología descriptiva. Ed. El Ateneo. Buenos Aires.
- SA, R. & BEROIS, N., 1986.- Spermatogenesis and histology of the testes of the caecilian, *Chithonerpeton indistinctum*. **J. Herpetol.**, 20 (4): 510-514.
- SAINT GIRONS, H., 1957.- Le cycle sexuel chez *Vipera aspis* (L.) dans l'ouest de la France. **Bull. Biol. Fr. Belg.**, 91: 284-350 (pls. VIII a X).
- SAINT GIRONS, H., 1982.- Reproductive cycles of male snakes and their relationships with climate and female reproductive cycles. **Herpetologica**, 38 (1): 5-16.
- VOLSOE, H., 1944.- Structure and seasonal variation of the male reproductive organs of *Vipera berus* (L.). **Spolia Zool. Mus. Hauniensis**, 5: 1-157 (pls. 1-12).
- WILHOFT, D.C. & QUAY, W.B., 1961.- Testicular histology and seasonal changes in the lizard, *Sceloporus occidentalis*. **Jour. Morphol.**, 108: 95-106.
- YONEYAMA, H. & IWASAWA, H., 1985.- Annual changes in the testis and accessory sex organs of the bullfrog *Rana catesbiana*. **Zool. Science**, 2 (2): 229-238.